

つの非盲検用量増加試験で試された。両方の場合で、投与によるシステマティックな低血圧の所見はなく、FGF2は高濃度まで安全であった。多くの患者において、磁気共鳴および放射性映像により心筋かん流の改善を示す客観的な知見だけでなく症状の改善が示された。

治療効果について337人の二重盲検フェーズII試験で試験された。それにおいては、プラセボのコントロールに対し、冠動脈内へ三つの異なった量(0.3、3、そして30 μ g/kg)FGF-2を投与し比較が行なわれた。90日の追跡データによると、FGF-2投与患者においてトレッドミル時間が若干改善された。同時に、CCS(Canadian Cardiovascular Society)(カナダの心臓血管学会)狭心症基準およびSAQ(Seattle Angina Questionnaire)(シアトル狭心症質問表)狭心症頻度基準の有意な改善がみられた。磁気共鳴では虚血領域の全体的な改善はみられなかった。試験のサブグループの解析によると、症状、ETT(excise treadmill time)(運動トレッドミル時間)の改善、磁気共鳴により測定される障害虚血域の低下示される改善度は、病状がより悪化した患者で最も顕著であった。そのような患者では他の患者と比べ、基準となる運動能が低い、基準となる症状の頻度が高い、放射性映像によるかん流欠損の程度が大きといった特徴がある。しかしながら、このようにFGFが治療効果を有するかどうかについては二重盲検試験を用いた検討が必要である。

二重盲検試験の重要な点は二重盲検プラセボを対照として単に症状の改善を示すだけでなく、増殖因子治療に対し症状の改善を示した患者の集団において、その全体像を評価することである。また、この患者群母集団におけるプラセボ効果の程度と有病率の評価も重要な点である。実際、二重盲検試験におけるプラセボでの反応との比較により、初めて有効性を評価することができる。先に示した試験では、多数のハイリスク患者で冠動脈内FGF-2投与の相対的な安全性のみが示されたといえる。

プラセボ反応の有病率と非盲検解析の危険性は冠動脈内および静脈内VEGF-A₁₆₅の臨床試験で十分に示されている。冠動脈内(n=16)および静脈内(n=14)にVEGFの投与を行った2つの小規模なフェーズII試験では、SPECT(single-photon emission computed tomography)(単光子放出コンピュータ断層撮影)イメージングにおいて得られる期待できる結果だけでなく、運動能、症状(脳梗塞のクラスとして規定)において有意な改善を示すと判定された。これらの試験に続きVIVA(Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis)(虚血における血管内皮細胞増殖因子を用いた血管新生)試験が178人の患者で無作為に行なわれた。この試験では120日まで追跡を行い、治療のオプションがない患者に対して、プラセボ、低用量VEGF₁₆₅(17ng/kg/min)あるいは高用量VEGF₁₆₅たん白質(50ng/kg/min)を無作為に割り当てた。VEGF₁₆₅のグループの患者に対して、0日目に冠動脈内に注射後、3、6、9日目に静脈かん流を行なった。この試験ではこの母集団に対するVEGFの効果は全体として示されなかった。VEGF₁₆₅を処置した患者はプラセボと比較して、ベースラインから60日までの主要なエンドポイント

であるETTにおいて、有意な改善はなかった。120日まで、プラセボと比較したが、高投与量VEGF₁₆₅処置患者においてETTが改善する傾向はなかった。同様に、処置後60日で、VEGF₁₆₅処置患者とコントロールの患者を比較すると、狭心症のクラスでベースラインからの改善に違いはなかった。一方で、120日では、高投与量VEGF₁₆₅で処置した患者とプラセボと比較すると、統計的な有意な狭心症のクラスの改善があった。60日目で行なった心筋かん流の試験では、VEGF処理の患者とプラセボ処理の患者を比較すると、有意な改善はなかった。

これまで述べた戦略とは多少異なった戦略が小規模の試験で進められた。その中では進行性CAD(coronary artery disease)(冠動脈疾患)の患者に対して、最初GM-CSFの冠動脈内投与、続いて2週間後に皮下投与を行いその効果が調べられた。生理食塩水で処置した患者ではみられなかったが、GM-CSF投与の患者において小さいが有意な側副動脈血流の増加が示された。5.血管新生療法において有望な増殖因子の項で述べたように、GM-CSFの関連たん白質であるG-CSFの薬効は骨髓幹細胞の遊離だけでなく心臓における動脈狭窄の部位に対する単核球の強制動員の増加を介していると考えられているが、本知見はこの考えと矛盾しないしかしながら、最近の試験では、CAD患者におけるこれらサイトカインの安全性に関する懸念が提起された。

たん白質製剤における増殖因子の安全性はこれまで重大な問題とはなっていない。目に見えないほどの小さな腫瘍の増殖促進、アテローム性動脈硬化症の促進、冠状動脈プラークの血管新生の促進を介した不安定なプラークの産生など、多くの危険性が理論的には存在するが、今まで試験で見つかっているものはない。今までに唯一認められている副作用としては、VEGFによる深刻な低血圧および浮腫そして非常に高濃度(48 μ g/kg以上)のFGF-2によるCNS(central nervous system)(中枢神経系)の副作用(ありありとした夢、悪夢、情動不安)がある。

3.9 遺伝子治療を用いた血管新生療法の現状

現在たん白質治療に代わるものとしては遺伝子治療があげられる。遺伝子治療を用いた戦略はたん白質治療の場合と基本的に同じである。遺伝子治療ではプラスミドあるいはウイルスを用いた遺伝子導入が主に用いられている。遺伝子治療は最適な条件において、標的とする組織においてたん白質を長期間高濃度で発現することが理論的には可能である。この点、たん白質を連日投与する場合に比べ、安価で実際的である。例えばVEGFの場合、分泌たん白質であるので、全ての細胞に導入する必要がない。したがって、その遺伝子を筋注によりデリバリーした場合、筋肉で得られる効率で局所のたん白質濃度を上げることが可能かもしれない。しかしながら、現在のプラスミドあるいはアデノウイルスを用いた遺伝子治療ではたん白質の発現の持続時間は1-2週間と短く、予想した程にはうまくいっていない。遺伝子治療技術の欠点としてはアデノウイルスたん白質に対して炎症反応が生じること、ベクターの投与量が同じでも

患者が異なれば遺伝子発現レベルも異なるという点もある。遺伝子およびたん白質のデリバリーで共通の問題は、最適の投与ルートとは何かということである。遺伝子導入のアプローチの場合、効果的な局所濃度を得るためには、局所的にデリバリーできる技術が必要となる。これに関連し、アデノウイルスは内皮の障壁に対して不透過であること、血液循環において裸の DNA は速やかに分解されるだけでなく、血管内にプラスミド投与した場合その導入レベルは非常に低いことも知られている。

3.10 遺伝子治療を用いた臨床研究

心筋における血管新生療法の臨床研究として遺伝子治療が用いられている (Table 8)。

フェーズ I の試験では、CMV プロモーター/エンハンサーにより VEGF₁₆₅ 遺伝子発現を促進し、小規模な左前開胸術を介して直接心筋に 125 μ g あるいは 250 μ g の量が投与され、プラスミドによりコードされる VEGF₁₆₅ の安全性および有効性が評価された。その結果、このようなアプローチは一般的に安全であり、手術できない冠動脈疾患の患者において、側副陰影の増加を示す所見が血管造影法により得られ、症状も有意に改善された。慢性心虚血の患者で、VEGF₁₆₅ をコードする naked プラスミドの投与前後における、梗塞、虚血および正常心筋が NOGA 左心室エレクトロメカニカルマッピングにより観察され、さらに好ましい結果が得られた。同様な結果がカテーテルを用いた心筋内投与でみられた。しかしながら、このような有効性は二重盲検無作為試験ではまだ試験されていない。

アデノウイルスの VEGF₁₂₁ 遺伝子治療の有用性について、侵襲的冠動脈バイパスの補助としてあるいは低侵襲開胸術を介した単独療法として試験された。その際、直接心筋へ注射することにより、可逆的な虚血領域に投与された Ad_{GV}VEGF₁₂₁ のフェーズ I 臨床試験が行われた。患者は 100 μ l/投与、10 箇所/患者および 5 つの投与グループ (4×10^8 、 $4 \times 10^{8.5}$ 、 4×10^9 、 $4 \times 10^{9.5}$ 、 4×10^{10} pfu) のいずれかで処置された。この試験ではアデノウイルス投与に関連した副作用は示されず、かん流、狭心症の程度、ETT 評価において改善を示唆する結果が得られた。Ad-VEGF₁₆₅ および p1VEGF₁₆₅ リポソームの、血管形成術後の再狭窄の予防および心筋虚血の処理における安全性および有効性が KAT (Kuppia Angiogenesis Trial) で評価された。患者にはかん流により Ad-VEGF₁₆₅ (2×10^{10} pfu) あるいは VEGF₁₆₅ プラスミド (2000 μ g DNA) が投与された。このフェーズ II 試験では遺伝子導入に関連する副作用、臨床的な再狭窄の割合にコントロールとの違いはなく Ad-VEGF₁₆₅ を処置した患者において良好な心筋のかん流が示された。以上に述べた試験の中には VEGF₁₆₅ が治療上有益な効果ももたらす可能性を示唆するものもあるが、いずれも二重盲検では示されていない。以下の FGF 治療での経験が示すように、非盲検フェーズ I における有効性に関して肯定的な結果を、二重盲検フェーズ II/III 試験の成績で示すのは容易ではない。たん白質あるいはプラスミド投与後、そのデリバリーの有効性が薬物動態学解析により詳細に解析されない限り、血管新生が効率よくおきるとは判定できない。しかしながら、VEGF₁₆₅ により

血漿レベルにおける循環 EPC が増加するという知見は興味深い。

同様な状況が冠動脈内投与による Ad-FGF-4 遺伝子治療試験でも起きた。二つのフェーズ I AGENT (Angiogenic Gene therapy) (血管新生遺伝子治療) で FGF-4 をコードするアデノウイルスをウイルス粒子として 3.3×10^8 から 10^{11} 個まで投与し、安全性および有効性が評価された。Ad-FGF-4 処置患者において機能的な改善 (ETT 評価、心筋かん流) の傾向が示された。しかし、大規模二重盲検フェーズ III 試験を行った時、治療効果は全く無かった。

なお、現在、末梢動脈障害の患者において、HGF/SF 遺伝子治療のフェーズ I 試験も行なわれている。

3.11 細胞治療を用いた血管新生療法の概要

3.1 血管新生 (neovascularization) の生理的な概念の項で述べたように、EPC が血管新生に関与する可能性が示されたことから、細胞治療を用いた血管新生療法の可能性についても検討が行われている。以下のようにその可能性を支持する動物実験の結果を示す。EPC を生体外で増殖させ、虚血後肢の無胸腺ヌードマウスあるいは梗塞ヌードマウスに投与すると、新生血管に取り込まれ、血流と心筋の機能が回復する。骨髄由来の単核球細胞あるいは Lin⁻、c-kit⁺ の細胞画分を虚血心筋に投与すると病態が改善する。濃縮したサイドポピュレーションの細胞を骨髄に移植すると、梗塞心筋に取り込まれ、内皮細胞および心筋細胞に分化する。採取したばかりの骨髄穿刺液を豚アロイドモデルおよび梗塞ラットモデルにデリバリーすると、血管およびかん流が増加する。虚血後肢モデルマウスに骨髄細胞を移植すると、血管壁には取り込まれないが、支持細胞として機能する。前駆細胞はパラクラインの機構によっても血管形成および組織再生を促進する可能性がある。血液を循環している細胞が心筋に強制動員されると、VEGF、MCP-1、FGF、Ang、IL-1 β 、TNF- α 、HGF、IGF-1、SDF-1 のような血管新生促進因子がすぐに放出され、その結果血管新生の促進およびアポトーシスの阻害が起きる。

骨髄由来細胞が虚血組織へ取り込まれる割合について検討が行われているが、その推定値は、内皮細胞の 3% および心筋細胞の 0.02% が骨髄由来であるというものから、内皮細胞および心筋細胞の最大 40% までが骨髄由来であるというものまで様々である。

