

# 脾臓および脾外分泌組織への高い移行性と集積性を持つ薬剤デリバリー技術

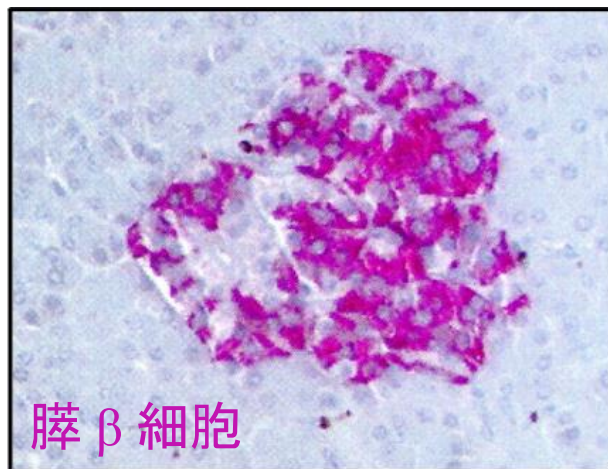
徳島大学 大学院医歯薬学研究部（薬学域）

教授 金沢 貴憲

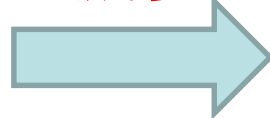
2024年9月12日

## 膵β細胞が局在する「膵島」は 糖尿病の根本的な予防・治療における重要な標的組織

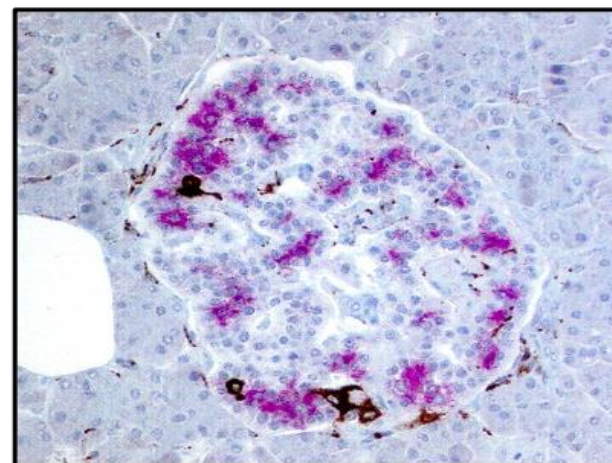
通常のヒト膵島



減少



2型糖尿病のヒト膵島



Marc Y. Donath et al., *Diabetes Care* (2008) 一部改変

[ 糖尿病と膵β細胞量の変化 ]

●既存の医薬品・動物薬・健康機能製品：糖の吸収を抑制(対症療法)

⇒「膵β細胞の減少」に対する根本的な改善は期待できない。

○根本治療：膵β細胞の保護・増殖作用のある化合物を膵島(送達困難組織)へ届ける

⇒膵臓・膵島への「送達用組成物(ナノ粒子など)」の開発が必要

## 膵β細胞保護作用を有する物質の開発

・ノビレチンは膵β細胞保護作用によるβ細胞量増大による抗糖尿病効果を有することを証明した



Phytomedicine Plus  
Volume 2, Issue 4, November 2022, 100367

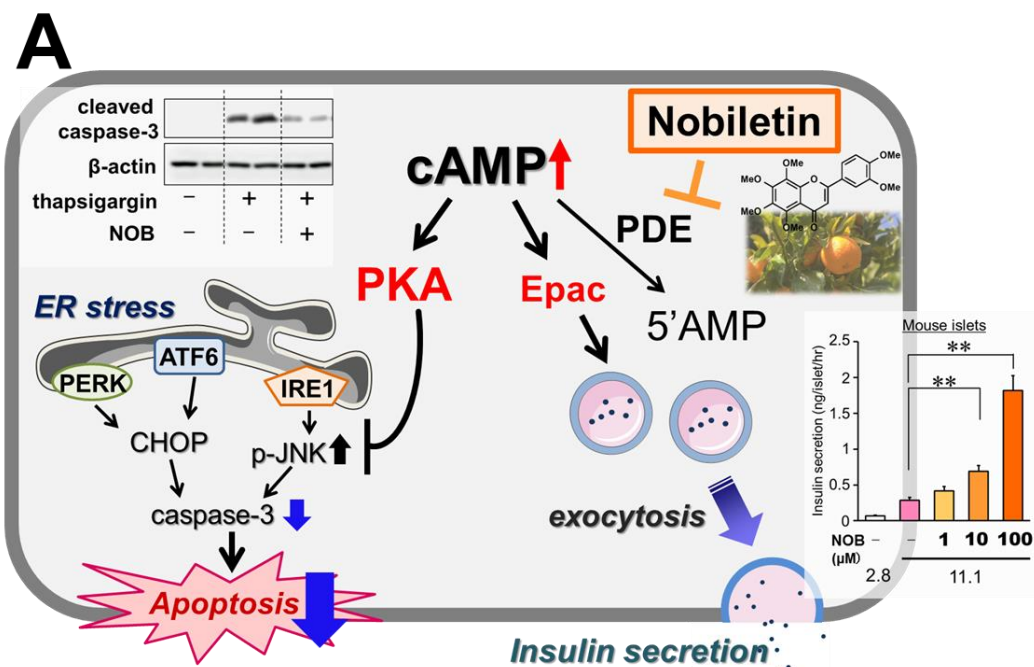


Nobiletin ameliorates glucose tolerance by protecting against  $\beta$ -cell loss in type-2 diabetic *db/db* mice

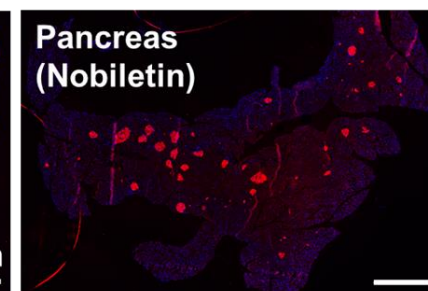
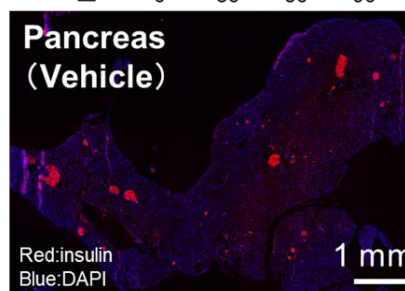
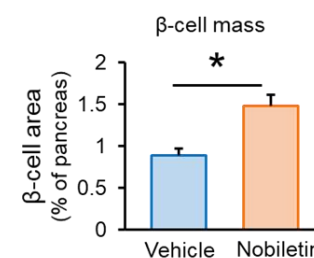
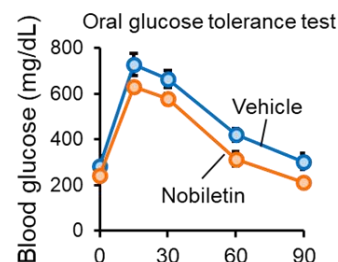
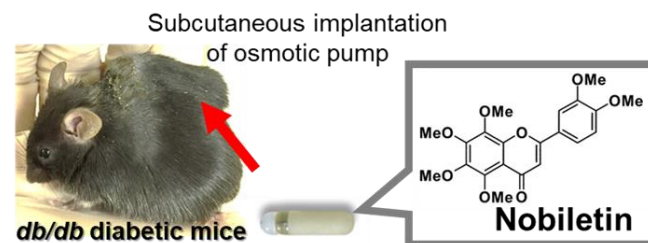
Yukiko K. Kaneko<sup>a</sup>, Yuki Tara<sup>a</sup>, Stella Amarachi Ihim<sup>a</sup>, Moe Yamamoto<sup>a</sup>, Megumi Kaji<sup>a</sup>, Tomohisa Ishikawa<sup>a</sup>

Insulinotropic and anti-apoptotic effects of nobiletin in INS-1D  $\beta$ -cells

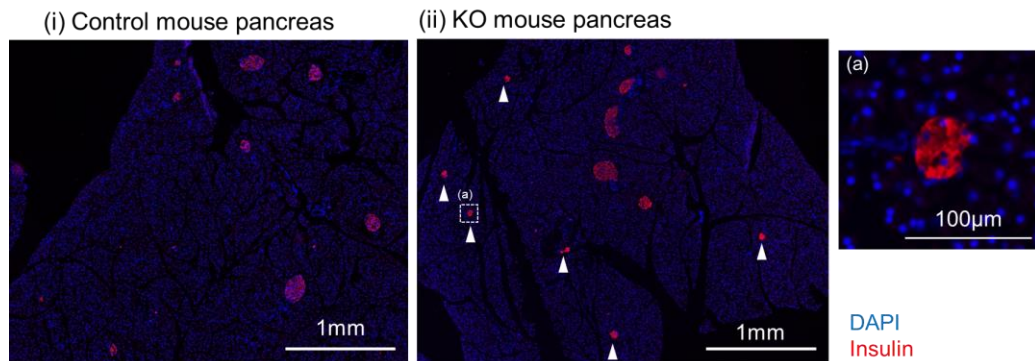
Miki Takii<sup>a</sup>, Yukiko K. Kaneko<sup>a,\*</sup>, Kiriko Akiyama<sup>a</sup>, Yuki Aoyagi<sup>a</sup>, Yuki Tara<sup>a</sup>, Tomohiro Asakawa<sup>b</sup>, Makoto Inai<sup>b</sup>, Toshiyuki Kan<sup>b</sup>, Kiyomitsu Nemoto<sup>c</sup>, Tomohisa Ishikawa<sup>a</sup>



