

学位論文題名

 α_1 -酸性糖蛋白質の病態時における量的、質的変動
と薬物結合におよぼす影響に関する研究

学位論文内容の要旨

【序】医薬品の薬理効果や副作用等は、血清中蛋白質と結合していない非結合型濃度に大きく依存する。したがって、薬物の血清中蛋白質との結合性を定量的、および定性的に解析し、さらに変動の程度や要因を把握することは、最適な薬物療法を行う上で極めて重要である。特に、薬物の蛋白結合に対する病態、あるいは年齢、性などの病的、および生理的因子の影響は大きく、それらの変動要因を明かにすることは安全かつ最適な薬物投与計画を設定する上で極めて意義深い。

急性期蛋白質である α_1 -酸性糖蛋白質(以下; AAG)の血清中濃度は、種々の慢性、急性疾患で著しく増大し、多くの塩基性薬物の蛋白結合に影響をおよぼすことが明らかになってきた。したがって、血清中AAG濃度の変動とそれに伴う薬物の蛋白結合の量的および質的变化は薬物の生体内動態と薬理効果を大きく左右する。しかしながら、病態時の血清中AAG濃度の変動要因やその変動経緯さらには病態時に産生されるAAGの質的な変化等については、詳細に検討された例は少なく、未だ明らかにされていない点が多い。特に、病態時に産生されるAAGを患者の血清中から単離・精製し、薬物の結合性、およびその変動要因等について解析した例は極めて少い。

本研究においては、まず初めに健常人、および慢性疾患(心不全、腎不全)患者、急性疾患(心筋梗塞)患者を例にとり、病態時の血清中AAG濃度の変動の程度を明らかにすると同時に、これに伴う抗不整脈薬ジソピラミドの蛋白結合率の変化を健常人の場合と比較し、AAG濃度が薬物の蛋白結合と薬理効果に深く関連していることを明らかにした。また同時に、病態時の血清中から単離・精製したAAGの薬物結合性、およびAAGの糖鎖組成は、病態の変動に伴って著しく変化していることを認めた。さらに、AAG不均一性体群の糖鎖構造の違いとジソピラミド結合性との関連性について検討を加え、病態時に産生されるAAGの薬物との結合性には、AAG糖鎖の分岐度が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

I. AAGの血清中濃度の変動とジソピラミドの蛋白結合への影響

塩基性薬物であるジソピラミドの非結合型濃度は、血清中AAG濃度のわずかな変動によって顕著な影響をうけることが認められた。また、血清中代謝物濃度は患者間で著しく異なり、かつジソピラミドの蛋白結合を競合的に阻害することが明らかとなった。したがって、血清中AAG濃度の変動は、ジソピラミドの結合率だけではなく、ジソピラミド代謝物の影響も加わって、ジソピラミドの非結合型濃度を大きく変動させる要因となることが強く示唆された。

これまで、健常人の血清中AAG濃度に対する加齢、性差等の生理的因子の影響に関しては見解が分かれ、明確な結論を得るに至っていない。しかしながら今回、潜在的疾患保有者を除いた真の健常人(245例)で検討した結果、血清中AAG濃度は加齢および性差に関係なくほぼ一定の濃度を示すことが明らかとなった。これらの結果より、これまでの健常人に関する多くの報告は、自覚症状は認められないものの何らかの異常を有している潜在的疾患保有者をも含めて検討していた可能性が高いことが

示唆された。

腎不全時、心不全時、心筋梗塞時の血清中AAG濃度の量的な変動と、この変動に伴うジソピラミドの非結合型濃度の変化を定量的に評価した結果、血清中AAG濃度の変動経緯は各病態間で著しく異なっていた。このとき、病態時のジソピラミドの臨床効果は顕著に低下し、同時にジソピラミドの非結合型濃度も血清中AAG濃度の増大に伴って著しく減少することが明らかとなった。これらの結果より、非結合型濃度を直接反映しない従来からの血清中総薬物濃度（結合型+非結合型）に基づく治療管理（TDM）では、临床上誤った投与計画を行う可能性が高いことが強く示唆された。