3.12 細胞治療を用いた臨床研究

心筋における血管新生療法の臨床研究として細胞治療が用いられている (Table 9)。

最初の試験で重度の虚血心臓疾患の患者が冠動脈バイパス時に自家骨髄細胞の投与を受け、その後少なくとも 1 年追跡調査が行われた。骨髄細胞を腸骨から採取し、バイパスされない虚血心筋に 5×10^7 から 1×10^8 個/部位 (平均 10 部位) の細胞が投与された。術後の試験では患者 5 人のうち 3 人で冠動脈かん流の改善が示された。別の研究では、バイパス手術時に、6 人の患者に対して梗塞境界領域に沿って自家 AC133⁺ 骨髄細胞が 1.5×10^6 個投与された。この手法は安全であ

り、追跡調査では左心室の機能は4人の患者において、かん流は5人の患者においていずれも改善した。しかしながら、細胞治療は単独ではなく冠動脈バイパス移植に対する補助としてデリバリーされていることから、このようにコントロールグループがない条件では有効であると結論することは困難である。BM-MNC (bone marrow-derived mononuclear cell) (自己骨髄由来単核球細胞)を用いた治療が十人の心筋梗塞の患者で試験された。フィコール濃度勾配により分離した BM-MNC (0.65% AC133⁺細胞と 2.1% CD34⁺細胞)が急性心筋梗塞発症後 5-9 日後の患者に、冠動脈血管造影の際に置いたバルーンカテーテルを介して投与された。標準治療のみ行なった患者に比べ細胞治療のグループでは3ヵ月後梗塞部位は有意に減少し、1回拍出係数および駆出分画率が向上した。さらに安定狭心症の患者の虚血心筋内に、自家 BM-MNC を、NOGA マッピングを用いて経カテーテル的に投与する試験が行なわれた。投与を行なった8症例で BM-MN を構成するそれぞれ細胞の割合は異なり、CD34⁺細胞(0.9%-8.9%)、CD3⁺T細胞(2.3%-12%)、CD11b⁺D15⁺顆粒球前駆細胞(26.3%-70.6%)であった。細胞は NOGA マッピングを用いて経カテーテル的に心筋内に投与された。3ヶ月の追跡調査で症状と心筋かん流の改善が示された。

他の二つの試験でも、慢性虚血心臓疾患の患者に対する骨髄由来細胞の心内膜(心臓)への移植が NOGA マッピングを用いて経カテーテル的に行なわれた。吸引し過ぎたばかりの未分画自家骨髄由来細胞、2.4ml (32.6±27.5×10⁶個/ml)が10人の患者に対し、12箇所部位に投与された。投与した細胞は平均して以下のような構成を示した。多核白血球 74.6%、リンパ球 19.3%、単球 3.5%、巨核球 2.6%であった。CD34⁺細胞は 2.6%で、そのうち 47.9%が CD45 を共発現した。10人の患者全てにおいて不整脈あるいは副作用はなく投与は成功であった。その内8人の患者は三ヵ月後狭心症スコアが改善された。20人の患者(処置11人、コントロール9人)による盲検非無作為試験において、メカニカルな機能が低下した心筋領域に対する、フィコール濃度勾配により分離した BM-NPC (25.5±6.3×10⁶細胞/患者)の投与が NOGA マッピングを用いて経カテーテル的に行なわれた。移植された細胞集団は、コロニー形成アッセイ(顆粒球-マクロファージコロニー形成単位)で評価したコロニー形成能で平均 2.4%±1.33% であり、CD45 低発現の CD34⁺造血前駆細胞から構成されていた。6ヶ月および12ヶ月の追跡調査後、BM-NPC の心内膜への投与により持続的な治療効果が示され、心筋かん流と運動能が改善された。その効果は単核球、B細胞および造血前駆細胞のサブポピュレーションの割合と一致した。

他の研究において、急性心筋梗塞 5-29 日後、BM-MNC (78±41×10⁶個/患者)が、冠動脈ステントの留置部位に冠動脈内投与された。BM-NPC は平均して CD34⁺~0.6%、CD117⁺~1.7%、CD133⁺~0.6%の細胞から構成されていた。6ヵ月後、処置を受けた20人の患者を磁気共鳴により評価すると、非無作為コントロールグループと比較して、局所および広範囲において左心室機能の有意な改善がみられた。

以上述べた全て試験において、ある程度機能の改善がみられたが、サンプルサイズが非常に小さいことに加えて、盲検および無作為の同時コントロールグループが無いためその評価は困難であった。このように、これらの研究から結論できることは冠動脈内あるいは心筋内経路による細胞の投与は安全と思われるということである。

TOPCARE-AMI (Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement) (急性心筋梗塞における前駆細胞の移植と再生の促進)試験では、再かん流急性心筋梗塞の59人の患者に BM-MNC あるいは CPC (circulating blood-derived progenitor cells) (循環血液由来前駆細胞)が無作為に投与された。CPC はヘテロな前駆細胞の集団であり、3日間の *ex vivo* 培養後フェノタイプを調べたところ、Dil アセチル化 LDL を取り込み、VEGFR2、endoglin、von Willebrand factor、PECAM、VE-cadherin あるいは CD146 といった典型的な内皮マーカーたん白質を発現することから、内皮のフェノタイプであることが示された。標準的な手法により分離された BM-NPC は CD34 および CD45 陽性であった。急性心筋梗塞4日後、患者は前駆細胞(10ml 懸濁液)が投与された。左心室血管造影法により、BM-NPC および CPC をかん流したグループと非無作為対応コントロールグループを比較して評価すると、広範囲において駆出分画率が有意に改善された。機能的な改善と収縮末期容量の低下が磁気共鳴映像法により確認された。1年の追跡調査後、BM-NPC あるいは CPC のかん流は安全であり、BM-NPC グループあるいは CPC グループで心筋の機能が改善され、両グループで差はなかった。この研究は前に進むための大きなステップではあるが、盲検および同時コントロールが無いため機能的に評価するのは依然として非常に困難であった。フェーズ I 臨床試験 BOOST (Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) (ST 上昇型の梗塞の再生を促進するための骨髄移植)では、頸動脈インターベンション後、それぞれ30人の患者が冠動脈内自家骨髄細胞投与あるいは標準的な医療処置を受けた。骨髄細胞は採取後ゲラチン-ポリコハク酸塩濃度勾配沈降により 128ml から 26ml に濃縮した。総量として 24.6×10⁸個の細胞が得られ、その中には平均 9.5×10⁶個の CD34⁺細胞 3.6×10⁶個の造血コロニー形成細胞が含まれていた。6ヵ月後、骨髄細胞の投与により左心室の心臓収縮機能が促進され、ステント再狭窄や向不整脈作用のような副作用は起きなかった。しかしながら、18ヶ月の追跡調査後、コントロールにおいても持続的な改善が起こったため、骨髄細胞処置とコントロールグループの差は消失した。細胞を用いた治療は有望ではあるが、その臨床試験の結果の解釈は注意を要する。公正な評価を行なうには、適切な大規模の無作為、二重盲検試験が必要である。

慢性虚血心臓疾患の患者の細胞治療の欠点は、患者自身の骨髄単核球細胞において血管形成能が低下することである。患者(n=8)と健康人(n=8)から分離された BM-NPC は同じ前駆細胞:CD34⁺/CD133⁺、CD49d⁺、CXCR4⁺から構成されるが、患者の細胞におけるコロニー形成能、SDF-1 あるいは VEGF に対する遊走反応は

健常人の細胞と比較すると有意に低い。患者からの BM-MNC を虚血後肢に投与した場合、健常人のコントロールからの BM-MNC と比較すると、血流の回復効果が低いことが示された。

3.13 血管新生療法の問題点と今後の展望

血管新生増殖因子のたん白質、および遺伝子治療、細胞治療による血管新生療法の臨床試験の結果は示したように全体として期待を裏切るものであり、処置した患者においてプラセボを超える改善を、無作為二重盲検試験において、コンスタントに示すことができなかった。以下にその問題点と今後の展望について示す。

3.13.1 現在の評価項目を再検討する必要がある

このようにうまくいかなかった原因として評価項目が間違っているあるいは評価項目を査定する方法が不適切あるいは妥当ではない可能性が考えられる。これら臨床試験で用いられる放射線映像技術(例えば、タリウム、sestamibi)は空間分解能が低く、末期の CAD 患者における心筋かん流における小さな変化を検出する能力には限界がある。さらに、長期にわたり測定する心筋虚血の割合に大きなばらつき(50%までの変動)があるように思われる。そのため治療により向上する心筋のかん流を検出するうえにおいて、シンチグラフ技術の有用性については限界があるかもしれない。血管新生療法で処置した心臓領域内のかん流変化を検出する場合、心筋かん流を定量化できる可能性のある、高空間分解能を有した核磁気共鳴影像是、より適しているかもしれない。将来の研究において、概説した様々な新規の治療の有用性を評価する場合、処置前後における心筋かん流の評価には、MRI のようなより高感度の技術を用いることを考える必要がある。

3.13.2 従来検討されていなかった血管新生促進因子を用いる

現在臨床研究で検討されているたん白質、あるいは遺伝子は FGF、VEGF、GM-CSF、HGF と限られている。3.5 血管新生療法において有望な増殖因子の項で述べたように、PDGF、MCP-1、G-CSF、Ang-1、Ang-2、NGF、NPY など様々な因子が血管新生促進作用を示し、その作用機構は必ずしも同じでないことから、このような因子を用いることも検討する必要がある。これはたん白質および遺伝子治療において同様である。

3.13.3 複数の血管新生促進因子を用いる

血管新生のプロセスは複雑で高度に秩序だった調節を受けていることから、一種類の増殖因子では、末期の冠状動脈性心臓病を治療する際、特効薬とはならない可能性がある。むしろ、CAD の患者の治療を進展させるには複数の増殖因子を組み合わせた治療法が臨床上の有用性をコンスタントに得るために必要かもしれない。

増殖因子を組み合わせて用いる戦略は、増殖因子の治療効果が相乗的であること、ある因子が血管形成の開始を促進するのに対し他の因子は血管の成熟を促進するといったように、それぞれの因子がお互いに機能

を補えることから合理的といえる。インビトロにおいて、増殖因子の相乗性が、例えば FGF-2、VEGF-A、VEGF-C で示されている。種々の動物モデルで、FGF-2 は PDGF 受容体をアップレギュレーションすることから、PDGF-BB と FGF-2 は相乗的であった。相乗性が治療効果を発揮する場合は、相乗性が治療効果に限定されている時、およびどちらかの投与量を低下させることにより、FGF の形質転換作用あるいは VEGF-A の過透過性のような副作用が抑制され、かつ治療効果が低下しない場合である。このような増殖因子を組み合わせた臨床試験はまだ実施されていない。

その他の合理的なアプローチは、5. 血管新生療法において有望な増殖因子の項で述べたように、VEGF あるいは FGF-2 のような血管新生促進因子と周皮細胞の強制動員を促進する Ang-1、PDGF-BB のような成熟促進因子を組み合わせて用いることである。壁細胞(周皮細胞)は過透過性を抑制するだけでなく、未成熟な血管を安定化させる。機能がお互いに効率よく補える増殖因子の組み合わせとして、Ang-1 と VEGF-A そして PDGF-BB と FGF-2 が考えられる。

一方、増殖因子の組み合わせで用いると、治療戦略がより複雑になる。例えば、各因子の相対的な投与量、各因子の投与スケジュール、各因子のデリバリー方法などが問題点となり、これらを全て満たす治療戦略を設定することは必ずしも容易ではない。

3.13.4 他の増殖因子をアップレギュレートする因子を用いる

最近、インビボにおいてアデノウイルスベクターを用いて Hif1- α を過剰発現すると、血管新生増殖因子が多数アップレギュレートされることが示されている。増殖因子の作用は動物の種類により異なる場合があるので、ヒトへ適用する前に複数の動物種で試験する必要がある。これに関連し、内在性 Hif1- α の不活性化を阻害すると、虚血四肢における血管新生が促進される。このように、他の増殖因子をアップレギュレートできる因子を用いた戦略も有効かもしれない。

3.13.5 共通の経路を標的とする

増殖因子のシグナル伝達における共通の経路のなかで、NO の産生は治療の非常に有力な標的である。主に *in vitro* の知見から、VEGF、FGF、TGF- β による血管新生促進効果において NO の関与が示唆されている。しかしながら、NOS 阻害剤、あるいは eNOS および iNOS ノックアウトマウスにおける *in vivo* の知見では、NO の関与について以下のように統一した結論が出ていない。最も説得力のある *in vivo* の知見は以下の Murohara らによる研究である。ウサギ虚血後肢モデルにおいて NO 産生促進因子である L-arginine を食事に加えて与えると、血管新生が促進された。また、マウスの虚血後肢モデルにおいて eNOS 欠損マウスでは野生型のマウスに比べ、血管新生は阻害された。対照的に血管新生の非外科的腸間膜ウインドーモデルで、NO 合成の阻害剤である L-NAME を与えると bFGF による血管新生が促進された。L-NAME を与えた野生型のマウスおよび eNOS および iNOS 欠損マウスを用いた、*in vivo* マトリゲ

