

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06846

研究課題名（和文）マイクロバブル超音波法を用いた核酸薬経鼻投与による神経変性疾患の新規治療戦略

研究課題名（英文）Development of Nucleic Acid Therapeutics Using Microbubbles Combined with Ultrasound for Neurodegenerative Diseases.

研究代表者

木下 千智（Kinoshita, Chisato）

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：10567085

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：これまでの研究では神経変性疾患に共通の発症要因である酸化ストレスに対し、脳内における防御機構を担う内因性抗酸化物質グルタチオンの量的調節因子群を調節するmicroRNAを発見し、その機能調節核酸薬の投与により神経保護効果を得ることに成功した。本研究では、臨床応用を目指し核酸薬を非侵襲的に脳内に送達させる画期的な投与方法としてマイクロバブル超音波法を用いた経鼻投与方法を確立し、神経変性疾患の治療に効果的であるかを明らかにすることを目的とした。マウス神経変性疾患モデルに対し、マイクロバブル超音波法が神経変性進行抑制、認知機能低下に対し効果的であることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経変性疾患では共通して酸化ストレスの亢進が病因や疾患進行に関与しているため、抗酸化物質グルタチオン合成の促進は疾患の予防及び治療に大きく寄与する。本研究では、核酸薬が効率的にグルタチオン合成を促進し、神経保護効果を有することで不治とされる神経変性疾患治療薬開発の礎になる。また、神経変性疾患は増悪の過程において、神経細胞の変性、脱落が起こるため、死に至るまでQOLが低下し続ける。治療薬開発によりの疾患進行を阻止出来れば個人的負担のみならず、社会的負担も大きく軽減することが可能となる。さらに神経変性疾患を予防することが出来れば、労働力として確保することも可能となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In previous research, I found that one of the microRNAs regulating the modulators of the endogenous antioxidant glutathione is important for antioxidant defense mechanisms against oxidative stress, a common etiological factor in neurodegenerative diseases. The administration of a nucleic acid drug regulating microRNA function resulted in neuroprotective effects. The purpose of this study is to establish a novel administration method using microbubbles combined with ultrasound for noninvasive intranasal delivery of nucleic acid drugs, aiming for clinical applications, and to determine its effectiveness in treating neurodegenerative diseases for which no curative therapy currently exists. The results show that therapy using microbubbles combined with ultrasound has been suggested to be effective in inhibiting neurodegeneration progression and mitigating cognitive decline in mouse models of neurodegenerative diseases.

研究分野：分子神経科学

キーワード：神経保護効果 核酸薬 ドラッグデリバリー 経鼻投与 神経変性疾患 内因性抗酸化物質 酸化ストレス

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究開発当初は、神経保護作用を呈する核酸薬を効率よく簡便に脳内に送達させる投与方法であるマイクロバブル超音波法を用いて経鼻投与することにより、非侵襲的に未だ根治療法が存在しない神経変性疾患治療薬の開発を行うことを目的とした。マウスにおける神経変性疾患モデルを作成し、マイクロバブル超音波法を用いた核酸薬経鼻投与が神経変性進行抑制、認知機能低下に対して有効かを立証するまでを本研究の課題とした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脳において抗酸化作用を伴う神経保護効果を有する核酸薬を効率よく簡便に脳内に送達させることである。マイクロバブル超音波法を用いた経鼻投与及び化学修飾核酸薬を開発し、神経変性の進行に抑制的効果があるかを解析した。マウスにおける神経変性疾患モデルを確立し、核酸薬の投与による神経変性進行抑制、認知機能低下に対する有効性を検証した。