**B**



## 膵β細胞量を増やす機構の解明



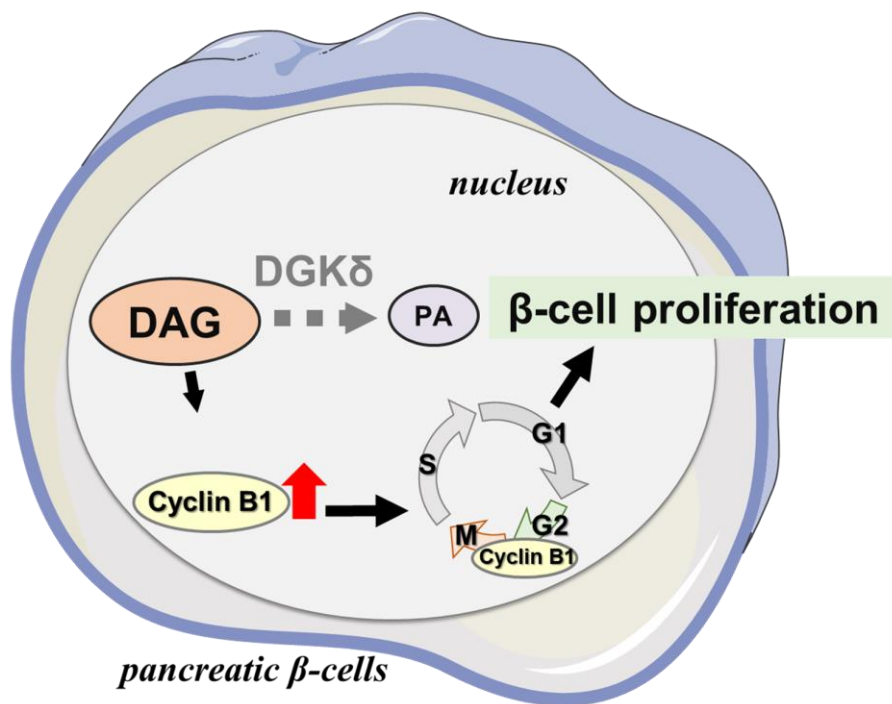
The  
**FASEB** Journal

RESEARCH ARTICLE | [Open Access](#) | [CC BY](#) | [DOI](#) | [PMID](#)

**Diacylglycerol kinase  $\delta$  functions as a proliferation suppressor in pancreatic  $\beta$ -cells**

Taiji Sato, Chihiro Ishiwatari, Yukiko K. Kaneko, Yoko Ishikawa, Yuki Kimura, Naoya Watanabe, Ikumi Aoshima, Yukari Matsuda, Takahiro Nakayama, Rina Chiba, Takahiro Fujinuki ... [See all authors](#)

First published: 28 March 2021 | <https://doi.org/10.1096/fj.202001279RR> | Citations: 4



- 膵β細胞増殖抑制因子として、DGK $\delta$ を見出した
- β細胞特異的にDGK $\delta$ を欠損させることにより、β細胞の増殖が認められた。

→ β細胞量を増やす物質(低分子化合物・核酸)を効率的にβ細胞に送達させることができれば、新たな糖尿病治療薬の開発に繋がるのでは？



## LNPの脂質組成や粒子径が体内分布に影響を与える

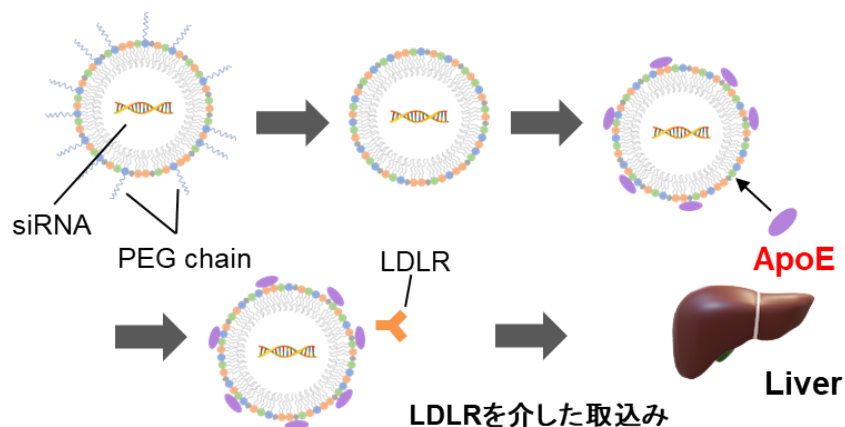
### 脂質ナノ粒子(Lipid Nanoparticle ; LNP)

- mRNA やsiRNAといった核酸の送達に効果的なDDSキャリア
- 基本的には、ヘルパー脂質(中性リン脂質, コレステロール), PEG化脂質, イオン化脂質から構成される

#### <LNP製剤の例>

- Comirnaty®(筋注)  
COVID-19ワクチン

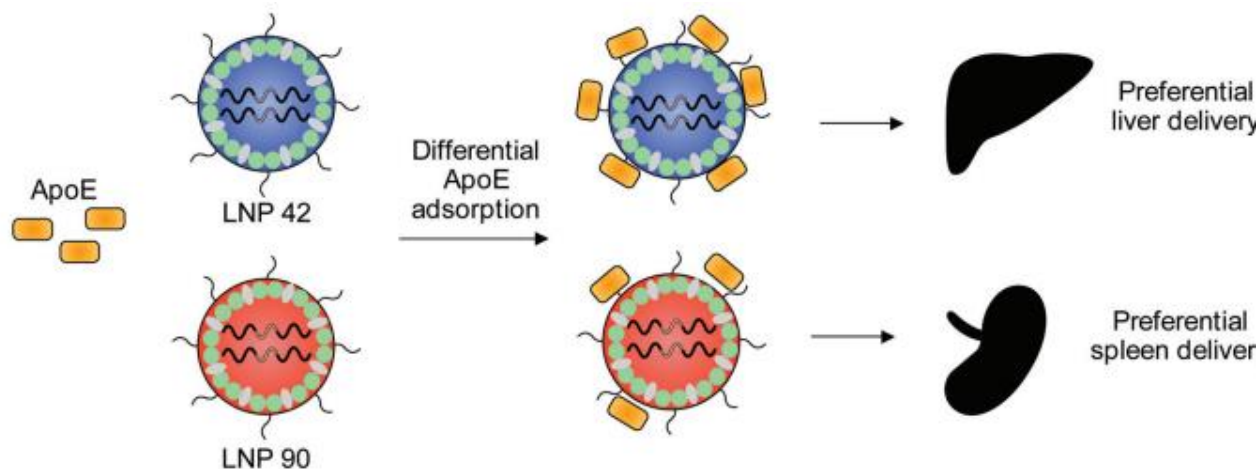
- Onpattro®(点滴静注)  
世界初のsiRNA医薬品  
肝臓においてTTR mRNAを特異的に分解



現在、LNPの血流を介した薬物送達は  
肝臓を標的としたもののみ



肝臓以外の臓器に対する  
LNPのターゲティングが求められる



(Biomater. Sci.,2021,9,1449-1463)

## 従来技術とその問題点

従来より

- ・経口、注射による脾臓への薬物移行性は極めて低い
  - ・肝臓以外の臓器への特異的な薬物送達が困難である
- という課題があった。

➡ 脾臓、脾島に関する薬物送達の方法が  
確立されていない。

## 実験方法

### ✓ LNP調製

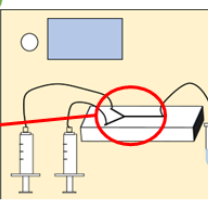
【マイクロ流体デバイス(MF)によるアルコール希釈法】

$$\text{流速比 (FRR)} = \frac{\text{水系溶媒の流量}}{\text{有機溶媒の流量}}$$

A iLiNP (バブル構造)

