

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19579

研究課題名（和文）ミセル化ナノ粒子を用いた妊娠高血圧腎症治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of a Novel Therapeutic Agent for Preeclampsia Using Micellar Nanoparticles

研究代表者

入山 高行（IRIYAMA, TAKAYUKI）

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10570442

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠高血圧腎症（PE）におけるレニン・アンジオテンシン系（renin-angiotensin system:RAS）の亢進は本質的な病態機序である。しかし、RAS阻害剤は胎児毒性のために妊娠中に投与ができない。そこで、既存のRAS阻害剤をミセル化ナノ粒子に搭載して胎盤通過性を排除することで、胎児への毒性懸念のない、PEに対する革新的治療薬の開発を目指した。東大工学部および東大創薬機構との連携のもと、RAS阻害剤搭載ミセル化ナノ粒子の設計を行った。既存のRAS阻害剤の活性をそこなわないと想定される部位にポリエチレングリコール（PEG）鎖を付加し、ナノ粒子を結合したミセル型RAS阻害剤を合成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周産期疾患に対するナノ医薬の応用は未開拓の領域である。本研究は、胎児毒性の問題を克服すべく、ナノ医療技術の応用により薬剤の胎盤通過性を抑制するDrug Delivery System（DDS）を構築する、という革新的な研究となる。本研究で得られる技術や知見は、妊娠高血圧腎症だけでなく、重度の胎児発育不全に対して胎盤機能を改善すべく胎盤を標的としたDDSの確立も可能である。また、胎盤通過性を最小限に抑えて胎児毒性を回避するというDDSのコンセプトは、高分子ナノミセルに抗がん剤を搭載することで、悪性腫瘍合併妊婦の抗がん剤治療など、妊娠中の他疾患の治療にも応用が広がる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：The enhancement of the renin-angiotensin system (RAS) is considered to be an essential pathological mechanism in preeclampsia (PE). However, the administration of RAS inhibitors during pregnancy is not feasible due to fetal toxicity. Therefore, aiming to develop an innovative therapeutic approach for PE without fetal toxicity concerns, existing RAS inhibitors were loaded into micellar nanoparticles to exclude placental permeability. In collaboration with the University of Tokyo Faculty of Engineering and the University of Tokyo Drug Discovery Initiative, the design of RAS inhibitor-loaded micellar nanoparticles was conducted. Polyethylene glycol (PEG) chains were attached to sites expected not to compromise the activity of existing RAS inhibitors, and micellar RAS inhibitor complexes were synthesized by binding them to nanoparticles.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠高血圧腎症

## 1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧腎症(Preeclampsia:PE)は、妊娠中に発症した高血圧を主徴とする全身性疾患である。PEは母児の周産期罹病・死亡の主因となる重篤な疾患であるが、PEに対する病態に即した有効な治療法は存在しない。PEは全世界の母体死亡の原因の18%を占める重篤な周産期疾患であるが、有効な治療法がないため、重症化した場合は母体生命を守るため超早期でも妊娠の終了とするしかなく、新生児死亡や出生児の将来の脳性麻痺との関連性が高い。PE治療薬の開発は切望されており、アンメットメディカルニーズは極めて高いといつてよい。PEにおけるレニン・アンジオテンシン系(renin-angiotensin system:RAS)の亢進は、母体症状の表出と胎盤機能の悪化をもたらす本質的な病態機序である。RASの阻害は、高血圧のみならず腎障害や胎盤機能不全なども改善する可能性を有した、PEに対する理想的な治療となりうる。しかし、RAS阻害剤の妊娠中の投与は、腎臓形成障害、羊水過少などの胎児毒性の懸念から禁忌とされ、胎児毒性のためにPEに対して投与ができないという大きなジレンマがある。