3. 研究の方法

研究は次の手順で行った。

- I. マイクロバブル超音波法を用いた経鼻投与による薬物送達に関しては近年米国の研究室でマウスを用いた成功例がある (Ye et al. J. Contr ol. Release 2020)。それを参考にマイクロバブル超音波法を用いた経鼻投与スケジュールを作成し、条件検討及び送達経路同定を行う。
マウスにマイクロバブル超音波法を用いて蛍光ラベルした核酸薬をで経鼻投与する。
I - 後、継時的に、脳及び嗅上皮周辺の凍結切片を作成し、各投与量における各部位での蛍光強度を共焦点レーザー顕微鏡により検知し、最適条件を決定する。
- II. 核酸薬の到達した部位における効果を検証する。
I - の切片を用いて抗酸化因子群の発現量を免疫組織学染色にて検出する。
I - で決定した投与条件と同様の投与を行い、各脳部位における抗酸化物質グルタチオンを指標として測定する。
I - 及び II - において核酸薬の効果が見られた脳部位を用いたスライスカルチャー系を用い、SIN-1 誘導性酸化ストレスによる活性酸素種産生を測定する。
- III. アルツハイマー病モデルマウスを作成し、マイクロバブル超音波法を用いた核酸薬の経鼻投与が治療的戦略として適しているかを検証する。
アルツハイマー病モデルマウスは側脳室にアミロイド β 1-42 を注入し作成する。
III - で作成したモデルを用いて I - で決定した条件にて核酸薬投与を行う。
III - 投与後の脳の凍結切片を用いて活性酸素代謝物 peroxynitrite の検知により酸化ストレスによる神経細胞傷害を確認する。
III - の投与後、各脳部位における抗酸化因子群を II - 、 と同様に測定する。
III - の投与後 Y 迷路試験を行い記憶学習能力の改善効果について確認する。

4. 研究成果

本研究における初期検討では経鼻投与のみでも核酸薬の投与により脳内送達に成功した。さらに核酸薬の化学修飾を工夫することでさらに効率の良い脳内送達法を確立することに成功した。

アルツハイマー病モデルマウスはアミロイド を側室内投与することで作成した。これらのマウスにおいて認知機能行動解析を行ったところ有意に認知機能低下することを確認した。これらのマウスに核酸薬を投与したところ、抗酸化因子群発現への影響が示唆された。さらに認知機能低下に対し、数値改善の傾向が見られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Chisato Kinoshita
2. 発表標題 Targeted Delivery of MicroRNA-96-5p Inhibitor in the Mouse Brain Using Microbubbles and Ultrasound Technology Enhances Neuroprotection via Increasing Glutathione Levels
3. 学会等名 RNA Therapeutics: From Concept to Clinic (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chisato Kinoshita
2. 発表標題 The Neuroprotective Effect of a miR-96-5p Inhibitor: Delivery to Brain via the Blood Brain Barrier
3. 学会等名 NEUROLOGICAL DISORDERS SUMMIT (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木下 千智
2. 発表標題 Inhibition of miR-96-5p in the mouse brain increases glutathione levels by indirectly modifying GTRAP3-18 expression.
3. 学会等名 第97回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木下 千智
2. 発表標題 マイクロバブル超音波技術を用いたmiR-96-5p機能抑制薬の脳内送達による神経保護作用とオートファジー活性化
3. 学会等名 第96回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chisato Kinoshita
2. 発表標題 The neuroprotective effect of a miR-96-5p inhibitor delivery to brain using microbubbles and ultrasound technology.
3. 学会等名 14th International Conference on Dementia, Alzheimer and Related Diseases (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木下 千智
2. 発表標題 マイクロバブル超音波技術を用いたmiR-96-5p阻害薬の脳内送達による神経保護効果およびミクログリア活性への影響
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022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	青山 晃治 (Aoyama Koji) (00420943)	帝京大学・医学部・教授 (32643)	
研究分担者	鈴木 亮 (Suzuki Ryo) (90384784)	帝京大学・薬学部・教授 (32643)	
研究分担者	松村 暢子 (Matsumura Nobuko) (30317698)	帝京大学・医学部・講師 (32643)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------