

176. 大動脈疾患に対する革新的治療システム開発

吉村 耕一

Key words : 大動脈瘤, 大動脈解離, ステントグラフト, 薬物療法, ナノ技術

山口大学 大学院医学系研究科
器官病態外科学分野

緒言

大動脈瘤と大動脈解離に代表される大動脈疾患は、大動脈壁の局所的な脆弱化と拡張が進行し、破裂・突然死に至る疾患である。人工血管置換手術またはステントグラフト治療によって治療されているが、病態機序に基づく治療法は未だ確立しておらず、治療困難で予後不良であることが稀ではない。近年実用化されたステントグラフト治療は、低侵襲治療法として普及しつつあるが、残存する大動脈病変部が遠隔期に再拡大し破裂する危険性があり、解決すべき課題である。

大動脈瘤は慢性炎症に伴う大動脈壁の不可逆的な組織破壊病変であり、薬物治療は不可能と信じられていた。しかし、著者らは、ストレス応答シグナル分子 c-Jun N-terminal kinase (JNK) を阻害する薬物療法により大動脈瘤の組織修復促進と退縮治療が可能であることを、世界で初めて実証したり、さらに最近、HMG-CoA 還元酵素阻害薬スタチンをはじめとして、大動脈瘤治療のための候補薬剤がいくつか報告されるようになってきた²⁾。

そこで著者らは、体内留置後のステントグラフトに薬剤封入ナノ担体を自在に充填し、徐放される薬剤によって大動脈瘤壁を根治治療する革新的ハイブリッド治療システムを提案した。本治療システムは、「標的認識ナノ担体」と「標的化グラフト」の2つを構成要素とし、1) 標的充填、2) 薬剤徐放、3) 再充填の3つの基本機能を備えたシステムである。本研究では、本治療システムのプロトタイプを開発し、マウスモデル実験系において基本性能の検証を行ったので報告する。

方法および結果

1. 治療システムのプロトタイプ開発

生体適合性ポリマーであるポリ-2-(ヒドロキシエチル)メタクリレート (pHEMA) の側鎖にビオチン基を導入した。生成されたビオチン化 pHEMA ポリマー溶液中に既存のポリエステル製人工血管 (Woven polyester 人工血管, 日本ライフライン社) を浸漬することによって、表面をビオチン標識したグラフトを作製した。

共同研究者の黒田らによって開発されたバイオナノカプセル (BNC)³⁾ ならびに BNC-リボソームの融合体⁴⁾ を利用して、Cy3-ビオチン-BNC-リボソーム融合体を作製した。作製した Cy3-ビオチン-BNC-リボソーム融合体の標的認識能は、非ビオチン化の Cy3-BNC-リボソーム融合体を対照とした *in vitro* の結合アッセイによって確認された。標的認識ナノ担体に封入する薬剤として JNK 阻害剤 SP600125 (Tocris 社) とピタバスタチン (Toronto Research Chemicals 社) を選択し、黒田らの方法⁴⁾ を用いて、これらの薬剤を封入した BNC-リボソーム融合体を作製した。封入された薬剤量は界面活性剤 SDS 処理により確認し、薬剤内包 BNC-リボソーム融合体の標的認識能は標的化グラフトとの *in vitro* 結合アッセイにおいて確認した。

2. 治療システムの基本性能の検証

標的充填の検証には、あらかじめニュートラビジンと結合させたビオチン化グラフトを標的化グラフトとしてマウス下大静脈内に留置した (図 1)。続いて、Cy3-ビオチン-BNC-リボソーム融合体を静脈注射し、対照実験では非ビオチン化 Cy3-BNC-リボソーム融合体を用いた。その結果、Cy3-ビオチン-BNC-リボソーム融合体のグラフトへの顕著な集積

が確認された (図2)。再充填性能の検証には、あらかじめニュートラビジンと結合させたビオチン化グラフトを標的化グラフトとしてマウス下大静脈内に留置した。再充填群として、非蛍光標識のビオチン-BNC-リポソーム融合体をまず静脈注射し、さらに24時間後にCy3 蛍光標識のビオチン-BNC-リポソーム融合体を静脈注射した。対照群ではCy3-ビオチン-BNC-リポソーム融合体を単回のみ静脈注射した。標的化グラフトを摘出し実体蛍光顕微鏡で観察した結果、再充填群のグラフト上にも対照群と同等にCy3 蛍光の集積が確認され、本治療システムの再充填能が確認された。

