

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2005～2008

課題番号：17591581

研究課題名（和文）： ナノテクノロジーを用いた慢性炎症性疾患の治療法の開発

研究課題名（英文）： Development of Nano-treatment for musculoskeletal
chronic inflammation

研究代表者

中島 康晴（NAKASHIMA YASUHARU）

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：10304784

研究成果の概要：

関節リウマチに使用する各薬剤の血中半減期を測定し、また動物モデルにおいては血中濃度に加えて、関節周囲組織（滑膜、関節包、関節液）中の薬剤の分布を組織学的に検討した。パイロット分子を持ち、内核には抗リウマチ薬を封入しうるナノカプセルを試作し、関節炎モデルでの in vivo 効果を検討した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	1,500,000	0	1,500,000
2006 年度	700,000	0	700,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,600,000	420,000	4,020,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：ナノテクノロジー、慢性炎症、関節リウマチ、骨吸収、関節破壊

1. 研究開始当初の背景

従来の薬物治療は血中濃度を上昇させることにより、標的部位への薬物到達を達成させてきたが、全身的な薬物濃度の上昇は種々の副作用の原因となり、治療を困難なものとする。必要な薬物を必要な量だけ必要な病変に送達することが理想であり、不必要な部位への薬物の影響を減少させることが望まれる。関節リウマチなどの慢性炎症性疾患に対し

ては、抗リウマチ薬や生物学的製剤の全身投与が薬物治療の中心である。しかし、その中には副作用の頻度の高い薬剤も多く、治療には副作用のモニタリングが不可欠である。そのため、主たる病変に治療薬を高濃度に到達させることができれば、副作用を軽減し、安全に治療を行うことができる。慢性炎症性疾患に対してはアルブミンの結合させた薬剤の徐放システムの基礎実験の報告が有るのみであり、ナノテクノロジーを用いた病変特異的治療は臨床的にも基礎的

にも報告は少ない。本研究はナノカプセルに炎症部位への指向性を持たせ、従来法では実現できなかったような効率のよい薬剤の送達を可能にする。

また、炎症部位への効率の良い薬剤集積が実現できれば、安全で効果的な治療を可能とし、副作用や医療費の減少が期待される。また他の炎症性疾患や関節疾患（変形性関節症など）の治療への応用も可能とする

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は関節リウマチや人工関節周囲骨溶解などの慢性炎症性疾患に対する薬物治療をより安全に効率的に行う治療法の開発である。必要な薬物を必要な量だけ必要な病変に送達することが理想であり、不必要な部位への薬物の影響を減少させることが望まれる。ナノテクノロジーを応用して関節リウマチにおける関節炎などの炎症部位に効率的に薬物の送達を可能とするナノ医療（ナノ粒子、ナノカプセル）を開発することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

以下の項目での検証を行い、結果を得ていない部分では現在、研究を進めている。

(1) 臨床例および動物における各薬剤の血中濃度半減期、および関節組織周辺の濃度の検討

(2) ナノカプセルのデザインとその検証

(3) 動物モデルでの効果検証

(4) 動物モデルでの安全性評価

(1) 臨床例および動物における各薬剤の血中濃度半減期、および関節組織周辺の濃度の検討

臨床例において、各抗リウマチ薬（レフルノマイド、メソトレキセートおよびアレンドロネート、インフィリキシマブ）の血中半減期を投与後の定時的採血を行い、測定した。下記動物関節炎モデルに上記薬剤を投与し、血中および関節周囲組織中の分布や濃度測定可能な部位では、その濃度を測定した。

(2) ナノカプセルのデザインとその検証

カプセル径：炎症部位では血管透過性が上昇しており、その部分で血管壁を通過できる程度の径、即ち 20～100nm 程度の大きさにする。

パイロット分子の構造：カプセルの表面のパイロット分子に type I および type II collagen 中の matrix metalloproteinase (MMP)-8 および 9 が認識するペプチド数種類をそれぞれペグとして標識する。内核にはレフルノマイド、メソトレキセートおよびアレンドロネートを封入する。

(3) 動物モデルでの効果検証

マウス動物モデルの作成：正常マウス、type II コラーゲンにて感作させた関節炎モデルマウス、チタン合金摩耗粉で作成した頭蓋骨吸収モデルマウスを準備する。

正常マウスに上記蛍光色素にて標識したナノカプセルを静脈注射し、一定時間の後、屠殺する。各種臓器および関節の切片を作成し、共焦点レーザー顕微鏡にてナノカプセルの同在を検討する。また静脈血を採取し、血液中の各種薬剤の濃度を測定する。さらに関節炎および頭蓋骨吸収モデルマウスにナノカプセルを静脈内投与し、それぞれの病変への同在を病理組織学的に検討する。

薬剤効果および安全性の検討

関節炎モデルでの効果の判定：レフルノマイドおよびメソトレキセートを封入したナノカプセルを使用する。マウス足関節の大きさや腫脹の程度など関節炎スコアをつけて観察する。また病理切片を作成し、病理組織学に検討する。