B

LiNAS-M Lite



A: 脂質/EtOH溶液  
B: 水系溶媒

$$\text{総流速 (TFR : mL/min)} = \text{水系溶媒の流量} + \text{有機溶媒の流量}$$

以下、組成の異なる3種類のLNPを調製した

① DOPE/CHEMS ② DOPC/Chol ③ DSPC/Chol

### ✓ マウスへの投与

LNP(脂質量: 5  $\mu\text{mol}$ /200  $\mu\text{L}$ /mouse)を尾静注



4hr または 24hr後

血管マーカーであるレクチンを尾静注した後  
臓器を摘出

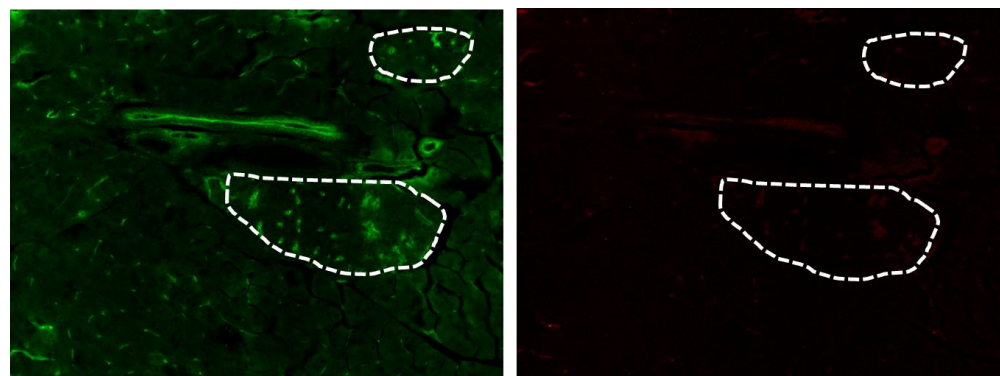
### ✓ ex vivo 蛍光イメージング

心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、血漿を撮影  
→ 蛍光強度を解析

### ✓ 膵臓切片の作製と観察

1. 固定(4%パラホルムアルデヒド)
2. スクローズ置換(10, 15, 20%スクローズ/PBS)
3. 包埋(OCTコンパウンド)
4. 薄切(5 $\mu\text{m}$ )
5. 観察

DAPI Fluoromount-Gで封入  
キーエンス顕微鏡 BZ-X810 で観察

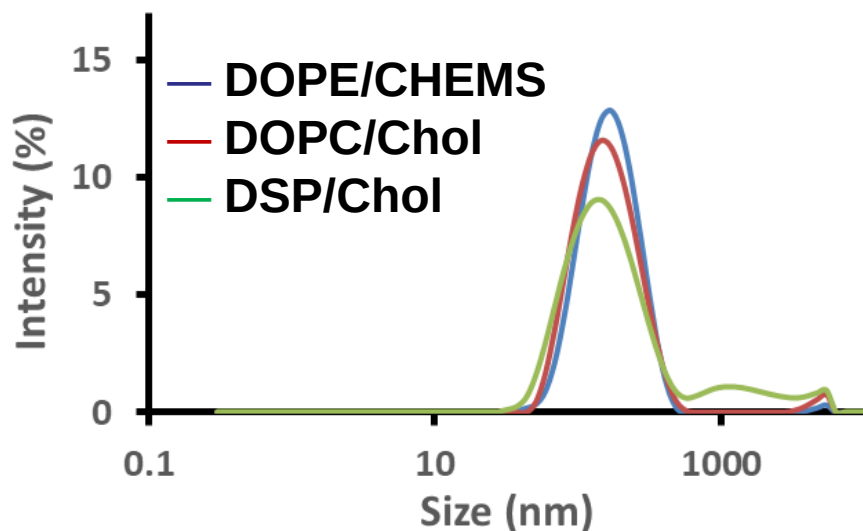


緑: レクチン 赤: DiI 白線: 膵島

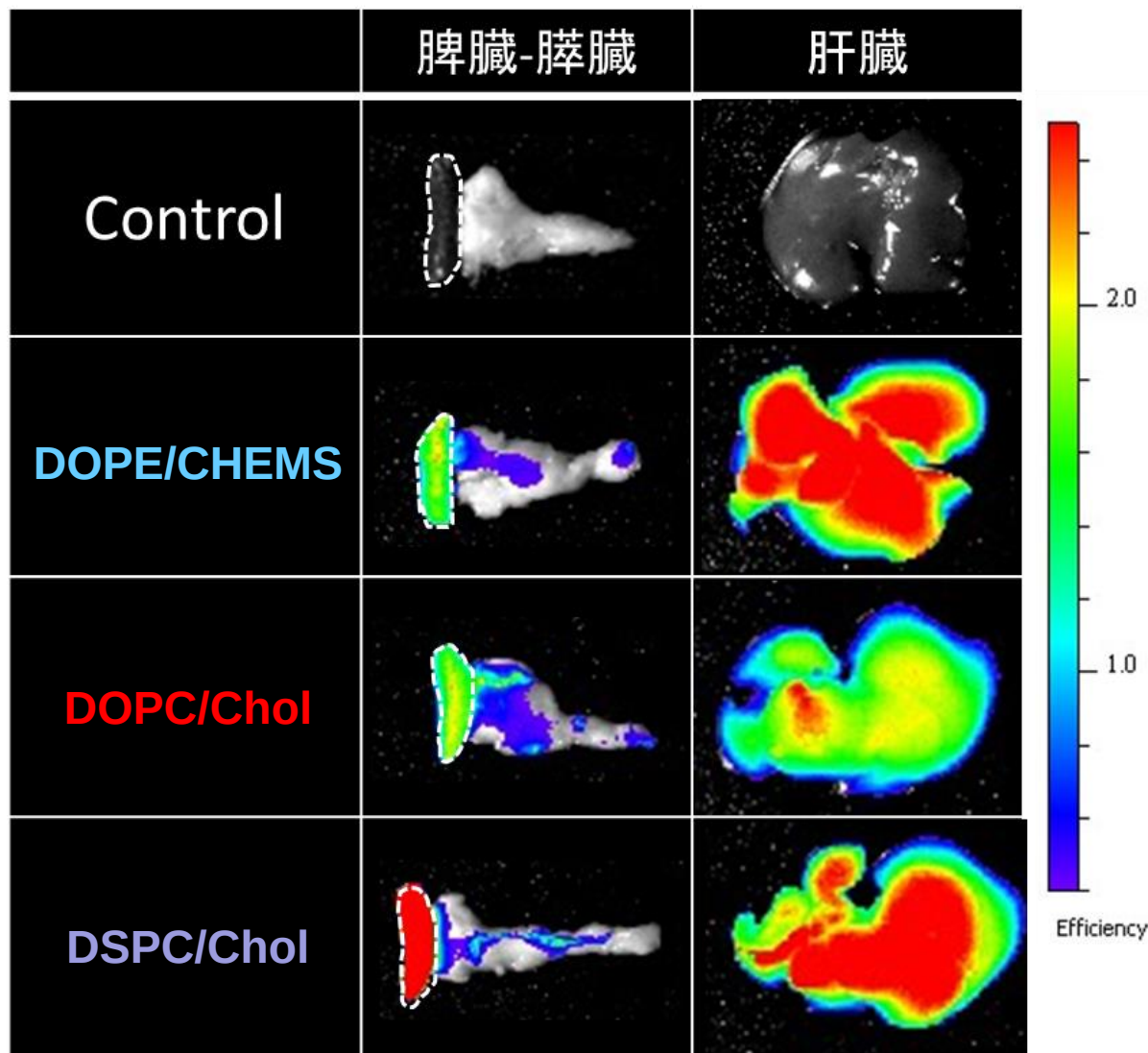
各LNPの物性評価・IVIS撮像

✓ DLS測定結果

| 脂質組成 (60/40) | Z-Average (nm) | PDI    |
|--------------|----------------|--------|
| DOPE/CHEMS   | 149.7          | 0.1827 |
| DOPC/Chol    | 147.7          | 0.2323 |
| DSPC/Chol    | 148.4          | 0.34   |



✓ *ex vivo* 蛍光イメージング(投与24hr後)



(白点線: 脾臓)

**DOPC/Chol**は膵臓への分布が高い一方で、肝臓への分布が低く、  
**DSP/Chol**は他の組成に比べて脾臓へ分布しやすい

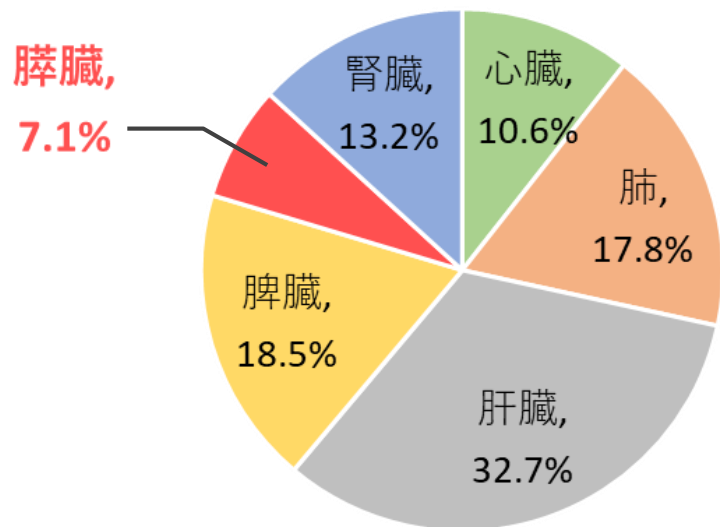


## 各臓器における蛍光強度の割合

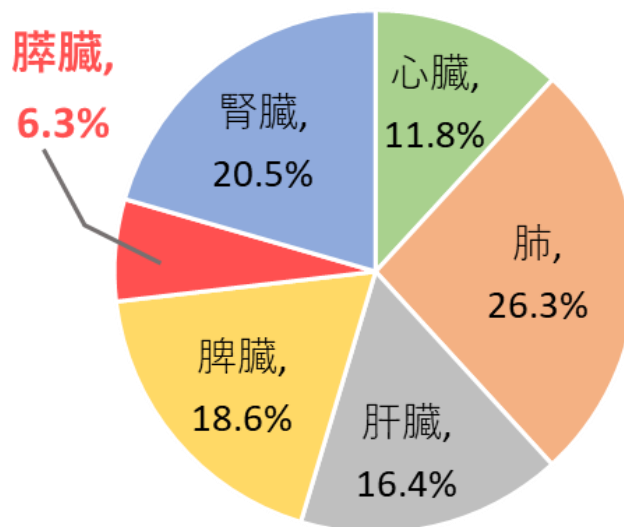
✓ 全臓器の合計蛍光強度に対する各臓器の蛍光強度の割合(%)

