

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860563

研究課題名(和文) PGI2封入ナノ粒子を用いた肺高血圧症の新規治療法の開発

研究課題名(英文) New therapy for pulmonary hypertension using prostaglandin I2 incorporated nanoparticles

研究代表者

赤木 達 (AKAGI, Satoshi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：60601127

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)：PGI2誘導体であるベラプロストを封入したナノ粒子を作成し、肺高血圧モデルのSugen/hypoxia及びモノクロタリンラットの気管内に単回投与し、2週間後に右室収縮期圧、右室肥大、肺血管リモデリングの程度をPBS及びFITC封入ナノ粒子と比較した。いずれのモデルにおいても、ベラプロスト封入ナノ粒子投与群では、PBS及びFITC封入ナノ粒子群と比較して有意な右室収縮期圧や右室肥大の低下、肺血管リモデリングの改善がみられた。またモノクロタリンモデルラットでは生存率に関しても検討し、ベラプロスト封入ナノ粒子投与群では、他群と比較して有意な生存率の改善がみられた。

研究成果の概要(英文)：We prepare the beraprost incorporated nanoparticles (BPS-NPs) and investigated the effects on pulmonary hypertension in Sugen-hypoxia and monocrotaline rat models of pulmonary arterial hypertension (PAH). We examined the right ventricular systolic pressure (RVSP), right ventricular hypertrophy (RVH) and pulmonary vascular remodeling 2 weeks after the intratracheal administration of PBS, FITC incorporated nanoparticle (FITC-NPs) and BPS-NPs. BPS-NPs significantly decreased RVSP, RVH and pulmonary vascular remodeling compared with PBS and FITC-NPs in Sugen-hypoxia and monocrotaline rat models. Furthermore, BPS-NPs significantly improved survival rate compared with PBS and FITC-NPs in monocrotaline rat models.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ベラプロスト封入ナノ粒子 sugen/hypoxiaラット モノクロタリンラット 気管内投与 肺高血圧

## 1. 研究開始当初の背景

特発性肺動脈性高血圧症は、肺動脈収縮、肺血管内皮細胞及び平滑筋細胞の過増殖による血管リモデリング、血栓形成により著明な肺動脈圧の上昇をきたす疾患である。この病態には、血管拡張因子であるプロスタグランジン I<sub>2</sub>(PGI<sub>2</sub>)と NO の産生低下、及び血管収縮因子であるエンドセリンの上昇が関与している。そのためこれら 3 因子に対する薬剤が開発され、PGI<sub>2</sub> 製剤、エンドセリン受容体拮抗剤、NO の産生を上げるホスホジエステラーゼ 5 阻害剤が治療薬として登場した。

これらの薬剤はいずれも肺動脈拡張作用を持ち、運動耐用能や血行動態を改善させるが、長期予後を改善するのは PGI<sub>2</sub> 製剤のみである。さらに我々はこの PGI<sub>2</sub> 製剤を高用量用いて治療することにより、著しい肺動脈圧の低下をもたらされることを報告した(Akagi et al. Circ J 2010)。またその機序を調べるため基礎実験を行い、PGI<sub>2</sub> 製剤が肺動脈平滑筋細胞のアポトーシスを誘導し、肺血管リモデリングを改善させることを報告した(Akagi et al. Int J Cardiol 2011)(Akagi et al. JC Cases 2014)。

一方で PGI<sub>2</sub> 製剤は半減期が非常に短いため中心静脈カテーテルを用いた経静脈的な投与が必要である。そのためカテーテル感染や破損などのカテーテル関連合併症が問題となる。また PGI<sub>2</sub> 製剤を毎日患者自身で溶解し、ポンプにセットするため、QOL や活動性の低下が懸念される。そのため PGI<sub>2</sub> 製剤を非カテーテル的に投与することができれば、カテーテルに関連した問題点を解決でき、かつ PGI<sub>2</sub> の効果を最大限に享受できると考えられる。

物質をナノサイズにするナノテクノロジーは工学や化学の分野だけでなく、医学の分野でも応用が進んでいる。ナノ粒子はその小さなサイズにより 標的臓器への特異的な取り込み、エンドサイトーシス効率の上昇、経口、経皮、吸入など様々投与方法が可能といった特性を持つため、ドラッグデリバリーシステムとして期待できる。この技術を用いれば PGI<sub>2</sub> 製剤を非カテーテル的に投与することが可能になると考えられる。

## 2. 研究の目的

PGI<sub>2</sub>(ベラプロスト)を封入したナノ粒子(BPS-NPs)を作成し、肺高血圧モデルラットの気管支内に投与し、肺動脈圧、右室肥大、肺血管リモデリング、生存率の改善がみられるかを検討すること。

## 3. 研究の方法

### BPS-NPs の作成

BPS-NPs はホソカワミクロン株式会社に依頼し作成する。用いた NPs は乳酸・グリコール酸共重合体で、これは生体内で加水分解され最終的に水と二酸化炭素になる。

### 肺高血圧モデルラットの作成と方法

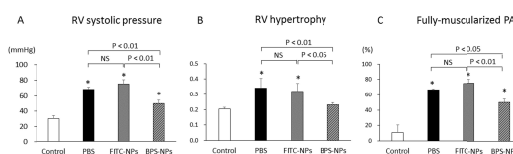
2 種類の肺高血圧モデルラットを作成する。一つは VEGF 受容体拮抗剤を 1 回皮下注射し、その後 3 週間 10%酸素下に飼育して肺高血圧となる SUGEN モデルラット(SuHx)である。そのモデルラットに BPS-NPs を気管内投与し、投与 2 週間後に右室収縮期圧を動物用カテーテルを用いて測定する。また同時に得られた心臓検体や肺組織検体を用いて、右室肥大や肺血管リモデリングの程度を調べ、PBS や FITC を封入したナノ粒子(FITC-NPs)を投与した群と比較する。右室肥大は右室/左室重量比で検討する。肺血管リモデリングは、肺動脈中膜の肥厚した血管数を測定する。もう一つはモノクロタリンを 1 回皮下注射し、2-3 週間後に肺高血圧となるモノクロタリンモデルラット(MCT)である。モノクロタリン投与 2 週間後に BPS-NPs を気管内投与し、投与 2 週間後に右室収縮期圧を動物用カテーテルを用いて測定する。また SUGEN モデルと同様に、同時期に得られた心臓や肺の検体を用いて右室肥大、肺血管リモデリングの程度を、BPS-NPs, FITC-NPs, PBS 群で比較検討する。またこのモデルでは生存率も検討する。

