

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21178

研究課題名(和文)心肺停止病態に対する低酸素選択的ナノDDS製剤を用いた脳神経障害根治薬の開発

研究課題名(英文) Development of cranial nerve disorder ameliorating drug using hypoxia-selective nano DDS preparation for cardiopulmonary arrest

研究代表者

座間味 義人 (ZAMAMI, Yoshito)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・講師

研究者番号：70550250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素選択的ナノDDS製剤が低酸素条件下で神経保護作用を示すかを検討するために、マウス海馬由来HT22神経細胞を用いたin vitro系を確立した。HT22神経細胞を低酸素インキュベータ内で1%酸素条件下に6時間暴露させると細胞生存率が43%になった。また、抗けいれん薬であるチオペンタールおよび狭心症治療薬であるニコランジルが、低酸素条件下での神経細胞死を濃度依存的に抑制した。本研究で神経保護作用を見出した2種類の薬剤は低酸素選択的ナノDDS製剤を作製するのに有用であると考えられる。今後はナノDDS製剤化した薬剤を心肺停止モデルラットに投与し効果を検証し、新規脳神経障害改善薬の開発を目指す。

研究成果の概要(英文)：In order to investigate whether hypoxia-selective nano DDS preparation shows neuroprotective effect under hypoxic conditions, an in vitro system using mouse hippocampal HT22 neurons was established. Exposure of HT22 neurons in a low oxygen incubator under 1% oxygen conditions for 6 hours resulted in a cell survival rate of 43%. In addition, thiopental as an anticonvulsant and nicorandil as a therapeutic agent for angina pectorally inhibited nerve cell death in hypoxic conditions in a concentration-dependent manner. From these results, it is considered that Two drugs which found neuroprotective effect in this study is useful for preparing hypoxia selective nano DDS formulations. In the future, we will investigate the efficacy by administering nano DDS formulated drug to cardiopulmonary arrest model rats and aim for development of post-resuscitation encephalopathy drugs.

研究分野：医療薬学

キーワード：心肺停止病態

1. 研究開始当初の背景

我が国における心肺停止患者は年間約 10 万人も発生し、救命できたとしても社会復帰できるのが約 7%にとどまっている(総務省消防庁調査)。心肺停止に伴う低酸素が脳神経障害を惹起し後遺症が残ってしまうので、QOL を著しく低下させる。このことが社会復帰を阻み、さらに介護が必要になり医療費を増大させるので脳神経障害による経済的損失は計り知れず、大きな課題となっている。

心肺停止病態における脳神経障害に対して脳保護を目的に低体温療法が施行されたり、抗酸化薬が投与されるが、神経障害の進展を抑制するだけで根治には至らず効果的な治療であるとは言えない。一方、神経障害の根治を目指して動物実験レベルでは神経障害時に神経保護作用を示す化合物が発見されている。しかし、これらを心肺停止患者に臨床応用しても脳神経障害を根治したという報告は皆無である。これは心肺停止の病態が炎症、浮腫、発熱を起こした特殊な状態で、神経保護作用を示す化合物が脳組織の神経壊死を起こした部位まで到達していないためだと推察される。

近年、ナノテクノロジーを駆使し特定の部位に薬剤を送り届けるドラッグデリバリーシステム(DDS)を用いた製剤が世界中で開発されている。ナノ DDS 製剤は特にがん治療の領域で実用化が進んでいるが、ウイルス性疾患、脂質異常症、循環器疾患、呼吸器疾患など幅広い分野に適用されている。その中で近年、融合ナノ材料 PTD-ODD を用いて、薬剤を腫瘍内や虚血部位の低酸素領域に効率よく届けられる低酸素選択的ナノ DDS 製剤が開発されている。

2. 研究の目的

本研究では、ナノ DDS 製剤を切り口として心肺停止患者の神経障害部位である低酸素領域へ選択的に神経保護作用を示す化合物を送達する新規的脳神経障害根治薬を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 低酸素条件下 in vitro 評価系の確立

マウス海馬由来神経細胞 (HT22 細胞) を PBS で 2 回 wash し、glucose free の DMEM に培地交換し、その後、低酸素インキュベータにおいて、37℃、1% O₂、94% N₂、5% CO₂ 条件下で培養した。そして、低酸素条件下に 6 時間暴露させた後、WST-8 試薬を添加し、450nm 波長における吸光度を測定し、細胞生存率を評価した。

