

チロシンキナーゼ阻害薬イマチニブ封入ナノDDSを用いた重症肺動脈性肺高血圧症に対する新規低侵襲治療法の開発

九州大学大学院医学研究院循環器内科学講座 助教 阿部 弘太郎



<共同研究者>

岡山大学大学院医学研究院循環器内科学 講師 中村 一文

九州大学大学院医学研究院循環器内科学 教授 砂川 賢二

九州大学大学院医学研究院循環器病先端医療研究開発学 教授 江頭 健輔

肺高血圧症は、肺小血管の変成（血管平滑筋の過剰な増殖など）により、肺動脈圧と肺血管抵抗が上昇し、右心不全から死に至る重篤な疾患です。近年、様々な治療薬が開発されてきましたが、未だに5年生存率が50%以下の予後不良の難病疾患です。現在、肺高血圧症の治療薬として、プロスタグランジン I_2 製剤（ドルナーなど）、エンドセリン受容体拮抗薬（トラクリアなど）、ホスホジエステラーゼ5阻害薬（レバチオなど）などが使用されていますが、近年、チロシンキナーゼ阻害薬イマチニブ（グリベック）が肺高血圧症の新たな治療薬として承認され、注目されています。しかしながら、高用量のイマチニブの経口投与は肺動脈圧低下と同時に重大な体血圧低下も引き起こす可能性もあり、また心毒性や肝機能障害など全身の副作用の報告があります⁽¹⁾。従って、肺動脈性肺高血圧症の治療に対して病態に則したより適切な作用機序、送達方法による新規治療法の開発が求められています。本研究の目的は、イマチニブ封入ナノ粒子製剤を開発し、DDS（Drug Delivery System）を基盤とし、イマチニブを病的肺血管選択的に送達させ、イマチニブの経口投与と比較して優れた治療効果を明らかにすることです。

近年、我々は生体吸収性、生体適合性に優れた高分子である乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA）を「高分子球形晶析法」という方法によりナノ粒子化するとともに、ペプチドや遺伝子プラスミドなどを封入するカプセル化技術を開発しました⁽²⁾。PLGAは生体吸収性縫合糸の材料として30年以上、病院で使用されており、また、PLGAマイクロ粒子によるリユーブリン（酢酸リユープロレリン長期徐放型注射剤）の実績などからも生体内での安全性は保障されている生体適合性ポリマーです。さらに、PLGAナノカプセル粒子は、DDSとして、薬物の酵素分解からの保護や薬物の放出制御などの通常の機能に加えて、生体膜付着性による組織滞留性の向上、それに起因する薬物の局所濃度の増大による薬物吸収の促進などの諸機能が既に示されています。PLGAは生体内で分解され、体外へ排泄されるため極めて安全性が高く、ヒトに対しても安全性がすでに確認されています。

一方、肺動脈性肺高血圧症への治療因子の投与経路として、静脈内投与でのアプローチが考えられます。肺動脈性肺高血圧においては、正常血管に比べて肺の微細動脈の血管透過性が向上していることが知られています。そこで、本研究では、重症肺高血圧症ラットモデルを用いて、蛍光色素を封入したPLGAナノ粒子を経気管内投与あるいは静脈内投与を行い、肺の微細動脈に選択的に送達されるか、また、全身への暴露が懸念される静脈内投与を行う事によって他の臓器と比較して病的肺血管に選択的に送達されるかを評価し、新規ナノ治療の開発の先駆的な研究開発を行いました。

疾患モデルとして、モノクロタリン誘発性肺高血圧症モデルを使用しました⁽³⁾。3週後に麻酔下で頸静脈からカテーテルを挿入し、血行動態の計測を行いました。

PLGA7520をナノ粒子の基剤として使用しました。蛍光色素であるFITC及びイマチニブを内包させたPLGAナノ粒子は上述のエマルション溶媒拡散法にて作製しました⁽⁴⁾（図1）。PLGAナノ粒子の特徴は図の通りです。

次に、2群間でばらつきが無いように、1. FITC封入PLGAナノ粒子経気管内投与群、2. FITC封入PLGAナノ粒子静脈内投与群の2群に群分けを行いました。気管内投与群は麻酔下での挿管投与、また、静脈内投与群は無麻酔下で尾静脈から投与しました。30分後過麻酔と安楽死を行った後、肺をホ