II. 病態時に産生されるAAGに対する定性的、定量的検討

腎不全患者、心不全患者、心筋梗塞患者の血清および血清より単離・精製したAAGを用いてジソピラミドの結合様式を詳細に検討した結果、結合サイト数の有意な減少が認められた。また、心筋梗塞患者、心不全患者では症状の改善とともに結合サイト数の回復がみられたことから、病態時に産生されるAAGは構造的（質的）に異なったAAGであることが示唆された。

AAGの糖鎖を構成するシアル酸および各単糖の簡便かつ高感度な定量法を確立し、腎不全患者、心筋梗塞患者のAAGの各構成糖を定量的に評価した。その結果、病態間での糖鎖組成の顕著な違い、および病態の進行度による糖鎖構造の著しい変動が認められた。また、病態時での糖鎖構造の変動は糖鎖構造の高分岐化に起因することが明らかとなった。一方、AAG糖鎖の高分岐化に伴ってジソピラミドの結合量は明らかに減少する傾向が認められ、病態時のAAGのジソピラミド結合性の低下は、より高分岐化した糖鎖を有するAAGの増加に起因していることが強く示唆された。さらに、糖鎖末端のシアル酸は直接薬物結合に関与していないことを認めた。

III. AAGの不均一性体の糖鎖組成と薬物結合性との関係

AAG不均一性体を分離・分取し、不均一性体間の糖鎖組成、および糖鎖組成とジソピラミドの結合性との関連性を検討した。その結果、糖含量、および糖鎖の分岐度には著しい違いが認められ、特にシアル酸量には顕著な違いが認められた。今回開発した分離方法は、従来のAAG不均一性体の分離方法とは異なり、AAGを脱シアル酸化することなしに不均一性体を分離することが可能であったことから、病態時に産生されるAAGの構造上の（質的な）違いを詳細に検討する上で極めて有用であった。本方法を用いることによって、不均一性体のジソピラミド結合性は糖鎖がより高分岐化するほど低下することが初めて明らかとなった。さらに病態時のAAGに対するジソピラミドの結合性の低下は糖鎖の分岐度の違いに起因していることが強く示唆された。

【結論】患者個々の最適な薬物療法を行うためには、AAGの量的な変動は勿論のこと、質的な変動をも考慮する必要性が示唆された。また、病態時のAAGの質的な変動は、糖鎖の高分岐化が大きな一因であり、薬物の結合性には糖鎖構造が重要な役割を果たすことが明らかとなった。したがって、病態時に産生されるAAGの薬物結合性の低下は、より高分岐化した糖鎖を有するAAGの増加が一つの要因であることが強く示唆された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	栗原	堅三
副査	教授	加茂	直樹
副査	教授	宮崎	勝巳
副査	助教授	三宅	教尚
副査	講師	宮内	正二

学位論文題名

α_1 -酸性糖蛋白質の病態時における量的、質的変動 と薬物結合におよぼす影響に関する研究

申請者は、急性期蛋白質である α_1 -酸性糖蛋白質（以下；AAG）の慢性疾患（心不全、腎不全）患者、および急性疾患（心筋梗塞）患者の血清中AAG濃度の変動の程度を明らかにすると同時に、これに伴う抗不整脈薬ジソピラミドの蛋白結合率の変化、および病態時に産生されるAAGの薬物結合性、および糖鎖組成の変化、AAG不均一性体群の糖鎖構造の違いとジソピラミド結合性との関連性を明らかにすることを目的として研究を行ってきた。特に、薬物の蛋白結合に対する病態、あるいは年齢、性等の病的、および生理的因子の影響は大きく、それらの変動要因を明らかにすることは安全かつ最適な薬物投与計画を設定する上で極めて意義深いものである。しかしながら、病態時の血清中AAG濃度の変動要因やその変動経緯さらには病態時に産生されるAAGの質的な変化等について詳細に検討された例は少なく、未だ明らかにされていない点が多い。従って、申請者はAAG濃度と薬物の蛋白結合との関連性、病態時に産生されるAAGの糖鎖組成の違い、また同時に、AAG不均一性体群の糖鎖構造の違いとジソピラミド結合性との関連性について、3編にわたり論述している。

