

令和元年6月20日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10628

研究課題名(和文) オキシム誘導体ナノパーティクルによる心筋再生効果の検討

研究課題名(英文) OXM-NP Produce Cardioprotective Effects

研究代表者

福島 五月 (FUKUSHIMA, SATSUKI)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長

研究者番号：80596867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：OXM-NP投与では、投与後24時間後、OXM単独投与と比較し、血漿中OXM濃度が有意に高く、心筋では虚血部位において有意に高い濃度であった。心臓MRIでは、虚血心筋、特に心内外膜層への特異的集積性が証明された。また、虚血部位では非虚血部位と比較して約11倍のOXM-NPの集積を認めた。分子生物学的検査では、血管新生性サイトカイン発現の増加、抗炎症性サイトカイン発現の低下を認めた。組織学的検討では、心筋虚血部位において血管内皮細胞数の保持、多角白血球の集積低下、心筋肥大の抑制を認め、梗塞巣の縮小を認めた。アンモニアPET検査では虚血周辺領域の血流の増加を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、OXMを含有するNP(OXM-NP)をラット心筋虚血再灌流モデルに経静脈投与することにおいて、心筋虚血部位にOXM-NPが特異的に集積し、血管新生効果、抗炎症効果を介して心保護効果を発揮することが証明された。本研究結果を元とし、OXM-NPの最適な投与方法・投与量・対象疾患を同定し、前臨床試験、安全性試験および医師主導型治験の基礎データとする。本製剤は、様々な体内再生因子を持続的に放出させるという薬理作用から、心血管疾患だけでなく、各種難治性の呼吸器疾患、虚血性疾患、神経変性疾患、腎臓・肝臓疾患等々の疾患モデルに効果的である可能性を有しており、今後の発展性は高いものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Intravenously injected OXM containing nanoparticles (OXM-NP), unlike an OXM-solution, selectively accumulated in the ischemia/reperfusion (I/R)-injured myocardium of rats and contributed to the prolonged retention of OXM in the targeted myocardial tissue. In the ischemic area, proangiogenic cytokines were up-regulated and inflammatory cytokines were down-regulated upon ONO-1301NP administration. Consequently, ONO-1301NP-injected rats exhibited a smaller infarct size, better-preserved capillary networks, and a better-preserved myocardial blood flow at 24 h after ischemia reperfusion injury, compared with those in vehicle-injected or ONO-1301 solution-injected rats. OXM-NP attenuate the myocardial ischemia reperfusion injury via proangiogenic and anti-inflammatory effects of the drug.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：プロスタサイクリン ナノパーティクル 心筋虚血再灌流傷害 心筋再生効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

当科では重症心不全に対する治療として、心臓移植・人工心臓・再生医療の3つの治療の開発と推進に携わってきたが、再生医療は特に発展性の高い治療として集中的に研究開発を行っている。心臓再生に向けたアプローチとして、骨格筋芽細胞を中心とした体性幹・前駆細胞移植治療の開発を臨床研究を含めて縦断的に行ってきたが、本治療のメカニズムとして、不全心筋内において種々の心保護因子の発現を向上させることが治療効果に繋がるということが判明してきた。一方、既に小野薬品工業にて血小板凝集抑制剤として開発途上であったオキシム誘導体(OXM)製剤は、プロスタグランジン骨格を有さずかつトロンボキサン(TX)A2合成酵素阻害作用を有する選択的プロスタグランジンIP受容体作動薬であり、IP受容体を恒常的に発現する線維芽細胞や血管内皮細胞に作用して同様の心保護因子を誘導することが報告され、Drug Repositioningによる心臓再生薬剤としての可能性が報告されてきた。

体性幹・前駆細胞の心臓への移植は、移植された細胞が一定期間心臓に留まり、これを発信源として種々の心保護因子が数週間にわたり不全心筋内において持続的に強発現することが治療効果に繋がることが証明されている。一方、OXMは単回投与により一時的に線維芽細胞や血管内皮細胞より心保護因子の発現を亢進させるが、効果の持続期間は限られている。そこで、OXMの化学的に安定かつ薬剤耐性を生じにくいという特性を利用して、これを生分解性成分である乳酸・グリコール酸共重合体(PLGA)マイクロスフェアに含有させることで、3ヶ月徐放剤であるYS-1402製剤を作成し特許を取得した上で、これを心臓に直接貼付するというセルフリー型の外科的心臓再生治療を開発してきた。本治療により、心筋においてのみ作用物質を長期間高濃度に維持することで、体性幹・前駆細胞移植治療とほぼ同等の治療効果が得られることが証明され、医師主導型治験を遂行中である。一方、YS-1402の心臓貼付治療は、侵襲度が高いことから冠動脈バイパス手術など、心臓手術時に同時に施行することが理想的と考えられるが、単回投与にならざるを得ず、経過の長い心不全を治療する上では、治療効果の持続性が懸念となる。

