

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10748

研究課題名(和文) 抗炎症性脂質を内包化したナノ粒子による血管疾患治療における新たな治療戦略開発

研究課題名(英文) Development of nanoparticles including anti-inflammatory phospholipids for novel treatment strategy of vascular diseases

研究代表者

赤木 大輔 (AKAGI, DAISUKE)

東京大学・医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：20464753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：血管疾患は炎症を基盤とするものが多い。また、血管外科手術治療であるバイパス手術や血管内治療後に惹起される内膜肥厚はグラフトの開存などの治療成績を損なう大きな問題であるが、炎症がそのメカニズムの基盤となっている。その制御のために抗炎症脂質や核酸(マイクロRNAなど)などの抗炎症物質に注目した。抗炎症物質の血管平滑筋細胞への作用や抗炎症物質を内包したナノ粒子を作成し検討した。平滑筋細胞に対する抗炎症作用も示した。内膜肥厚動物モデルをはじめとする血管外科治療モデルにおいて治療効果も検討された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管外科治療後内膜肥厚の制御法は画期的な方法がなく現在も様々な薬をはじめとする治療法が開発中である。本研究は、抗炎症作用に注目した新規創薬/新たなドラッグデリバリーシステム(DDS)構築などの基礎となるものであり、内膜肥厚制御システムの確立に大きく前進するのみならず、炎症性疾患一般の制御に応用可能性があり意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Neointimal hyperplasia caused by bypass surgery or endovascular treatment is a major problem that impairs therapeutic results such as patency of the graft. The basic mechanism is inflammation. To control this, nanovectors containing an anti-inflammatory lipid were prepared and examined. In addition, we also prepared nanovectors containing nuclear acid which shows an anti-inflammatory effect were also prepared and examined. We showed an anti-inflammatory effect of these nanovectors on smooth muscle cells. In animal models with neointimal hyperplasia they are showing to suppress neointimal hyperplasia.

研究分野：血管外科学、ナノマテリアル、Drug delivery system

キーワード：ナノ粒子 抗炎症作用 内膜肥厚 血管外科 Drug delivery system

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1) 内膜肥厚による再狭窄の病態—局所炎症制御による新規治療の可能性

血行再建術後の内膜肥厚は動脈吻合部やバルーン血管形成術後部位（いわゆる血管傷害部）に起こる。このメカニズムはまだ不明な点が多いが、炎症を基盤とし、現象として血管平滑筋細胞の遊走と増殖が起こっていることは既知となってきた。炎症反応そのものについても従来は受動的に消退するものと考えられていたが、近年は炎症反応の収束は能動的に起こっていることが明らかとなってきた(Serhan CN et al. Nat Immunol 2005)。動脈硬化性疾患や術後再狭窄などの血管外科疾患は炎症反応を基盤としており炎症制御の点から治療法を検討することは、実際の治療アルゴリズム構築の道を開くものと考えられる。ただし、抗炎症物質の抗炎症脂質メディエーターは白色粉末の形態で試薬として市販はされているが(Cayman, MA, USA)、水溶性に乏しく100%エタノールで溶解することが必要である。またエタノールに溶解したresolvinやmaresin-1投与直前に希釈することが可能ではあるが、光に対し不安定で分解されやすく室温でも分解されやすい。投与可能で安定した状態を製剤化することが実際には必要であるがなされていない。また、抗炎症作用を示すものとして核酸マイクロRNAなどが注目されているが、血中ではRNaseにより容易に分解される。抗炎症作用物質を治療システムに応用するためには疾患部位特異的かつ安定的なDrug Delivery System(DDS)が必要と考えられる。抗炎症作用物質を内包化したナノ粒子による疾患部位特異的なDrug Delivery System(DDS)が血管疾患制御に必要と考えられ、検討と応用に値すると考えられる。

