

Nanoparticle-Mediated Delivery of Irbesartan Induces Cardioprotection from Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Antagonizing Monocyte-Mediated Inflammation

仲野, 泰啓

<https://hdl.handle.net/2324/1806852>

出版情報 : 九州大学, 2016, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : Creative Commons Attribution 4.0 International License.

(別紙様式2)

氏 名	仲野 泰啓				
論 文 名	Nanoparticle-Mediated Delivery of Irbesartan Induces Cardioprotection from Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Antagonizing Monocyte-Mediated Inflammation				
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	飯原 弘二	
	副 査	九州大学	教授	鴨打 正浩	
	副 査	九州大学	教授	園田 康平	

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

急性心筋梗塞 (ST-segment elevation acute myocardial infarction: STEMI) 患者において、早期再灌流療法は、心筋梗塞サイズを制限する標準的な治療法であり、過去30年間にわたり臨床転帰を改善させた。しかしながら、近年のコホート研究では、最近10年でdoor-to-balloon時間が明らかに短縮しているにも関わらず、心筋梗塞患者の死亡率は改善していないことが報告されている。冠動脈の再灌流は、逆に心筋を細胞死に導く心筋虚血再灌流傷害を引き起こすことが知られている。心筋虚血再灌流は、主にミトコンドリア膜遷移孔 (mitochondrial membrane permeability transition pore; mPTP) 開口やミトコンドリア外膜透過性亢進が心筋細胞のネクロシスやアポトーシスを誘導する初期過程 (数分以内) と、心筋での炎症が心筋細胞のアポトーシスや梗塞心筋の治療に寄与する後期課程 (数時間後) がある。最近の報告では、炎症性単球 (マウスではLy6C^{high}CCR2⁺) が心筋梗塞後の心筋での炎症に関与していることが示され、内因性アンジオテンシンIIやCCR2のリガンドである単球走化性タンパク1 (monocyte chemotactic protein-1: MCP-1) はこの過程において重要な役割を果たしており、虚血再灌流傷害に対して有望な治療標的である。実験的研究では、炎症過程を抑制するようにデザインされた治療戦略では有意に心筋梗塞を縮小することが報告されているが、炎症を標的とした臨床試験では、再灌流したSTEMI患者の臨床的転帰に何らかの良い影響を証明することに失敗している。抗炎症治療の有用性におけるこれらの矛盾は、限られた介入時間で、再灌流時投与による局所の不十分な薬剤濃度に起因すると考えられる。従って、臨床的観点からも、臨床的に投与可能な時間帯で、再灌流傷害部位に臨床的に承認された薬剤の送達を促進する薬剤送達システム (drug delivery system: DDS) を開発することが不可欠である。近年、我々は生体吸収性のPLGA (poly-lactic/glycolic acid) ナノ粒子を用いたナノ粒子DDSを開発した。ナノサイズの製剤は、静脈内投与後に血管透過性の亢進した虚血再灌流心筋を含む傷害組織に蓄積し、循環している単球や網内系の貧食臓器に迅速に取り込まれる。従ってPLGAナノ粒子は虚血心筋と炎症性単球を標的とした心筋虚血再灌流傷害に対して、有望なDDSである。

本研究で我々は、虚血再灌流傷害に対する治療薬として、核内受容体ペルオキシ

ソーム増殖因子活性化受容体 (peroxisome proliferator-activated receptor: PPAR) γ の部分的アゴニスト作用を有するアンジオテンシンIIタイプ1受容体拮抗薬 (angiotensin II type1 receptor blocker : ARB) であるイルベサルタンを用いることとした。以前の報告では、ARBであるカンデサルタンが、降圧作用とは別に心筋梗塞後の心筋細胞でIL-6、TNF- α やMCP-1といった炎症性サイトカインの発現を減らすことで、心筋での炎症を抑制することを報告した。更にPPAR γ 活性は、末梢単球を抗炎症性フェノタイプであるマクロファージに分化したり、炎症性サイトカインの発現や傷害臓器へのマクロファージの浸潤を抑制している。本研究では、再灌流時に静脈内投与されたPLGAナノ粒子が単核性食細胞系や虚血再灌流心筋に薬剤を送達すること、更にイルベサルタン封入ナノ粒子がLy6C^{high}CCR2⁺炎症性単球の虚血心筋への浸潤を抑制し、虚血再灌流傷害を抑制することを証明する為に実験を行った。

マウス冠動脈30分虚血24時間再灌流モデルにおいて、心臓組織のフローサイトメトリ解析は、虚血心筋への好中球およびLy6C^{high}炎症性単球の浸潤を明らかにした。Ly6G抗体投与による好中球枯渇は、心筋梗塞サイズに影響しない一方、Ly6C^{high}炎症性単球の枯渇したCCR2欠損マウスでは、心臓への単球浸潤抑制とともに梗塞サイズが縮小した。これらの結果から、マウス心筋虚血再灌流モデルにおいて好中球ではなく、Ly6C^{high}CCR2⁺単球が、重要な役割をしていることが示された。次に、静脈内投与したPLGAナノ粒子の生体内分布を観察したところ、FITC封入ナノ粒子は、虚血心筋や単球でより多くの集積を認めた。イルベサルタン封入ナノ粒子 (イルベサルタンとして3mg/kg) の心筋虚血再灌流マウスに対する再灌流時静脈内投与は、同僚のイルベサルタン単独投与と比較して、虚血心筋組織、脾臓において有意に高いイルベサルタン組織濃度を達成した。これらのデータは、PLGAナノ粒子が、虚血心筋と炎症性単球を標的とした心筋虚血再灌流傷害に対するDDSとして有望であることを示唆している。

イルベサルタン封入ナノ粒子の虚血再灌流時静脈内投与は、心臓へのLy6C^{high}炎症性単球浸潤を抑制し、再灌流24時間後の梗塞サイズを有意に減少した。イルベサルタン封入ナノ粒子の治療効果はCCR2欠損マウスでは認めず、MCP-1/CCR2を介した単球浸潤の抑制が作用機序である事が示唆された。またイルベサルタン封入ナノ粒子はAT1R欠損マウスにおいても梗塞サイズを縮小させることから主としてPPAR γ 活性を介して作用することが示唆された。実際にイルベサルタン封入ナノ粒子は、虚血再灌流後の心筋組織でPPAR γ 活性化とNF- κ B活性低下を惹下し、イルベサルタン封入ナノ粒子の梗塞縮小効果はPPAR γ 阻害剤であるGW9662の前投与により消失した。

ナノDDSによるイルベサルタン再灌流時投与は虚血心筋と炎症細胞を標的とし、PPAR γ 活性を介して炎症性単球の浸潤を抑制し虚血再灌流傷害を抑制する、STEMIに対する革新的治療法となりうる。

以上の成績はこの方面の研究に知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験は、まず研究目的、方法、実験結果などについて説明を求め、各調査委員により専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項につき種々の質問を行ったが、いずれについても適切な回答を得た。

よって、調査委員合議の結果、試験は合格と決定した。