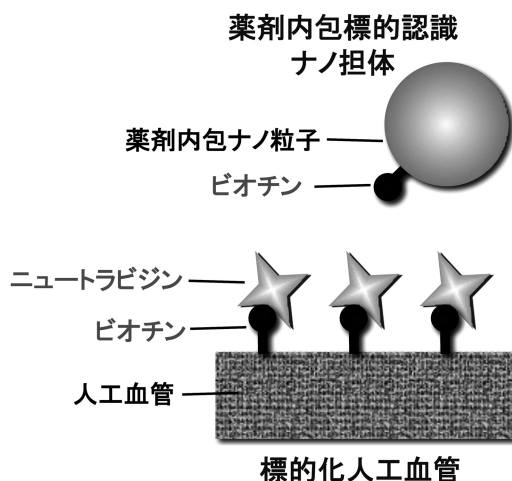


図1. 新規治療システムの構成。

人工血管表面をビオチンとニュートラビジンで標識し標的化グラフトとし、血管内にあらかじめ留置した。ビオチン結合ナノ担体に薬剤を封入し標的認識ナノ担体とし、静脈内投与した。薬剤封入標的認識ナノ担体は血管内で標的化グラフトに充填されることが確認された。

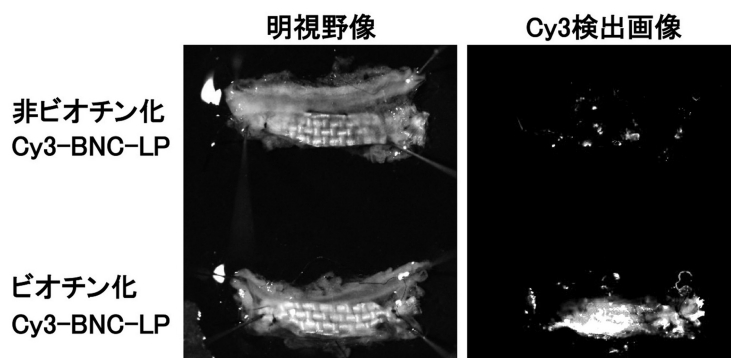


図2. 標的充填の検証。

ニュートラビジンを有する標的化グラフトをマウス下大静脈内に留置し、Cy3-ビオチン-BNC-リポソーム (LP) 融合体を静脈注射した。対照実験では非ビオチン化 Cy3-BNC-LP 融合体を用いた。その結果、Cy3-ビオチン-BNC-LP 融合体のグラフトへの顕著な集積が確認された。

3. 治療システムの大動脈疾患治療効果の検討

マウス腹部大動脈を瘤誘発性の0.5 M CaCl₂で刺激し、その後に薬剤内包 BNC-リポソーム融合体を結合したグラフトを大動脈近傍に留置し、対照群では薬剤非含有 BNC-リポソーム融合体を結合したグラフトを留置した。CaCl₂ 刺激

24 時間後、マウスを犠牲死させて大動脈組織を摘出し、マトリクス分解酵素 MMP-9 を定量した。その結果、ピタバスタチン内包 BNC-リボソーム融合体を結合したグラフトでは、対照グラフトに比し組織中 MMP-9 の有意な減少が確認された (図 3)。現在さらに、本治療システムの瘤治療効果 (瘤径縮小, 治療促進) をマウス大動脈瘤モデルで検討中である。

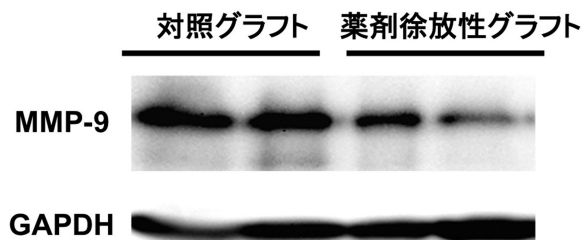


図 3. 薬剤徐放効果の検証.

ピタバスタチン含有 BNC-リボソーム (LP) 融合体結合グラフトを CaCl₂ 刺激後のマウス大動脈近傍に留置した。対照として、薬剤非含有 BNC-LP 融合体結合グラフトを用いた。その結果、薬剤を結合したグラフトでは、大動脈組織中の MMP-9 蛋白が有意に減少した。

考 察

著者らが発案した本治療システムは、ステントグラフト治療後の補助薬物療法として、他に類を見ない独創性の高いアイデアである (図 4)。本治療システムの特徴は、患者の病状に応じて、薬剤の種類・量・徐放速度並びに期間がすべて任意に調整可能であることであり、オーダーメイド医療にも繋がる技術である (図 5)。実用化に繋がれば、大動脈疾患診療の現状を打開する革新的な治療法となり、患者の生命予後と生活の質 (QOL) を飛躍的に向上すると期待される。