2. 研究の目的

血管外科治療/血管疾患治療における再狭窄、内膜肥厚や動脈硬化、血管疾患は炎症を基盤としている。局所炎症の適切な制御による治療システムの構築を最終目的とした。

血行再建術後の内膜肥厚は動脈吻合部やバルーン血管形成術後部位（いわゆる血管傷害部）に起こる。このメカニズムはまだ不明な点が多いが、炎症を基盤とし、現象として血管平滑筋細胞の遊走と増殖が起こっていることは既知となってきた。抗炎症作用を示す物質として抗炎症脂質メディエーターや核酸医薬に着目した。これらの抗炎症物質の、血管平滑筋細胞や血管疾患動物モデルで作用を検討した。用いたナノ粒子は生体適合性のあるポリエチレングリコール外殻を持っており、物質としての安定性はもちろん血中安定性があることが期待される。また、粒径から透過性の亢進した血管壁を通じ炎症巣に集積しやすいことも期待される。これらの物性の確認を行った。その上で抗炎症作用物質を内包化したナノ粒子による作用を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) In vivo 内膜肥厚モデルにおける抗炎症脂質レゾルビンD1 (RvD1) およびプロテクチンD1(PD1)の治療効果

血管傷害モデルとしてラット頸動脈バルーン傷害モデルを用いる。PD1を尾静脈より全身投与し、傷害後14日に採取された頸動脈の病理組織学的検討にて内膜肥厚制御効果を検討した。

(2) 抗炎症脂質の一つであるD群レゾルビン(RvD)のポリエチレングリコール(PEG)修飾の検討 抗炎症脂質であるレゾルビンD2をエステル化反応にてPEGとの重合体を形成させた。

(3) In vivo 末梢動脈急性閉塞症モデルにおけるミセル型ベクターの最適化の検討

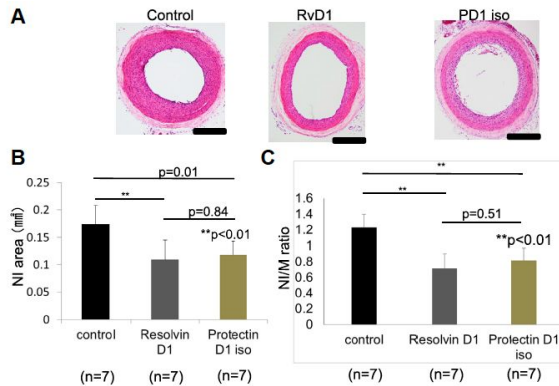
20nm, 100nm, 200nmのナノ粒子を調整し、ラット下肢動脈結紮急性下肢動脈虚血モデルにおいて虚血となる筋組織における集積性を検討した。

(4) 抗炎症作用を示すとされるマイクロRNAを、炎症を惹起した血管平滑筋細胞において抗炎症作用を検討した。TNF- α にて炎症を惹起した血管平滑筋細胞にマイクロRNAをトランスフェクションしRT-PCR法にてサイトカイン発現をメッセンジャーRNA発現レベルでコントロールと比較した。

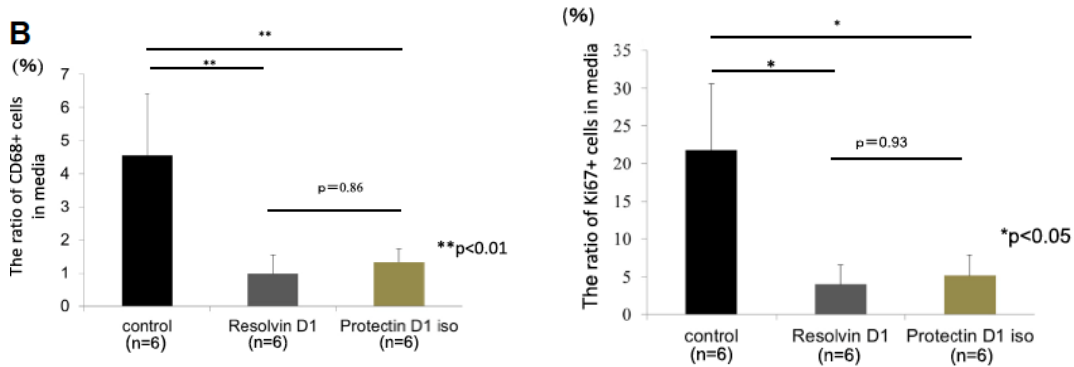
(6) In vivo 内膜肥厚モデルにおいて抗炎症作用マイクロRNA内包ナノ粒子の内膜肥厚抑制効果を検討した。(1)同様血管傷害モデルとしてラット頸動脈バルーン傷害モデルを用いる。PD1を尾静脈より全身投与し、傷害後14日に採取された頸動脈の病理組織学的検討にて内膜肥厚制御効果を検討した。