ルペレットモデルの結果では、NO は FGF-2 および VEGF-A による血管新生誘導に関与していないことが示されている。同様に、血管新生の腫瘍モデル、*in vivo* のマトリゲルモデルにおいて、NO を放出する NO ドナーである SNAP および SNAG を投与すると、FGF2 による血管新生の誘導が阻害された。これらの知見は、VEGF、FGF、Ang-1 を含む様々な増殖因子により誘導される血管新生において、NO がメディエーターとして作用することを示す数々の報告と対照的である。従って、血管新生および動脈新生における NO の役割について、統一的な見解は得られておらず、NO ドナーあるいは NO 合成酵素阻害剤がそれぞれ血管新生を促進あるいは抑制するかどうかについては、臨床的に試験されていないというのが現状である。

3.13.6 持続的なデリバリーが可能な方法を用いたたん白質を投与する

血管新生療法を効果的に行なううえにおいて、デリバリーの持続時間が重要な点である。血管新生促進因子のほとんどは内皮細胞の生存因子としても作用する。したがって、標的細胞における初期のアポトーシスを抑制するためには、単一増殖因子のデリバリーでは持続する必要があると考えられる。増殖因子を組み合わせた最近の研究では、血管新生の初期に血管の安定性が決定されることから、このような治療ではデリバリーは短期間のほうがよいことが示唆された。

一方、増殖因子を長時間デリバリーするために、各種のマトリックスが設計されている。PDGF-BB のデリバリーにセファロースヘパリンビーズを用いた場合、10日間にわたり一次速度式に基づいた良好な放出が起こり、その結果、虚血心筋の流量および機能が改善した。さらに scaffold として poly(lactide-co-glycolide) を用いると、VEGF₁₆₅ と PDGF-BB が異なったキネティクスで効率よく同時にデリバリーされる。生体適合性があり放出が緩やかなポリマーをうまくステントの上にコートできれば、この領域は急速に進歩する可能性が高い。たん白質のデリバリーを持続させる他の手段は、プラスミド、複製欠損アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レンチウイルスを用いた遺伝子治療である。持続的にデリバリーするため、たん白質あるいは遺伝子治療のどちらを用いるかは、薬物動態、安全性、コストに基づいて最終的に決定することになる。

3.13.7 たん白質を標的部位に対して効率よくデリバリーする

これに関しては、主として FGF-2 の生体における分布について、多くの研究が行なわれた。その結果、FGF-2 を静脈内あるいは冠動脈内に投与すると、心筋内、末梢動脈障害の場合は筋肉そして心膜内へ選択的にデリバリーされた。虚血領域に対して FGF-2 を心筋内投与した場合、局所における濃度は特に高かった。デリバリーは虚血ゾーン、境界ゾーン、流域に対して行なう必要があると考えられるが、効力を比較した研究はほとんどない。多くの虚血後肢の研究から示されているように、理想的なデリバリーとしては、持続的な動脈内デリバリーが優れているように思われる。しかし、このデリバ

リーは冠動脈系では技術的に困難である。他のデリバリー法として、冠状静脈内への逆投与がある。この技術は、FGF-2 の単回投与では成功しているが、最終的な実現可能性および効果は、臨床試験の結果を待たなければ判断できない。

3.13.8 増殖因子を遺伝子導入した細胞および増殖因子によりプライミングを行なった細胞を用いる

骨髄由来幹細胞は虚血組織における血管新生へ寄与する。多能性造血幹細胞は、血管新生のプロセスに関与する内皮細胞に分化できる。3.5 血管新生療法において有望な増殖因子の項に述べたように、幹細胞から内皮細胞への分化は、様々な増殖因子により調節される。したがって、骨髄由来幹細胞を移植前にこれら増殖因子でプライミングを行なうことにより内皮細胞への分化がより促進される可能性がある。これに関連し、移植された筋細胞の心筋梗塞組織への生着を、HGF が促進することを示唆する知見もある。このように、細胞と血管新生促進因子を組み合わせた治療法は有効な治療法として将来用いられる可能性を秘めている。また、移植する細胞は、デリバリーが必要な標的遺伝子のキャリアーとしても用いることができる。

3.13.9 内在性前駆細胞を強制動員する

分離した幹細胞を投与する代わりに、血管新生を促進する、骨髄および他の組織からの内在性前駆細胞を強制動員することは非常に魅力的な治療アプローチと思われる。5. 血管新生療法においても若干ふれたが、以下にその可能性を支持する実験結果の詳細について述べる。サイトカイン (G-CSF、Ang-1、PIGF) およびケモカイン (SDF-1) は骨髄から EPC の動員およびその後の末梢循環における増加を促進する。なお、EPC、SDF-1 そして VEGF₁₆₅ のレベルの上昇において、どの動員因子が最も強い作用を示すかについては明らかではない。動物モデルでアデノウイルスベクターを用いて SDF-1 および VEGF の遺伝子を静脈内に投与すると、造血前駆細胞および循環 EPC の強制動員が速やかに誘導された。一方、Ang-1 による前駆細胞の強制動員の誘導は、遅延性であり顕著でない。しかしながら、VEGF と Ang を組み合わせるとその効果は相乗的であり、循環中に前駆細胞がより長期にわたる上昇した。さらに、それに関連し骨髄における毛細血管の増殖の増大、結果的に脾臓の巨大化の原因となる脾臓への前駆細胞のホーミングがおきた。患者における VEGF 遺伝子導入により安全な条件において循環 EPC が増加した。

他の候補としては G-CSF と GM-CSF があげられる。げっ歯類および人間以外の霊長類における急性心筋梗塞モデルにおいて、心筋梗塞後、G-CSF を投与すると、心臓の機能の改善、毛細血管密度の増加、心筋細胞死の低下が起きたしかしながら、心筋梗塞の患者において冠動脈ステントの存在で G-CSF を投与すると、ステント再狭窄が顕著に増加したため、処置は中止された。GM-CSF を組換え体として毎日投与すると、ウサギおよびマウス角膜モデルにおいて EPC が動員され、虚血後肢の新血管形成が促進された。ロムルチド (200 μg/kg/日) により GM-CSF を誘導すると、梗塞ラッ

トにおいて梗塞からの回復が遅延し、梗塞が拡大した。心筋梗塞の初期段階にGM-CSFを誘導すると、単核球の動員が促進され、梗塞部位における不適切なコラーゲン生成がおきた。したがって、GM-CSF 投与の場合、悪い時期に悪い細胞が誘導されるという事態を避ける必要がある。GM-CSF 治療の安全性についてはいくつかの研究で評価されている。冠動脈疾患の患者における小規模無作為、二重盲検、プラセボコントロールの冠動脈内 GM-CSF 投与の研究では安全性および冠動脈側副血流の改善が示された。

赤血球分化因子として知られる Epo (Erythropoietin) は EPC の動員を促進する。Epo で処置したマウスでは骨髄および末梢血液における EPC の数、側副の拡大が促進され、後肢虚血の場合には血流が改善された。冠動脈心臓病の患者において、Epo の血清レベルは循環 EPC あるいは骨髄前駆細胞の数と相関した。

HMG-CoA 還元酵素の阻害剤であるスタチンはマウスおよび安定冠動脈疾患の患者において EPC の動員およびその機能的を促進する。スタチンによる EPC の分化の誘導は PI3-kinase/Akt を介している。その他の可能性として、EPC の増殖促進および老化を低下させるサイクリンのアップレギュレーション等、細胞周期に関わる遺伝子発現の調節が考えられる。同様にエストロジェンは EPC のアポトーシスを抑制し、骨髄由来 EPC の強制動員および増殖を促進した。エストロジェンの効果は eNOS^{-/-}マウスにおいて完全に消失したことから、eNOS 依存性の機構が考えられる。VEGF による EPC の強制動員の誘導も eNOS 欠損マウスでは低下することから、eNOS は骨髄由来 EPC の強制動員において必須の役割を果たしていると考えられる。

3.13.10 本来生体に備わっている抗血管新生機構を阻害する

血管新生のリスクファクターが有無の虚血動物モデルあるいはヒト疾患組織において、増殖因子および増殖因子受容体の発現に関するデータが少ないことを考えると、欠乏していると推測される因子を補充する治療戦略は必ずしも合理的ではないようにも考えられる。また、生体において増殖因子の発現が増加している状態で、それ以上あるいはそれよりもはるかに多い量の増殖因子を外から投与した場合、血管新生は促進されるのかという疑問も残る。多くの前臨床試験では、実際 VEGF および FGF を適切に投与すれば、血管新生が促進されることが示されている。しかし、正常をはるかに超えるレベルで増殖因子を投与すると、例えば、VEGF および FGF の場合、病的な血管形成が起きる可能性があり、治療濃度域は狭いと考えられる。

したがって、本来生体に備わっている抗血管新生機構を阻害することに焦点をおいた治療も考える必要がある。例えば、睡眠により誘導される角膜の低酸素刺激では、血管新生が起きない。これは角膜組織のいたる所に発現している HIF-1 α のドミナントネガティブミュータントによると考えられる。興味深いことに、このミュータントは低酸素症によっても調節される。HIF-1 α ミュータントのアンタゴニストにより、角膜の低酸素刺激による血管新生反応の誘導が回復する。他の生体由来の血管

新生の阻害剤、例えばエンドスタチン、トロンボスポンジンは組織虚血の間アップレギュレートされる。興味深いことに、最近の知見によると、ヒト平滑筋腫セルライン、SK-LMS-1 細胞の担ガンモデルにおいて、HGF は部分的ではあるがトロンボスポンジン-1 のダウンレギュレーションを介して腫瘍における血管新生を誘導する。このように、抗血管新生因子の作用を弱めることにより治療効果が改善する可能性がある。

3.13.11 遺伝子治療において、遺伝子をどこにデリバリーするか

遺伝子治療における望ましい遺伝子のデリバリー部位は治療の最終目標および増殖因子の性質により変わらう。毛細血管の成長を意図する場合は梗塞先端部位が望ましい。健康な組織において側副は、開在冠動脈血管から冬眠心筋へと成長する。導入する部位の微小環境および産生される増殖因子の標的細胞も考慮に入れる必要がある。増殖因子は標的細胞において発現する受容体を介して機能を発揮する。治療効果を得るにはリガンドと受容体の相互作用が必須である。ベクターあるいは産生されたたん白質は正常な基底膜をうまく貫通できない。多数の平滑筋層で覆われた大きな内径の血管の場合はなおさらである。従って、動脈内皮に作用することを意図して増殖因子を用いる場合は、血管の管腔で作用できるようにする必要がある。血管系を囲む組織の構成細胞である壁細胞に増殖因子を作用させる場合も同様である。増殖因子の可溶性によっても、リガンドのバイオアベイラビリティが調節される。細胞表面のヘパリンプロテオグリカンに結合しやすい増殖因子は、産生細胞の周辺にとどまる。一方、可溶性増殖因子は拡散し、広範囲の組織をカバーする。病的状態の微小環境では、増殖因子のデリバリーの効率が悪い。一方、増殖因子をあまりにも広範囲に過剰発現した場合は重大な副作用がおきる。発現は適切なデリバリー方法を用いて的確な組織のコンパートメントに対し行なう必要がある。しかしながら、局所的に遺伝子導入する場合、導入されたコンパートメントの位置について詳細に調べることは事実上困難である。また、特定の細胞のみに発現させることも困難である。最近、遺伝子デリバリーベクターを組織あるいは細胞に対して特異的にターゲティングする技術が発達しており、遺伝子導入の心筋特異性が改善している。

3.13.12 遺伝子治療において、遺伝子をどのようにデリバリーするか

心筋における治療的血管新生において多種多様なデリバリーの方法が導入されている。例えば、増殖因子をマウスの尾静脈を介してデリバリーする方法、大動物モデルにおいて最先端の高度な技術を用いて局所にデリバリーする方法などがある。多くのモデルでは開胸術のような侵襲的な手法が必要とされるが、それ自体で若く健康な動物において損傷を与えることになり、その結果、修復過程が始まり内在性の増殖因子が誘導される。さらに重要な点は、別の治療を最も緊急に必要とする重病の患者には、非常に侵襲的でストレスの多い遺伝子導入方法は適していないということである。遺伝子導入ベ

