

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860607

研究課題名(和文)炎症性単球の炎症制御による粥状動脈硬化プラーク破綻予防療法の研究開発

研究課題名(英文)Development of the novel therapeutics to prevent atherosclerotic plaque destabilization and rupture by regulating inflammatory monocytes

研究代表者

香月 俊輔(KATSUKI, SHUNSUKE)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：60641016

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：急性冠症候群の病態の首座である動脈硬化プラーク不安定化と破綻には炎症性単球が関与している。

我々は炎症性単球の制御によりプラーク破綻が予防できると仮説し、マウスモデルにおいて検討を行った。プラーク破綻治療に対する炎症性単球(Ly-6Chigh単球)を標的としたポリ乳酸グリコール酸(PLGA)ナノ粒子を用いたドラッグデリバリーシステム(ナノDDS)を確立した。このナノDDSによるHMG-CoA還元酵素阻害薬、ピタバスタチンの単球選択的送達により、末梢血への炎症性単球の動員を抑制し、ApoE-KOマウスにおけるプラーク破綻の予防が可能となり、新規治療となり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Inflammatory monocytes play a key role in atherosclerotic plaque destabilization and rupture. We hypothesized that regulating inflammatory monocytes enable to prevent atherosclerotic plaque destabilization and rupture. We developed nanoparticle-mediated drug delivery system (Nano-DDS) using polylactide-co-glycolic acid (PLGA)-based nanoparticle targeting inflammatory monocytes (Ly-6Chigh monocytes) for the treatment of plaque destabilization and rupture. In ApoE-KO mice, nanoparticle-mediated monocyte-selective delivery of HMG-CoA reductase inhibitor, pitavastatin, inhibited the release of inflammatory monocytes to peripheral blood, and reduced the incidence of plaque ruptures in the brachiocephalic arteries. These results suggested that this new therapeutics might prevent plaque destabilization and rupture by regulating inflammatory monocytes.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子血管学 プラーク破綻

1. 研究開始当初の背景

我が国の死因の大半を占める急性冠症候群の主因である動脈硬化のプラーク不安定化・破綻を効果的に予防する新規治療法の研究開発は、心血管病の生命予後と生活の質を改善するための極めて重要な研究課題である。プラーク不安定化の分子細胞機序において、MCP-1/CCL-2およびその受容体であるCCR-2を介した単球/マクロファージの集簇による血管壁の炎症が中心的役割を果たすことを我々を含む研究者らが明らかにしてきた (Usui, Faseb J 2002, Ni, Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004, Ohtani, Gene Ther, 2004)。近年、Gordon、Libbyらは動脈硬化病変に動員される単球/マクロファージの分子マーカーを検索し、「CCR-2を高発現する炎症性単球 (Ly-6C^{high} 単球)」が動脈硬化における血管壁の炎症の主役であることを明らかにした (Gordon, J Clin Invest 2007)。これらの知見から、Ly-6C^{high} 単球による炎症の制御が、抗動脈硬化治療として有用である可能性が示唆される。

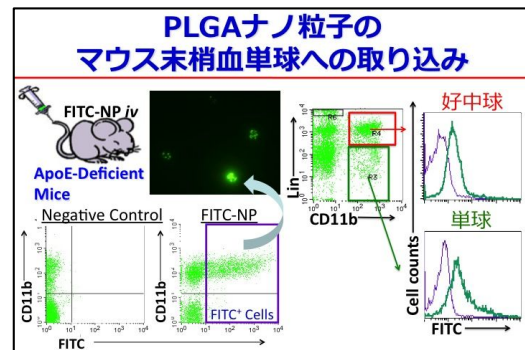
2. 研究の目的

独自の単球選択性ナノDDSを駆使して、HMG-CoA還元酵素阻害薬(スタチン)を単球に選択的に送達し、炎症性単球による慢性炎症を効率的に制御することによって動脈硬化性プラークの進展・破裂を予防する全く新しい治療法の研究開発を行うことを本研究課題の目的とした。具体的には以下の3つを目的とした。

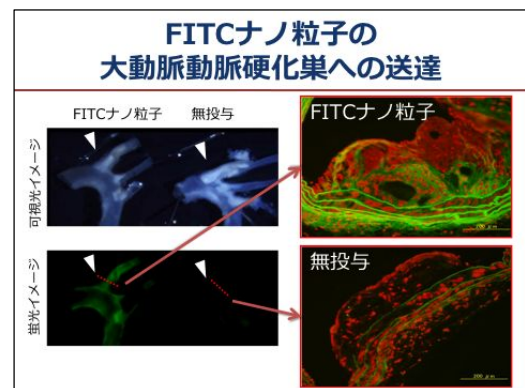
- 1)単球選択的ナノDDSの生体内動態の検証
- 2)単球選択的ナノDDS によるLy-6C^{high} 炎症性単球の炎症制御の検証
- 3)Ly-6C^{high} 炎症性単球の炎症制御によるプラーク不安定化・破綻の予防

