

mice. *Arthritis Rheum* 52: 959-66, 2005.

3. Tsubaki T, Arita N, Kawakami T, Shiratsuchi T, Yamamoto H, Takubo N, Yamada K, Nakata S, Yamamoto S, Nose M.: Characterization of histopathology and gene-expression profiles of synovitis in early rheumatoid arthritis using targeted biopsy specimens. *Arthritis Res Ther* 7: 825-36, 2005.

4. Tsubaki T, Takegawa S, Hanamoto H, Arita N, Kamogawa J, Yamamoto H, Takubo N, Nakata S, Yamada K, Yamamoto S, Yosie O, and Nose M.: Accumulation of plasma cells expressing CXCR3 in the synovial sublining regions of rheumatoid arthritis in association with production of Mig/CXCL9 by synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 141: 363-71, 2005.

5. Miyazaki T, Ono M, Qu WM, Zhang MC, Mori S, Nakatsuru S, Nakamura Y, Sawasaki T, Endo Y, Nose M.: Implication of allelic polymorphism of osteopontin in the development of lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Eur J Immunol* 35: 1510-20, 2005.

6. Zhang MC, Misu N, Furukawa H, Watanabe Y, Terada M, Komori II, Miyazaki T, Nose M, Ono M.: An epistatic effect of the female-specific loci on the development of autoimmune vasculitis and anti-nuclear autoantibody in murine lupus. *Ann Rheum Dis* : 2005. (in press)

7. 能勢真人.: 血管炎のポリジーンネットワーク. *医学のあゆみ* 214:5-8,2005

8. 能勢真人、小森浩章: 膠原病のゲノム病理—病像多様性のポリジーンネットワーク、*Annual Review 2006 免疫*、中外医学社、p211-223、2005  
学会発表

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

# 【大型血管炎の臨床研究分科会】

## 虚血肢に対する血管新生療法の現況

分担研究者 重松 宏 東京医科大学外科学第二講座主任教授

### 研究要旨

虚血肢に対する遺伝子を用いた血管新生療法について世界的な治験進行状況について検索した。いずれも phase I, II 段階で結論は得られていないが、我が国で進行中の HGF plasmid を用いた治験の有用性について期待が持てるため、症例の積み重ねが必要である。

### A. 研究目的

遺伝子を用いた血管新生療法の現況について、末梢閉塞性動脈疾患に対して世界的に進められている治験の検索と、我が国で行われている Buerger 病を対象とした HGF プラスミドを用いた治験の進捗状況を検討した。

### B. 研究方法

文献的検索および Anges MG 株式会社からの情報提供による。

（倫理面への配慮）

特記すべきこと無し。

### C. 研究結果

#### 1. 世界の開発状況

VEGF や FGF、HGF などを用いた治験が進行中で、開発会社、使用遺伝子やベクター、開発段階などを表 1 にまとめた。いずれも Phase I あるいは Phase II 段階で、進行中である（表 1）。

末梢閉塞性動脈疾患の診断や治療指針として発行された TASC(Trans Atlantic Inter-Society Consensus)は改訂作業が進行中で、essential TASC としてまとめられつ

つあるが、その中では、血管新生療法の現況について、遺伝子治療の有用性が早期に認められるが、いずれも phase I, II 段階であり、適正な治療法について更なる検討が必要である、と述べている。

#### 2. 国内の状況

国内では、虚血肢に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法の有用性について、閉塞性動脈硬化症と Buerger 病を対象に治験が行われている。本研究班では、Buerger 病患者を対象に難治性潰瘍の改善をエンドポイントとして、7 大学で 15 例を目標に open trial を施行中である。これまでに 13 例が仮登録され、観察期間中に 8 例が脱落して、5 例に投薬が行われた。全例男性で、罹病期間が 10 年未満のものは 3 例、10 年以上 20 年未満、20 年以上が各 1 例であった。途中経過ではあるが、1 例で潰瘍の拡大を認めた以外は縮小しており、3 例では潰瘍が治癒しており有用性に期待が持たれている。足関節部血圧の上肢血圧に対する比に有意な上昇は見られないが、安静

時疼痛は全例で軽快している。食道の扁平上皮癌と骨髄炎が有害事象として報告されているが、治験を中止するほどのものではなかった。

その他、酸性ゼラチンハイドロゲル微粒子をキャリアーとして bFGF を投与するもの、センダイウィルスベクターとして FGF を投与するもの、などが始められている。

#### D. 考察

虚血肢や虚血心を対象とした血管新生療法は、骨髄細胞や末梢血幹細胞などを用いる細胞療法と並んで、種々のベクターを用いた遺伝子治療が試みられている。現在世界的には VEGF や FGF を用いるものが多く、HGF プラスミドを用いたものは我が国のみである。閉塞性動脈硬化症患者に見られる安静時疼痛や虚血性潰瘍例に対しても、同様のプロトコールで治