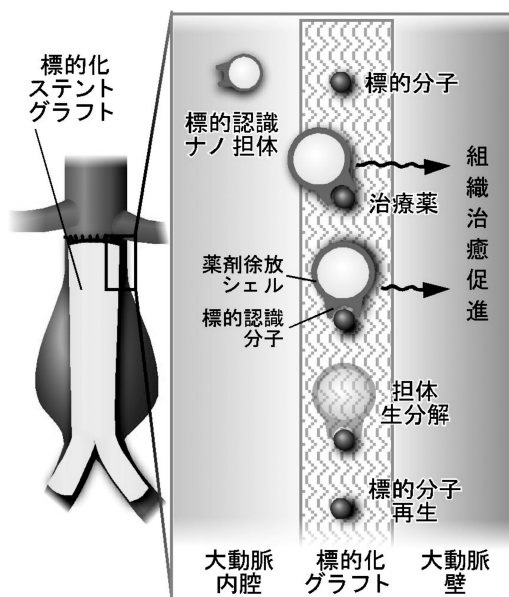


図 4. 新規治療システムの概念.

薬剤封入標的認識ナノ担体は、血中から標的化グラフトに充填される。ナノ担体の生分解による薬剤徐放の後、標的分子は再生され再充填可能となる。薬剤は、大動脈病変部の治療を促進する。

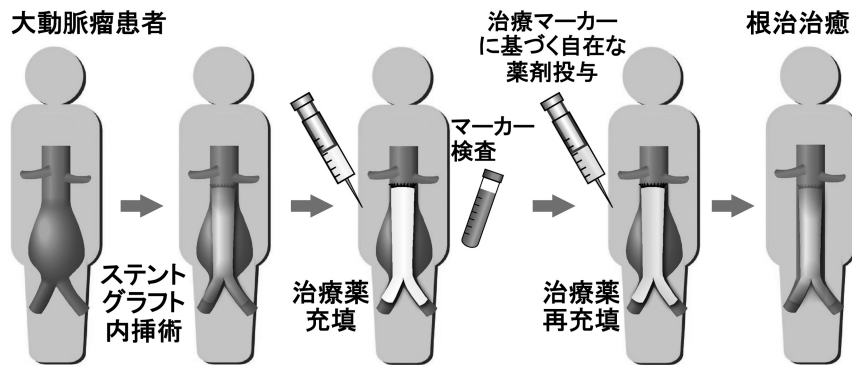


図5. 臨床応用への展望.

ステントグラフト治療後の血液マーカーや画像検査の結果から、必要に応じて治療薬をステントグラフトに充填する。治療薬は大動脈組織へ送達され、病変部の治癒を促進する。必要に応じて薬剤の種類変更や量調節も容易である。この革新的治療法により、患者の状態に合わせた有効で安全なオーダーメイド治療の提供が可能となる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、名古屋大学大学院生命農学研究科の黒田俊一、久留米大学循環器病研究所の青木浩樹、および山口大学大学院医学系研究科の堤 宏守である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Yoshimura, K., Aoki H., Ikeda, Y., Fujii, K., Akiyama, N., Furutani, A., Hoshii, Y., Tanaka, N., Ricci, R., Ishihara, T., Esato, K., Hamano, K. & Matsuzaki, M. : Regression of abdominal aortic aneurysm by inhibition of c-Jun N-terminal kinase. *Nat. Med.*, **11** : 1330-1338, 2005.
- 2) Yoshimura, K. & Aoki, H. : Recent advances in pharmacotherapy development for abdominal aortic aneurysm. *Int. J. Vasc. Med.*, **2012** : 648167, 2012.
- 3) Yamada, T., Iwasaki, Y., Tada, H., Iwabuki, H., Chuah, M. K., VandenDriessche, T., Fukuda, H., Kondo, A., Ueda, M., Seno, M., Tanizawa, K. & Kuroda, S. : Nanoparticles for the delivery of genes and drugs to human hepatocytes. *Nat. Biotechnol.*, **21** : 885-890, 2003.
- 4) Jung, J., Matsuzaki, T., Tatematsu, K., Okajima, T., Tanizawa, K. & Kuroda, S. : Bio-nanocapsule conjugated with liposomes for *in vivo* pinpoint delivery of various materials. *J. Control Release*, **126** : 255-264, 2008.