投与24hr後

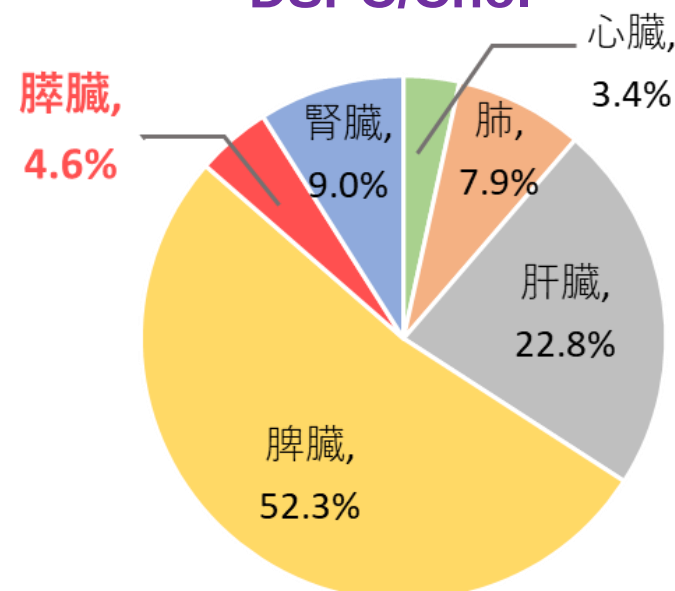
**DOPE/CHEMS**



**DOPC/Chol**



**DSPC/Chol**



✓ 膵臓移行性: 膵臓の蛍光強度 / 肝臓と脾臓の蛍光強度の和 (%)

**13.9 %**

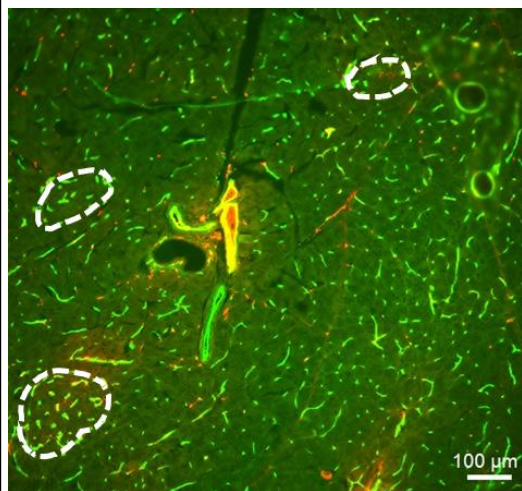
**18.0 %**

**6.13 %**

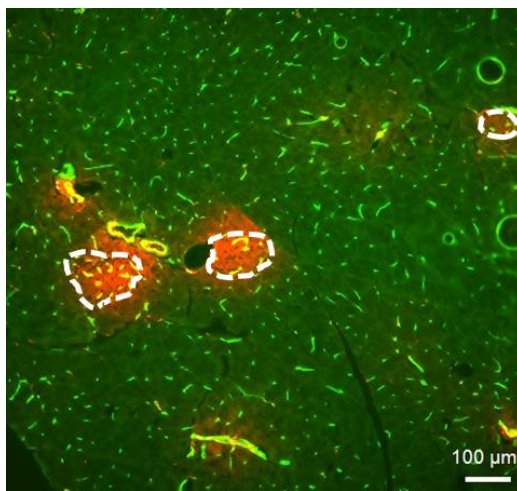
**DOPC/Chol は肝臓及び脾臓への分布割合が最も低く、膵臓移行性が最も高い**

膵島へのLNP分布

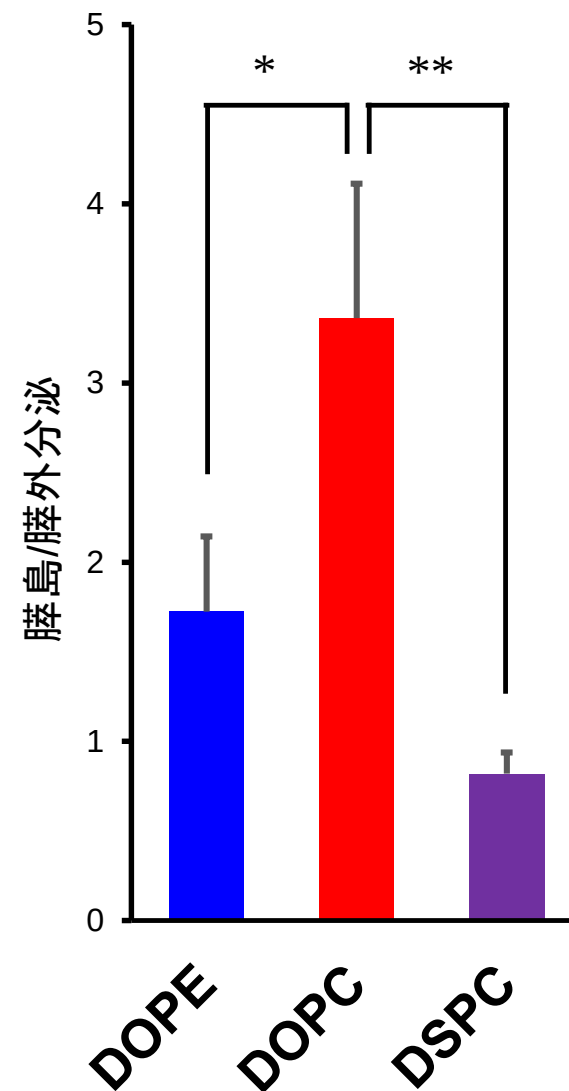
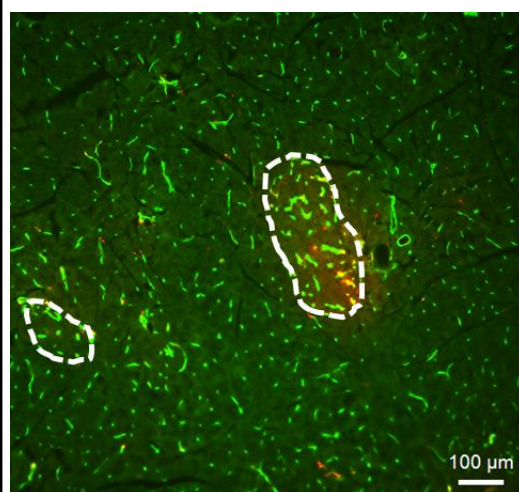
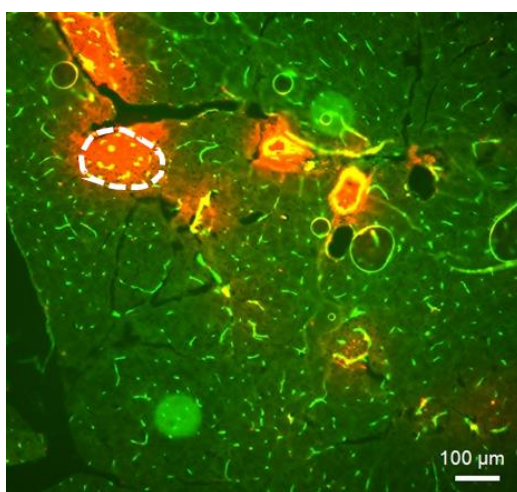
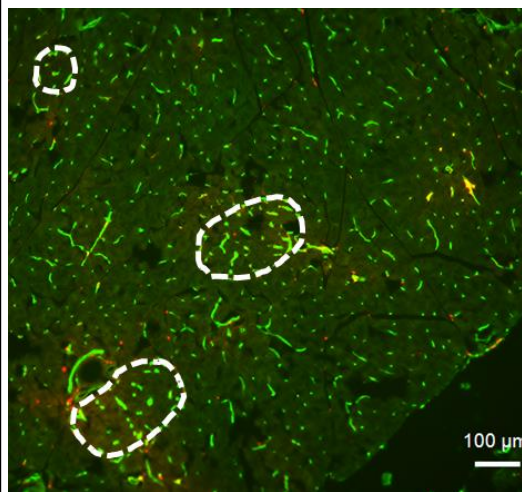
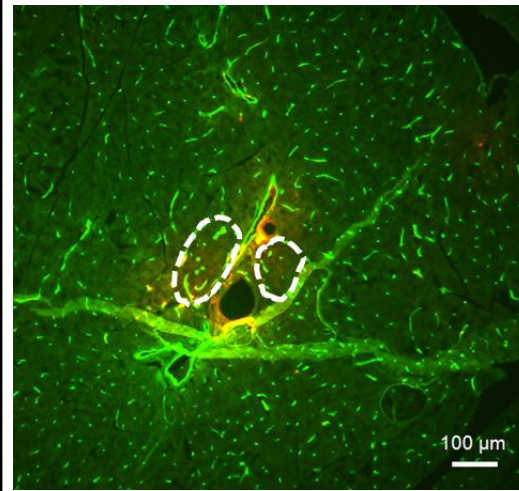
DOPE/CHEMS



