

審査の結果の要旨

氏名 須原 正光

本研究は、末梢動脈疾患の増悪過程において重要な急性動脈閉塞により惹起される側副血行路形成反応に伴う炎症を標的に、ナノ製剤を用いたドラッグデリバリーシステムの構築を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ラットの片側大腿動脈切除モデルを作成し、側副血行路が形成される部位を評価した。Caudal epigastric artery～superficial caudal epigastric artery の間で大腿動脈を切除したモデルにおいて、側副血行路は内腸骨動脈から膝窩動脈の間に形成され、それらは主に尾骨大腿筋 (caudofemoralis muscle; CF) と半膜様筋 (semimembranous muscle; SM) 内を走行していた。すぐ近傍の半腱様筋 (semitendonous muscle; ST) には側副血行路は乏しかった。このモデルにおいて、虚血側の足部表層血流は健常側に比べて約 62 %に低下しており、慢性期にも末梢組織の虚血状態を保っていた。
2. 蛍光標識したポリイオン複合体高分子ミセル (PIC micelle) および中空粒子 (PICsome) を用いて、全身投与したナノ製剤が上記 1. の急性下肢虚血モデルの側副血行路形成部位へ集積するかを、in vivo imaging system (IVIS®) により評価した。30 / 100 / 200 nm の 3 種の粒径を用いて比較検討したところ、30 nm 径は投与 24 時間後・72 時間後とも CF・SM・ST のいずれにも有意な集積を示さず、100 nm 径 (PICs-100) は投与 24 時間後・72 時間後とも CF・SM に有意な集積を示し、200 nm 径は投与 24 時間後のみ CF・SM に有意な集積を示した。
3. 皮膚切開と大腿動脈の露出のみを行った sham-ope 群に PICs-100 を投与した。投与 24 時間後・72 時間後ともいずれの筋肉にも集積を認めず、上記 2. で得られたナノ製剤の集積所見はモデル作成時の手術侵襲によるものではないことが示された。
4. 上記 1. の片側急性下肢虚血モデルにナノ製剤を投与せずに両側 CF・SM・ST を採取し、切片を CD68 で染色した。SM において、虚血側の CD68 陽性細胞 (マクロファージ) が健常側に比べて有意に多く認められ、CF においてもその傾向がみられた。したがって、上記 2. でみられたナノ製剤の集積過程には炎症が関与していることが示唆され、その炎症は投与されたナノ製剤により惹起されたものではないことが示された。
5. PICs-100 を投与後 24 時間の CF・SM 切片を α SMA で染色し、レーザー共焦点顕微鏡で検鏡した。PICs-100 は α SMA 陽性の小動脈周囲に限局して集積していた。同様に CD68 染色を行い検鏡したところ、PICs-100 の 16.4 %および CD68 陽性領域 (マクロファージ) の 9.5%のみが共局在を示した。したがって、PICs-100 は炎症部に遊走したマクロファージによる貪食を一部回避していることが示唆された。

6. 薬剤内包ナノ製剤として、IL-1 β を内包する PIC micelle (PICs-IL) の調製を試みた。2,5-dihydro-4-methyl-2,5-dioxo-3-furanpropanoic acid (FP) で IL-1 β を charge conversion して表面電荷を負に統一した (FP-IL)。その生理活性は conversion 前の 35.2% に低下していたが、消失はしていなかった。この FP-IL と PEG-P(Lys-SH) を用いて平均粒径 93 nm の PIC micelle を調製することに成功した。
7. 上記 PICs-IL を 1. の急性下肢虚血モデルに投与したところ、側副血行路形成部位への集積は検出できなかった。PICs-IL の血中半減期は 11.2 分と PICs-100 に比べて非常に短かった。標的部位への集積能力は、粒径のみならず粒子の安定性にも左右されると考えられた。

以上、本論文はラット急性下肢虚血モデルにおいて、全身投与したナノ製剤が側副血行路形成部位に選択的に送達し得ることを明らかにし、その集積効率は粒径および粒子の安定性に依存することを示した。本研究は、末梢動脈疾患に対する薬物療法の新たなアプローチを構築する端緒として期待されるだけでなく、造影剤の搭載による新たな画像診断法の開発につながる可能性もあり、学位の授与に値するものと考えられる。