験が進行中であり、虚血肢に対する新しい治療法として期待されている。

#### E. 結論

虚血肢に対する遺伝子を用いた血管新生療法は、世界的にも多くの治験が行われているが、いずれも phase I, II 段階での検討であり、有用性についての検証が進行中である。今後の症例の集積が待たれる。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表  
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当するものなし

(表 1)

開発会社	遺伝子	ベクター	開発段階 (推測含む)
Corautus Genetics	VEGF-2	Plasmid	PAD: P I (終了) IHD: P IIb/III (2004.8~)
GenVec	VEGF-121	Adeno Virus	PAD/IC: P II (終了) IHD: P IIb (2005.4~)
Berlex	FGF-4	Adeno Virus	PAD/CLI: P I/II (実施中) IHD: P IIb/III (中止)
Genzyme	HIF-1 $\alpha$	Adeno Virus	PAD/IC: P II(2005.2~) IHD: P I (実施中)
Aventis	FGF-1	Plasmid	PAD/IC: P IIa (終了)
Valentis	Del-1	DNA Liposome	PAD/IC: O IIa (中断)
AnGes Inc.	HGF	Plasmid	PAD/CLI: P II(2003.4~) IHD: P I(2004.11~)

PAD: peripheral arterial disease IHD: ischemic heart disease

IC: intermittent claudication

CLI: critical limb ischemia

P: phase

難治性血管炎に関する研究

分担研究者 浅原 孝之 東海大学医学部 基盤診療学系 再生医療科学 教授

研究要旨

重症慢性下肢虚血および虚血性心疾患患者を対象にした、自家血管内皮前駆細胞移植による血管再生治療に関する第 I・II 相臨床試験を計画した。下肢虚血に対する試験計画は、東海大学と先端医療センター・神戸市立中央市民病院の倫理委員会で実施の承認を得て、2003 年 11 月から移植治療が開始されている。現時点で重篤な有害事象は発生せず、自他覚所見の改善が得られている。虚血性心疾患患者に対する臨床試験も 2006 年春の開始を目指して準備を進めている。

A. 研究目的

重症慢性下肢虚血、虚血性心疾患患者に対する自家血管内皮前駆細胞（CD34 陽性細胞）移植の臨床的有用性を明らかにする。

B. 研究方法

上記の細胞移植治療に関する第 I・II 相試験を計画し、施行する。科学的に臨床試験を施行するため、独立したデータセンター、登録センターと共同で研究を進める。

（倫理面への配慮）

上記の臨床試験は、先端医療センター再生医療審査委員会・神戸市立中央市民病院倫理委員会から実施の承認を得た後に、被験者から同意を得て開始される。

C. 研究結果

重症慢性下肢虚血患者に対する上記臨床試験は、上記の手続きを経て開始された。顆粒球コロニー刺激因子製剤の投与により末梢血に動員された骨髄単核球細胞をアフエーシスで採取し、磁気細胞分離により単核球から分離された血管内皮前駆細胞（CD34 陽性細胞）を虚血下肢の筋肉内に移植している。現在までに 14 例の患者に対する移植が安全に行われ、自他覚所見の著明な改善が得られている。虚血性心疾患に対する臨床試験も 2006 年春の開始を目指して現在準備中である。

D. 考察

臨床試験の開始に先立って、豊富な基礎研究データの準備が重要であることは言うまでもないが、患者の倫理面に配慮し、移植治療を安全かつ有効に施行するためには、綿密に臨床試験を計画し、詳細な臨床試験プロトコルを作成することが重要である。今回、GCP 規準臨床試験に準拠したプロトコルを作成することにより、臨床試験を安全にかつ科学的で、再現性の期待できる形で開始することができた。

E. 結論

重症慢性下肢虚血患者に対する自家血管内皮前駆細胞（CD34 陽性細胞）移植に関する第 I・II 相臨床試験を開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ① Murasawa S, Asahara T, Endothelial Progenitor Cells for Vasculogenesis. *Physiology (Bethesda)*. 2005 Feb; 20:36-42.
- ② Masaaki Ii, Hiromi Nishimura, Atsushi Iwakura, Andrea Wecker, Elizabeth Eaton, Takayuki
- ③ Asahara & Douglas W. Losordo. Endothelial progenitor cells are rapidly recruited to myocardium and mediate protective effect of ischemic preconditioning via "imported" nitric oxide synthase activity. *Circ*. 2005; 111:1114-1120.
- ④ Murasawa S, Kawamoto A, Horii M, Nakamori S, Asahara T. Niche-Dependent

Translineage Commitment of Endothelial Progenitor Cells, Not Fusion in General, Into Myocardial Lineage Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(7):1388-1394

⑤Ii M, Nishimura H, Kusano KF, Qin G, Yoon YS, Wecker A, Asahara T, Losordo DW. Neuronal nitric oxide synthase mediates statin-induced restoration of vasa nervorum and reversal of diabetic neuropathy. *Circ.* 2005; 112(1): 93-102.