クターは標準サイズの血管造影用カテーテルを用いて冠動脈に導入できる。冠動脈内投与のアプローチは比較的単純で、特別な器具や医師に特別な訓練は必要なく、血管造影術と組み合わせると侵襲的な手法は必要ではない。通常、冠動脈内投与は内皮細胞へ遺伝子を導入する目的で用いられる。動物モデルで良好な治療効果が報告されているが、これまでの報告によるとヒトでは臨床効果は低い。静脈内および動脈内のアプローチでは特別な器具は必要としない。組換え FGF-2 を用いた検討では静脈内投与は有効ではないが、冠動脈投与は有効であることが示されている。内皮はたん白質およびウイルス粒子の障壁である。bFGF の組織分布を動脈内あるいは静脈内投与で調べると、¹²⁵I 標識した bFGF のそれぞれ 0.88% および 0.26% が心筋に見つかっている。

治療薬は血管周囲の組織にもデリバリーできる。心膜内のアプローチではベクターは心臓周囲の心膜内にデリバリーされる。心内膜および心外膜に対する導入効率は良好であるが、側副へのかん流では治療効果はみられていない。高濃度の治療用たん白質が心嚢液で産生されるが、心筋を貫通することができず、成長している側副血管に到達できない。注射針付きのカテーテルを用いることにより効率よく局所にデリバリーできる。血管周囲で局所的にたん白質濃度が高くなっても血管新生反応が起こるのは主として血管の外膜であり、血管壁を貫通できない。

心筋内遺伝子導入では標的部位にベクターを直接デリバリーできる。心筋内への直接投与は従来の外科的処置と組み合わせて行なえる。侵襲的な外科的処置および増殖因子の局所的なデリバリーができないような障害の程度が高い患者には、NOGA およびステレットの注入カテーテルのような経皮的な技法を用いた心筋内への直接投与が適している。さらに、臨床試験において不可欠である治療効果および副作用の可能性は、大動物モデルで容易に評価できる。ヒトの治療用に開発された技術は大動物モデルにおいても適用でき、その結果に基づき臨床試験に使用される段階に移行する。

3.13.13 遺伝子治療においてどのような遺伝子導入ベクターを選択するか

遺伝子治療において遺伝子導入に用いるベクターの選択も重要なポイントである。急性心筋梗塞後の治療と慢性心筋虚血とは遺伝子発現のタイムコースを変える必要がある。同様に、慢性虚血において閉塞性動脈疾患の進行が緩やかで、その際酸素圧の低下がみられるような比較的健康的な心筋と梗塞後に障害を受けた心筋とは形成される微小環境は異なる。増殖因子をコードする遺伝子は非ウイルスプラスミド構成体あるいはウイルスベクターを用いてデリバリーできる。プラスミドは安全であり作成も容易ではあるが、心筋における導入効率は非常に低いのが欠点である。なお、リポソームを用いることによりその導入効率が顕著に改善できるという報告もある。

遺伝子治療を目的とした新しいウイルスが開発され、既存のベクターも改良により改善されていることから、ウイルスベクターが多く用いられるようになってきている。遺伝

子治療における理想的なウイルスベクターとは導入効率が高い、毒性が低い、免疫原性が無い、長い遺伝子が挿入できる、標的とする細胞だけに遺伝子が発現できる、遺伝子発現が調節できるといった特徴を有している必要があるが、このような特徴の全てを有するベクターはまだ開発されていない。遺伝子導入のベクターを臨床適用する場合、品質が最も重要な選択基準となる。心筋梗塞後において局所組織かん流のサルベージが起きるには、短時間高い効率で導入する必要がある。アデノウイルスは利用頻度が最も多く研究も進んでいる遺伝子導入ベクターの一つである。アデノウイルスの長所は導入効率が高い、導入遺伝子の発現能が比較的高い、高いタイターで産生できるという点である。正常の免疫系を有する大動物における導入遺伝子の発現は一過性で2-3週間続き、その期間内で毛細血管ネットワークの形成、組織かん流の増加は十分起きる。

側副血管の成長および新生血管の動脈形成には数週間から数ヶ月までとより長い発現が必要である。このような長期間の発現にはエピゾームベクターあるいは宿主細胞染色体に組み込む可能なベクターを用いる。AAV (Adeno-associated vector) アデノ随伴ウイルスはアデノウイルスより導入効率は低い、筋肉組織に対して指向性を有し、遺伝子発現は導入後1年間持続する。AAV に導入できる DNA の長さは最大5kb であり、ほとんどの増殖因子の遺伝子は導入可能である。しかしながら、場合によってはそれ以上の長さの遺伝子を導入する必要があることから、この導入能力の低さが開発の妨げとなっている。レンチウイルスはもっと長い遺伝子が導入可能であり、静止期および増殖期の細胞に導入できる。宿主染色体へ組み込まれるため安全性が懸念されるが、その解決法として数々の発現調節系が開発されている。また、心臓血管へのアプローチにおける欠点は導入効率の低さとウイルス標品のタイターの低さである。

3.13.14 遺伝子治療において治療薬をどれだけデリバリーするか

遺伝子治療のアプローチに限った話ではないが、この場合も治療濃度域がある。治療濃度域とは、最大限の治療効果と最小限の副作用の両方が得られる濃度域を指す。増殖因子を同じ量投与しても患者により作用発現の強さは変動するが、遺伝子治療の場合はそれに加えて導入効率およびたん白質産生レベルも患者によりかなり変動しうる。したがって、ウイルスデリバリーのアプローチでは最適量の増殖因子が産生されるウイルスの濃度および投与した組織環境下において増殖因子が標的とする組織にうまく分布できるかどうかのポイントとなる。

従来の薬理学的アプローチでは、薬は通常様々な組織に分布される。遺伝子治療は治療たん白質を局所にデリバリーできるという利点があるが、それは逆に正確な投与量の算定、さらにデリバリー自体も難しくなるという欠点にもなる。血流における薬の濃度は決めるのは容易であるが、大動物において局所たん白質濃度が最適になるようなウイルス投与量を正確に決めるには、通常よりはるかに多くの前臨床試験が必要である。治療効果

は標的組織におけるウイルス溶液の拡散、導入効率、導入細胞によるたん白質の発現レベルおよび増殖因子の溶解性など様々な因子により総合的に決定される。

大部分の前臨床遺伝子治療実験はマウスモデルで行われている。マウスモデルは遺伝子導入および遺伝子ノックアウト実験、増殖因子の作用の検討では非常に有用であるが、小動物で得られた実験結果を基にしてヒトの治療を行おうとする場合は十分注意する必要がある。マウスにおけるウイルスの投与量、たん白質濃度の実験結果はヒトへそのまま外挿できない場合がある。例えば、マウス尾静脈への投与においてウイルス粒子として 1.0×10^{11} 個および容量として 3ml 用いる場合、その値をそのままヒトに外挿すると、それぞれ 1.0×10^{14} 個および 7L になる。また、小さな組織では増殖因子の効力および正確な投与量を決定は困難である。マウスでは数回の投与で心筋の全体をカバーするのは容易だが、マウスより数百倍大きい豚の心臓をカバーすることははるかに難しい。筋肉内注入により起こる注射針の癢痕のようなことでもマウスではヒトと全体的に占める割合が異なる。例えば、28-G の注射針では筋肉組織で約 500 μm の幅の壊死した癢痕が起きる。そのような状態では筋肉の炎症性細胞および障害筋細胞が自ら増殖因子を供給するようになる。その注射針の癢痕の大きさはマウスでは左心室筋肉の 1/8 であるが、ヒトでは左心室筋肉のわずか 1/200 にしかすぎない。

3.13.14 血管新生増殖因子たん白質を用いた治療におけるリスクと何か

VEGF による透過性の増加のような特異的な有害作用と、腫瘍の成長、糖尿病性網膜症の悪化、アテローム性動脈硬化のような血管新生に直接関連した有害作用は区別できる。VEGF/VPP (血管透過性因子) の血管透過性を促進する活性は、ヒスタミンに比べて 50000 倍以上高い。他の可能性も除外できないが、この効果は内皮開窓の誘導によると考えられる。

腫瘍成長と糖尿病性網膜症は血管新生と血管新生促進因子に依存することが多くの研究で示されている。しかし、投与した増殖因子により腫瘍成長および網膜症の悪化が実際に促進されるという知見はほとんどない。顕性腫瘍および糖尿病性網膜症の患者は臨床試験において除外されているが、現在、血管新生促進因子のたん白質あるいは遺伝子治療を受けている 1000 人以上の患者において、この二つの疾患の合併症の患者は見つかっていない。特に VEGF の動脈硬化促進作用がアテローム性動脈硬化の前臨床モデルで試験されている。VEGF を投与すると、プラークの形成が促進されるが、flt-1 をブロックすると動脈硬化の形成が低下した。これと一致して、TNP40 あるいは Ang のような一般的な血管新生阻害剤により実験的アテローム性動脈硬化症が低下する。しかし、VEGF 遺伝子治療の臨床試験では VEGF の動脈硬化の形成促進作用を裏づけることができなかった。同様に、アテローム性動脈硬化症の大動物モデルで、FGF-2 を冠動脈ステント移植しても、作用が示されなかった。このような統一的な見解が得られない状況において、限られた数の試験において示された、血管新生促進作用を有する増殖因子による動脈の形

成促進作用と臨床との関連の有無については判断できない。したがって、将来の臨床試験では、アテローム性動脈硬化症の進行を第一に注意する必要がある。

3.13.15 遺伝子治療におけるリスクとは何か

遺伝子治療の副作用はデリバリーのプロセス、ベクターあるいは遺伝子産物そのものにより起き得る。遺伝子治療の最終目標の一つは選択枝のない患者に適した治療法を提供することである。遺伝子治療ベクターのデリバリー自体可能な限り非侵襲的でリスクが低い必要がある。したがって、外科的アプローチおよび長期間にわたるかん流の繰り返しは、心筋の血管新生において臨床上適切なデリバリー戦略とは言いがたい。インビボにおいてウイルスおよび非ウイルスを用いた遺伝子デリバリーにより、有害効果が起き得る。高投与量の裸の DNA は壊死と炎症を起こすとの報告もある。ほとんどのウイルスは免疫反応を惹起し、その結果、一過性の体温上昇から敗血症ショックまで一連の臨床症状が起きる。宿主染色体へベクターが組み込まれる場合はガン遺伝子の活性化、正常な遺伝子発現の妨害、宿主染色体の変異促進が起きる可能性がある。

小動物を用いた侵襲的なアプローチでは心臓において血管新生分子に特異的な有害作用は表に出てこない。したがって、大動物およびヒトにおける有害作用の立証は不十分である。また、小動物を用いた研究ではその後のフォローアップの期間は非常に短い。血管新生遺伝子治療では導入組織における過剰血管成長、いわゆる血管腫あるいは糸球体硬化形成が懸念される。しかしながら、そのような構造は通常血流により再構成され、血管は正常に構築される。遺伝子治療により増殖因子を標的組織以外にも発現させた場合、他の組織に対して腫瘍の成長促進、網膜症、関節炎のような有害な副作用が起きるかも可能性がある。このような有害作用は組織特異的なプロモーターあるいは低酸素状態の条件で発現が促進されるようなベクターを用いることにより克服できるかもしれない。VEGF の副作用は血管透過性の亢進と浮腫であるが、心臓におけるそのような兆候、すなわち心膜液貯留という副作用は用量が多すぎる場合に起きることが最近になって示された。このように、可能性のある副作用について総合的に評価するためには、大動物において、最適投与量およびベクターと遺伝子のそれぞれに組み合わせにおいてデリバリーの戦略を決める必要がある。

D. 結論

1. 抗体医薬の現状と展望

ハイブドーマによるモノクローナル抗体作成技術が開発された後四半世紀を経た現在、遺伝子工学的手法の発展により、ようやくモノクローナル抗体を用いた抗体療法の有用性は確立しつつある。特にガンにおいては抗体療法がきわめて有用な治療法の一つとして確立されることは間違いないと考えられる。

ヒトゲノム配列がすべて明らかになり、新規な遺伝子の機能が続々と解明される時代になり、抗体のターゲットとなる遺伝子も急速に増加しつつある。また、抗体医薬の標的として既知の抗原も含めより有効性の高い

