

|           |                                                                                                                                                                                                                |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | なか せ ひろ し<br>仲 瀬 裕 志                                                                                                                                                                                           |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                      |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2373 号                                                                                                                                                                                                   |
| 学位授与の日付   | 平 成 13 年 3 月 23 日                                                                                                                                                                                              |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                                                        |
| 研究科・専攻    | 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻                                                                                                                                                                                            |
| 学位論文題目    | Development of an Oral Drug Delivery System Targeting Immune-Regulating Cells in Experimental Inflammatory Bowel Disease; A New Therapeutic Strategy.<br>(実験大腸炎モデルに対する腸管内免疫担当細胞をターゲットとした新たな経口ドラッグデリバリーシステムの開発) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 乾 賢 一 教 授 今 村 正 之 教 授 千 葉 勉                                                                                                                                                                       |

### 論 文 内 容 の 要 旨

炎症性腸疾患の治療法としてステロイド剤や免疫抑制剤の投与が試みられているが、それらの副作用は臨床上しばしば問題となる。その副作用を軽減し、より効果的に炎症を抑制する目的で、生体内分解吸収性高分子を素材とした微粒子 (biodegradable microspheres; 以下 MS) を用いて、腸管内免疫反応を担当しているマクロファージや M 細胞をターゲットとした新しい Drug Delivery System を考案した。さらに、実験腸炎モデルマウスに薬物含有の微粒子を投与し、その治療効果を検討した。生体内分解吸収性高分子微粒子の素材としてポリ D, L-乳酸 (PDLLA) を使用した。水溶性デキサメサゾン (Dx) を含有した MS (以下 Dx-MS) は、ダブルエマルジョンからの液中乾燥法により作成した。これらの微粒子をエルトリエーターにより分画し、4 $\mu$ m 以下の微粒子を得た。慢性腸炎モデルは、BALB/c マウスにデキストラン硫酸を自由飲水で投与することにより作成した。この慢性腸炎モデルに対し、Dx-MS と Dx を (各々、デキサメサゾン換算量として 0.1mg/kg/day) 2 週間連日経口投与した。

投与後の経時的な血中濃度の変化を両投与群で比較すると、デキサメサゾン血中濃度は Dx 投与群にて経口後 1, 2 時間で明らかな上昇が認められたが、Dx-MS 投与群では血中濃度の上昇は認められなかった。<sup>125</sup>I 標識 Dx を MS に含有し、経口投与後の、<sup>125</sup>I-Dx-MS の体内分布を検討した。消化管 (主として小腸と大腸) 以外での <sup>125</sup>I-DxMS の放射活性はほとんど認められなかった。特に、大腸粘膜での <sup>125</sup>I-Dx の放射活性は有意に高値を示した。さらにクマリン含有 MS を腸炎モデルマウスに経口投与後、大腸組織の凍結切片を作成し、MS の腸管内での取り込みを共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。その結果、MS の大腸内リンパ濾胞への取り込みが観察された。大腸組織学酷評価、組織中のミエロペルオキシターゼ (MPO) 活性、NO 産生量を測定し、さらに、大腸組織中から RNA を抽出し、RT-PCR 法により、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  の mRNA の発現を各治療群で比較検討した。組織学的には、Dx 群に比し、Dx-MS 投与群において有意な改善を認めた。大腸組織中の MPO 活性、NO 産生量共に、Dx 群に比し、Dx-MS 投与群において有意に低値を示した。さらに、大腸組織中の炎症性サイトカインの遺伝子発現は、Dx 投与群に比し、Dx-MS 投与群において有意な発現低下を示した。腸管内免疫担当細胞をターゲットとした Dx-MS は、炎症粘膜に対する選択的な抗炎症作用に加え、Dx の血中濃度の上昇を認めないことから、全身に与える影響は極めて少ないと考えられた。この Drug Delivery System は炎症性腸疾患の新しい治療方法の 1 つになりうると期待される。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

炎症性腸疾患の病態には、活性化マクロファージの増加や機能異常に基づく炎症の持続が関与している。治療方法に、抗炎症作用を持つステロイド剤や免疫抑制剤の投与が試みられているが、それらの副作用はしばしば臨床上の問題となる。

本研究では、副作用を軽減し、より効果的に粘膜局所の炎症を抑制する目的で、生体内分解吸収性高分子を素材とした微

粒子 (microspheres) を用いて、腸管内免疫反応を担当しているマクロファージや M 細胞をターゲットとした Drug Delivery System の治療効果が検討された。

ダブルエマルジョンからの液中乾燥法により水溶性デキサメサゾン (DX) は microspheres に含有された (DX-microspheres)。このうち  $4\mu\text{m}$  以下の DX-microspheres が DSS 誘発大腸炎マウスモデルに対して経口投与された。DX-microspheres 経口投与後の DX の血中濃度は検出以下であった。DX-microspheres は正常に比し、大腸炎粘膜でより多く取り込まれることが示された。組織学的スコア、MPO 活性、NO などは Dx-microspheres 投与群で Dx 単独投与群に比して有意に低値を示し、DX-microspheres 投与群の大腸組織内での炎症性サイトカインの遺伝子発現はほとんど認められなかった。Microspheres を用いた Drug Delivery System は、DX 単独投与に比し、実験的潰瘍性大腸炎モデル動物の病変部位を有意に改善させたことから、炎症性腸疾患の新しい治療方法の一つになりうる可能性が示唆された。

以上の研究は、炎症性腸疾患の病態生理の解明に貢献し、それに基づく新たな治療法の開発に寄与するところが多い。従って、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13年2月28日実施の論文内容とそれに関した試問を受け、合格と認められたものである。