

## 28PE-am250

PLA/PLA-PEGナノ粒子による臓器分布および細胞内取り込み機構の解明

○綾野 絵理<sup>1</sup>, 石原 務<sup>1</sup>, 久保田 哲史<sup>1,2</sup>, 檜垣 恵<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京慈恵医大 DDS研, <sup>2</sup>共立薬大)

【目的】ターゲティング機能と薬物徐放機能を兼ね備えた静脈注射用ステルス型ナノ粒子の開発を行ってきた。本研究では、その薬理効果の作用機序解明を目的とし、蛍光色素を結合させたナノ粒子を用いて、マクロファージやリンパ節細胞、ヒト滑膜細胞による細胞内取り込み機構および、臓器分布について検討した。

【実験】ナノ粒子は、薬物として水溶性のリン酸ベタメタゾンを使用し、PEG-PLA (PLGA) ブロックポリマーとローダミンラベルのPLA (PLGA) ホモポリマーの混合物を用いてステルス型ナノ粒子を作製した。細胞への取り込み機構および臓器への蛍光分布を共焦点レーザー顕微鏡及びOptix (生体内蛍光イメージングシステム) で検討すると共に、蛍光光度計を用いて定量した。

【結果・考察】ポリマーの分子量や組成あるいはブロックポリマー/ホモポリマー混合比を変えることによりリン酸ベタメタゾン放出速度や細胞への取り込み速度を任意に調製できる粒子が作製できた。PLA のみで作製した非ステルス型ナノ粒子は投与後すぐにエネルギー依存性非特異的にRAW細胞(マウスマクロファージ様細胞)に取り込まれるのに対し、ステルス型ナノ粒子は取り込みには24時間以上必要とした。このことから、取り込みには、ステルス型ナノ粒子の培地中での粒子性状の変化が必要と考えられた。pHに応答したゼータ電位の変化より、ライソソーム内から細胞質へのエスケープも示唆された。さらに、阻害実験により、粒子はクラスリンを介した取り込みが支持された。また、マウスの臓器の分布から、ステルス型ナノ粒子の肝臓・脾臓への集積は非ステルス型ナノ粒子と比較して著減し、網内系への取り込みが低下した。

ステルス型ナノ粒子は網内系による貪食から逃れ、血中滞留性が増加し、EPR効果により炎症組織へ集積、局所で性状が変化し、炎症細胞に取り込まれて作用する可能性が考えられた。