治療のターゲットとなりうるものを見つけ出す手法として、マイクロアレイなどを用いた遺伝子発現プロファイルの解析やプロテオーム解析などが発展してきており、従来に比べより大規模に網羅することが可能となっている。今後さらに進化するであろう免疫学、分子生物学、遺伝子工学的手法を用いた創薬研究により、標的細胞に対する高い生物学的活性と特異性を持つ治療薬としての抗体が得られることを期待する。

2. 肝幹細胞を用いた肝疾患に対する細胞治療の現状と展望

現在までに、動物およびヒトにおいて多様な種類の肝幹細胞の存在が確認され、その性状についても一部は明らかになってきた。また、様々な検討から肝幹細胞の細胞治療などへの臨床応用が肝疾患の治療において有用となる可能性が示唆されており、一部の動物モデル実験では肝幹細胞を移植することにより病態が改善されるとの報告もある。しかしながら、ヒトにおける肝幹細胞の研究は始まったばかりであり、単一集団として分離精製し、その後増殖・分化させるという基礎的段階まで達していないというのが現状である。今後、まずはヒト肝幹細胞における基礎的な知見の蓄積が必須であるが、将来的には肝幹細胞を用いた肝疾患治療法の有効性および安全性が確立され、ドナー不足から肝移植を受けられない患者がその恩恵を受ける日がやってくることを期待する。

3. 血管新生療法の現状と展望

治療的血管新生に対するたん白質および遺伝子治療、細胞治療のアプローチは、動物モデルおよび初期の非盲試験において良好な結果が得られたことから、大規模二重盲検コントロール試験における結果は大いに期待された。しかしながら、今まで全て失敗に終わった。その原因として多くの可能性が考えられている。しかし、有効性については芳しくないデータであったとしても、最近の臨床試験では、少なくとも血管新生療法が安全であることは示されつつある。したがって、この治療は今後さらに検討を重ねることにより、有効性を示すことが可能かもしれない。一方、血管の再構成および幹細胞の動員といった可能性のある治療標的の解明には血管発生、血管新生、動脈形成という血管新生 (vasculogenesis) の概念が有効となっている。このような観点において、臨床特に基礎研究の成果を評価する際、血管新生、動脈形成、脈管形成の評価を有効性の評価に織り込む必要がある。

今後改良すべき主な点として、適切な増殖因子をたん白質あるいは遺伝子として標的組織に効率良く持続的にデリバリーすることあるいは標的組織に対してのみ活性を示す薬を用いてシステムティックな治療を行なうことが考えられる。まだ見解の一致をみていないが、細胞治療は未知の非常に大きな可能性を秘めている。最適の細胞の選択からデリバリーの方法、患者の選択、作用機構の解明まで今後検討すべき課題は多い。しかしながら、今後十年でこの領域における研究が大きく進歩し、虚血病の治療において新しい治療法が出現することが大いに期待される。その場合、治療方法は基礎的な前

臨床のデータに基づいて妥当性が示されていることは必要不可欠である。

E. 参考文献

- 1) 冨塚一磨、黒岩義巳 ヒト人工染色体ベクターの開発とその利用 細胞 34:554-557 (2002)
- 2) 飛内賢正 モノクローナル抗体を用いたがんの治療 最新医学 56:609-618 (2001)
- 3) 石田 功 ヒト抗体作成の最新技術 実験医学 20:846-851 (2002)
- 4) 黒岩義巳、冨塚一磨、石田 功:ヒトポリクローナル抗体産生ウシ、バイオサイエンスとインダストリー 61:39-40 (2003)
- 5) 柴田徹一 22.抗体医薬品の位置付けとその現状 あいみつく 22:27-34 (2001)
- 6) 飛内賢正 抗 CD20 抗体(リツキシマブ) Molecular Medicine 40:1176-1181 (2003)
- 7) 竹下明裕 造血器腫瘍に対する抗体療法 Molecular Medicine 40:1206-1213 (2003)
- 8) 杉村和久、橋口周平、伊東祐二 ファージディスプレイ法 Molecular Medicine 40:1150-1158 (2003)
- 9) 富岡佳久、後藤順一 超抗体としての抗体医薬品 医薬品相互作用研究 26:57-62 (2002)
- 10) 片山政彦 ヒト型モノクローナル抗体:抗体治療への戦略 血液・腫瘍科 35:474-482 (1997)
- 11) 伊東祐二、田中孝一、橋口周平、杉村和久、BIO INDUSTRY 20:34-42 (2003)
- 12) 上田龍三 21世紀の抗体療法 Molecular Medicine 40:1140-1143 (2003)
- 13) 飛内賢正 造血器腫瘍の抗体療法 医学のあゆみ 194:1243-1247 (2000)
- 14) 小崎丈太郎、久保田 文 抗体医薬バージョンアップ大作戦 日経ビジネス 05:36-53 (2003)
- 15) 阿知和宏行、佐藤滋樹、上田龍三 モノクローナル抗体を利用した癌治療 癌と化学療法 29:495-501 (2002)
- 16) 黒井克昌、戸井雅和 Herceptin 医学の歩み 194:989-990 (2000)
- 17) 湊健二郎 インフリマキシブ 医薬ジャーナル 40:295-301 (2004)
- 18) 冨塚一磨、黒岩義巳、石田 功 ヒト染色体導入マウス(TC マウス)を利用したヒト抗体医薬開発 BIO INDUSTRY 20:43-51 (2003)
- 19) 吉田 均、冨塚一磨、石田 功 ヒト抗体産生マウス(KM マウスと HAC マウス) Molecular Medicine 40:1160-1165 (2003)
- 20) 石田 功 ヒト型抗体医薬 バイオサイエンスとインダストリー 60:296-301 (2002)
- 21) 浅野竜太郎、津本浩平、熊谷 泉 組換え型抗体の現状と展望 BIO INDUSTRY 20:6-14 (2003)
- 22) 設楽研也 遺伝子組換え抗体 Molecular Medicine 40:1144-1148 (2003)
- 23) 佐藤光男、内田和久、設楽研也 抗体の糖鎖構造とエフェクター活性 Molecular Medicine 40:1024-1032 (2003)
- 24) 石田 功 ①わかりやすい抗体医薬の基礎知識 日病薬誌 38:963-966 (2002)

- 25)石田 功 ②抗体医薬の変遷 日病薬誌 38:1121-1124 (2002)
- 26)石田 功 ③抗体医薬の臨床応用 日病薬誌 38: 1235-1237 (2002)
- 27)石田 功 ④抗体医薬の HAMA,HACA,HAHA 反応 日病薬誌 38:1385-1388 (2002)
- 28)佐々木 茂、今井浩三 モノクローナル抗体による癌細胞のアポトーシス誘導 60:451-456 (2002)
- 29)中山一郎、佐々木茂、今井浩三 固形癌に対する抗体療法 Molecular Medicine 40:1200-1205 (2003)
- 30)高田正泰、戸井雅和、坂東裕子、堀口慎一郎、佐治重衡 抗 HER2 モノクローナル抗体 (トラスツズマブ) Molecular Medicine 40:1166-1174 (2003)
- 31)小林幸夫 CD20 を標的とした抗体治療 Biotherapy 13:1047-1053 (1999)
- 32)竹内 勤 自己免疫疾患のモノクローナル抗体治療 Medical Science Digest 28:330-333 (2002)
- 33)珠玖 洋 抗体療法の実際と可能性 実験医学 20:841-845 (2002)
- 34)杉村和久 ヒト抗体エンジニアリング BIO ベンチャー 2:31-36 (2002)
- 35)花井陳夫 抗体医薬改良の戦略 BIO ベンチャー 2:37-43 (2002)
- 36)石田 功、富塚一磨、吉田 均 ヒト抗体遺伝子トランスジェニックマウス、BIO ベンチャー、2:44-50 (2002)
- 37)伊東祐二 ファージディスプレイライブラリー法 BIO ベンチャー 2:51-58 (2002)
- 38)中島敏博 ヒト抗体ファージライブラリー作成の実際 BIO ベンチャー 2:59-66 (2002)
- 39)吉崎和幸、奥畑聡子、中原英子、荻原圭佑、西本憲弘 慢性関節リウマチに対する抗体療法 BIO ベンチャー 2:67-74 (2002)
- 40)井原征治 抗体医薬によるウイルス感染症の予防と治療 BIO ベンチャー 2:75-80 (2002)
- 41)土屋政幸 抗体ビジネスの現状と展望 BIO ベンチャー 2:81-88 (2002)
- 42)インフリキシマブ(遺伝子組換え)最近の新薬 2003 薬事日報社 p. 37-44(2003)
- 43)バリビズマブ(遺伝子組換え)最近の新薬 2003 薬事日報社 p. 120-124(2003)
- 44)バシリキシマブ(遺伝子組換え)最近の新薬 2003 薬事日報社 p. 125-130(2003)
- 45)渡辺 亨、勝俣範之、藤原康弘、他 抗体治療の現状 癌治療と宿主 14:2002-2007(2002)
- 46)M. R. Alison, M. Golding, and C. E. Sarraf, Liver stem cells: when the going gets tough they get going, Int J Exp Pathol 78:365-381 (1997)
- 47)M. Alison, and C. Sarraf, Hepatic stem cells, J Hepatol 29:676-682 (1998)
- 48)M. Alison, Liver stem cells: a two compartment system, Curr Opin Cell Biol 10: 710-715 (1998)
- 49)M. R. Alison, R. Poulson, and S. J. Forbes, Update on hepatic stem cells, Liver 21:367-373 (2001)
- 50)R. A. Faris, T. Konkin, and G. Halpert, Liver stem cells: a potential source of hepatocytes for the treatment of human liver disease, Artif Organs 25: 513-521 (2001)
- 51)G. Feldmann, Liver transplantation of hepatic stem cells: potential use for treating liver diseases, Cell Biol Toxicol 17:77-85 (2001)
- 52)S. Forbes, P. Vig, R. Poulson, H. Thomas, and M. Alison, Hepatic stem cells, J Pathol 197: 510-518 (2002)
- 53)Z. P. He, Y. F. Tang, Y. B. Liu, and M. F. Feng, Advances in studies on hepatic stem cells, Prog Nat Sci 13:166-172 (2003)
- 54)A. D. Min, and N. D. Theise, Prospects for cell-based therapies for liver disease, Panminerva Med 46: 43-48 (2004)
- 55)T. Mitaka, Hepatic stem cells: from bone marrow cells to hepatocytes, Biochem Biophys Res Commun 281:1-5 (2001)
- 56)S. H. Oh, H. M. Hatch, and B. E. Petersen, Hepatic oval 'stem' cell in liver regeneration, Semin Cell Dev Biol 13:405-409 (2002)
- 57)B. E. Petersen, Hepatic "stem" cells: coming full circle, Blood Cells Mol Dis 27: 590-600 (2001)
- 58)S. Sell, The role of progenitor cells in repair of liver injury and in liver transplantation, Wound Repair Regen 9:467-482 (2001)
- 59)D. A. Shafritz, and M. D. Dabeva, Liver stem cells and model systems for liver repopulation, J Hepatol 36:552-564 (2002)
- 60)A. J. Strain, and H. A. Crosby, Hepatic stem cells, Gut 46:743-745 (2000)
- 61)R. Susick, N. Moss, H. Kubota, E. Lecluyse, G. Hamilton, T. Luntz, J. Ludlow, J. Fair, D. Gerber, K. Bergstrand, J. White, A. Bruce, O. Drury, S. Gupta, and L. M. Reid, Hepatic progenitors and strategies for liver cell therapies, Ann N Y Acad Sci 944:398-419 (2001)
- 62)C. J. Vessey, and P. M. de la Hall, Hepatic stem cells: a review, Pathology 33: 130-141 (2001)
- 63)立野知世、吉里勝利:肝幹細胞、蛋白質核酸酵素、45:2085-2091 (2000)
- 64)A. Medvinsky, and A. Smith, Nature 422:823-825 (2003)
- 65)立野知世、吉里勝利 肝臓と膵臓 実験医学 23: 193-197 (2005)
- 66)B. H. Annex, and M. Simons, Growth factor-induced therapeutic angiogenesis in the heart: protein therapy, Cardiovasc Res 65:649-655 (2005)
- 67)D. Tirziu, and M. Simons, Angiogenesis in the human heart: Gene and cell therapy, Angiogenesis 8:241-251 (2005)
- 68)Y. Cao, A. Hong, H. Schulten, and M. J. Post, Update on therapeutic neovascularization, Cardiovasc Res 65:639-648 (2005)
- 69)J. E. Markkanen, T. T. Rissanen, and S. Yla-Herttuala, Growth factor- induced therapeutic angiogenesis in the heart-gene therapy, Cardiovasc Res 65:656-664 (2005)
- F. 健康危害情報
なし
- G. 研究発表
1. 学会発表
[1] Niimi S, Oshizawa T, Yamaguchi T, Harashima M,

- Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T, Specific expression of annexin III in rat small hepatocytes. 第76回日本生化学会大会(2003年)
- [2] Harashima M, Nagaoka Y, Niimi S, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T, The mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by lactacystin, a proteasome specific inhibitor. 第76回日本生化学会大会(2003年)
- [3] 新見伸吾, 押澤 正, 山口照英, 原島 瑞, 関泰一郎, 有賀豊彦, 川西 徹, 早川堯夫, ラット肝細胞におけるアネキシンⅢの特異的な発現 第10回肝細胞研究会(2003年)
- [4] 原島 瑞, 新見伸吾, 長岡陽子, 関泰一郎, 有賀豊彦, 川西 徹, 早川堯夫, 初代培養ラット肝細胞においてプロテアソーム特異的阻害剤であるラクタシスチンはグルココルチコイド依存的なチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を阻害する 第10回肝細胞研究会(2003年)
- [5] Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Youko Nagaoka, Chieko Saito, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by the proteasome inhibitor lactacystin. 第77回日本生化学会(2004年)
- [6] Mizuho Harashima, Shingo Niimi, Masaru Gamou, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Expression of annexin III in primary cultured rat hepatocytes and its role on DNA synthesis. 第77回日本生化学会(2004年)
- [7] Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Masaru Gamou, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Expression of annexin III in primary cultured rat hepatocytes and its role on DNA synthesis. 第3回アネキシン国際会議(2005年, スイス)
- [8] Mizuho Harashima, Shingo Niimi, Hitomi Koyanagai, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Regulation of annexin A3 expression by growth regulatory factors in primary cultured rat hepatocytes. 第78回日本生化学会(2005年)
- [9] Seij Noma, Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Kazuko Takayama, Mayumi Hara, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Thrombomodulin enhances the invasive activity of mouse mammary tumor cells. 第78回日本生化学会(2005年)
- [10] 原島 瑞, 新見伸吾, 蒲生 優, 日向昌司, 関泰一郎, 有賀豊彦, 川西 徹, 早川堯夫, 初代培養ラット肝細胞における AnnexinA3 の発現と RNAI を用いた AnnexinA3 発現抑制に DNA 合成の阻害 第12回肝細胞研究会(2005年)
- [11] 伊東由真, 吉田麻衣子, 柳めぐみ, 長友俊介, 原島 瑞, 関泰一郎, 有賀豊彦, 新見伸吾, 川西徹, 早川堯夫, 2-AAF/CCl₄ を用いた肝幹細胞分化誘導モデルラットにおける肝再生と AnnexinA3 の発現 第12回肝細胞研究会(2005年)
- [12] N. Okumura, T. Koh, Y. Hasebe, G. Watanabe, A. Yashiki, A. Seno, T. Suzuki, S. Niimi, T. Kawanishi, T. Hayakawa, T. Seki, T. Ariga: Regulation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene expression in growth-promoted hepatocytes and role of TAFI in liver regeneration. The International Society on Thrombosis and Haemostasis XXth congress(ISTH2005) August 9, 2005 at the Sydney Convention and Exhibition Centre, Australia
- [13] 伊東由真, 吉田麻衣子, 柳めぐみ, 安藤磨実, 関泰一郎, 新見伸吾, 川西 徹, 有賀豊彦: 肝再生過程における Annexin III 発現の変動について 日本農芸化学会 2005 年度大会(札幌)/日本農芸化学会要旨集, p300
- [14] 高 智彦, 奥村暢章, 鈴木崇文, 妹尾ありさ, 渡邊豪, 長谷部祐一, 関泰一郎, 有賀豊彦, 新見伸吾, 川西 徹: 肝障害, 肝再生モデルラットにおける TAFI 発現の変動と生理的役割について 第27回日本血栓止血学会学術集会(奈良), 日本血栓止血学会誌, 15(5), 441, 2004

2. 論文発表

- 1) Gotoh Y, Niimi S, Hayakawa T, Miyashita T, Preparation of lactose-silk fibroin conjugates and their application as a scaffold for hepatocytes attachment. *Biomaterials* 25, 1131-1140 (2004)
- 2) Niimi, S., Hyuga, M., Harashima, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., Hayakawa, T. Isolated small hepatocytes express both annexin III and terminally differentiated hepatocyte markers, tyrosine aminotransferase and tryptophan oxygenase at the mRNA level. *Biol. Pharm. Bull.* 27, 1864-1866 (2004)
- 3) Niimi, S., Harashima, M., Takayama, K., Hara, M., Hyuga, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., Hayakawa, T. Thrombomodulin enhances the invasive activity of mouse mammary tumor cells. *J. Biochem (Tokyo)* 137, 579-586 (2005)
- 4) Niimi, S., Harashima, M., Gamou, M., Hyuga, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., Hayakawa, T. Expression of annexin A3 in primary cultured parenchymal rat hepatocytes and inhibition of DNA synthesis by suppression of annexin A3 using RNA interference. *Biol. Pharm. Bull.* 28, 424-428 (2005)
- 5) 新見伸吾, 原島 瑞, 川西 徹, 早川堯夫, 抗体医薬の現状と展望, 医薬品研究, 36, 163-193 (2005)
- 6) 新見伸吾, 原島 瑞, 川西 徹, 日向昌司, 野間誠司, 川西 徹, 早川堯夫, 肝幹細胞に関する研究の現状と肝疾患の細胞治療への応用の展望, 医薬品研究, 36, 481-496 (2005)
- 7) 後藤洋子, 新見伸吾, ラクトース修飾絹フィブリン基材上の初代培養ラット肝細胞の形態および機能におよぼすインスリンとデキサメタゾンの作用, 高分子論文集 (Kobunshi Ronbunshu), 62, 326-330 (2005)

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

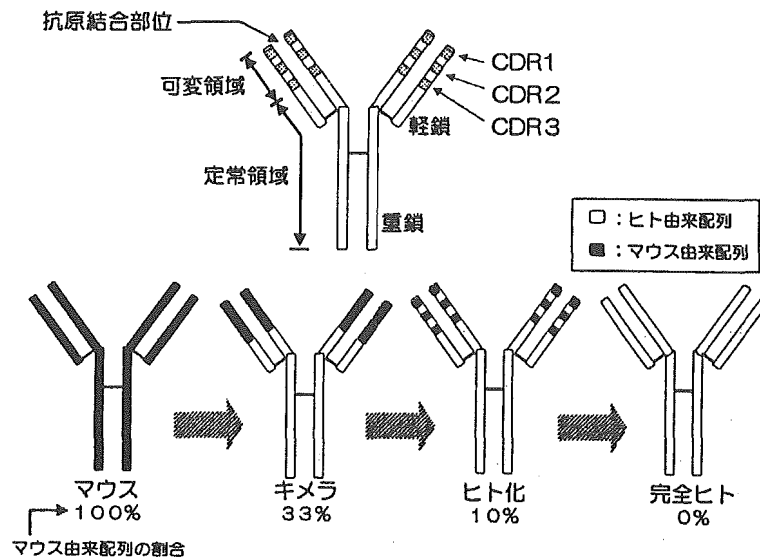


Fig.1 抗体の構造（上段）およびマウスモノクローナル抗体のヒトに対する抗原性低減技術の進展（下段）
（文献 18 より許可を得て転載）

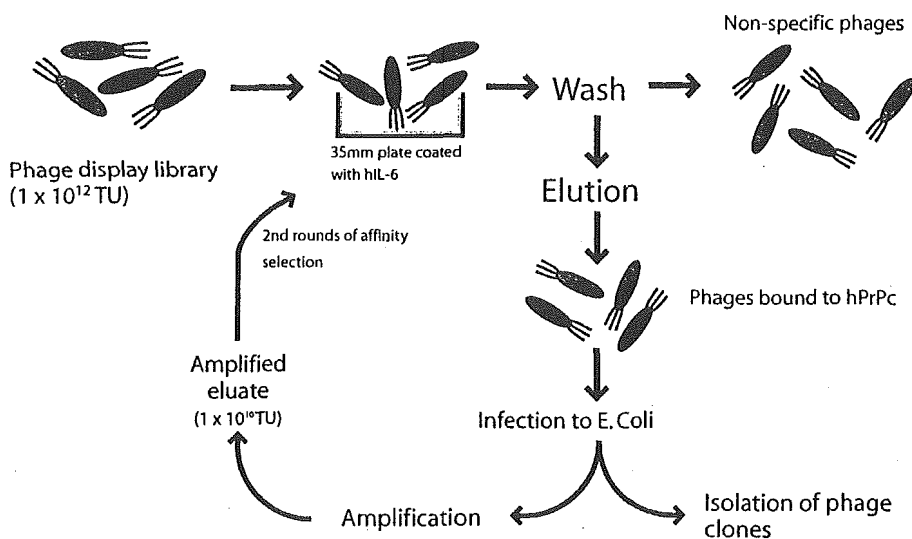


Fig.2 フェージディスプレイライブラリーを用いたパンニング方法
（文献 11 より許可を得て転載）

ライブラリーの種類	合成	ナイーブ	非免疫	immune
使用組織	ヒト組織	末梢血、骨髄、扁桃腺などのリンパ球		感染症回復者や対象抗原をワクチン接種したあるいは自己抗体を保有する患者のリンパ球
V遺伝子の由来	再構成されていないV遺伝子断片	IgM mRNA 由来 再構成されたV遺伝子		IgG mRNA 由来 再構成されたV遺伝子
V遺伝子の組成	コントロール可能	← コントロールは困難 →		→
CDRの由来	合成・混合	← 天然型 →		→
ライブラリーの構築	←	基本的に1回		→ 抗原ごとに作製
得られる抗体の親和性	←	ライブラリーのサイズと多様性に依存?		→ ライブラリーサイズは小さくても、(10 ⁸ 程度) 目的の抗原に対して比較的高い親和性を有するクローン分離可能
特異性	←	ほとんどの抗原		→ 主に標的抗原

Fig. 3 合成, ナイーブ, 非免疫, immune 各ライブラリーの比較: ファージディスプレイヒト抗体ライブラリーの作製方法による分類 (文献 38 より許可を得て転載)

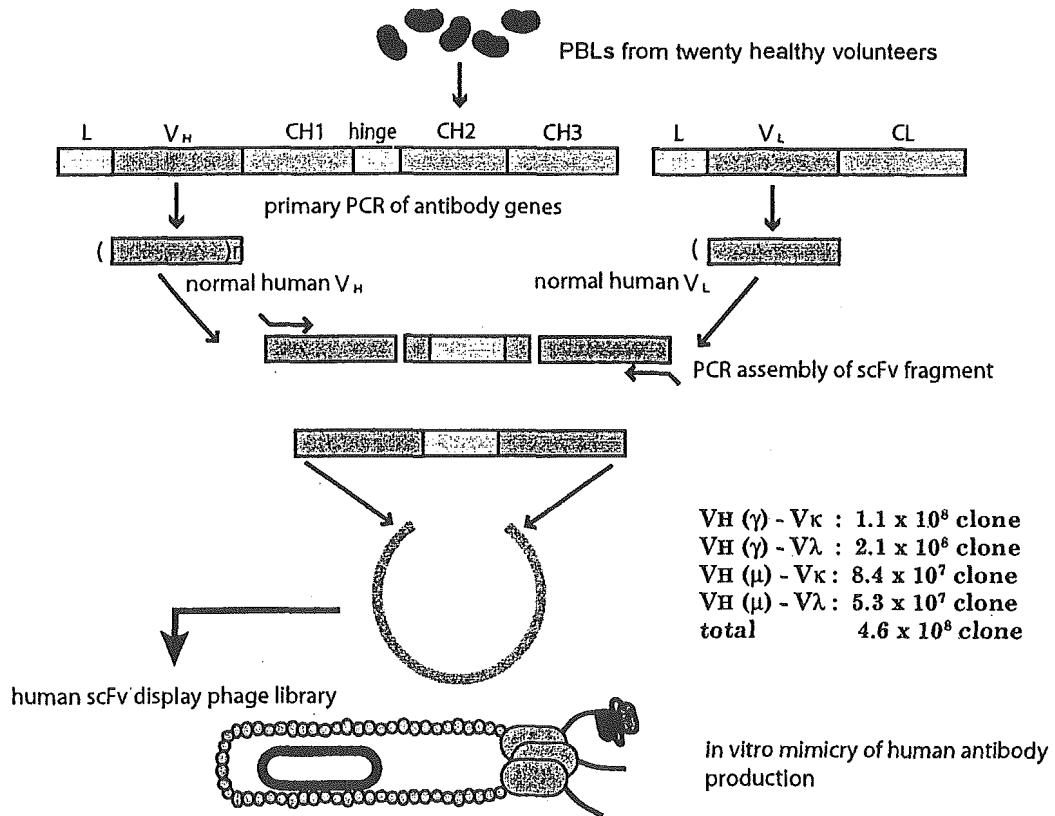


Fig. 4 ナイーブヒト抗体ファージライブラリー構築の概略 (文献 11 より許可を得て転載)