⑥Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, Oyamada A, Nakamori S, Nishimura H, Sadamoto K, Horii M, Matsumoto T, Murasawa S, Shibata T, Suehiro S, Asahara T, Dose-Dependent Contribution of CD34-

positive Cell Transplantation to Concurrent Vasculogenesis and Cardiomyogenesis for Functional Regenerative Recovery Post Myocardial Infarction. *Circulation*, 2006; in press

2. 学会発表  
特記事項なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特記事項なし。

1. 特許取得  
2. 実用新案登録  
3. その他  
特記すべき事なし

## 高安動脈炎による広範型胸部大動脈瘤に対するハイブリッド手術

分担研究者 東京医科大学外科学第2講座

小櫃由樹生、重松 宏、川口 聡、小泉信達、榎村 進、小出謙爾

### 研究要旨

高安動脈炎に合併する広範型胸部大動脈瘤に対する低侵襲治療として外科治療と血管内治療を組み合わせたハイブリッド手術を行い、その有効性が明らかになった。

#### A. 研究目的

高安動脈炎に合併する大動脈瘤に対する低侵襲治療を目的として、血管内治療（ステントグラフト内挿術）を行い、その有効性について検討した。

#### B. 研究方法

広範型胸部大動脈瘤を合併する高安動脈炎例に脳分離体外循環を用いた上行・全弓部置換術（エレファントトランク併用）を行なった後、エレファントトランクを landing zone とした2期的ステントグラフト内挿術を行った。

（倫理面への配慮）

手術手技の保険適応が認められ、当院倫理委員会の承認を得たステントグラフト内挿術を行うに当たり、十分なインフォームドコンセント後に患者および家族の承諾をえた。

#### C. 研究結果

観察期間は短いものの、術後経過は良好で、大動脈瘤治療の低侵襲化が可能であった。

#### D. 考察

大動脈瘤の低侵襲治療として効果が確立されつつあるステントグラフト内挿術は、炎症性大動脈瘤にも有効であった。しかし、遠隔成績の報告はなく、厳重な経過観察を要すると考えている。

#### E. 結論

ハイブリッド手術は炎症性大動脈瘤に有効であった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Kawaguchi S. et al: Clinical outcomes from patients treated with endovascular stent graft for thoracic aortic aneurysms. J.Am.College of Cardiology 43:471,2004

2) Yano H. et al: Endovascular stent grafting of the descending thoracic aorta after arch repair in acute type A dissection. Ann. Thorac. Surg. 73: 288-291, 2002

##### 2. 学会発表

1) Obitsu Y. et al: Secondary endografting after total arch replacement for thoracic aortic aneurysms. the 13 th Annual Meeting

of Asian Society for Cardiovascular Surgery,  
2005

2) 小櫃由樹生他：胸部大動脈瘤に対する  
治療戦略—治療経過よりみた血管内治療  
の適応— 第 105 日本外科学会シンポジ  
ウム、2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

虚血肢の治療を目的とした bFGF タンパクのピンポイントデリバリー法

小山 博之<sup>1)</sup>、浦部 豪<sup>1)</sup>、保坂晃弘<sup>1)</sup>、宮田哲郎<sup>1)</sup>  
重松 宏<sup>2)</sup>

- 1) 東京大学大学院血管外科学講座  
2) 東京医科大学 外科学第二講座主任教授（分担研究者）

研究要旨

機能する側副血行路の発達を目標として塩基性線維芽細胞増殖因子タンパクを酸性ゼラチンハイドロゲル微粒子に結合させ donor artery 内に動注する新しい血管新生療法を開発した。ウサギ虚血肢モデルを用いて評価したところ良好な虚血改善効果を得ることができたため、現在、慢性虚血肢の治療を目的とした臨床試験を実施中である。

A. 研究目的

バジャー病や閉塞性動脈硬化症による慢性虚血肢治療のため、有効性と安全性に優れた血管新生療法の開発を目的とした。血管新生療法は、虚血部に対して十分な血流を供給する側副血行路（機能する側副血行路）を発達させる治療法と規定できる。そのため本分担では以下の3点を満たす血管新生因子デリバリーによる血管新生療法の開発を目指した。

