

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目： 基盤研究（C）
 研究期間： 2007 年度～2008 年度
 課題番号： 19591623
 研究課題名（和文） ナノ粒子キャリアを用いた吸入による新規 DDS に関する研究
 研究課題名（英文） A novel drug delivery system via inhalation of nanoparticles
 研究代表者 藤永 卓司 (FUJINAGA TAKUJI)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：00444456

研究成果の概要：

ドナー肺の有効利用を可能にするため、吸入投与が不可能と思われる薬剤の新しい Drug delivery system の開発研究を行った。コレステロールプルラン CHP を蛍光標識し、ラットに経静脈投与と吸入による投与を行ったところ、加アミノ基 CHP (CHP-NH₂) の吸入が肺組織へもつとも取り込まれた。さらに、ヒト心房利尿ペプチドを CHP-NH₂ に包埋させて吸入を行ったところ、薬剤単独吸入に比べ、肺血管拡張、肺組織中 cGMP といった局所作用のみならず、全身血流にも薬剤が分布する可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：ナノ粒子、DDS、肺移植、心臓死ドナー

1. 研究開始当初の背景

肺は経血管だけでなく、経気道的に薬剤を投与が可能で、肺移植ドナー不足の一解決策として、心臓死後の肺の利用を考慮する際、臓器保護作用を有する薬剤を投与する経路として有用である。一方、薬剤の性状(分子量, 水溶性・脂溶性, 電荷の有無)により、気道から組織・血管

内への移行性に乏しい薬剤が存在し、ナノサイズの粒子(コレステロールプルラン)を用いた有効な Drug Delivery System (DDS) の開発に着目した。

2. 研究の目的

蛍光半導体物質 Qdot[®] を内包した CHP と加アミノ基 CHP を吸入にてラットに投与し、

CHP が肺胞細胞に取り込まれ肺内にとどまるのか、毛細血管に移行し全身に移行するかといった動態を検討する。その後、種々の薬剤をラット（生体もしくは心停止後）に経気道的に投与し局所もしくは全身の薬理作用や病理学的検討を行う。これらにより経気道的投与における CHP の至適条件（アミノ基の有無、投与方法）を決定する。

3. 研究の方法

(1) CHP-Qdot, CHPNH2-Qdot を人工呼吸下のラットに吸入、もしくは経静脈投与し、脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、大腿筋を摘出し、蛍光顕微鏡にて観察を行なう。

(2) これまでの予備実験で吸入に不向きと思われる薬剤を CHP を DDS として用いることで、吸入投与しその効果を種々の観点から検討する。まず、生体ラットにヘパリン内包 CHP を吸入投与し、抗凝固作用を検討する。生体ラットに心房利尿ペプチド（hANP）内包 CHP を吸入投与し、血行動態に及ぼす影響、肺組織中 cGMP、血中薬剤濃度を測定する。

4. 研究成果

(1) 吸入後の各臓器では、加アミノ基 CHP(CHPNH2)で、肺胞にて最も多く蛍光が観察された。(図1)

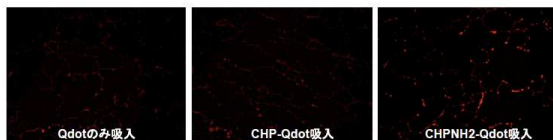
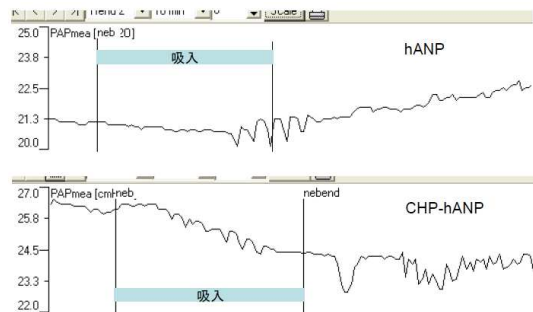


図1

静脈投与や別個体での実験では、各臓器（心臓、腎臓、肝臓）でわずかに、から中等度の取り込みが見られることもあったが、結果が一定せず評価不能であった。

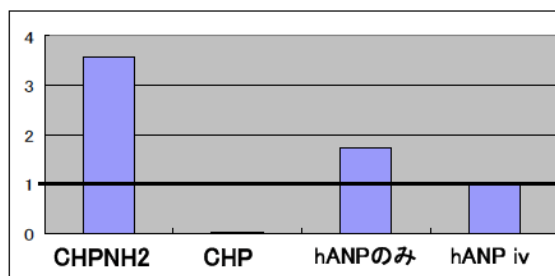
(2)-① ラットを麻酔科に開胸し、肺動脈にカテーテルを挿入し、肺動脈圧を経時的にモニターを行い、hANPもしくは CHP-NH2 内包 hANP の



吸入を行うと、後者では肺動脈圧が低下し、肺血管拡張作用が認められたが、前者では認められなかった。(図2)