頭蓋骨吸収モデルでの効果判定：アレンドロネート封入ナノカプセルを使用する。マウスへの投与後、頭蓋骨を病理組織学的に検討する。定量を目的に骨吸収部位の面積をコンピューター上で測定し、対照群と比較する。

ナノカプセル薬剤量と全身投与量の比較：各薬剤溶解液を静脈内投与し、同じ程度の抗関節炎作用または骨吸収抑制作用を示す薬剤の量とナノカプセルでの封入量と比較を行う。

安全性の検討：ナノカプセルや各薬品の安全性はマウスの体重および死亡例などを確認することで行う。

A: 関節リウマチの動物モデル：関節炎モデルとしてII型コラーゲンにて感作したコラーゲン関節炎マウスを用いる予定である。

4. 研究成果

(1) 各薬剤の血中濃度および動物モデルにおける薬剤の分布

ヒトにおける各薬剤の血中濃度はメソトレキセートにおいて分布相で1-2時間、排泄相で5-10時間程度であった。インフリキシマブでは約8日、エタネルセプトでは2日程度であった。

動物モデルにおける免疫染色では、血管周囲に染色される部位が散見され、滑膜内でもっとも陽性である部分を認めた。

(2) パイロット分子を持ち、内核には抗リウマチ薬を封入しうるカプセルを試作した。

動物モデルにおいては、関節内に薬剤の証明はできるものの、全身投与群で有意に関節炎を抑制したのに対し、カプセル使用群で関節炎抑制効果が有意に少なかった。

高効率に関節内に分布するカプセルの開発に取り組んでいる。

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5件)

中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一, 貝原信孝, 山田久方, 堀亜希子, 前田健, 吉澤誠司, 首藤敏秀, 岩本幸英
抗TNF療法の荷重関節に対する効果
リウマチ科, 38(5): 458-463, 2007

中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一, 山田久方, 小山田亜希子, 岩本幸英, 都留智己
RAにおける手指・足趾関節破壊と生物学的製剤による抑制効果
九州リウマチ 28(2):70-74, 2008

Yamada H, Nakashima Y, Okazaki K, Mawatari T, Fukushi JI, Kaibara N, Hori A, Iwamoto Y, Yoshikai Y

Th1 but not Th17 cells predominate in the joints of patients with rheumatoid arthritis.

Ann Rheum Dis 67(9):1299-1304, 2008

Kaibara N, Yamada H, Shuto T, Nakashima Y, Okazaki K, Miyahara H, Esaki Y, Hirata G, Iwamoto Y

Comparative histopathological analysis between tenosynovitis and joint synovitis in rheumatoid arthritis.

Histopathology 52(7):856-864, 2008

Mawatari T, Miura H, Hamai S, Shuto T, Nakashima Y, Okazaki K, Kinukawa N, Sakai S, Hoffmann PF, Iwamoto Y, Keaveny TM

Vertebral strength changes in rheumatoid arthritis patients treated with alendronate, as assessed by finite element analysis of clinical computed tomography scans: a prospective randomized clinical trial.

Arthritis Rheum 58(11):3340-3349, 2008

[学会発表](計6件)

第52回日本リウマチ学会総会・学術集会, 第17回国際リウマチシンポジウム

RAにおける関節予後の検討 -インフリキシマブとMTX使用例の比較-

中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一, 山田久方, 堀亜希子, 吉澤誠司, 都留智己, 首藤敏秀, 岩本幸英

(2008年4月23日発表)

MRIによる関節軟骨基質評価法の関節リウマチへの応用

岡崎 賢, 中島康晴, 馬渡太郎, 福士純一, 岩本幸英

(2008年4月21日発表)

第21回日本軟骨代謝学会

関節炎患者に対する造影MRIによる関節軟骨基質変性の評価

岡崎 賢, 中島康晴, 馬渡太郎, 福士純一, 岩本幸英

(2008年3月21日発表)

第 37 回リウマチの外科研究会
インフリキシマブによる関節破壊抑制効果の
検討
中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一,
山田久方, 吉澤誠司, 首藤敏秀, 都留智巳,
岩本幸英
(2008 年 8 月 23 日発表)

第 81 回日本整形外科学会学術総会
インフリキシマブによる RA の荷重関節破壊抑
制効果の検討
中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一,
山田久方, 堀 亜希子, 吉澤誠司, 首藤敏秀,
前田 健, 岩本幸英
(2008 年 5 月 22 日発表)

第 35 回九州リウマチ学会
生物学的製剤による RA の関節破壊抑制効果の
検討
中島康晴, 岡崎 賢, 馬渡太郎, 福士純一,
山田久方, 堀亜希子, 首藤敏秀, 岩本幸英
(2008 年 9 月 6 日発表)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中島 康晴 (NAKASHIMA YASUHARU)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：10304784

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

山田 久方 (YAMADA HISAKATA)
九州大学・生体防御医学研究所・准教授
研究者番号：20591783

片山 佳樹 (KATAYAMA YOSHIKI)
九州大学・工学研究院・教授
研究者番号：70284528