- (1) 口径が大きく成熟した壁構造を持つ側副血行路の発達が不可欠なため、血管の成熟・拡大を司るプロセスである arteriogenesis を促す血管新生因子をデリバリーする。具体的には angiogenesis をも促す塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を用いる。  
(2) 血管新生因子は側副血行路を発達させる源となり得る動脈（以下 donor

artery と呼ぶ）の末梢の小口径部位に選択的にデリバリーする。

- (3) 血管新生因子デリバリーは期間限定でなされるべきで2週間程度が適当。

B. 研究方法

前記の三項目を満たす治療法として酸性ゼラチンハイドロゲル微粒子 (AGHM) に bFGF タンパクを結合させ donor artery 内に動注する「bFGF タンパクのピンポイントデリバリー法」を開発した。AGHM の大きさを 29  $\mu\text{m}$  とすることにより動注された AGHM は donor artery 末梢の小口径部位に選択的にトラップされる。トラップされた AGHM はその部位で約2週間かけて分解されるように設定されているが、分解されたゲルに結合している bFGF が逐次リリースされていくという仕組みである。

この治療法の効果をウサギ虚血肢モデルを用いて検証した。日本白色ウサギの左下肢の大腿動脈を全長にわたり切除して虚血肢を作成した。切除後 28 日目に慢性虚血状態となるため、虚血肢に対する donor artery である左内腸骨動脈内に、bFGF (100  $\mu$ g) を結合した AGHM (3mg) を動注した (FGF 動注群)。対照のウサギに対しては bFGF を結合させていない AGHM (3mg) を同様に動注した (Cont 動注群)。そして動注後 28 日目に、下腿血圧比、内腸骨動脈の選択的動脈造影及びそのスコア評価、内腸骨動脈の血流量測定、側副血行路コンダクタンス測定、大腿部内転筋の局所血流量、大腿部半膜様筋の毛細血管密度とアクチン陽性細胞随伴血管密度測定を施行した。

また、同じウサギ虚血肢モデルにおいて bFGF (100  $\mu$ g) を結合した AGHM (3mg) 又は bFGF を結合させていない AGHM (3mg) を左大腿部に筋肉注射し (FGF 筋注群及び Cont 筋注群)、前記を同様の評価を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験に際しては、動物実験施設実験倫理規定を遵守した。

### C. 研究結果

すべての評価項目において FGF 動注群は Cont 動注群より、FGF 筋注群は Cont 筋注群より、そして FGF 動注群は FGF 筋注群より、有意な側副血行路誘導効果及び血流改善作用を認めた。

また、AGHM の動注による虚血増悪作用の有無を検証するため、虚血肢ウサギの内腸骨動脈内に AGHM (3mg) を動注 5 時間

後に、下腿決血圧比と大腿部内転筋の局所血流量の測定を施行したが、有意な増悪は認められなかった。

### D. 考察

血管新生因子の局所デリバリーによる血管新生療法を設計するにあたり重要なのは、「どのような血管新生因子」を「どこ」へデリバリーするかを、明確に把握することである。血管新生療法は虚血部位へ十分な血液を送る機能を持つ側副血行路の発達を目標とする。我々は、そのような側副血行路の要件として (1) 口径が大きく成熟した構造をもつことと、(2) 血流の供給源となる donor artery との間に確かな繋がりがあることの二点が必須であると考えた。そこで、デリバリーする血管新生因子は、新たな血管を構成する作用 (angiogenesis) に加え、既存血管の拡大や成熟 (arteriogenesis) を促す特性をも併せ持つ bFGF を採用した。また donor artery から側副血行路を発達させるためには、デリバリーのターゲットは donor artery 末梢の小口径血管が最適と考えた。これらの条件を満たす治療法として本プロトコルを考案したわけであるが、ウサギ虚血肢モデルを用いた評価で、治療群 (FGF 動注群) は対照 (Cont 動注群) 及び筋注した群 (FGF 筋注群) と比較しても有意な治療効果が得られたことから、その有用性が示されたと考えられる。特に、動脈造影スコアとアクチン陽性細胞随伴血管密度は太く成熟した側副血行路の発達を示し、また側副血行路コンダクタンスは側副血行路における「血流の流れやすさ」を反映しているこ

とから、機能する側副血行路が発達したことが示唆される。また、AGHM 動注による影響の評価においても、投与量が 3mg であるならば血流増悪が認められなかったということより、投与量を慎重に選択することにより安全に治療を施行できる可能性が示された。

## E. 結論

機能する側副血行路の発達を目標として「bFGF タンパクのピンポイントデリバリー法」を考案し、ウサギ虚血肢モデルを用いた検証によりその有用性と安全性を示す結果を得た。そのため、倫理委員会の承認のもと、現在臨床試験を実施中である。本治療法で用いる材料や薬剤は、すべて日常的に臨床現場で使用されているものばかりであるため、実用化の可能性が高い方法であると考えている。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Gelatin hydrogel microspheres enable pinpoint delivery of basic fibroblast growth factor for development of functional collateral vessels. *Circulation*, 2004, 110, 3322-3328