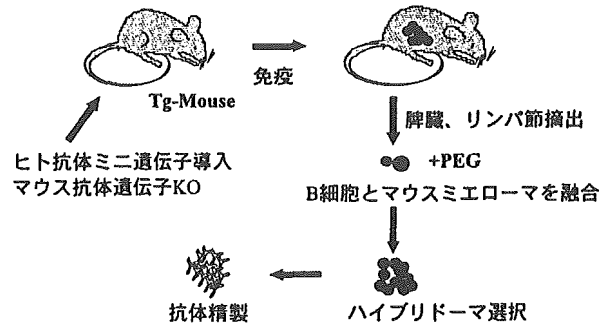


Fig. 5 トランスジェニックヒト抗体技術

(文献 20 より許可を得て転載)

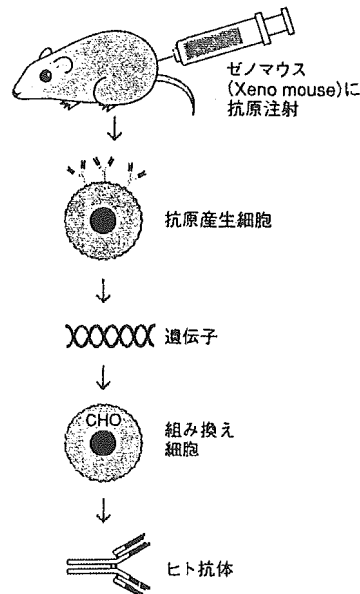


Fig. 6 アブジェニックス社のヒト抗体作成技術

(文献 14 より許可を得て転載)

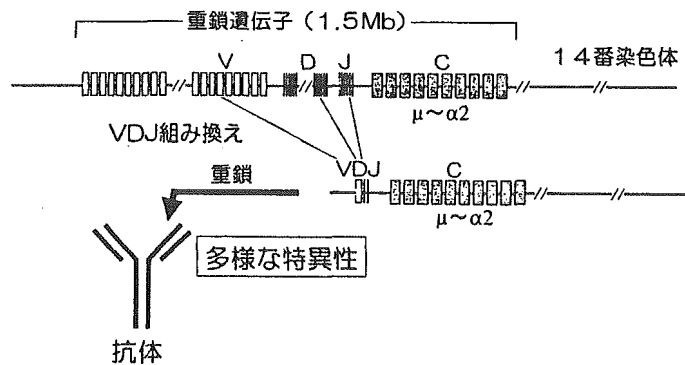


Fig. 7 ヒト抗体重鎖遺伝子の構造とVDJ組み換えによる多様性生成

(文献 18 より許可を得て転載)

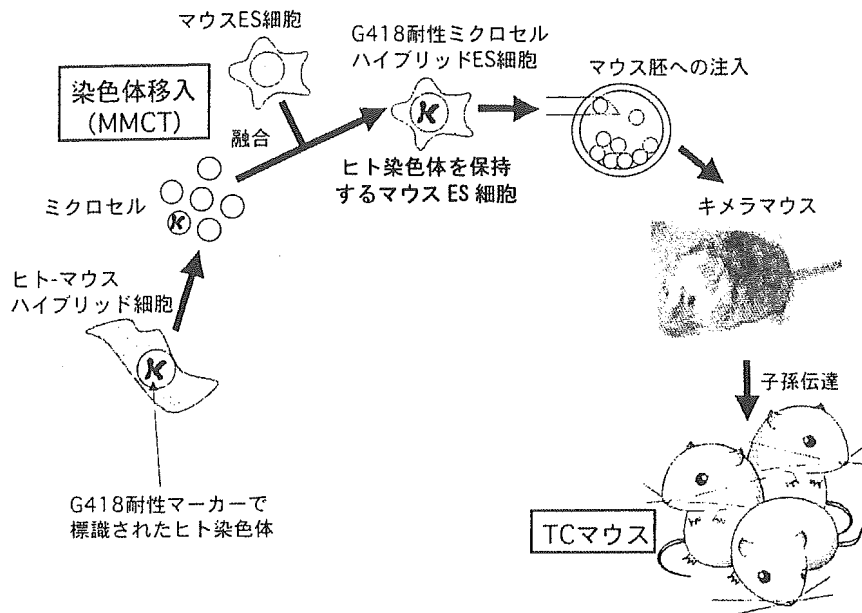


Fig. 8 トランスクロモマウス作成法の概略 (文献 18 より許可を得て転載)

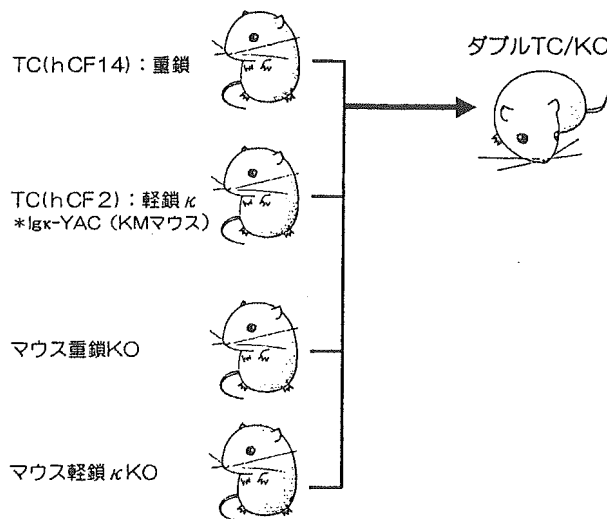


Fig. 9 ヒト抗体産生マウス (ダブルTC/KO) の作製

(文献 18 より許可を得て転載)

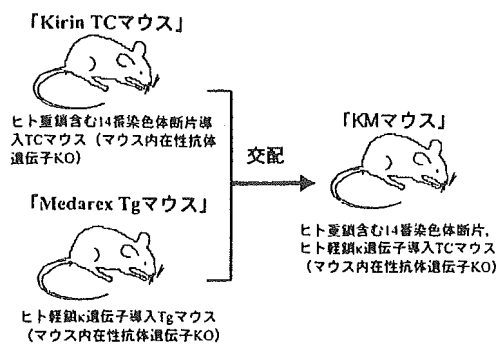


Fig. 10 KMマウスの作製

(文献 25 より許可を得て転載)

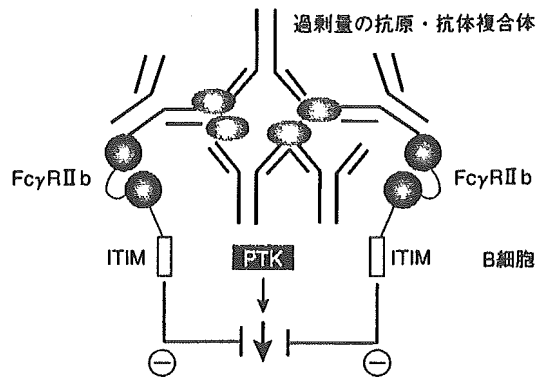


Fig. 11 FcγRIIbの機能 (文献3より許可を得て転載)

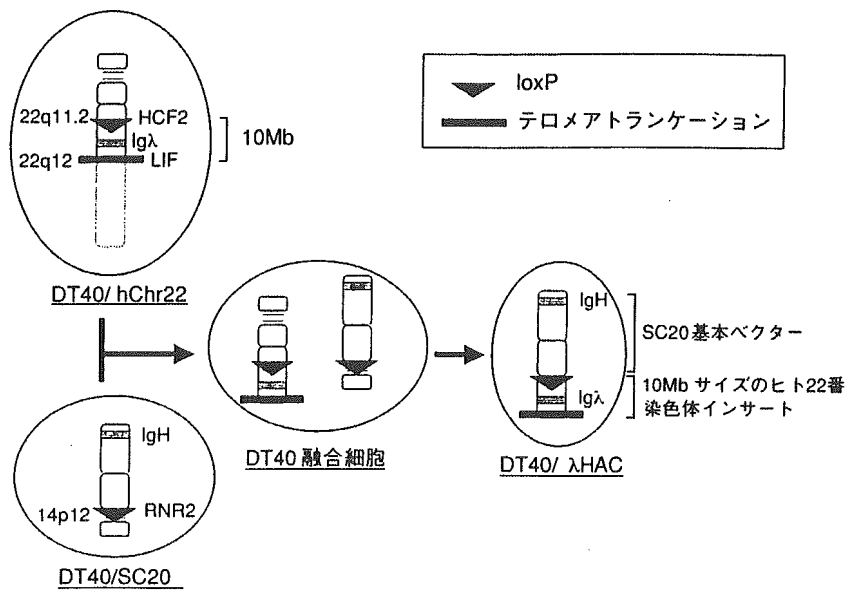


Fig. 12 ヒト人工染色体 (HAC) 構築法の概略 (文献18より許可を得て転載)

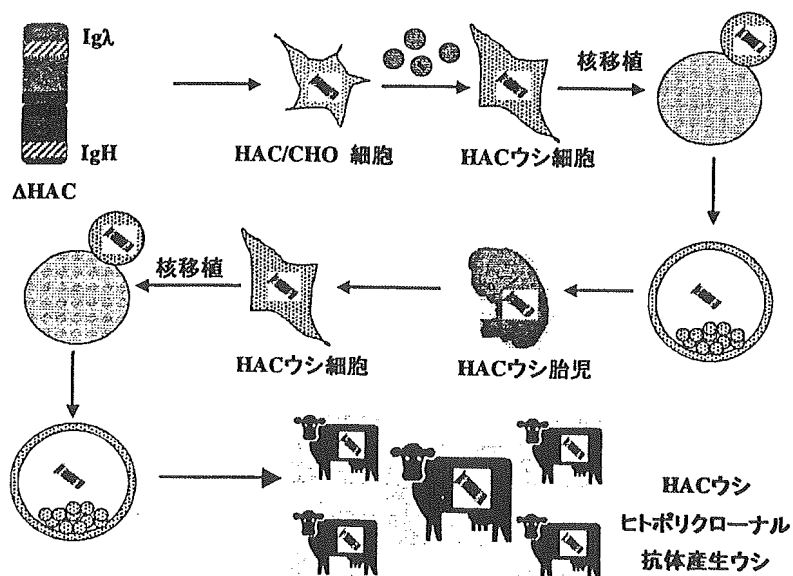


Fig. 13 ヒトポリクローナル抗体産生(HAC)ウシの作製法

(文献4より許可を得て転載)

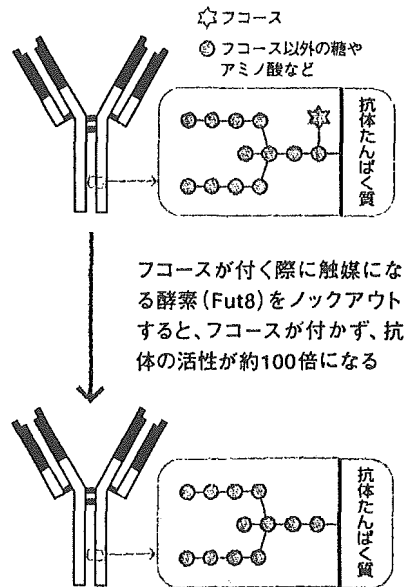


Fig. 14 フコスの低減技術 (文献 14 より許可を得て転載)