## 4. 研究成果

### SuHx モデルラットでの結果

BPS-NPs 粒子投与群では、PBS 及び FITC-NPs 群と比較して、有意な右室収縮期圧の低下がみられた(PBS: 68.0±2.9 mmHg, FITC-NPs: 75.3±5.3 mmHg, BPS-NPs: 49.5±4.3 mmHg Figure 1A)。右室肥大も BPS-NPs 群で他群と比較して有意な改善がみられた(PBS: 0.34±0.06, FITC-NPs: 0.32±0.05, BPS-NPs: 0.23±0.01, Figure 1B)。また肺血管リモデリン

Figure 1

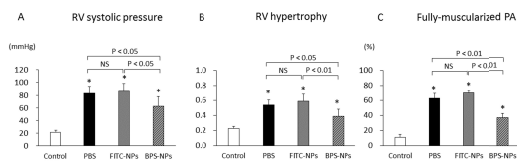


グも BPS-NPs 群で他群と比較して改善がみられた(中膜肥厚した血管の割合: PBS: 67±0.8%, FITC-NPs: 75±5.1%, BPS-NPs: 51±4.5%, Figure 1C)。

### MCT モデルラットでの結果

BPS-NPs 粒子投与群では、PBS 及び FITC-NPs 群と比較して、有意な右室収縮期圧の低下がみられた(PBS: 83.9±11.0 mmHg, FITC-NPs: 86.6±13.3 mmHg, BPS-NPs: 62.7±15.3 mmHg Figure 2A)。右室肥大も BPS-NPs 群で他群と比較して有意な改善がみられた(PBS: 0.54±0.07, FITC-NPs: 0.59±0.09, BPS-NPs: 0.39±0.09, Figure 2B)。また肺血管リモデリングも BPS-NPs 群で他群と比較して改善がみられた(中膜厚化した血管の割合: PBS: 63±7%, FITC-NPs: 70±3%, BPS-NPs: 37±6%, Figure 2C)。

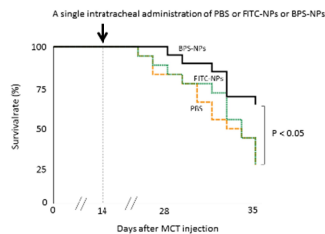
Figure 2



### 生存率に関する検討

モノクロタリンモデルでは生存についても検討した。BPS-NPs 群では、PBS 及び FITC-NPs 群と比較して有意な生存率の改善がみられた(PBS: 27.8%: FITC-NPs: 27.8%: BPS-NPs: 65.0%)(Figure 3)。

Figure 3



以上のことから BPS-NPs の気管内投与は、SuHx モデルラット及びモノクロタリンモデルラットにおいて、肺高血圧、右室肥大、血管リモデリングの改善をもたらすことが明らかとなった。

その後、このような結果が得られた機序を肺移植患者より得られたヒト肺動脈平滑筋細胞を用いて検討している。我々は PGI<sub>2</sub> 製剤がアポトーシスを誘導することを報告しており、同様の効果があるか調べる。また肺高血圧症の肺動脈平滑筋細胞は過剰増殖するため、BPS-NPs に平滑筋細胞の増殖抑制効果があるか検討する。さらに BPS-NPs の気管内投与が、他臓器へ障害を起こさないか、また肺や肺以外への臓器への取り込みはどれくらいであるか、血中の BPS 濃度はどれくらいであるか。今後調べていく予定である。

### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Satoshi Akagi, Kazufumi Nakamura, Hiromi Matsubara, Tetsuya Matoba, Kensuke Egashira, Hiroshi Itoh, Intratracheal Administration of Prostacyclin Analog-incorporated Nanoparticles Ameliorates the Development of Monocrotaline and Sugen/Hypoxia-induced Pulmonary Arterial Hypertension, 第 80 回日本循環器学会総会, 仙台国際センター (宮城県 仙台市), 2016 年 3 月 17 日
2. 赤木 達, 中村一文, 松原広己, 伊藤 浩, プロスタサイクリン誘導体封入ナノ粒子を用いた新規肺高血圧治療法の開発, 第 105 回日本循環器学会中国地方会, ANA クラウンプラザホテル宇部 (山口県 宇部市), 2014 年 12 月 6 日
3. 赤木 達, 中村一文, 更科俊洋, 江頭健輔, 伊藤 浩, PGI<sub>2</sub> 封入ナノ粒子を用いた肺高血圧症の新規治療法, 第 2 回日本肺高血圧学会/第 3 回日本肺循環学会合同学術集会, 大手町サンケイプラザ(東京都 千代田区), 2014 年 10 月 3 日
4. S Akagi, K Nakamura, H Matsubara, H Ito, Intratracheal administration of prostacyclin analog-incorporated nanoparticles ameliorates the development of monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension in rats, ESC CONGRESS 2014,バルセロナ (スペイン), 2014 年 8 月 30 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤木 達 (AKAGI, Satoshi)  
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：60601127