### 2. 学会発表

○bFGF タンパクのピンポイントデリバリー法による血管再生療法、第 46 回日本脈管学会総会、シンポジウム

○虚血肢の治療を目的とした新規血管新生療法の実用化、第 26 回日本炎症・再生医学会、シンポジウム

○bFGF タンパクのピンポイント・デリバリーによる血管新生医療、第 8 回 日本

組織工学会 ランチョンセミナー

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許

特許公開 2003-219875 「血管新生を促進するための新規な方法」

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

重症難治性虚血肢に対する血管新生療法

-自己骨髄細胞移植及び DDS 徐放化蛋白を中心とした総合的治療戦略-

分担研究者 高野 照夫 日本医科大学第一内科 教授

研究要旨：現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない(no optional patients)重症難治性虚血肢（バージャー病，ASO,糖尿病潰瘍・壊疽，PSS）33例，重症冠動脈性疾患（狭心症，虚血性心筋症）10例に対して自己骨髄細胞移植による血管再生療法を施行し，その有効性及び安全性を示した．<sup>99m</sup>Tc-tetrofosmine(TF) perfusion scintigraphy 等による種々の評価法により，4週以後良好な血流増加を証明し，疼痛の消失，緩和，QOLの著明な改善をもたらした．さらに重症難治性潰瘍・壊疽に対して医療用無菌ウジ治療(MDT)を導入した．これらの複合的治療法は，limb salvageのための新しい戦略となりうると考えられた．

A. 研究目的

現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない(no optional patients)重症難治性虚血肢（バージャー病，ASO,糖尿病潰瘍・壊疽，PSS）に対する自己骨髄細胞移植による血管再生療法及び医療用無菌ウジ治療(MDT)の有効性を証明する．

B. 研究方法

全身麻酔下に腹臥位にて両側腸骨より骨髄細胞液 500 ml を採取した．500  $\mu$ l 及び 200  $\mu$ l のフィルター後，血液分離装置 AS TEC 204 を使用して，骨髄単核球と血小板の細胞層を採取し，最終収量は，60-80 ml に濃縮された．直ちに 24-27G シリンジで虚血下肢及び debridement 後の潰瘍周辺に筋注した．

（倫理面への配慮）

日本医科大学付属病院倫理委員会及び

日本医科大学倫理委員会の承認を受け，その適応に関しては各科（6科8人）よりなる血管再生適応評価委員会において1症例毎の適応を選択した．

C. 研究結果

Fontaine 分類では，91%がIV度(30/33例)を占め，糖尿病は 52%（17 /33 例）が合併していた．視覚的アナログ（visual analog scale : VAS）にて定量的に検討したが，術前 74.2 $\pm$ 16.3 (mm)に対して術後4週で 14.9 $\pm$ 11.7 (mm)と著明に低下していた（ $p<0.0001$ ）．ABI は，術前 0.60 $\pm$ 0.29 から術後4週で 0.73 $\pm$ 0.27 ( $p=0.001$ )と改善した．術前歩行可能で測定可能であった症例での treadmill test における無痛歩行時間は，術前 140 $\pm$ 53 秒から術後4週で 451 $\pm$ 74 秒と大幅に改善した．（ $p=0.034$ ）

D. 考察

本療法の結果、全例で疼痛が除去或いは軽減されたが、33例中5例では、術後2年以内に患肢切断を余儀なくされた。

本治療法の有効性を評価するため、客観的でしかも定量化可能な評価法は難しい。Yuyamaら<sup>3</sup>は、angiogenesisの客観的評価法として、ABI, treadmill testにおける無痛歩行時間及び経皮的酸素分圧(TcO<sub>2</sub>)が有効であったと述べているが、我々の検討では、ABI, treadmill testにおける無痛歩行時間では有効性が示唆されたものの、TcO<sub>2</sub>は、測定センサーの接触の問題等により有効ではなかった。

他療法無効な難治性潰瘍・壊疽に対してMDTを13例実施し、10例(77%)が有効であったが、2例が患肢切断を余儀なくされた。

#### E. 結論

現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない重症難治性虚血肢(バージャー病, ASO, 糖尿病潰瘍・壊疽, PSS) 33例, 重症冠動脈性疾患(狭心症, 虚血性心筋症) 10例に対して自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法を施行し, その有効性及び安全性を示した。<sup>99m</sup>Tc-tetrofosmine(TF) perfusion scintigraphy等による種々の評価法により, 4週後良好な血流増加を証明し(平均15%), 疼痛の消失, 緩和, QOLの著明な改善をもたらした。本治療法は, limb salvageのための新しい戦略となりうると考えられた。