(2) 抗けいれん薬であるチオペンタールの神経保護作用

創薬ツールを用いて心肺停止病態を改善する作用を有する薬剤を網羅的に抽出したところ、抗けいれん薬であるチオペンタールが抽出された。そこで、チオペンタールが(1)で確立した低酸素条件下 in vitro 評価系において神経保護作用を示すか否かを検討した。

(3) 狭心症治療薬であるニコランジルの神経保護作用

狭心症治療薬のニコランジルは酸化ストレスによる神経細胞障害を抑制することが報告されている。そこで、ニコランジルが(1)で確立した低酸素条件下 in vitro 評価系において神経保護作用を示すか否かを検討した。

4. 研究成果

(1) 低酸素条件下 in vitro 評価系の確立

HT22 神経細胞を 1% 酸素条件下に 3, 6, 12 時間暴露させると、細胞増殖が時間依存的に抑制されることが明らかとなった。

(2) 抗けいれん薬であるチオペンタールの神経保護作用

チオペンタールが低酸素条件下における神経細胞死を濃度依存的に抑制することが明らかとなった。

(3) 狭心症治療薬であるニコランジルの神経保護作用

ニコランジルが低酸素条件下における神経細胞死を濃度依存的に抑制することが明らかとなった。

以上の成果より、神経保護作用を見出した 2 種類の薬剤が低酸素選択的ナノ DDS 製剤を作製するのに有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Zamami Y, Imanishi M, Takechi K, Ishizawa K, Pharmacological approach for drug repositioning against cardiorenal diseases, J Med Invest, 査読有、64 巻、2017、197 - 201
DOI: 10.2152/jmi.64.197

Zamami Y, Niimura T, Takechi K, Imanishi M,

Koyama T, Ishizawa K, Drug Repositioning Research Utilizing a Large-scale Medical Claims Database to Improve Survival Rates after Cardiopulmonary Arrest, *Yakugaku Zasshi*, 査読有、137 巻、2017、1439 - 1442
DOI: 10.1248/yakushi.17-00139-3

Niimura T, Zamami Y, Koyama T, Izawa-Ishizawa Y, Miyake M, Koga T, Harada K, Ohshima A, Imai T, Kondo Y, Imanishi M, Takechi K, Fukushima K, Horinouchi Y, Ikeda Y, Fujino H, Tsuchiya K, Tamaki T, Hinotsu S, Kano MR, Ishizawa K, Hydrocortisone administration was associated with improved survival in Japanese patients with cardiac arrest, *Sci Rep*, 査読有、7 巻、2017、17919
DOI: 10.1038/s41598-017-17686-3

Sato S, Zamami Y, Imai T, Tanaka S, Koyama T, Niimura T, Chuma M, Koga T, Takechi K, Kurata Y, Kondo Y, Izawa-Ishizawa Y, Sendo T, Nakura H, Ishizawa K, Meta-analysis of the efficacies of amiodarone and nifekalant in shock-resistant ventricular fibrillation and pulseless ventricular tachycardia, *Sci Rep*, 査読有、7 巻、2017、12683
DOI: 10.1038/s41598-017-13073-0

Hashikawa-Hobara N, Ogawa T, Sakamoto Y, Matsuo Y, Ogawa M, Zamami Y, Hashikawa N, Calcitonin gene-related peptide pre-administration acts as a novel antidepressant in stressed mice, *Sci Rep*, 査読有、5 巻、2016、12559
DOI: 10.1038/srep12559

Jin H, Li Z, Takatori S, Koyama T, Jin X, Zamami Y, Kawasaki H, Sun P, Vascular responses to compound 48/80 in rat mesenteric vascular beds, *Can J Physiol Pharmacol*, 査読有、94 巻、2016、620-626
DOI: 10.1139/cjpp-2015-0442

Zamami Y, Koyama T, Imai T, Takemoto A, Sagara H, Sendo T, Nakura H, Pharmaceutical Education Focused on Pharmacotherapy in Emergency Medical Care, *Yakugaku Zasshi*, 査読有、136 巻、2016、987-991
DOI: 10.1248/yakushi.15-00286-4

Zamami Y, Imai T, Imanishi M, Takechi K, Shiraishi N, Koyama T, Sagara H, Shiino Y, Sendo T, Ishizawa K, Evaluation of pharmaceutical lifesaving skills training oriented pharmaceutical intervention, *J Pharm Health Care Sci*, 査読有、2 巻、2016、21
DOI: 10.1186/s40780-016-0054-7