一方近年、様々な手法で作成した人工的な顆粒であるナノパーティクル(NP)を、経静脈的投与すると、血管バリアが脆弱となっている微小血管より受動的に組織に取り込まれることが証明されてきた。この特性を利用して、薬剤を含有したNPを経静脈投与することで、癌など脆弱な微小血管を有する病的な部位に、薬剤を特異的に集積させ作用させるというDrug-Delivery-System(DDS)が開発されてきた。さらに、急性心筋梗塞モデルにおいても、薬剤含有NPが虚血梗塞部位に集積するという報告が散見されるようになり、薬剤含有NPの経静脈あるいは経冠動脈的投与は心血管疾患に対する新規DDSとして期待されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、当OXMを含有させたOXM-NPを作成し、虚血再灌流心筋傷害モデルに経静脈的に投与することで、OXM-NPの心筋への集積とそのメカニズム、さらには治療効果とそのメカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

SDラットの左前下行枝を30分間虚血にし、その後解放することで心筋虚血再灌流を誘導し、虚血再灌流と同時に尾静脈よりNP製剤の静注を行う動物モデルを作成した。まず、直径40-100nmのリポソームにGdを内包したNPを静脈注入することで、心臓MRIにて心筋虚血部位、非虚血部位における局所特異的集積性を証明し、同時に心筋中及び血漿中及び薬剤濃度を検証し、薬剤の経時的な心筋組織、特に虚血心筋への移行を証明するとともにその半減期の延長を証明した。同様に蛍光物質で標識しOXM-NPを静脈注入することで、細胞内分布を蛍光顕微鏡で定量的に明らかにした。続いて、OXM-NPを静脈注入する疾患治療モデルにおいて、分子生物学的検査にて血管新生性及び抗炎症性サイトカインの遺伝子発現を、組織学的検討にて血管新生効果、抗炎症効果を証明する。最後にアンモニアPET検査を用いて心筋血流の増加を定量的に証明した。

4. 研究成果

Gd内包NP投与24時間後の心臓MRIにおいて、虚血心筋、特に心内外膜層への特異的集積性が証明された。蛍光物質で標識したOXM-NPの検討では、投与24時間後において虚血部位では非虚血部位と比較して約11倍のOXM-NPの集積を認めた。OXM-NP投与ではOXM単独投与と比較し、投与後24時間後の血漿中OXM濃度が有意に高く、心筋では特に虚血部位において有意に高い濃

度であった。OXM-NPの半減期は、血漿中で13.2時間、虚血心筋では23.8時間、非虚血心筋では20.5時間であった。分子生物学的検査では、OXM-NP投与群において血管新生性サイトカイン発現の増加(VEGF、Ang-1)、抗炎症性サイトカイン発現の低下(IL-1b、IL-6、TNF-a)を認めた。組織学的検討では、OXM-NP投与群において血管内皮細胞数が保持されており、多角白血球の集積低下を認め、虚血部位における心筋肥大の抑制、そして梗塞巣の縮小を認めた。アンモニアPET検査では、OXM-NP投与24時間後においてOXM-NPを投与した群では虚血周辺領域の血流の増加を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Shin Yajima, Shigeru Miyagawa, Satsuki Fukushima, Yoshiki Sakai, Hiroko Iseoka, Akima Harada, Kayako Isohashi, Genki Horitsugi, Yuki Mori, Motoko Shiozaki, Hirotatsu Okawara, Ryoto Sakaniwa, Jun Hatazawa, Yoshichika Yoshioka, Yoshiki Sawa; Prostacyclin Analog-Loaded Nanoparticles Attenuate Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. Journal of American College of Cardiology Basic to Translational Science. In press.

〔学会発表〕(計 3 件)

・ Shin Yajima, Shigeru Miyagawa, Satsuki Fukushima, Kayako Isohashi, Akima Harada, Hiroko Iseoka, Motoko Shiozaki, Hirotatsu Okawara, Hayato Ikeda, Genki Horitsugi, Jun Hatazawa, Yoshiki Sawa; Intravenous Injection of Liposome-Based Nanoparticles Containing a Novel Prostacyclin Analogue Selectively Targets Ischemia-Reperfused Myocardium to Enhance Angiogenesis and Functional Recovery in Rat. American Heart Association Scientific Meeting 2016

・ Shin Yajima, Shigeru Miyagawa, Satsuki Fukushima, Yoshiki Sakai, Kayako Isohashi, Hiroko Iseoka, Akima Harada, Motoko Shiozaki, Genki Horitsugi, Jun Hatazawa and Yoshiki Sawa; A Prostacyclin Analogue-incorporated Nanoparticles Attenuates Ischemia Reperfusion Injury in Rat Heart. American Heart Association Scientific Meeting 2017

・ 矢嶋真心、宮川繁、福嶋五月、酒井芳樹、伊勢岡弘子、塩崎元子、大河原弘達、原田明希摩、森勇樹、吉岡芳親、澤芳樹; Injection of Nanoparticle-Prostacyclin Analogue Produces Cardioprotective Effect in a Rat I/R Model. 第16回日本再生医療学会。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。