#### F. 健康危険情報

本療法の副作用に関連して, 2例で筋注

部位の局所的炎症(発赤, 腫脹, 軽度熱感)があったが, 7日以内に発赤は全て消失した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1 : Masahiro Yasutake MD, Masaaki Miyamoto MD, et al. Assessment of neovascularization after autologous bone-marrow cell implantation by Technetium-99m macroaggregated albumin (MAA) scintigraphy in patients with severe coronary artery disease. in submitted

2: Gen Takagi, Masaaki Miyamoto, et al. Novel Anti-cell Death Protein (FNK) Enhances Angiogenesis and Preserves Myocardium After Myocardial Infarction in Swine. in submitted

3: Shuhei Tara, Masaaki Miyamoto, et al. Anti-cell death PTD-FNK Protein Improves Survival Of Transplanted Bone Marrow Mononuclear Cells. in submitted

4: 宮本正章, 高木 元他. 重症難治性潰瘍に対する医療用ウジ治療と血管再生療法 harma Medica 23, 41-47, 2005.

5: 藤本啓志, 宮本正章 他. 医療用ウジを用いた多剤耐性緑膿菌(MDRP)合併糖尿病壊疽治療 糖尿病 印刷中

6 加藤浩司, 宮本正章, 他 : 重症難治性虚血肢・心に対する自己骨髄幹細胞移植血管再生療法の現状. 今日の移植

- 18,259-266,2005
- 外科・麻酔学会誌 印刷中
- 7 剣持 敬, 宮本正章 他 臨床に向けた  
 膝島保存の現状 Organ Biology 12,  
 101-111, 2005
- 8 宮本正章 分担翻訳 Chapter 8 : Non-  
 ulcerative pathologies Managing the  
 Diabetic Foot, 2<sup>nd</sup> edition 糖尿病足病変研  
 究会 2005 シュプリンガー・フェア  
 ラーク東京株式会社
- 9 宮本正章  
 「全身性強皮症の経過中に肺高血圧を  
 きたし敗血症にて死亡した症例」  
 膠原病に対する血管再生療法  
 内科 2005
- 10 工藤圭介, 宮本正章 他 犬, 猫の難治  
 性創傷皮膚欠損に対する b-FGF マイ  
 クロスフェアーの治療効果 日本獣医
2. 学会発表
- ①宮本正章 他 第 33 回日本血管外科  
 学会総会ワークショップ 2005
- ②宮本正章 他 第 20 回日本糖尿病合  
 併症学会総会ワークショップ 2005
- ③安武正弘, 宮本正章 他 第 4 回日本  
 再生医療学会総会シンポジウム 2005
- (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
 (予定を含む。)
- なし
1. 実用新案登録  
 なし
2. その他

難治性血管炎の関する研究に関する研究

大型血管炎の臨床研究

末梢性血管疾患及び難治性潰瘍治療に対する分子治療法の検討

分担研究者 森下竜一

大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学講座 寄附講座教授

研究要旨

末梢性血管疾患治療において、大循環改善と局所治療の総合的ケアを目指す。HGF 遺伝子治療臨床研究において2年間の安全性が確保され、また改善度も2年間にわたり維持されていることを確認した。ets/PGIS 遺伝子の血流増加作用について小型動物で検討し、新たな血管新生因子としての同遺伝子の可能性を示唆した。ステロイド投与によるラット創傷遅延モデルにおいて、HGF 遺伝子と PGIS 遺伝子の共導入は局所血流の改善と上皮再生促進を誘導し、また皮弁モデルにおいても、皮弁生着率の改善を誘導することが示された。

A. 研究目的

末梢性血管疾患治療において、大循環改善と局所治療の総合的ケアを目指し、遺伝子導入による血管新生療法と局所難治性潰瘍に対する分子治療法の開発を目的とする。既に実施している HGF 遺伝子を用いた遺伝子治療臨床研究 (TREAT-HGF) の長期予後を詳細に解析するとともに、新たなターゲット遺伝子を探索し次世代血管新生療法の開発を行う。潰瘍に関しても、局所血流改善を目的とし、合理的な治療遺伝子を選択し、治療法開発につなげる。

B. 研究方法

TREAT-HGF に関しては、安全性・有効性評価の長期成績を追跡する。さらに種々のパラメータに関するサブ解析を実施。次世代血管新生療法として、ets 遺伝子・PGIS 遺伝子に注目し、虚血モデルにおける同遺伝子の血管新生効果・メカニズムについて検討する。

さらに潰瘍治療に関して、HGF 遺伝子・PGIS 遺伝子に注目し、各種潰瘍モデル・皮弁モデルにおける局所血流増加作用と創傷治癒促進効果の検討を行う。

(倫理面への配慮)