図2

(2)-② 麻酔科のラットを人工呼吸下とし、hANP もしくは CHPNH2 内包 hANP を吸入し、15 分後の肺組織中の cGMP を測定した。臓器中の cGMP は、hANP を投与した場合の各臓器の cGMP との比とした。図3に示すごとく、CHPNH2 包埋 hANP 吸入で肺組織 cGMP が高値であつ



た。

図3

(2)-③ 次に、hANP の半減期が短いことから、吸入後5分後の血中の ANP 濃度(pg/ml)を測定した。各群3実験ずつ、行った。hANP のみ(130、22、10以下)、CHP(13、10以下、10以下)、CHPNH2(6800、11、220)、非投与(10以下)であった。この実験系(肺を介した全身への

delivery)でもCHPNH2のdrug delivery systemとしての有効性が示唆されたが、1実験では血中ANPの上昇を認めず、気道内結露など実験の不安定要素の可能性を除外する必要がある。

(2)-④ heparin 内包 CHP の静脈内投与、吸入投与などについても検討を行ったが、吸入投与後1時間後の血中濃度は有意に上昇せず、より効率の高い投与方法および感度の高い測定法が必要と考えられた。

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 4 件)

Aoyama A, Chen F, Fujinaga T, Okamoto T, Sato A, Tsuruyama T, Zhang J, Shoji T, Sakai H, Nakamura T, Date H, Wada H, Bando T. Postischemic Infusion of Atrial Natriuretic Peptide Attenuates Warm Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Lung. *J Heart Lung Transplant*. 査読あり *in press*.

Zhang J, Chen F, Nakamura T, Fujinaga T, Aoyama A, Hamakawa H, Sakai H, Hoshino Y, Yodoi J, Wada H, Bando T, Nakamura H. Protective effect of thioredoxin perfusion but not inhalation in warm ischemic-reperfused rat lungs. *Redox Report* accepted. 査読あり

Chen F, Zhang J, Aoyama A, Okamoto T, Fujinaga T, Bando T. Potential for Pulmonary Protection by Nebulized Milrinone during Warm Ischemia. *Transplant Proc* 2008 Dec; 40(10): 3335-8. 査読あり

Chen F, Kondo N, Sonobe M, Fujinaga T, Wada H, Bando T. Expression of endothelial specific adhesion molecules after cardiac arrest. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008 7(3): 437-40. 査読あり

[学会発表](計 6 件)

岡本俊宏、陳 豊史、藤永卓司、張 吉天、青山晃博、趙 向東、高橋鮎子、里田直樹、山田徹、森川洋匡、庄司 剛、阪井宏彰、松本いずみ、板東徹、伊達洋至。わが国のDCDからの肺移植実験に向けての実験的取り組み。第44回日本移植学会総会 2008.9.21, 大阪市

板東徹、陳 豊史、藤永卓司、張吉天、青山晃博、岡本俊宏、趙向東、高橋鮎子、里田直樹、庄司剛、阪井宏彰。心臓死ドナーからの肺移植に向けた、ドナー肺の評価とその保護の研究。第44回日本移植学会総会 2008.9.21, 大阪市

Sato K, Chen F, Aoyama A, Akiyoshi K, Date H. Nanoparticle of cholesterol-bearing pullulan as a carrier of anticancer drug. *20th Meeting of the European Association for Cancer Research.*; July 5-8, 2008, Lyon, France

陳 豊史、藤永卓司、張吉天、青山晃博、岡本俊宏、趙向東、高橋鮎子、里田直樹、庄司剛、阪井宏彰、板東徹。心臓死ドナーからの肺移植に向けた、ドナー肺の評価とその保護の研究。第108回日本外科学会定期学術集会 WS7-2 2008.5.16, 長崎市

板東 徹、陳 豊史、藤永卓司、張 吉天、趙向東、高橋鮎子、岡本俊宏、青山晃博、里田直樹、浜川博司、庄司 剛、阪井宏彰、松本いずみ、和田洋巳。肺移植ドナープール拡

大の試み. 第 34 回日本臓器保存生物医学会
総会. 2007.11.16, 札幌市

Aoyama A, Chen E, Nakamura T, Fujinaga T,
Zhang JT, Okamoto T, Wada H, Bando T. Human
atrial natriuretic peptide ameliorates warm
ischemia-reperfusion injury of the lung. Abstract,
Abstract #, 27th Annual Meeting of the
International Society for Heart and Lung
Transplantation, San Francisco, 2007

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤永 卓司(FUJINAGA TAKUJI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：004444456

(2)研究分担者

板東 徹(BANDO TORU)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号：20293954

陳 豊史(CHIN TOYOFUMI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：00452334

(3)連携研究者

秋吉 一成 (AKIYOSHI KAZUNARI)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・
教授
研究者番号：90201285