DOPC/Chol



DSPC/Chol



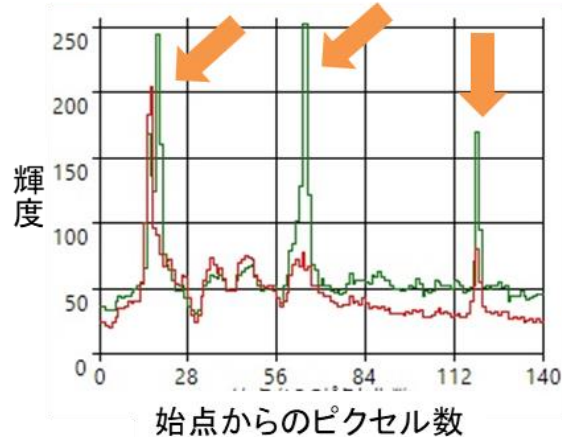
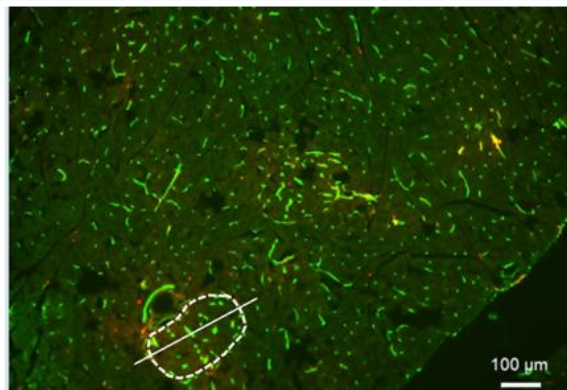
膵臓の1~2%を占める膵島におけるDiDの蛍光はDOPC/Cholで最も強い



## 膵島へのLNP分布のラインプロファイル解析

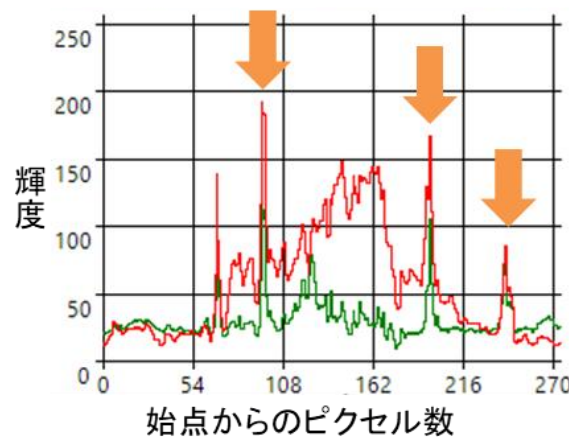
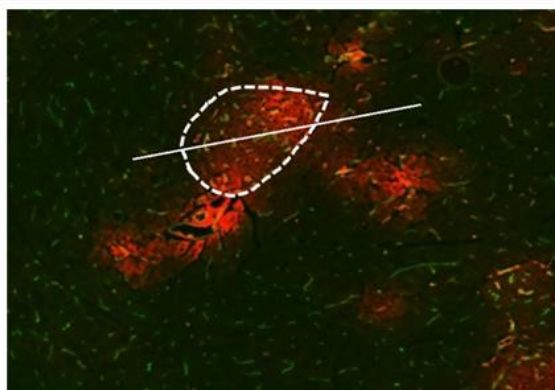
### DOPE/CHEMS

(Z-Average : 149.7 nm, PDI : 0.1827)



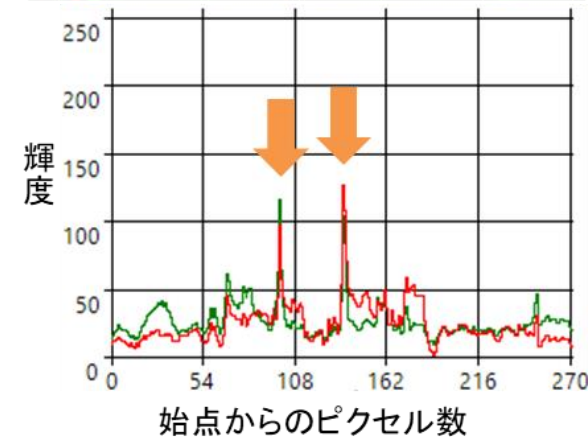
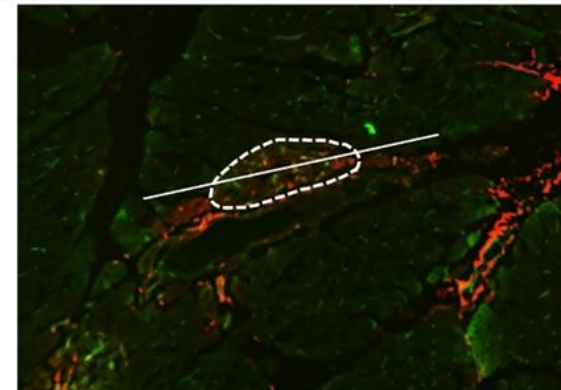
### DOPC/Chol

(Z-Average : 166.4 nm, PDI : 0.2591)



### DSPC/Chol

(Z-Average : 165.1 nm, PDI : 0.4711)