3. 研究の方法および、4. 研究成果

1) 単球選択的ナノDDSの生体内動態の検証
FITC封入ナノ粒子を培養上清中に添加すると、培養単球に効果的に導入されることを明らかにした。次に、動脈硬化プラーク破綻モデルであるApoE-KOマウスにFITC蛍光色素を封入したPLGAナノ粒子を静脈内投与し、末梢白血球を観察した。Flow cytometryによる解析では95%以上が骨髓細胞マーカーである CD11b陽性であった。これらの細胞は単球、好中球であり、単球において最も多く取り込みが認められ、末梢血中における単球選択性を確認した(下図)。

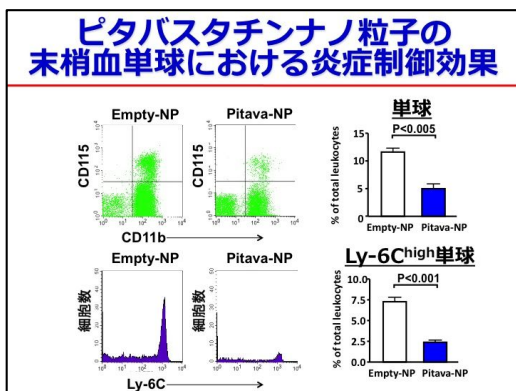


さらに、上記プラーク破綻モデルマウスにおいて、FITC封入ナノ粒子の静脈注射後24時間の、可視光および蛍光下の大動脈イメージ、およびその組織像から、PLGAナノ粒子の腕頭動脈の動脈硬化病変への送達を確認した(下図)。



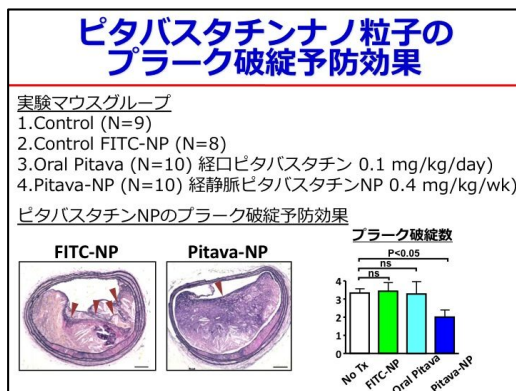
2) 単球選択的ナノDDS によるLy-6C^{high} 炎症性単球の炎症制御の検証

次に、ピタバスタチン封入ナノ粒子の炎症に対する効果を明らかにするため、ピタバスタチン封入ナノ粒子をApoE-KOマウスに静脈内投与し、1週間後に末梢血白血球を回収した。炎症性単球の活性化マーカーである Ly-6Cの flow cytometryによる解析を行ったところ、Ly-6C^{high}単球の有意な減少を認め、ピタバスタチン封入ナノ粒子による炎症制御が明らかになった(下図)。



3) Ly-6C^{high} 炎症性単球の炎症制御によるプラーク不安定化・破綻の予防

さらに、上記、モデルマウスを対照群および治療群に振り分け、治療因子を封入したナノ粒子による、プラーク破綻予防効果を検討した。臨床用量と同等(0.1mg/kg/day)の経口ピタバスタチンはプラーク破綻の予防効果を認めなかったのに対して、ピタバスタチン封入ナノ粒子(0.4mg/kg/week)の週1回経静脈的投与により、プラーク破綻が抑制された(下図)。



【総括】

以上の結果から、HMG-CoA還元酵素阻害薬のナノDDSを用いた炎症性単球への選択的送達により、粥状動脈硬化の進展およびプラーク破綻が予防され、ナノDDSによる炎症性単球の制御が新規治療戦略となりうる可能性が示唆された。

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2件)

Katsuki S (1番目), Matoba T, Nakashiro S, Sato K, Koga J, Nakano K, Nakano Y, Egusa S, Sunagawa K, Egashira K. Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin Inhibits Atherosclerotic Plaque Destabilization/Rupture in Mice by Regulating the Recruitment of Inflammatory Monocytes. *Circulation*. 査読有、2014; 129(8): 896-906.

Sato K, Nakano K, Katsuki S (3番目), Matoba T, Osada K, Sawamura T, Sunagawa K, Egashira K. Dietary cholesterol oxidation products accelerate plaque destabilization and rupture associated with monocyte infiltration/activation via the MCP-1-CCR2 pathway in mouse brachiocephalic arteries: therapeutic effects of ezetimibe. *J Atheroscler Thromb*. 査読有、2012;19(11):986-98.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
 発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

香月 俊輔 (KATSUKI SHUNSUKE)
九州大学・大学院医学研究院・共同研究員
研究者番号：60641016