

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 : 350 千円	
研究代表者 : 泉尾 直孝	所属 : 学術研究部薬学・和漢系	職位 : 助教
研究題目 : 脳病変部特異的な薬物送達を可能にするバイオリポソームの開発		

研究概要

中枢神経系への薬物送達は、血液-脳実質間の物質・細胞の移行を制限する血液脳関門 (BBB) が障壁となり非常に困難である。また、中枢神経系に対する薬物の殆どは、標的外の脳領域への薬理作用により情動性・神経性の副作用が発現することが問題となっており、脳内の病変部特異的な薬物送達法の開発が強く望まれる。標的組織への薬物送達の方法として、ナノサイズの脂質二重膜小胞 (ナノ脂質キャリア) であるリポソームへの封入が研究されてきた。リポソームは人工脂質のフィルトレーション (Extrusion 法) により調整される。リポソーム自体は大量合成が可能であり臨床実装されているが、高難度の組織への送達には、標的化シグナルをリポソーム膜に有機合成的に付与する必要があり、大量合成には不向きである。また生理的なナノ脂質キャリアであるエクソソームは、細胞からの遊離量が僅かであり臨床応用は現状困難である。申請者は、**生きた細胞の膜成分から調整したリポソーム (= 「バイオリポソーム」)** の開発に取り組んでいる。バイオリポソームは、培養細胞の懸濁液をフィルトレーションし、断片化した膜の自発的再構築により形成される小胞として回収する (Cell extrusion 法)。本研究では、バイオリポソームの技術を活用し脳病変部に特異的な薬物送達法の作出に向けて検討した。

成果要約

Cell extrusion 法によって調整されたバイオリポソームは、細胞膜成分のほかに、ミトコンドリアなどのオルガネラを内包することが明らかとなっている。ミトコンドリアは、アポトーシスなどの細胞死シグナルを媒介することが知られているため、バイオリポソームには含まれないことが望ましい。そこで、通常、神経芽細胞腫 Neuro2A に対しメンブレンフィルターの粗さを変えて 3 段階の Cell extrusion を実施するが、その 1 段階目ののちに密度勾配超遠心法を実施することで、ミトコンドリアの除去が可能であるかを検証した。密度勾配超遠心法により分画されたフラクションについて、マーカータンパク質の存在をウエスタンブロッティング法により確認したところ、細胞膜マーカーである N+/K+-ATPase および N-cadherin を含むフラクションとミトコンドリアマーカーである COX IV やミトコンドリア局在性のアポトーシス媒介タンパク質である PUMA を含むフラクションを分けて採取することが可能であった。細胞膜マーカーを含むフラクションについて残りの 2 段階の Cell extrusion を実施することで、ミトコンドリア夾雑を除去したバイオリポソームの産生することができた。さらに、この画分の使用は、最終的なバイオリポソームのサイズコントロールが容易となり、100-300 nm を直径とする粒子をシングルピークで回収することが可能となった。このミトコンドリア夾雑を低減したバイオリポソームの調整法について、現在特許出願中である。今後、親細胞の選択の最適化や膜表面の機能化により、脳内の病変部位に選択的に集積するバイオリポソームの開発を進めていく。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】 特許出願 「キャリアの生産方法、キャリアを含む液体およびその利用」 発明者：泉尾 直孝 国内出願 特願 2022-141796</p>		
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p> <p>【物品費】 実験消耗品（抗体・染色関連備品・実験動物など）</p> <p>【旅費】</p> <p>【謝金】</p> <p>【その他】</p> <p style="text-align: right;">合計</p>	<p style="text-align: center;">執行額（円）</p> <p style="text-align: right;">350,000 円</p> <p style="text-align: right;">0 円</p> <p style="text-align: right;">0 円</p> <p style="text-align: right;">0 円</p> <p style="text-align: right;">350,000 円</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>