**DOPE/CHEMS** 及び **DSPC/Chol**では、レクチンの輝度が高い場所でDiDの輝度も高い

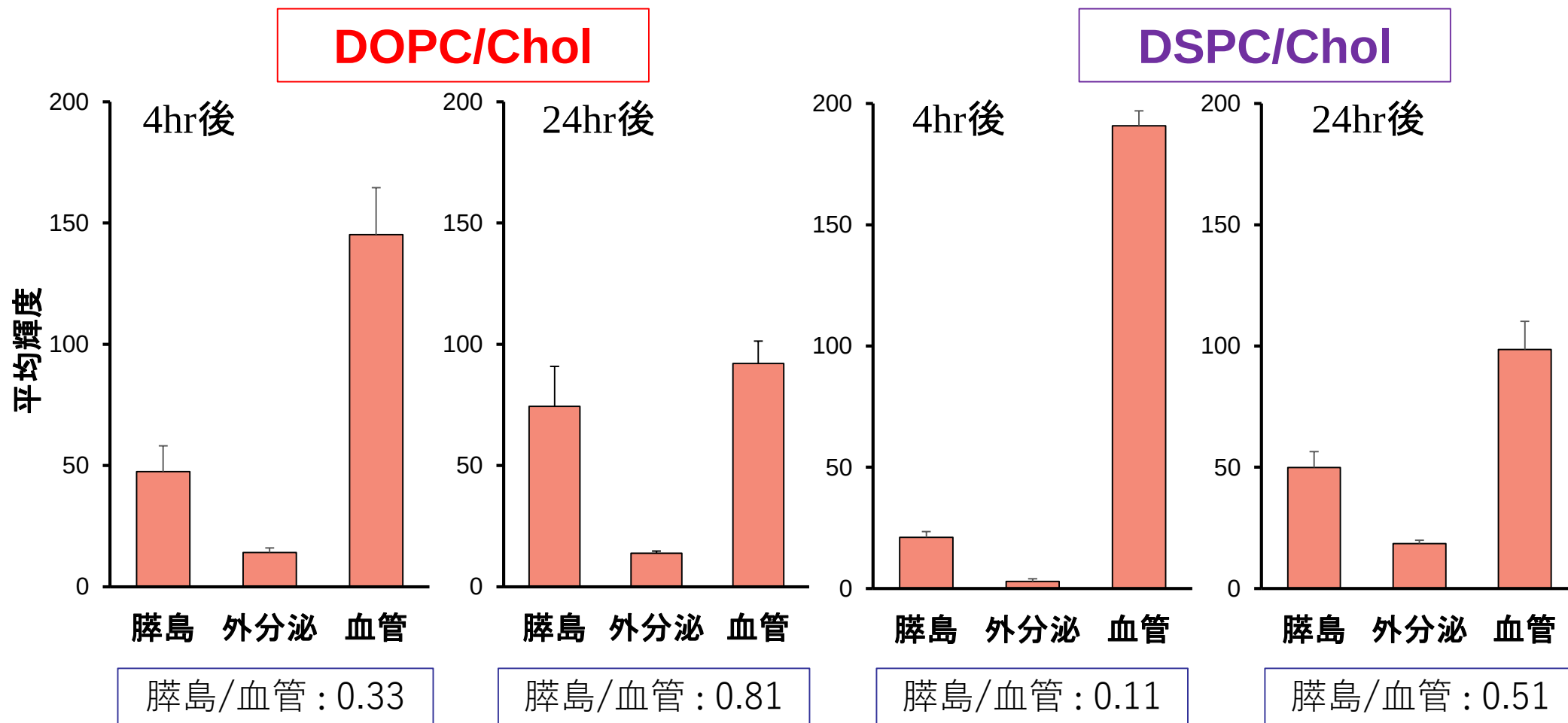
→DiDの分布は血管内に留まっている

**DOPC/Chol** では、レクチンの輝度が低い場所でもDiDの輝度が高い

→**DiD**が血管内だけでなく、膵島組織にも分布

## 投与時間経過による移行性の比較

✓ 膵島, 外分泌及び血管におけるDiDの平均輝度

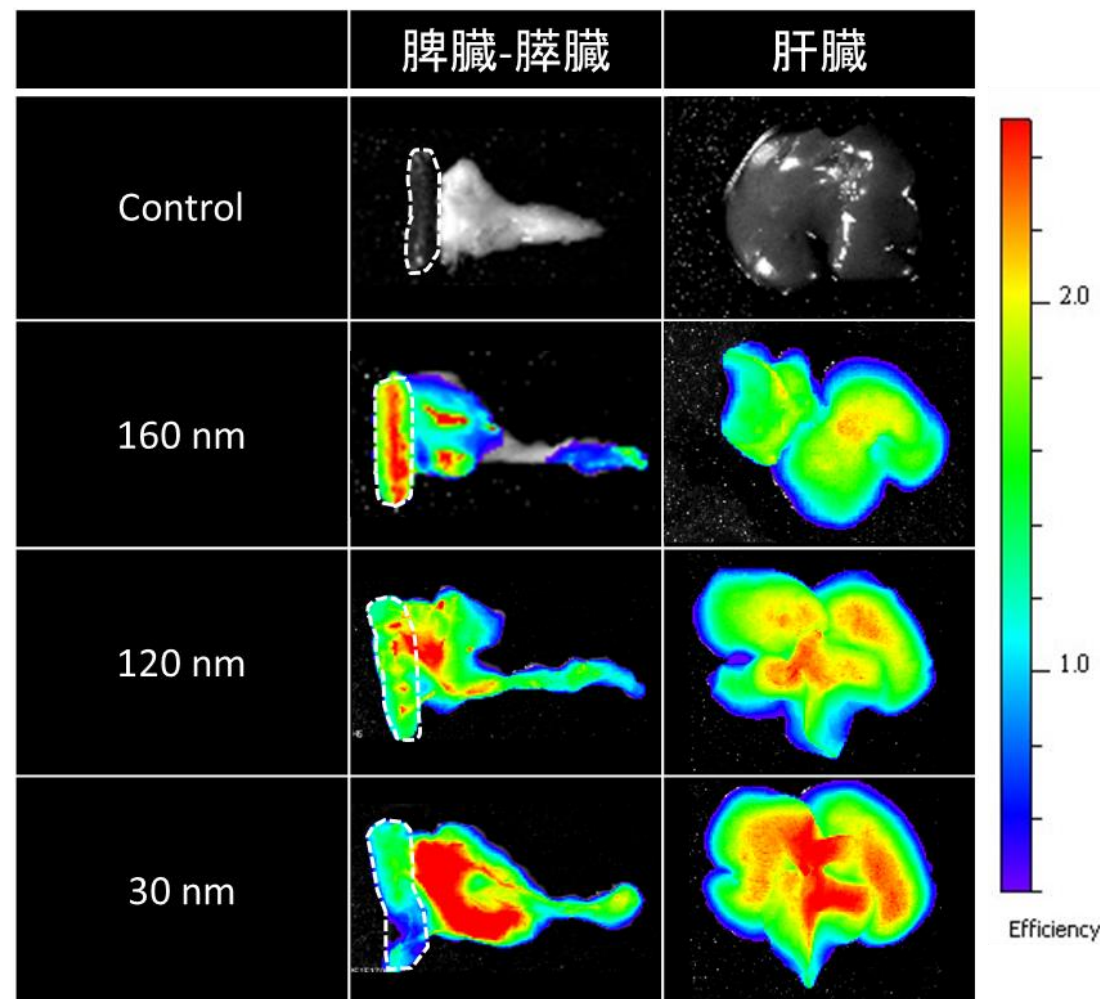
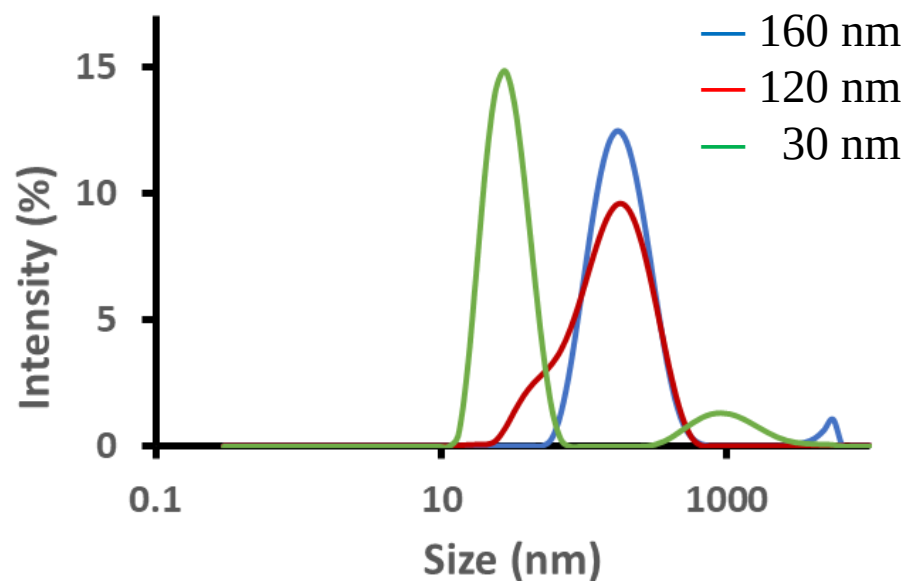


**DOPC/Chol**の血管における輝度は投与4hr後から24hr後にかけて減少したが、膵島では増大した。→ 膵島におけるDOPC/Cholの高い集積性が示された



## LNP Y 粒子径の検討 物性評価・IVIS撮像

| 脂質組成             | Z-Average (nm) | PDI           |
|------------------|----------------|---------------|
| <b>DOPC/Chol</b> | <b>166.4</b>   | <b>0.2591</b> |
|                  | <b>121.3</b>   | <b>0.278</b>  |
|                  | <b>30.17</b>   | <b>0.2635</b> |

