

論文内容の要旨

論文提出者氏名 金丸 麻衣

論文題目

Nanoparticle-mediated local delivery of pioglitazone attenuates bleomycin-induced skin fibrosis

論文内容の要旨

ナノ粒子を用いたドラッグデリバリーシステムが注目を集めているが、その中でもポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) は現在最も応用されている生分解性ポリマーの 1 つである。強皮症に代表される皮膚の線維化はステロイド薬等により治療されるが難治であることが多い。徐放性薬物による皮膚線維化治療も期待されるが、その取り組みは多くない。ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (PPAR- γ) は内因性の抗線維化機構に重要な役割を果たしており、合成 PPAR- γ 活性化剤で糖尿病薬として用いられるチアゾリジン薬を全身投与すると線維化および炎症を軽減できることが近年複数報告された。

そこで、本研究では、PLGA ナノ粒子を担体とし、チアゾリジン薬の 1 つとして本邦で用いられるピオグリタゾンの局所注射用徐放製剤を作製し、その特性および、ブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスに対する局所投与がもたらす線維化への影響を評価し、また同様にマウス皮膚に局所投与された PLGA ナノ粒子の生体内薬物動態を検証することを目的とした。

PLGA ナノ粒子は乳化溶媒蒸発法にて作製した。コントロールとして薬剤を含まない粒子を作製し、またピオグリタゾンと同様に難水溶性の蛍光物質であるクマリン-6 およびシリコンナフタロシアニンを内包する粒子を作製した。作製した粒子の径および粒子中のピオグリタゾン含有率と溶媒へのピオグリタゾン放出挙動を分析した。ピオグリタゾン内包粒子をブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスの罹患皮膚に週 1 回、計 3 回局所投与した後、同部皮膚を病理組織学的解析およびリアルタイム PCR 法によって線維化の抑制を評価した。培養線維芽細胞内での粒子の動態はクマリン-6 内包粒子を用いて蛍光顕微鏡で観察した。また、培養線維芽細胞内にあらかじめピオグリタゾン内包粒子を加えることで、TGF- β 1 刺激による筋線維芽細胞への分化が抑制され

るかどうかをリアルタイム PCR 法によって評価した。最後に、シリコンナフタロシアニン内包粒子をマウス皮膚に局所投与し、*in vivo* 蛍光イメージングシステムを用いて体内動態を観察した。

直径 305±145nm のピオグリタゾン内包粒子 (粒子重量に対し 3%含有) は *in vitro* で持続的な徐放を示し 1 週間で約半量 (52.0±1.6%) が放出した。ブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスにおいて、週 1 回の局所投与により皮膚線維化が減弱し、粒子を投与しなかったコントロール群と比較して α 1 鎖 I 型コラーゲン遺伝子の発現低下も認めた ($P < 0.05$)。培養線維芽細胞はクマリン-6 内包粒子を 60 分以内に細胞質内に取り込み、あらかじめピオグリタゾン内包粒子を加えられた培養線維芽細胞は TGF- β 1 刺激を受けても connective tissue growth factor (CTGF) 遺伝子の発現上昇がコントロール群 (粒子の代わりに PBS を添加) と比較し抑制された ($P < 0.01$)。さらに、シリコンナフタロシアニン内包粒子は非粒子化シリコンナフタロシアニンと比較し注射部位周辺の皮膚に拡がり、1 週間後により多くが残存した ($P < 0.05$)。

結論として、ピオグリタゾン内包 PLGA ナノ粒子の局所投与が皮膚の線維化抑制効果を有した。