

不揃いなインスリン



今回は本ニュース122号、170号の合併・改定版のような話になります。

1) インスリンは蛋白質である

今さら何をという話ですが、インスリンは21個のアミノ酸からなるA鎖と30個のアミノ酸からなるB鎖が二つのジスルフィド(SS)結合をした分子量が人で5,807の蛋白質です。蛋白質としては比較的小さなタイプですが、リボソーム上で合成された後、小胞体内部で3次元の高次構造を取ります。

2) いびつなインスリン高次構造体

小胞体内部で全てのインスリンがちゃんとした活性をもつ高次構造に折りたたまれるかというところもそうではないようです。本ニュース122号で紹介した講演会内容によると合成されたインスリンの**3割は正常な構造**をとりますが、残りの**7割は異常な折りたたみ構造**をとるそうです。自然界においても結構にミスが発生するという事になります。

3) 不揃いなインスリンは分解除去される

細胞内には**ユビキチンプロテアソーム**と呼ばれる蛋白質を分解する酵素系があります。細胞内の蛋白質の80%がここで分解されるとも言われています。不揃いなインスリン(高次構造が不良なインスリン)はこの酵素系により分解され細胞内から除去されます。そして正常な構造のインスリンが膵臓のβ細胞から6量体として分泌されていきます。

ところでユビキチンプロテアソームに関連する抗癌剤(**ボルテゾミブ**;ベルルパ®注射®)があります。細胞内には細胞増殖する因子**NF-κB**があり、通常は別の因子**IκB**と結合し**不活性化**状態にあるのですが、ある種のがん細胞ではIκBがリン酸化されやすくなり**ユビキチン**という蛋白質(76個のアミノ酸から構成)と結合しやすくなります。**ユビキチン化したIκBはユビキチンプロテオソームに認識**されて分解されてしまいます。その結果、完全フリーとなったNF-κBが**核内に移動**してがん細胞の増殖に作用するとされています。このプロテアソームに結合してIκBの分解を抑制してNF-κBを不活性化状態に維持する分子標的薬が前述のボルテゾミブになります。

この仕組みが正しいとすると、詳細は不明ですが不揃いなインスリンもユビキチン化されてプロテアソームの標的となり分解されるのでしょうか。

このユビキチンプロテアソームは**酵母を含む真核細胞生物に広く存在**していますが、**大腸菌**のような一般細菌には**存在しない**とされています(一部の細菌には似たシステムがあるようですが)。

4) 高血糖状態になると・・・

高血糖になるとインスリンの合成が活発となりインスリン分泌を促進させて血糖値を下げようとします。**たくさんのインスリン**が合成されると**不揃いのインスリンの数も必然的に増える**ことになります。高血糖状態が持続するとユビキチンプロテアソームによる不揃いのインスリンの分解も追いつかなくなって、やがて不揃いのインスリンがβ細胞の中に貯まってきます。

それらの不揃いのインスリンは、機序の詳細は分かりませんが、**β細胞のアポトーシスのスイッチ**をONにすることが知られており、その結果β細胞が壊れてしまいます。

これが高血糖状態におけるβ細胞の疲弊、さらに消失という現象につながります。β細胞が破壊されるためインスリン分泌が十分に出来ず、血糖値がさらに上昇していく一つの機序になります。

一方、膵臓のα細胞には影響がありませんから、グルカゴン分泌により血糖値がますます上昇することになります。

5) 後続薬のインスリン製剤

生物学的製剤の後発医薬品も続々と出てくるようになりましたが、注射薬のそれらの製剤では通常は後発医薬品では必要のない**臨床試験が要求**されています(本ニュース170号)。低分子医薬品は構造が明確であり先発薬と後発薬に構造上の違いはありません。あとは成分の純度の問題や製剤化した時の体内動態の相違の問題が残るでしょう。

しかし生物学的高分子医薬品は蛋白質もしくは糖蛋白質製剤ですから、**アミノ酸配列が同じ**であっても前述したように**高次構造で違い**が出ているかもしれません。高次構造で違いがあると酵素活性などの薬理活性が違ってきます。そのため臨床試験で実際に人に投与しても同じ臨床効果が出るかを確認する必要があります。

そのような背景があるため、後発医薬品とは呼ばずに**後続医薬品**と言う名前で区別しています。英語名も **Biosimilar**(バイオシミラー: 略して **BS**)としています。あえて訳すならば「**生物学的類似物**」となるでしょうか。一方の先発医薬品は**先行医薬品**と呼ばれています。

インスリンの後続薬としては、**インスリングルルギンBS**(日本イライリー、富士フィルム富山化学/先行薬はランタス®)と**インスリンリスプロBS**(#171/先行薬はヒューマログ®)があります。

6) 遺伝子組み換え製品で利用される細胞の違い

後続薬に限らず注射薬の蛋白質製剤の多くは**遺伝子組み換え**製品となっています。人と同じ蛋白質を大量生産することが可能だからです。ちなみに上記のインスリンはアミノ酸配列の一部を人工的に替えて**持効性**を持たせたり、**超即効性**を持たせたりしています。いずれにせよアミノ酸配列に対応するDNA部分を細胞分裂の盛んな細胞のDNAに組み込んで大量に合成させます。その細胞の種類ですが調べた限りでは次のようになっています。

一般名	商品名	培養細胞	出典
インスリングルルギン	ランタス	大腸菌	審査報告書
	BS(日本イライリー)	大腸菌	審査報告書
	BS(富士フィルム富山化学)	酵母(<i>P. pastoris</i>)	審査報告書
インスリンリスプロ	ヒューマログ	大腸菌	添付文書
	BS(#171)	大腸菌	添付文書

異常高次構造の蛋白質をユビキチンプロテアソームが分解すると前述しましたが、この中でそれを持っているのは**酵母**のみになります(富山化学製)。大腸菌にはユビキチンプロテアソームが存在していないので、別のプロテアーゼが作用して不揃いなインスリンを除去しているのかもしれませんが、少なくとも膵臓のβ細胞にある**不揃いなインスリン除去機構と別物**には違いなさそうです。

生物学的製剤にはこれまでも大腸菌利用の製品が多くありますが、大腸菌自体が高次構造の違う蛋白質をどこまで除去しているのか? さらに原薬を作る際に高次構造の異なる蛋白質をどこまで除去するのか? 残存するそれらによる抗原性は発生しうるのか? 等の疑問が浮かんできます。

後続医薬品に限らず先行医薬品を含めた生物学的製剤の安全性評価や新薬評価には製造元の培養細胞まで遡って考える必要があるのかもしれません。

(終わり)