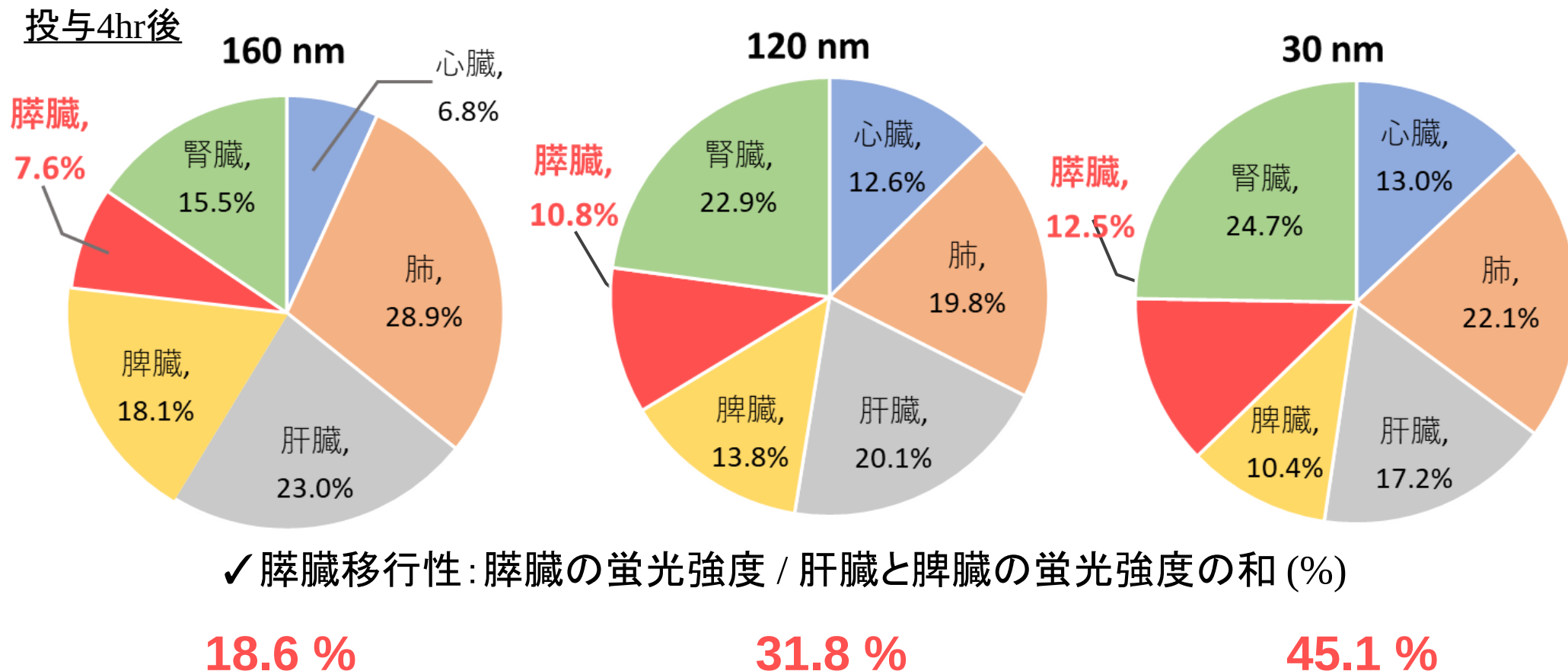


白点線: 脾臓

**粒子径が小さいLNPほど、肝臓および脾臓への分布が高くなることが示された**

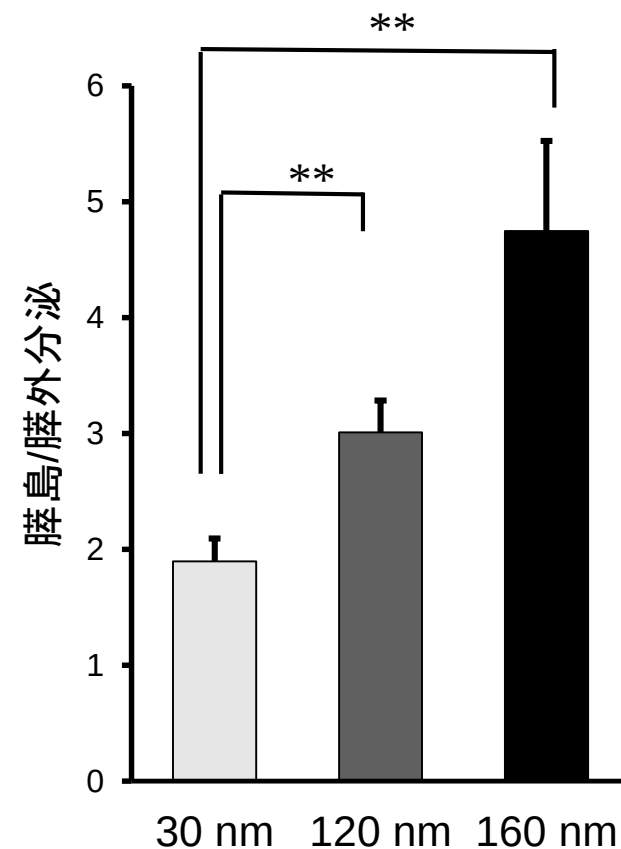
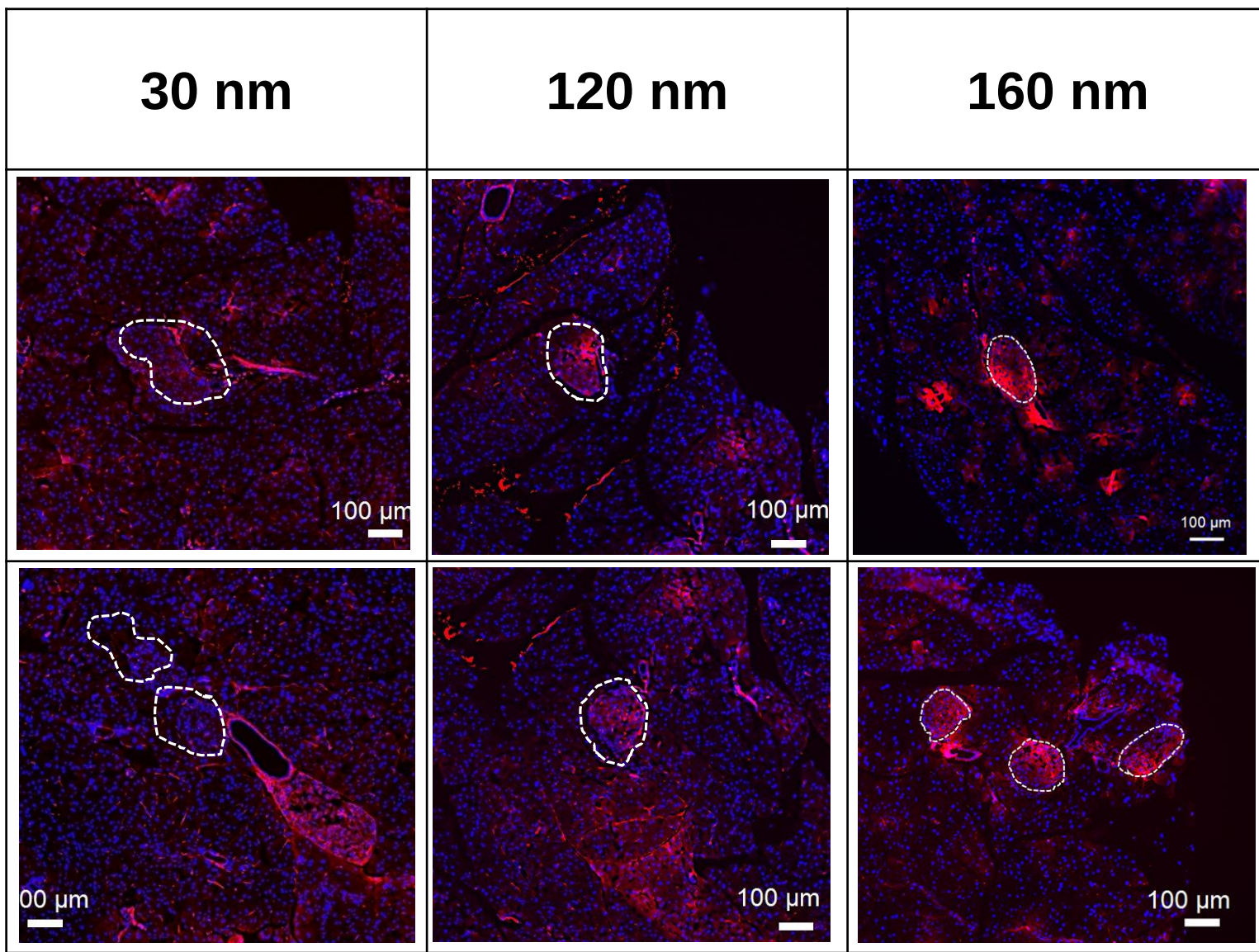
## DOPC/Chol 粒子径の検討 各臓器における蛍光強度の割合

✓ 全臓器の合計蛍光強度に対する各臓器の蛍光強度の割合 (%)