ルマリン固定しました。各病理切片を作製し、蛍光顕微鏡でFITCの発現を観察しました。

モノクロタリン投与3週間後、収縮期肺動脈圧を反映する右室収縮期圧63mmHg（正常値 27 mmHg）と著明に高値を示し、右室/左室重量比 0.40（正常値 0.20）と右室肥大が認められました。また、肺血管病理像としては著明な中膜肥厚を認められました。

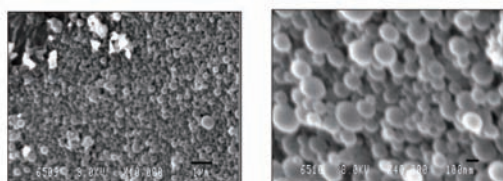
肺組織において、PLGAナノ粒子経気管内投与群では肺胞を中心にFITCの発現を認めたのに対し、FITC封入PLGAナノ粒子静脈内投与群では肺小動脈病変に特異的に取り込まれるのが確認されました（図2）。

最後に、イマチニブ封入ナノ粒子の肺高血圧症に対する有効性を検討するために、肺高血圧症患者様由来の肺動脈平滑筋細胞を用いて平滑筋細胞の抑制アッセイを行いました。その結果、イマチニブ単独（1, 10 μ g/mL）あるいはイマチニブ封入ナノ粒子を培養液中に添加すると、イマチニブ単独群に比べイマチニブ封入ナノ粒子がより血管平滑筋細胞の過剰な増殖を抑制することが明らかになり、本研究において、蛍光色素を封入したPLGAナノ粒子を経気管内投与と比較して静脈内投与を行い、肺の微細動脈に選択的に送達することが明らかになりました。また、全身への暴露が懸念される静脈内投与を行う事によって他の臓器と比較して病的肺血管に特に選択的に送達されることが明らかになりました。この結果から、イマチニブ封入ナノ粒子が肺高血圧症の治療に有効性が示す可能性が示唆されました。

今後は、イマチニブ封入ナノ粒子を肺高血圧症ラットモデルに経静脈投与し、より効果的な治療効果を確認する予定です。肺高血圧症の血管病変への選択的な治療が可能となり、さらには予後が飛躍的に改善することが期待されます。

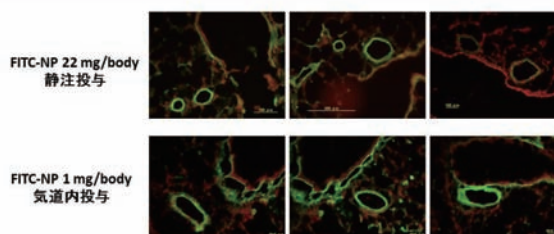
本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただいた公益財団法人難病医学研究財団に深謝申し上げます。

図1 PLGAナノ粒子の走査型電子顕微鏡写真



- ◆ 医薬品に使用実績のある生体吸収性ポリマー-PLGAを使用
 - ◆ 界面活性剤等を使用しない溶媒拡散法で製造
 - ◆ ナノ粒子化：高い患部への送達性
 - ◆ PLGA使用：患部での徐放効果
- Drug Delivery System (DDS)

図2 肺高血圧症ラットへのFITC封入ナノ粒子の静脈投与は気管内投与と比較して肺小動脈へ選択的に取り込まれた



〔参考文献〕

1. Abe K, Toba M, Alzoubi A, Koubsky K, Ito M, Ota H, Gairhe S, Gerthoffer WT, Fagan KA, McMurtry IF, Oka M. Tyrosine kinase inhibitors are potent acute pulmonary vasodilators in rats. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011. 45 (4) : 804-8.
2. Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H, Hino T, Niwa T. Properties of a peptide containing DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. Eur J Pharm Biopharm 1998. 45: 41-8.
3. Abe K, Shimokawa H, Morikawa K, Uwatoku T, Oi K, Matsumoto Y, Hattori T, Nakashima Y, Kaibuchi K, Sueishi K, Takeshit A. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats. Circ Res. 2004. 94 (3) : 385-93.
4. Nakano K, Egashira K, Masuda S, Funakoshi K, Zhao G, Kimura S, Matoba T, Sueishi K, Endo Y, Kawashima Y, Hara K, Tsujimoto H, Tominaga R, Sunagawa K. Formulation of nanoparticle-eluting stents by a cationic electrodeposition coating technology: efficient nano-drug delivery via bioabsorbable polymeric nanoparticle-eluting stents in porcine coronary arteries. JACC Cardiovasc Interv. 2009. 2 (4) : 277-83.