

200 脳血管へ接着し脳実質へ浸潤する白血球模倣ナノDDS	福田 達也
-------------------------------	-------

【目的】我々はこれまでに、脳梗塞部位にて生じる血液脳関門（BBB）の透過性亢進を利用することで、ナノサイズのリポソームを用いた脳実質への受動的な薬物送達、脳梗塞からの血流再開後に生じる二次的な障害、脳虚血／再灌流障害の治療に有効であることを報告してきた。しかしリポソームの、BBB に生じた血管間隙突破と脳実質への移行には時間的制限が存在し、患部への薬物送達効率を向上させるためには、脳梗塞部位の BBB を能動的に突破可能な技術が求められる。ところが血液中を循環する白血球は、リポソームが脳実質へ移行できない条件下においても、膜タンパク質機能を利用して炎症性の BBB へ接着し透過することができる。そこで本研究では、リポソーム膜へ白血球膜タンパク質を搭載することで、白血球のように炎症血管、さらには脳梗塞部位の BBB を能動的に突破可能な白血球ミミックリポソーム（Leukocyte-mimetic liposome : LM-Lipo）を構築することを目的とした。

【方法】リポソームへの白血球膜タンパク質の再構成法として、リポソームと細胞膜が一過的に部分融合した際に生じる脂質膜間移行法を用いた。白血球モデル細胞として好中球様に分化させた前骨髄性白血病細胞 HL-60 を用い、リポソームへの膜タンパク質の移行をウェスタンブロッティングにて確認した。また、腫瘍壊死因子（TNF- α ）で炎症処理したヒト臍帯静脈血管内皮細胞 HUVEC を用い、LM-Lipo の炎症血管内皮細胞に対する親和性を評価するとともに、トランズウェル上に形成した細胞層に対する透過性をそれぞれ評価した。また、LM-Lipo で処理した際の HUVEC 細胞骨格、および細胞間接着タンパク質に対する影響を、免疫蛍光染色および共焦点顕微鏡観察にて評価した。

【結果】リポソームと好中球様分化 HL-60 細胞を混合することにより、炎症血管に高発現する接着因子 ICAM-1 への結合性を有する白血球膜タンパク質 CD11a、CD11b のリポソーム膜への移行が確認された。また、TNF- α 処理により ICAM-1 発現を誘導した HUVEC へ LM-Lipo を添加したところ、通常のリポソームと比較して有意に高い親和性を示した。さらに、トランズウェル上に形成した炎症血管内皮層に対して蛍光標識 LM-Lipo を添加したところ、対照群と比較して高い透過性を示した。メカニズム解析の結果、LM-Lipo により HUVEC のアクチン骨格の変化と、細胞間接着タンパク質である VE カドヘリンの有意な発現減少が認められた。以上より、リポソーム膜上の白血球膜タンパク質の機能により細胞間接着が変化し、それにより LM-Lipo が炎症血管内皮細胞層を突破したことが示唆された。

白血球ミミックリポソームによる白血球機能の模倣と炎症血管内皮細胞層の突破