粒子径の小さいLNPの方が肝臓及び脾臓に対して膵臓へ分布しやすい

DOPC/Chol 粒子径の検討 膵島へのLNP分布



IVISの結果では、粒子径が小さいLNPの方が膵臓への移行性が高かったが、膵島への集積に着目すると、粒子径の大きいLNPの方が分布しやすい。



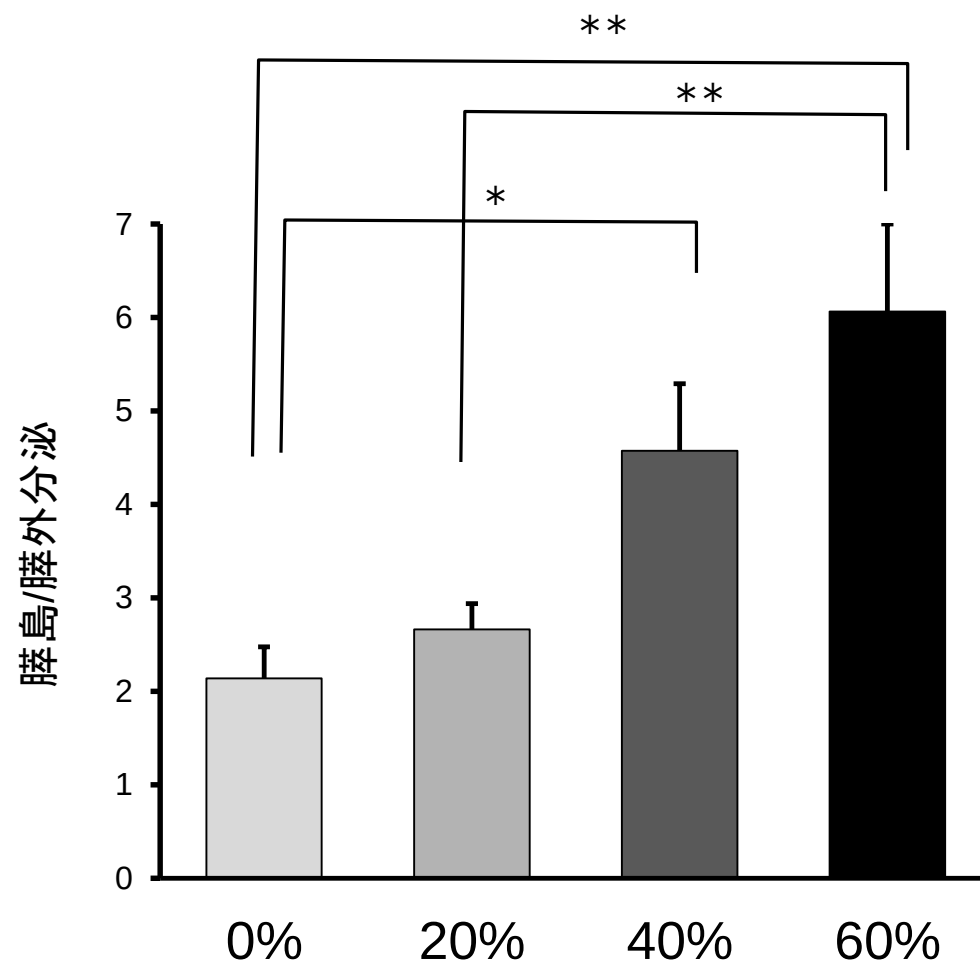
DOPC/Chol コレステロール含量の検討 膵島へのLNP分布

100/0/5

80/20/5

60/40/5

40/60/5

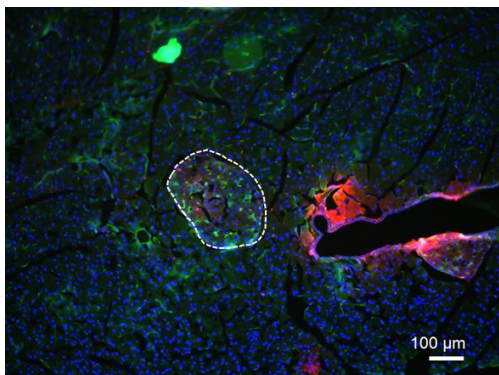


コレステロール含量が高い程、DOPC/LNPの膵島への分布が高まる

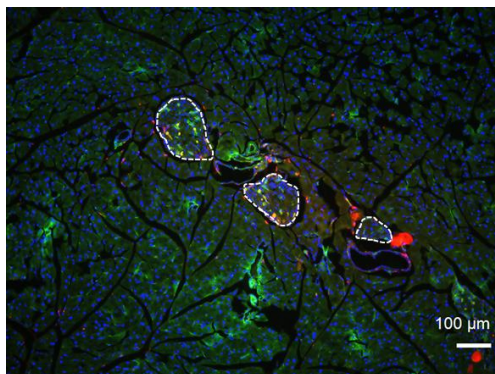


DOPC/Chol PEG含量の検討 膵島へのLNP分布

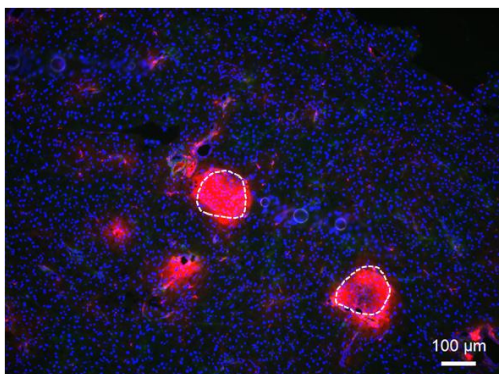
60/40/0



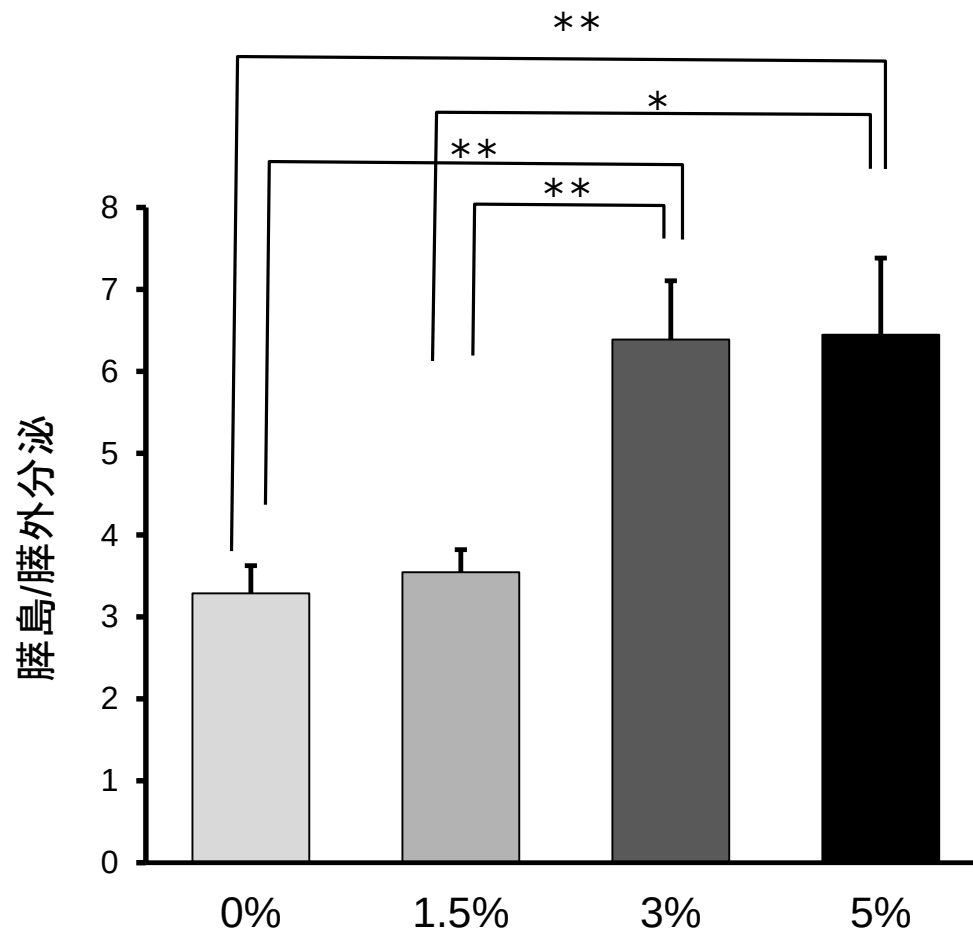
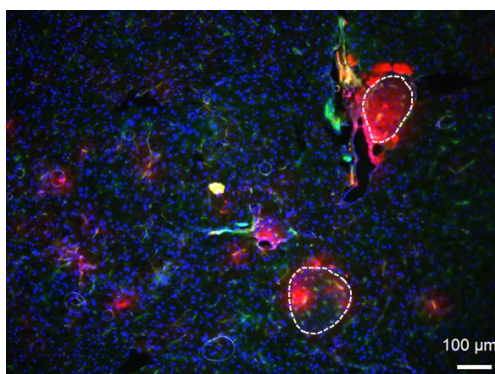
60/40/1.5



60/40/3



60/40/5



PEGが3～5%の割合でDOPC/LNPの膵島への分布が高まる

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- ・ 本技術LNP を利用することで経口、注射であっても高い膵および膵島集積性の結果が確認できている。
- ・ ノビレチン、siRNA、mRNAを封入し、膵  $\beta$  細胞に導入できることを確認している。
- ・ 特殊な材料や製法は不要であるため、導入コストが1/2～1/3程度まで削減されることが期待できる。

## 想定される用途

糖尿病、膵臓疾患、膵島、ナノ粒子製剤、核酸医薬。

具体的には、

- 膵島機能障害および膵島量の減少を呈している  
1型および2型糖尿病

- 慢性膵炎、膵がん

など膵臓疾患への新規治療薬展開が期待される。

# 実用化に向けた課題

- 臍島集積効率を最大限に高める組成・物性の検討  
→ 基本組成と物性については完了。今後、基本組成をもとに内包するモダリティごとに微修正・最適化を進める。
- LNPに内包する薬剤・核酸の検証  
→ ノビレチン、siRNA、mRNAを検証中。
- 開発したLNPの生産性・保存性の向上
- 対象疾患（候補化合物・標的分子含む）に対する市場調査



# 企業への期待

特異的に送達させるLNPの開発、LNPによる抗糖尿病効果の評価は大学側で可能です。

そのため、

- 開発したLNPの生産性・保存性の向上検討

- 市場調査

を得意とするパートナー・製薬会社を探しています。

# 企業への貢献、PRポイント

- 高品質(均質性、水分散性、成分含有率)なナノ粒子の製造技術やナノ粒子の生体内動態(膵臓内分布込み)を精密に解析する評価技術を確立している。
- 高度な膵、膵島解析技術、糖尿病評価技術を有している。
- 現在、膵臓・膵島への核酸モダリティやナノ粒子の動態に関する先行研究はほとんどない。
- すでに膵へ高く集積するLNPの組成開発が進んでいる。

# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 脂質ナノ粒子
- ・ 出願番号 : PCT/JP/2024019985
- ・ 出願人 : 国立大学法人徳島大学、  
静岡県公立大学法人
- ・ 発明者 : 金沢貴憲、金子雪子

# 産学連携の経歴

- ・ 2023-2024 JST 可能性検証
- ・ 2023-2024 AMED創薬基盤研究推進事業
- ・ 2023 持田記念医学薬学財団 研究助成金
- ・ 2023 上原記念生命科学財団 研究助成金
- ・ 2022-2023 JST A-STEP(トライアウト)
- ・ 2022-2023 科研費 挑戦的研究(萌芽)
- ・ 2021-2022 AMED創薬ブースター事業
- ・ 2020-2021 JST A-STEP(トライアウト)
- ・ 2020 武田科学振興財団 薬学系研究助成



# お問い合わせ先

徳島大学 研究支援・産学官連携センター／  
株式会社テクノネットワーク四国(四国TLO)  
宮澤 日子太

Tel: 088-656-9400

E-mail: [licence\\_info@s-tlo.co.jp](mailto:licence_info@s-tlo.co.jp)