4. 研究成果

(1) RvD 1 および PD1 は全身投与で内膜肥厚を抑制した.

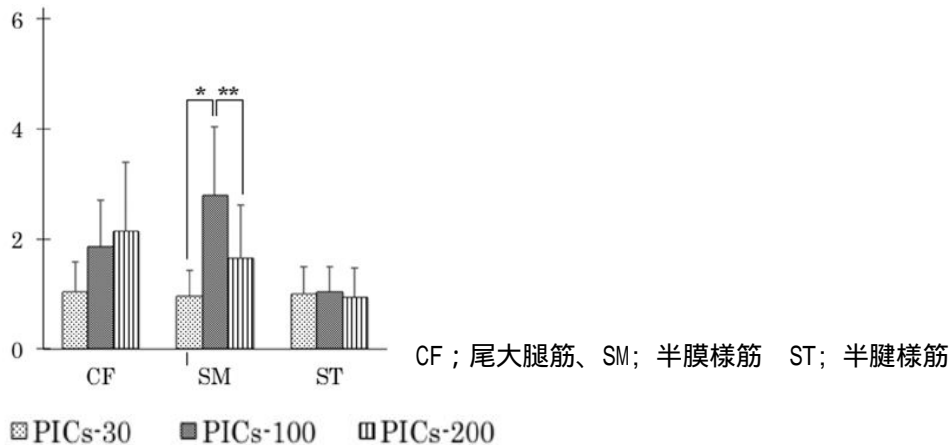


そのメカニズムとして細胞増殖の抑制や炎症細胞浸潤の抑制が示唆された。



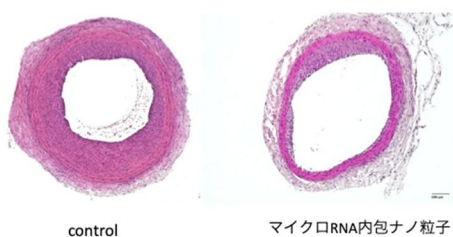
(2) PEG と RvD 2 のエステル化反応による合成を行なった。RvD はミセル型ナノ粒子を形成したが収率に問題が残った。

