

Title	Prolonged Targeting of Ischemic/reperfused Myocardium by Liposomal Adenosine Augments Cardioprotection in Rats
Author(s)	高濱, 博幸
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49849">https://hdl.handle.net/11094/49849</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 【62】

氏 名	たか はま ひろ ゆき 高 濱 博 幸
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 7 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Prolonged Targeting of Ischemic/reperfused Myocardium by Liposomal Adenosine Augments Cardioprotection in Rats (心筋虚血再灌流領域を標的とした薬物送達—リポソーム化アデノシンの虚血再灌流領域心筋への選択的集積による心保護効果—)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 望 月 直 樹 (副査) 教 授 澤 芳 樹 教 授 楽 木 宏 実

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔 目 的 〕

心筋梗塞発症早期の血栓溶解療法や経皮的冠動脈形成術による再灌流療法は梗塞サイズを縮小し、予後を改善することが知られている。しかし、虚血領域心筋への再灌流そのものが新たな心筋障害を惹起させる、いわゆる“虚血再灌流障害”が、動物実験や臨床例において報告されている。この虚血再灌流障害を抑制する多くの薬剤が報告されているものの、投与量や副作用などの面から本格的な臨床応用に至っていない。例えば、アデノシン受容体刺激はプレコンディショニング心保護効果のみならず白血球、血小板活性化の抑制や微小血管拡張能などの虚血再灌流障害を抑制する効果を有する。しかし、アデノシンは血中半減期が非常に短いため心保護効果を発揮させるためには大量投与が必要となり高頻度に血圧低下や徐脈を引き起こす。このため本格的な臨床応用に至っていない。近年、副作用を軽減させ、かつ効果的に薬物送達を行う手段として“必要最小限の薬物を、必要な場所、必要な時に供給する”ドラッグデリバリーシステム(Drug delivery

system, DDS)の研究が抗がん剤開発の分野を中心に盛んに行われている。我々はDDSの応用による心筋梗塞治療の新規薬物治療の開発を目的とし以下の検討を行った。

## 〔 方 法 なら び に 成 績 〕

生体への安全性などの観点から、薬剤の運搬体として抗がん剤領域で既に臨床応用されているリポソーム(脂質2重膜からなる閉鎖小胞;粒子径100~200nm)を用いて以下の検討を行った。まずラット左冠動脈近位部を30分間結紮後開放することで虚血再灌流モデルを作成した。電子顕微鏡による組織学的検討により、梗塞部領域の血管内皮においてリポソームが通過しうる構造的な破綻を認め、虚血再灌流領域の心筋においてリポソームを確認し得た。一方、非虚血領域においてリポソームは認められなかった。次に、集積したリポソームの定量的評価を行うために蛍光標識リポソーム(ローダミン配合リポソーム)を作成し、虚血再灌流モデルラットに対し再灌流5分前から10分間、全身静脈内投与した。心筋への蛍光色素標識リポソームの集積性については心筋短軸切片の蛍光イメージング(オリンパス OV-100)を利用し、また定量はWasabiソフトウェア(浜松フォトニクス)を用いて評価した。その結果、心筋梗塞領域であることを示すTTC染色陽性領域にて、蛍光強度の上昇が認められ、リポソームの虚血再灌流領域への集積が示された。さらに、定量的評価により、心筋梗塞領域のみならず、梗塞領域周辺にもリポソームが集積していることが明らかになり、壊死に陥っていない障害心筋にもリポソームが到達しうるということが明らかになった。そこで、共同研究者らとともにリポソームに水和法を用いてアデノシンを封入することを試み成功した(平均粒子径;134±21nm)。リポソーム化アデノシンによる血圧低下や徐脈は、同量のアデノシンを投与した場合と比較して著明に軽減された。更に、アイトーブラベルアデノシンをリポソームに封入し同ラット虚血再灌流モデルに投与すると、投与後3時間の時点で約13倍の血中アデノシン量を有しており、有意な血中滞留性の延長を認めた。またアイトーブラベルアデノシン投与群に比較して、約3倍のアデノシンの虚血再灌流領域への集積性が増加した。虚血再灌流モデルへの再灌流時投与によってリポソーム化アデノシンはフリーアデノシンに比較して梗塞サイズ縮小効果の増強を容量依存的に認めた。この心筋保護効果はアデノシン受容体拮抗薬である8-(*p*-sulfophenyl)theophyllineの投与により抑制された。

## 〔 総 括 〕

リポソームは虚血再灌流心筋に選択的に集積し、拮抗薬による阻害実験の結果からリポソームから遊出したアデノシンが心保護効果を及ぼした可能性が高いと考えられる。リポソームは通常正常血管内皮を通過することはなく、心筋虚血再灌流領域に集積した要因としては1)虚血再灌流心における血管内皮障害、2)炎症等に伴う血管透過性の亢進などの要因が考えられた。他領域においては既に臨床応用が成されており、またリポソームは他薬剤や遺伝子の封入も可能であることから今後の既存薬物の応用や新規薬物を対象とした、新しい心筋梗塞治療法の開発が期待される。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

急性心筋梗塞に対する再灌流療法は標準的な治療方法となっているが、虚血再灌流障害の存在が報告されている。アデノシン活性化は梗塞サイズを縮小することが知られているが、半減期が非常に短く大量投与が必要となるため、血圧低下や徐脈などの副作用が問題となっている。申請者らは心筋梗塞病変部にナノサイズ薬物運搬体であるリポソームが集積することをアデノシン投与に利用することを着想、リポソームへのアデノシン封入に成功した。ラット虚血再灌流モデルでリポソームが虚血領域に集積することを確認したうえで、このリポソーム化アデノシンの静脈内投与は副作用を軽減させながら病変部への選択的なアデノシンの送達が可能であること、強い心保護効果を発揮することを示した。申請者らは虚血再灌流障害に対する薬剤投与形態に関して、将来的に臨床応用可能な重要な知見を提供しており、学位に値するものと認める。