Tangsucharit P, Takatori S, Zamami Y, Goda M, Pakdeechote P, Kawasaki H, Takayama F,

Muscarinic acetylcholine receptor M1 and M3 subtypes mediate acetylcholine-induced endothelium-independent vasodilatation in rat mesenteric arteries, *J Pharmacol Sci*, 査読有、130 巻、2016、24 - 32
DOI: 10.1016/j.jphs.2015.12.005

〔学会発表〕(計 10 件)

Yoshito Zamami, Takahiro Niimura, Yuki Izawa-Ishizawa, Kenshi Takechi, Masaki Imanishi, Yashishi Krino, Toshimi Nakamura, Kazuhiko Teraoka, Keisuke Ishizawa, Drug repositioning research aimed at improving the survival rate of patients with cardiopulmonary arrest using large-scale medical claims database、ASHP Midyear 2017 Clinical Meeting & Exhibition(国際学会) 2017 年

新村 貴博, 座間味 義人, 石澤 有紀, 今西 正樹, 武智 研志, 福島圭穰, 堀ノ内 裕也, 池田 康将, 藤野 裕道, 土屋 浩一郎, 玉置 俊晃, 石澤 啓介, 心肺蘇生後症候群治療薬の開発を目的としたドラッグリポジショニング研究 - 大規模医療情報を活用した検討 -、第 255 回 徳島医学会学術集会、2017 年

座間味 義人, 石澤 有紀, 新村 貴博, 武智 研志, 今西 正樹, 堀ノ内 裕也, 池田 康将, 藤野 裕道, 土屋 浩一郎, 玉置 俊晃, 石澤 啓介, 臨床薬理学集中講座修了後の研究活動 ~ 大規模医療情報を活用したドラッグリポジショニング研究を中心に ~、第 38 回日本臨床薬理学会学術総会 シンポジウム S36-1 (招待講演) 2017 年

座間味 義人, 小山 敏広, 石澤 有紀, 新村 貴博, 今西 正樹, 武智 研志, 堀ノ内 裕也, 桐野 靖, 中村 敏己, 寺岡 和彦, 池田 康将, 藤野 裕道, 土屋 浩一郎, 玉置 俊晃, 石澤 啓介, 大規模医療情報を活用して心肺停止患者の生存率向上を志向したドラッグリポジショニング研究、第 27 回日本医療薬学会年会 シンポジウム S34-2 (招待講演) 2017 年

漆崎 汐里, 座間味 義人, 石澤 有紀, 新村 貴博, 武智 研志, 今西 正樹, 福島 圭穰, 堀之内 裕也, 池田 康将, 藤野 裕道, 土屋 浩一郎, 玉置 俊晃, 石澤 啓介, 大規模医療情報を活用して新規心肺蘇生後症候群治療薬の開発を志向したドラッグリポジショニング研究、第 56 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2017 年

石田 俊介, 坂本 久美子, 今西 正樹, 座間味 義人, 中村 敏己, 寺岡 和彦, 石澤

啓介、持参薬管理業務における周術期中止医薬品の管理ツール導入による効果、第 19 回日本医薬品情報学会総会・学術大会、2016 年

石澤 有紀，細岡 真由子，齋藤 尚子，堀ノ内 裕也，今西 正樹，座間味 義人，池田康将，石澤 啓介，土屋 浩一郎，玉置 俊晃、ケルセチン代謝産物 Q3GA の血管内皮膚細胞に対する短期及び長期効果の検討、第 129 回日本薬理学会近畿部会、2016 年

柴田 高洋，今西 正樹，座間味 義人，中村 敏己，寺岡 和彦，石澤啓介、外来診療棟を主とした MRSA の実態調査、医療薬学フォーラム 2016/第 24 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2016 年

座間味 義人，今西 正樹，武智 研志，小山 敏広，大島 礼子，今井徹，樋之津 史郎，狩野 光伸，石澤 啓介、ドラッグリポジショニングを切り口とした新規心肺蘇生薬の探索研究-大規模医療情報を活用した検討-、医療薬学フォーラム 2016/第 24 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2016 年

座間味 義人，今西 正樹，武智 研志，小山 敏広，大島 礼子，樋之津 史郎，狩野光伸，石澤 啓介、症例データベースを活用して新規心肺蘇生薬の開発を目指したドラッグリポジショニング研究、第 2 回日本医薬品安全性学会学術大会、2016 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

座間味 義人 (ZAMAMI, Yoshito)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・講師

研究者番号： 70550250