

## 論文の内容の要旨

論文題目 スタチン内包高分子ミセルによる大動脈瘤拡大抑制効果の検討

氏名 福原 菜摘

腹部大動脈瘤は破裂に至ると生命を脅かす疾患である。これまでに腹部大動脈瘤に対しての薬物療法について多くの検討がなされてきたが、いまだ臨床的に有効と言える非侵襲的治療はなく、破裂を防ぐ有効な手段は手術しかない。しかし、手術の負担が大きい高齢者や多くの並存疾患を持つ患者の場合、治療を行うことができない場合もある。非侵襲的な方法での瘤拡大抑制効果が得られる治療開発が必要である。

大動脈瘤の原因としては、動脈硬化性、遺伝性、炎症性、感染性などがあるが、その大部分は動脈硬化性である。大動脈壁は、内皮細胞からなる内膜、エラスチンで構成される弾性板や平滑筋細胞からなる中膜、コラーゲンなどの結合組織からなる外膜の三層構造となっているが、これらの壁構造の変性により大動脈瘤の形成・拡大が起こる。動脈硬化性の場合、動脈壁内腔の粥状硬化に伴う内皮障害、炎症性メディエーターの遊走、プロテアーゼの活性増大などから慢性炎症につながり、中膜弾性板の破壊を始めとした動脈壁の構造変化が起こって脆弱化し、瘤が形成・拡大する。瘤拡大を防ぐことを目的として炎症を抑制するための薬剤を用いた検討は、 $\beta$ 遮断薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、抗生剤、スタチン、血糖降下薬など多くなされているが、動物実験レベルでは効果を示すものの、臨床応用に足りる効果が得られていない。それは大動脈病変で有効な薬物濃度が保たれないためと考えられる。そこで本研究では薬剤を効果的に動脈瘤に作用させるための Drug Delivery System として、薬剤内包高分子ミセルを選択した。高分子ミセルは生体内での代謝や排泄を回避し、壁構造の変化した瘤壁に直接到達して長く滞留することで、効果的に標的臓器に薬剤を送達することができる。このような特徴を利用することにより、大動脈瘤壁への薬剤送達により効果的に行われ、瘤拡張を抑制することができると考えた。内包する薬剤は、コレステロール低下作用だけでなく、抗炎症効果や心血管保護作用など、多面的効果を有するスタチンを選択した。その中でも高力価であるピタバスタチンを用いて実験を行った。

実験 1 として、動脈瘤に選択的に薬剤を集積させることを目的としてピタバスタチン内包高分子ミセル (PS/m) を作成した。ピタバスタチンの 2 つの水酸基とフェニルボロン酸によりボロン酸エステルを形成し、それをミセル形成の駆動力として PS/m を作成した。PS/m は約 50nm であり、生体条件下での 24 時間の安定性を確認した。pH の低下と共に内包したピタバスタチンの放出率は増加していた。蛍光ラベル化 PS/m により平滑筋細胞内のリソソームとの共在が一部見られることを確認し、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる可能性が考えられた。細胞増殖抑制試験では、PS/m の薬理活性はピタバスタチン単体の約 30 倍であった。

次に実験 2 として、ラットのエラスターゼ腹部大動脈瘤モデルを作成し、薬剤を投与してその大動脈瘤拡張抑制効果について検討した。PBS 投与(コントロール)群と PS/m それぞれ 2

mg/kg 投与群、5 mg/kg 投与群、10 mg/kg 投与群で大動脈瘤径を比較した。薬剤は、エラスターゼ腹部大動脈瘤モデル作成直後、術 2 日目、術 4 日目、術 6 日目に尾静脈から経静脈的に投与した。術 7 日目に開腹して大動脈径を計測した後、採血をして大動脈瘤を摘出した。PS/m 投与群では用量依存的に大動脈瘤拡大抑制効果が認められた。大動脈瘤検体の組織学的検査の結果、PS/m 投与群では有意に動脈壁へのマクロファージなどの炎症細胞の集積が低下しており、中膜においては弾性板と、平滑筋細胞の細胞骨格である  $\alpha$ SMA が良く保たれていた。また、大動脈瘤検体から抽出した蛋白に対してプロテアーゼの酵素活性を検出するザイモグラフィーを行い、大動脈瘤形成時に活性が上昇することが知られている matrix metalloproteinase (MMP)-2 と MMP-9 の活性を測定した。その結果、PS/m 投与群では、コントロール群と比較して有意な MMP-9 の活性抑制が認められた。PS/m による腹部大動脈瘤拡大抑制の機序として、大動脈瘤壁での炎症の抑制と MMP-9 活性の抑制が関与しているものと考えられた。

実験 3 として、PS/m の体内動態についての検討を行った。まず、放射性同位元素  $^{125}\text{I}$  で標識化した PS/m を作成した。エラスターゼ腹部大動脈瘤モデルラットを作成し、術 6 日目からヨウ化カリウムの経口投与を開始した。術 7 日目に  $^{125}\text{I}$  標識化 PS/m をラットの尾静脈から投与した。薬剤投与 1 時間後と 4.5 時間後に全身臓器を摘出し、 $^{125}\text{I}$  の放射線活性を測定して各臓器の薬物集積を評価した。その結果、大動脈瘤への集積が経時的に増大しており、PS/m の病変への滞留が示唆された。しかし、全体でみると PS/m の多くは 1 時間後に肝臓、脾臓、腎臓に多く集積しており血中滞留性は低かったことから、PS/m のステルス性は低かったものと考えられた。また、4.5 時間には腸管での集積が増大していたことから、胆汁排泄である可能性が考えられた。

作成した PS/m は、現段階ではまだ多くの薬剤が wash out されている可能性があるものの、エラスターゼ腹部大動脈瘤モデルラットにおいて大動脈瘤拡大抑制効果は認められた。これは、PS/m が大動脈瘤壁の組織に滞留して動脈瘤壁の細胞内に取り込まれ、酸性条件下の後期エンドソームまたはリソソームで薬剤放出が起きたためと考えられる。これにより炎症性メディエーターやサイトカイン、MMP 活性などが抑制され、中膜弾性板や平滑筋細胞が保たれていたものと考えられた。今後はさらに実験を重ね、ミセル性能の向上と薬理活性についての検討を行っていく。