臨床研究においては、十分なインフォー

ムドコンセントのもとに実施しており、安全性に関する情報発生時には速やかに試験参加者へ feedback できる体制をとっている。

C. 研究結果

TREAT-HGF の長期フォローアップにおいて、2年間の追跡調査で遺伝子に起因する重篤有害事象の発生はなく、臨床上安全性に問題ないことが示された。プラセボを設置しない試験であるため有効性評価は不能であるが、遺伝子投与後2ヶ月で得られた初期成績 (ABPI・VAS・潰瘍サイズの改善) は2年後にも維持されており、良好な長期成績が得られた。また Fontaine 分類における群の改善を5症例に認めている。また、遺伝子投与後2ヶ月の初期効果において、容量依存性 (2mg vs 4mg)・疾患間 (PAD vs TAO) の統計学的差異は認めなかった。動脈硬化危険因子 (高血圧・糖尿病・高脂血症・喫煙) や透析の有無と遺伝子投与後の各種パラメータ改善度に関連は見られなかった。大腿動脈を結索した閉塞性動脈硬化症モデルラットへの ets 遺伝子導入は、局所の HGF, VEGF の発現を誘導し、血管新生効

果を示した。etsによるこれら血管新生因子の発現は、in vitroの血管内皮細胞培養系においても認められた。また、PGIS遺伝子導入は血管拡張作用を誘導し、局所血流の改善を同モデルにおいて示した。ステロイド投与によるラット創傷遅延モデルにおいて、無針注射器シマジェットによるHGF遺伝子とPGIS遺伝子の共導入は、局所血流の改善と上皮再生促進を誘導した。また皮弁モデルにおいても、これら遺伝子の導入が、皮弁生着率の改善を誘導することが示された。

#### D. 考察

TREAT-HGFに関しては、2年間の安全性が確保されている。投与した遺伝子プラスミドは、1-2ヶ月で速やかに破壊され、血中にリークしたプラスミドも速やかに破壊されることを本研究で確認している。本治療法の長期安全について問題ないと考え。有効性評価は、プラセボ群が存在しないことからあくまで改善度評価に留まる。現在実施されているPhase IIIにおいて、有効性が詳細に検討されると思われる。

ets遺伝子・PGIS遺伝子の血流増加作用は小型動物において確認できたが、臨床応用を考え、今後大型動物における安全性評価・有効性評価の必要がある。

潰瘍治療に関しては、現在のモデルだけでは不十分であり、その他の創傷遅延モデルにおけるさらなる検討が必須である。

#### E. 結論

遺伝子治療臨床研究の長期安全性を確保した。また長期にわたる改善度の維持を確認した。次世代血管新生療法のターゲット遺伝子として、ets遺伝子・PGIS遺伝子の有用性が示唆された。HGF遺伝子・PGIS遺伝子は局所潰瘍治療においても有用であることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Naoyuki Sato, Munehisa Shimamura and Ryuichi Morishita. Recent Progress in Cerebrovascular Gene Therapy. Current

Neurovascular Research. 2005 Vol.1 No.1 235-247.

2) Ryuichi Morishita, Motokuni Aoki and Toshio Ogihara. Does gene therapy become pharmacotherapy? Experimental Physiology. 2005 May;90(3) 307-313.

3) Ryuichi Morishita. Gene Therapy vs Pharmacotherapy. Cardiovascular Genomics. 2005 137-156.

4) Miwa K, Nakashima H, Aoki M, Miyake T, Kawasaki T, Iwai M, Oishi M, Kataoka K, Ohgi S, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R. Inhibition of ets, an essential transcription factor for angiogenesis, to prevent the development of abdominal aortic aneurysm in a rat model. Gene Therapy 2005 Jul;12(14) 1109-1118.

5) Hironori Nakagami, Yasufumi Kaneda, Toshio Ogihara and Ryuichi Morishita. Endothelial Dysfunction in Hyperglycemia as a Trigger of Atherosclerosis. Current Diabetes Reviews 2005 Vol.1 No.1 59-63.

6) Morishita N, Nakagami H, Morishita R, Takeda S, Mishima F, Terazono B, Nishijima S, Kaneda Y, Tanaka N. Magnetic nanoparticles with surface modification enhanced gene delivery of HVJ-E vector. 2005 Biochemical and Biophysical Research Communications Sep 9;334(4) 1121-1126.

7) Nakagami H, Maeda K, Morishita R, Iguchi S, Nishikawa T, Takami Y, Kikuchi Y, Saito Y, Tamai K, Ogihara T, Kaneda Y. Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion

by cultured adipose tissue-derived stromal cells. 2005 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Dec;25(12) 2542-2547.