(3) 粒径 100nm のミセル型ナノ粒子は急性動脈閉塞動物モデルにおいて虚血となった筋組織に有意に集積した。



(4) 抗炎症作用を示すマイクロ RNA により炎症を惹起した血管平滑筋細胞において MCP-1 発現を抑制し、抗炎症作用を示した。

(5) In vivo 内膜肥厚モデルにおいて、抗炎症作用マイクロ RNA 内包ナノ粒子は内膜肥厚抑制効果を示す可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suhara Masamitsu, Miura Yutaka, Cabral Horacio, Akagi Daisuke, Anraku Yasutaka, Kishimura Akihiro, Sano Masaya, Miyazaki Takuya, Nakamura Noriko, Nishiyama Ayako, Kataoka Kazunori, Koyama Hiroyuki, Hoshina Katsuyuki	4. 巻 286
2. 論文標題 Targeting ability of self-assembled nanomedicines in rat acute limb ischemia model is affected by size	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 394 - 401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2018.07.049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Makino Y, Miyahara T, Nitta J, Miyahara K, Seo A, Kimura M, Suhara M, Akai A, Akagi D, Yamamoto K, Hoshina K.	4. 巻 233
2. 論文標題 Proresolving Lipid Mediators Resolvin D1 and Protectin D1 Isomer Attenuate Neointimal Hyperplasia in the Rat Carotid Artery Balloon Injury Model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Surg Res.	6. 最初と最後の頁 104-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jss.2018.07.049.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akagi D, Hoshina K, Akai A, Yamamoto K.	4. 巻 59
2. 論文標題 Outcomes in patients with critical limb ischemia due to arteriosclerosis obliterans who did not undergo arterial reconstruction.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int Heart J.	6. 最初と最後の頁 1041-1046.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.17-592.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akagi D, Hoshina K, Watanabe T, Conte MS.	4. 巻 19
2. 論文標題 Drug therapy for abdominal aortic aneurysms utilizing omega-3 unsaturated fatty acids and their derivatives.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Drug Targets.	6. 最初と最後の頁 1308-1317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1389450118666171013101815.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto T, Akagi D, Yamamoto S, Suhara M, Deguchi J, Sato O.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Short Interposition with a Small-Diameter Prosthetic Graft for Flow Reduction of a High-Flow Arteriovenous Fistula.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sano M, Yamamoto K, Seo A, Akai A, Akagi D, Takayama T, Hoshina K.	4. 巻 38
2. 論文標題 Wound healing and its risk factors after revascularization for critical limb ischaemia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Angiol.	6. 最初と最後の頁 225-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.23736/S0392-9590.19.04096-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Seo A, Yamamoto K, Akai A, Akagi D, Takayama T, Hoshina K.	4. 巻 33
2. 論文標題 The relationship between medical expenses and the severity of peripheral arterial disease in Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heart Vessels.	6. 最初と最後の頁 853-858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1358863X18760181.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto K, Kawahara T, Akai A, Isaji T, Akagi D, Miyahara T, Hoshina K.	4. 巻 23
2. 論文標題 Increase in skin perfusion pressure predicts amputation-free survival after lower extremity bypass surgery for critical limb ischemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Vasc Med.	6. 最初と最後の頁 243-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1358863X18760181.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 赤木大輔、保科克行、Conte Michael.
2. 発表標題 脈管学の基礎研究 血行再建術後内膜肥厚のメカニズムとその基盤となる炎症制御に注目した治療戦略.
3. 学会等名 第60回日本脈管学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野允哉、赤木大輔、大片慎也、花田和正、松浦壮平、大橋雄一、宮原和洋、福原菜摘、赤井隆文、伊佐治寿彦、高山利夫、内藤瑞、宮田完二郎、保科克行
2. 発表標題 核酸を用いた安定的DDSによる 血行再建術後内膜肥厚制御構築の試み.
3. 学会等名 第60回日本脈管学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 赤木大輔、根元洋光.
2. 発表標題 血管炎に対する治療戦略 血管炎による末梢動脈閉塞の治療戦略. 第60回日本脈管学会総会. 2019年10月11日. 東京. 口演
3. 学会等名 第60回日本脈管学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧野能久、赤木大輔、宮原拓也、保科克行.
2. 発表標題 ラット頸動脈擦過による内膜肥厚モデルに対する抗炎症性脂質メチエータを用いた治療効果の検討.
3. 学会等名 第58回日本脈管学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山本 晃太 (YAMAMOTO KOTA) (00753542)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	
研究 分担者	保科 克行 (HOSHINA KATSUYUKI) (90571761)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究 分担者	渡邊 聡明 (WATANABE TOSHIAKI) (80210920)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	
連携 研究者	宮田 完二郎 (MIYATA KANJIRO) (50436523)	東京大学・工学部・准教授 (12601)	