

【目的】 細胞死の研究はアポトーシスの分子メカニズムを中心に進められてきたが、ネクロシスやオートファジーの責任分子が同定されるにつれ、非アポトーシス型細胞死の疾患への関与が注目されるようになってきている。網膜変性疾患の細胞死も長らくアポトーシスによって起こると考えられてきたが、以前の我々の研究から、網膜変性の病態にはアポトーシスのみならずネクロシスの関与もあること、ネクロシス誘導に重要な分子である **Receptor interacting protein 1 kinase (RIP1K) -RIP3K 経路**が、網膜変性の神経細胞死とそれに付随する炎症応答に大きく関わっていることが明らかとなった。本研究では、RIPK 阻害薬やネクロシス/炎症を標的とした薬剤を、新規のドラッグデリバリーシステム (DDS) で修飾し、網膜変性を効果的かつ安全に抑制しうる新規治療薬を開発する。

【方法】 1. 新規 DDS の細胞・組織移行性の確認。FITC を封入した DDS (FITC-DDS) をマウスの静脈内または眼内に投与し、細胞や網膜への移行性をフローサイトメトリーで検討した。2. 網膜変性モデルにおける RIPK 活性局在の同定。Rip3k^{fl/fl}マウスを導入し、視細胞 (Rip3k^{fl/fl}; Nr1^{Cre})、マイクログリア (Rip3k^{fl/fl}; Cx3cr1^{Cre-ERT})、アストログリア (Rip3k^{fl/fl}; GFAP^{Cre}) 特異的に RIPK 活性を阻害し、網膜変性モデル動物の表現型の変化を観察した。3. 薬剤封入 DDS の網膜変性抑制効果。RIPK 阻害薬である Necrostatin-1 を封入した Nec-1-DDS、抗炎症・細胞死抑制作用のある薬剤 X または Y を封入した X-DDS、Y-DDS を作製した。実験 1、2 で明らかとした DDS の細胞・組織移行性と、網膜変性における RIPK の活性局在を元に、網膜変性モデルに対する治療実験を行った。

【結果】 1. FITC-DDS を静脈内に投与すると、単球の中でも特に Ly6c^{high} 炎症性単球に、効率良く FITC が導入されることが分かった。また網膜変性モデルマウス (rd10 マウス) に FITC-DDS を静脈内投与すると、網膜内のマクロファージに FITC が導入されることを確認した。FITC-DDS の眼内投与による網膜移行性については、現在検討中である。2. Rip3k^{fl/fl}マウスを凍結胚から個体化し、施設に導入した。今後 Nr1^{Cre} マウス、Cx3cr1^{Cre-ERT} マウス、GFAP^{Cre} マウスと交配し、網膜変性モデルでの表現型解析を進めていく予定である。3. DDS の素材や大きさなどを調整して、Nec-1 の薬剤含有率や均質性の高い DDS 作製条件を調整している。先に作製が完了した X-DDS、Y-DDS を rd10 マウスの静脈内に投与し、コントロールと比較して視細胞死ならびに網膜炎症が有意に抑制されることを明らかとした。薬剤 X、Y の経口投与では、副作用を生じる高濃度で投与しなければ治療効果が得られなかったため、DDS により低容量で高い有効性を達成することができた。今後 Nec-1-DDS の治療効果ならびに他の網膜変性モデルでの治療効果を検討する予定である。

新規 DDS 製剤の網膜変性抑制効果

