

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	須 田 謙 史
論文題目	High-density lipoprotein mutant eye drops for the treatment of posterior eye diseases (高比重リポタンパク変異体を利用した後眼部疾患に対する点眼治療の開発)		
(論文内容の要旨)			
<p>加齢黄斑変性や糖尿病網膜症は、我が国における失明原因の多くを占めており、後眼部での異常な血管新生がその病態である。これらの疾患に対する既存の治療方法は抗血管新生タンパク質の硝子体内注射であるが、注射回数の増加が医療者側の労働負担・患者側の通院負担また注射による感染のリスクなど、多大な社会コストがかかっており、点眼投与によるドラッグデリバリーシステム (DDS) の構築が待たれている。一方、高比重リポタンパク (HDL) の変異体を薬物輸送のためのドラッグキャリアとして用いるという発想が DDS 領域で注目されており、さらに HDL を細胞親和性ペプチドで修飾することにより HDL 内包薬剤を標的細胞内に到達させ、集積させるという技術が報告されている。</p> <p>本研究では、後眼部の加齢性疾患に対する低侵襲治療の開発を試みた。まずは点眼による薬剤の後眼部送達を目的として細胞親和性ペプチド修飾 HDL (cHDL) の構造を最適化し、次に疾患動物モデルにおいて薬剤を内包した cHDL の点眼が治療効果を発現するかどうか評価することを目的とし、以下の実験を行った。</p> <p>はじめに、モデル薬剤として蛍光物質クマリン 6 を内包した cHDL を作製した。HDL の構成成分タンパク質である apoA-I に遺伝子工学を用いて細胞親和性ペプチドの 1 種 (YGRKKRRQRRR) を融合し変異型 apoA-I を作製した。cHDL はこの変異型 apoA-I とリン脂質を混濁することで作製した。この cHDL を実験動物マウス (6 週齢の C57BL6) の眼球表面に点眼し、30 分後に眼球摘出、凍結切片を作製し網膜内層の蛍光強度を測定したところ、HDL 点眼群に比べて、cHDL 点眼群で有意に網膜内層の蛍光強度が増強していることが確認できた。次に、同様の点眼実験系を用いて、後眼部送達に最適な cHDL 構成リン脂質・細胞親和性ペプチドを探索したところ、長鎖飽和脂肪酸含有リン脂質 (DSPC) ・Penetratin (RQIKIWFQNRRMKWKK) を含む cHDL (HDL/PEN) が最も高い後眼部送達活性を示した。</p> <p>次に HDL/PEN が脈絡膜新生血管 (CNV) の抑制効果を有するかどうかを検討した。今回、cHDL に内包する薬剤として、血管新生抑制効果を持つ低分子化合物である塩酸パゾパニブ (Pzp) を用いた。Pzp 内包 HDL/PEN の治療効果を確認するため、レーザー誘発脈絡膜新生血管モデルマウス (C57B6) に 1 日 2 回、1 週間点眼した。その後、眼球摘出しフラットマウント法を用いて CNV サイズを 2 群間で比較したところ、Pzp 内包 HDL/PEN 点眼群は顕著な CNV 抑制効果を示した。</p> <p>Pzp 内包 HDL/PEN を透過型電子顕微鏡を用いて観察したところ、粒子径は 10~20 nm であることが確認できた。また粒子形状を確認するため、原子間力顕微鏡を用いて観察を行ったところ、HDL/PEN の形状は直径 15~30 nm に対して高さ約 7 nm の円盤状であることがわかった。これらの結果は、人工的に作製した薬剤内包 HDL/PEN が再構成した野生型 HDL と類似の構造を有することを示唆する。</p> <p>HDL/PEN は後眼部の異常血管新生を治療するための点眼製剤となる可能性が示唆された。今後後眼部疾患の点眼治療が確立していくことが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

加齢黄斑変性や糖尿病網膜症は、我が国における失明原因の多くを占めている。これらの疾患に対する既存の治療方法は硝子体内注射であるが、点眼によるドラッグデリバリーシステム (DDS) の構築が待たれている。一方、高比重リポタンパクに細胞親和性ペプチドを修飾した変異体 (cHDL) を薬物送達のためのドラッグキャリアとして用いるという発想が DDS 領域で注目されている。本研究では、cHDL を用いた後眼部疾患用点眼治療の開発を試みた。はじめに、蛍光物質クマリン 6 を内包した cHDL を作製し、実験動物マウスに点眼、凍結切片で網膜内層の蛍光強度を測定したところ、cHDL 点眼群で有意に蛍光強度が増強していることが確認できた。同様の点眼実験系を用いて後眼部送達に最適な cHDL 構成リン脂質・細胞親和性ペプチドを探索したところ、長鎖飽和脂肪酸含有リン脂質 (DSPC) ・Penetratin を含む cHDL (HDL/PEN) が最も高い後眼部送達活性を示した。次に HDL/PEN が脈絡膜新生血管 (CNV) の抑制効果を有するかどうかを検討した。血管新生抑制効果を持つ低分子化合物である塩酸パゾパニブ (Pzp) を内包する HDL/PEN を、レーザー誘発脈絡膜新生血管モデルマウスに 1 日 2 回、1 週間点眼後、CNV サイズを 2 群間で比較したところ、Pzp 内包 HDL/PEN 点眼群は顕著な CNV 抑制効果を示した。HDL/PEN は後眼部の異常血管新生を治療するための点眼製剤となる可能性が示唆された。今後後眼部疾患の点眼治療が確立していくことが期待される。

以上の研究は DDS 製剤としての HDL の機能解明に貢献し後眼部疾患に対する新規治療の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 1 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降