第I編：AAGの血清中濃度の変動とジソピラミドの蛋白結合への影響・・・本編では、血清中AAG濃度の変動がジソピラミドの非結合型濃度を大きく変動させる要因となることを明らかにしている。また、今回、健常人における血清中AAG濃度は加齢および性差に関係な

くほぼ一定であることを多くの例数を用いて明らかにした。これらの結果は、これまでの健常人に関する多くの報告は、潜在的疾患保有者をも含めて検討していた可能性が高いことを示唆するものである。一方、腎不全時、心不全時、心筋梗塞時の血清中AAG濃度の量的な変動と、この変動に伴うジソピラミドの非結合型濃度の変化を定量的に評価した。血清中AAG濃度の変動経緯は各病態間で著しく異なっていた。このとき、病態時のジソピラミドの臨床効果が顕著に低下した例では、同時にジソピラミドの非結合型濃度も血清中AAG濃度の増大に伴って著しく減少していることを明らかにした。これらの結果は、非結合型濃度を直接反映しない従来からの血清中総薬物濃度（結合型+非結合型）に基づく治療管理（TDM）では、臨床上誤った投与計画を行う可能性が高いことを強く示唆するものである。

第Ⅱ編：病態時に産生されるAAGに対する定性的、定量的検討
…本編では、腎不全患者、心不全患者、心筋梗塞患者の血清および血清より単離・精製したAAGを用いてジソピラミドの結合様式を詳細に検討している。その結果、結合サイト数の有意な減少を認め、また心筋梗塞患者、心不全患者では症状の改善とともに結合サイト数の回復がみられたことから、病態時に産生されるAAGは構造的（質的）に異なったAAGであることを示唆している。また、AAGの糖鎖を構成するシアル酸および各単糖の簡便かつ高感度な定量法を確立し、腎不全患者、心筋梗塞患者のAAGの各構成糖を定量的に評価し、病態間での糖鎖組成の顕著な違い、および病態の進行度による糖鎖構造の著しい変動を認めている。さらに、病態時での糖鎖構造の変動は糖鎖構造の高分岐化に起因することを明らかにしている。一方、AAG糖鎖の高分岐化に伴ってジソピラミドの結合量は明らかに減少する傾向が認められ、病態時のAAGのジソピラミド結合性の低下は、より高分岐化した糖鎖を有するAAGの増加に起因していることを強く示唆している。

第Ⅲ編：AAGの不均一性体の糖鎖組成と薬物結合性との関係…
本編では、AAG不均一性体を健常人の血清より分離・分取し、不均一性体間の糖鎖組成、および糖鎖組成とジソピラミドの結合性との関連性を検討している。その結果、糖含量、および糖鎖の分岐度には著しい違いが認められ、特にシアル酸量に顕著な違いが認められること

を明らかにしている。今回開発した分離方法は、従来のAAG不均一性体の分離方法とは異なり、AAGを脱シアル酸化することなしに不均一性体を分離することが可能であることから、病態時に産生されるAAGの構造上の（質的な）違いを詳細に検討する上で極めて有用な方法である。本分離方法を用いることによって、不均一性体のジソピラミド結合性は糖鎖がより高分岐化するほど低下することを初めて明らかにしている。さらに病態時のAAGに対するジソピラミドの結合性の低下は、糖鎖の分岐度の違いに起因していることを強く示唆している。

以上のことから本学位論文は、病態時に産生されるAAGにおける量的、質的変動と薬物結合性におよぼす影響を明らかにしており、これらは患者個々の最適な薬物療法を行うための重要な基礎的知見を与えるものであり、博士（薬学）を受けるに充分値すると認めた。