8) 中神啓徳 血管疾患に対する遺伝子治療概論 遺伝子診断学 2005 増刊号 577-581

9) 牧野寛史 閉塞性動脈硬化症 遺伝子診断学 2005 増刊号 582-587

10) 森下竜一 再生医療でこえなければならぬこと 心臓 2005年3月 第37巻第3号 263-264

11) 森下竜一 脈管病治療のトランスレショナルリサーチ:現状と未来 脈管学 2005 第45巻第3号 121-124

12) 森下竜一 血管疾患における遺伝子治療 (HGF 遺伝子を用いて) 日本血管外科学会雑誌 2005 第14巻 79-82

## 2. 学会発表

Two Years Follow-up of Clinical Trial of Human Gene Therapy for Peripheral Arterial Disease Using Hepatocyte Growth Factor Gene Transfer. Aoki M et al. American Heart Association. 2005.11 in Dalles

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

# 【中・小型血管炎の臨床研究分科会】

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服事業）  
中・小型血管炎臨床研究分科会平成17年度報告書

1. MPO-ANCA 関連血管炎に対する標準的プロトコールの有用性を明らかにする前向き臨床試験

難治性血管炎調査研究班の班員・研究協力者

2. 中・小型血管炎の活動性評価委員会

難治性血管炎調査研究班の班員及び  
進行性腎障害班の班員・研究協力者

3. 疾患名の改正、新特定疾患への編入、診断基準の感度・特異度の検討、皮膚限局型結節性多発動脈炎の定義・臨床像の確立

難治性血管炎調査研究班の班員

分科	会長	中林公正	杏林大学 第一内科教授
班	員	吉田雅治	東京医大八王子医療センター 腎臓内科教授
		小林茂人	順天堂大学 内科学助教授
		吉田俊治	藤田保健衛生大学 内科学教授
		古川福実	和歌山県立医大 皮膚科学教授
		槇野博史	岡山大学 内科学教授
		山田秀裕	聖マリアンナ医大 内科学助教授
		湯村和子	東京女子医科大学 腎臓内科助教授
		天野宏一	埼玉医大総合医療センター 内科学講師

研究協力者	臼井 崇	京都大学 内科学助手
	大曾根 康夫	市立川崎病院 内科部長
	兼岡秀俊	福岡大学 内科学助教授
	熊谷俊一	神戸大学 内科学教授
	小池隆夫	北海道大学 内科学教授
	近藤啓文	北里大学 内科学教授
	鈴木康夫	東海大学 内科学教授
	住田孝之	筑波大学 内科学教授
	八田和大	天理よろず・相談所病院 内科副部長
	原 まさ子	東京女子医大 内科学教授
	広畑俊成	帝京大学 内科学助教授

進行性腎障害研究班からの研究協力者

武曾恵理 北野病院 腎臓内科部長  
有村義宏 杏林大学 内科学助教授

#### 研究要旨

本分科会の課題は、①MPO-ANCA 関連血管炎に対する標準プロトコールの有用性を明らかにする前向き臨床試験を遂行すること、②中・小型血管炎の活動性の評価法を確立すること、③結節性動脈周囲炎 (PN)、悪性関節リウマチ (MRA) の病名を改正すること、アレルギー性肉芽腫性血管炎 (AGA) を特定疾患に編入すること、皮膚型 PN の定義・臨床像を確立すること、厚生労働省とアメリカリウマチ協力の PN、AGA の診断基準・分類基準の感度、特異度を検討すること、にあった。①は今年度より開始し、目下症例 23 例を集積することができ、その内訳は重症例 16 例、軽症例 7 例であった。全症例の約 70% で免疫抑制薬が使用されていた。病型では従来と比較すると「肺腎型」が減少し、「その他型」が増加していた。今後症例数を増加させると共に夫々の症例を詳細に検討して行く予定である。②の活動性評価法は、欧州の BVAS や VDI などを十分に検討して、本邦独自の評価法を作成する予定である。③の疾患名の改正や AGA の特定疾患への編入に関しては、十分根拠を示して、提言を行う。診断基準・分類基準の感度、特異度の検討は、具体的症例で施行し、その特性について論ずる予定である。

#### A. 研究目的

タイトル及び研究要旨の項で記述した事項の臨床試験を施行し、評価法を確立し、かつ疾患名の改正、診断基準の感度・特異度を検討し、皮膚型 PN の定義・臨床像を確立することに、ある。

#### B. 研究方法

##### 1. MPO-ANCA 関連血管炎の前向き臨床試験

班員及び研究協力者が治療した症例を登録する。その後、その症例の治療方法、臨床成績、画像所見、合併症、生命予後などを調査用紙に記入する。

その後これ等の成績を解析して、本邦に於ける MPO-ANCA 関連血管炎の標準的治療法による現状を把握する。

##### 2. 中・小型血管炎の活動性評価

当班の班員と進行性腎障害班の班員とが協力して、本邦に於ける MPO-ANCA 関連血管炎の活動性評価法を確立する為に、欧州で用いられている Birmingham vasculitis activity score (BVAS) と Vasculitis damage index (VDI) を、本邦の症例で十分に検討する。その上で改善点が存在するか否かを決定する。