近年のDrug Delivery System(DDS)研究の進歩の中で、ナノ医薬はナノテクノロジーを用いた新しい創薬技術である。しかし周産期疾患に対するナノ医薬の応用は未開拓の領域である。ナノミセルはサイズの調整が容易で、胎児への薬剤移行を防ぎつつも胎盤に集積させるミセルの設計も理論上は可能である。本研究で得られる技術や知見は、PEだけでなく、重度の胎児発育不全に対して胎盤機能を改善すべく胎盤を標的としたDDSの確立も可能である。また、胎盤通過性を最小限に抑えて胎児毒性を回避するというDDSのコンセプトは、高分子ナノミセルに抗がん剤を搭載することで、悪性腫瘍合併妊婦の抗がん剤治療など、妊娠中の他疾患の治療にも応用が広がる可能性を秘めていると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ナノ医療技術の応用により胎盤通過性を最小限にするDDSを構築することである。既存のRAS阻害剤(薬剤名については知財出願の可能性のために記載できない)をミセル型ナノ粒子に搭載して胎盤通過性を排除することで、胎児への毒性懸念のない、母体および胎児両者の予後を改善するPEに対する革新的治療薬の開発を目指した。本研究は、薬剤の胎盤通過による胎児毒性の問題を克服すべく、ナノ医療技術の応用により胎盤通過性を抑制するDDSを構築し、周産期疾患に対する治療薬を創製する、という革新的な研究となる。

## 3. 研究の方法

ミセル型RAS阻害剤の開発 胎盤通過性を規定する因子として、分子量 脂溶性 イオン化状態 タンパク結合率が挙げられる。今回、ターゲットとしたRAS阻害剤は、分子量が十分に小さくなく、脂溶性が高いことが胎盤通過を容易にしていると想定された。高分子ナノミセルは親水性部分と疎水性部分から成るポリマーが凝集する構造をとる。高分子ナノミセルにARBを搭載することで、分子量を大きく、かつ水溶性を高め、胎盤透過性の著しい抑制効果を得ることを目指した。

ミセル型RAS阻害剤の *in vitro* 薬効評価 作成されたミセル型RAS阻害剤のAT<sub>1</sub>受容体の阻害活性について、*in vitro*で評価を行う。AT<sub>1</sub>受容体安定発現細胞株を樹立し、細胞内シグナルを検出することで活性を評価する系の構築を目指した。

PE モデルマウスによる評価 *in vivo* でのミセル型 RAS 阻害剤の評価を行うため、妊娠マウスにアンジオテンシン を持続皮下投与する PE マウスモデルを実施した。

#### 4. 研究成果

東大工学部および東大創薬機構との連携のもと、RAS 阻害剤搭載ミセル型ナノ粒子の設計を行った。まず、既存の RAS 阻害剤の活性をそこなわないと想定される部位にポリエチレングリコール (PEG) 鎖を付加することとした。RAS 阻害剤-AT<sub>1</sub> 受容体複合体結晶構造解析の結果を含めた構造活性相関の視点から修飾可能な位置を見極め、PEG 鎖を付加した。そして、PEG 鎖を付加した RAS 阻害剤にナノ粒子を結合して、ミセル型 RAS 阻害剤を合成した。

作成されたミセル型 RAS 阻害剤の AT<sub>1</sub> 受容体の阻害活性について、*in vitro* で評価を行うための評価系の構築を行った。AT<sub>1</sub> 受容体安定発現細胞株を樹立し、Ang の作用による AT<sub>1</sub> 受容体の活性化がもたらす細胞質内のカルシウムイオン濃度の上昇を検出することで AT<sub>1</sub> 受容体活性の程度を評価することのできる系を構築した。しかしながら、ナノ粒子は自家蛍光を有しており、カルシウム指示薬とナノ粒子の自家蛍光との間で干渉が生じ、AT<sub>1</sub> 受容体の阻害活性評価が困難であった。現在、ナノ粒子の自家蛍光と干渉しない、代替のカルシウム指示薬を用いた *in vitro* 評価系を構築し、ミセル型 RAS 阻害剤の AT<sub>1</sub> 受容体の阻害活性について評価を行っている。

薬効を *in vitro* で確認した次のステップとして、妊娠マウスにミセル型 RAS 阻害剤を静注し、薬物動態について基礎的なデータを得たいと考えている。蛍光標識を付けた薬剤未搭載のミセルを投与して行った検討では、ミセルの分布は胎盤までにとどまり、胎仔への移行は著しく抑制されていた。PE 動物モデルとして、妊娠 13.5 日目の妊娠マウスの皮下に持続投与用のポンプを埋め込み、アンジオテンシン を投与する系を確立し、安定して高血圧、蛋白尿、胎児発育不全といった PE の表現型が確認できている。この系を用いて、*in vitro* での評価を経たミセル型 RAS 阻害剤の薬効や毒性の評価を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------