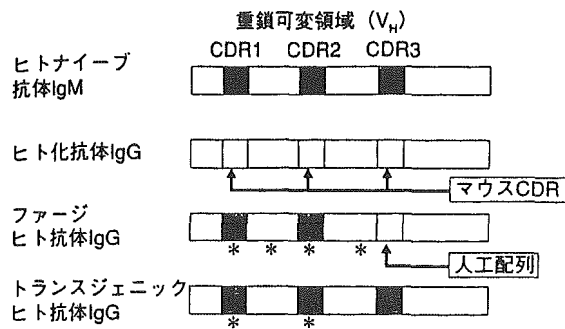


Fig. 15 HAHAの問題
ヒト由来のナイーブ抗体 IgM 重鎖可変領域 (V_H) とヒト化抗体、模式的に点変異箇所 (ポイントミューテーション) を * で示した。
(文献 36 より許可を得て転載)

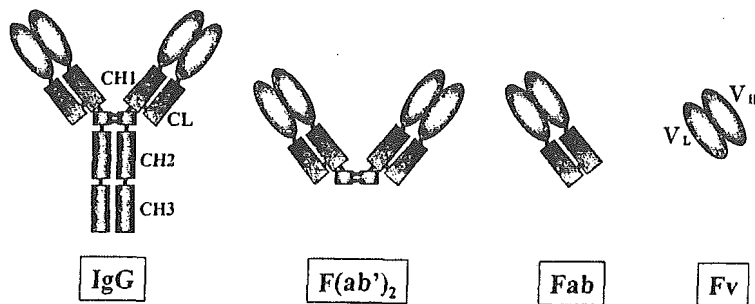


Fig. 16 各種抗体断片
(文献 21 より許可を得て転載)

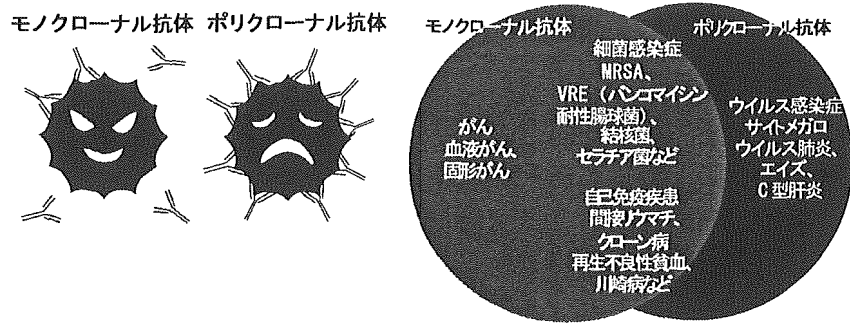


Fig. 17 モノクローナル抗体とポリクローナル抗体における効力の比較
(文献 14 より許可を得て転載)

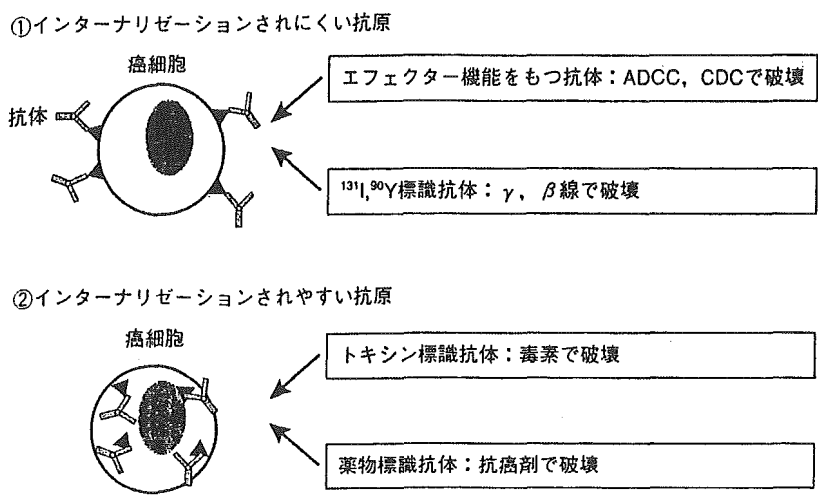


Fig. 18 抗体を用いたミサイル療法
(文献 35 より許可を得て転載)

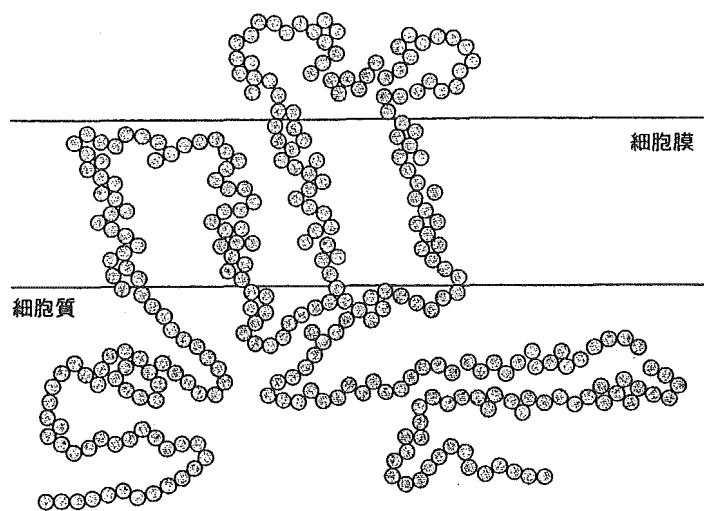


Fig. 19 CD20 抗原の模式図
(文献 2 より許可を得て転載)

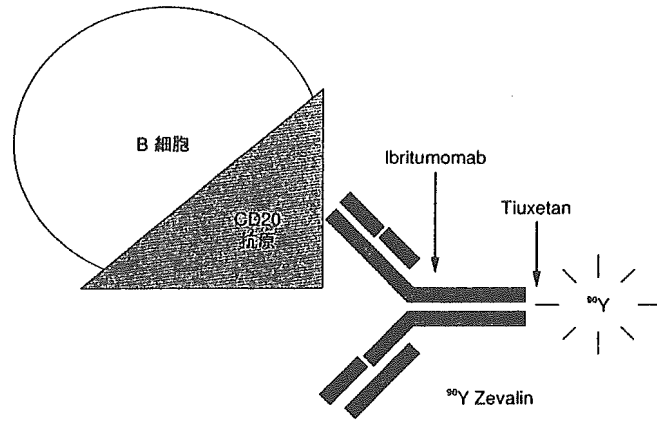


Fig. 20 ^{90}Y を抱合した抗 CD20 放射性同位元素標識抗体である Ibritumomab の模式図
(文献 2 より許可を得て転載)

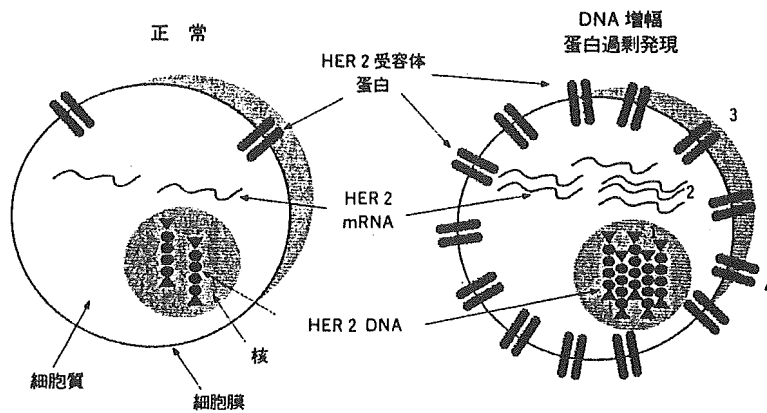


Fig. 21 正常細胞と HER2 過剰発現ガン細胞
1 : \uparrow gene copy number 2 : \uparrow mRNA transcription 3 : \uparrow cell surface receptor protein expression
4 : \uparrow release of receptor extracellular domain
(文献 45 より許可を得て転載)

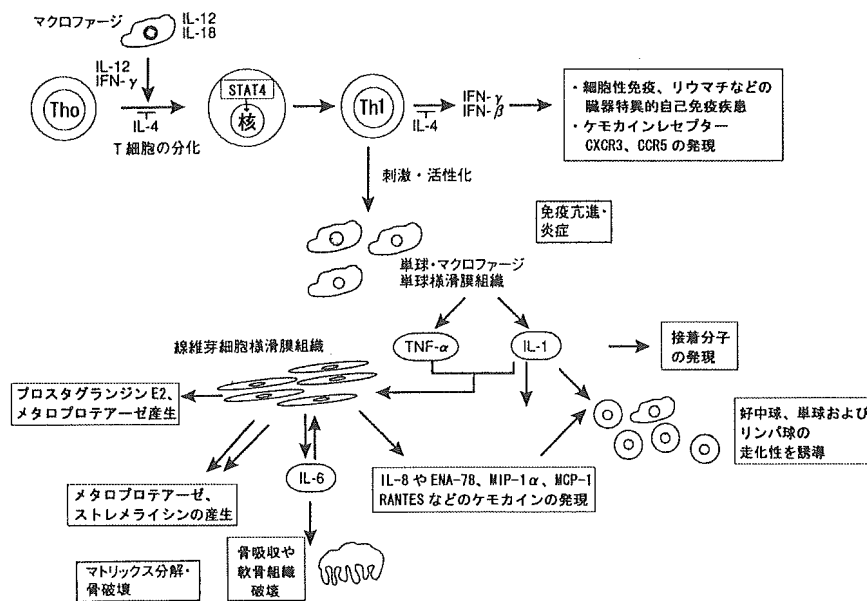


Fig. 22 慢性関節リウマチ発生の機序
(文献 39 より許可を得て転載)

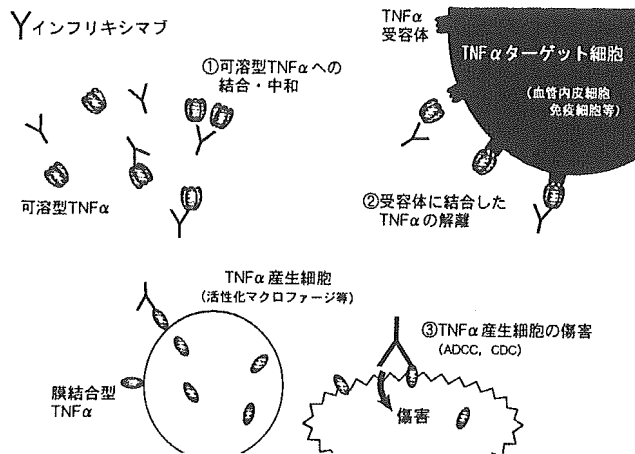


Fig. 23 インフリキシマブの作用機序

(文献 17 より許可を得て転載)

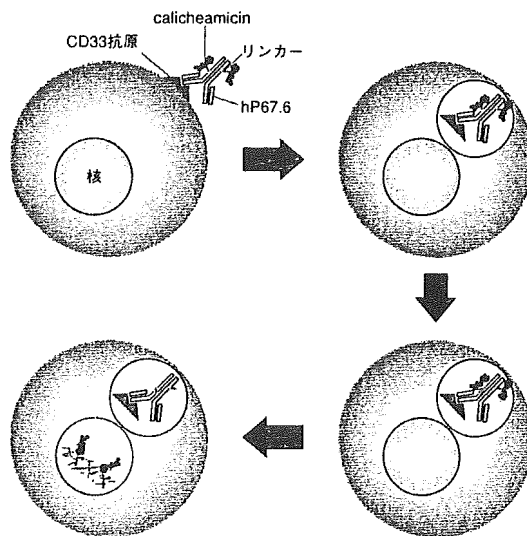


Fig. 24 マイロタッグの細胞傷害活性発現機序

(ワイス社より提供)

Table 1 認可された抗体医薬

商品名 (抗体名)	企業	日本での 販売元	タイプ (抗原)	適応症	認可 (年)
Repro® (Abciximab)	Centocor社/ Eli Lilly社		キメラ (gp II b III a)	PTCA 後再狭窄	1994
Rituxan® (Rituximab)	IDEC社/Roche 社/Genentech社	全薬工業 (株)	キメラ (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	1997
Zenepax® (Daclizumab)	Roche社		ヒト化 (IL-2R)	腎移植	1997
Remicade® (Avakine)	Centocor社		キメラ (TNF-α)	クローン病 慢性関節リウマチ	1998
Synagis® (Palibizumab)	MedImmune社/ Abott社		ヒト化 (RSV)	RSV 小児感染	1998
Simulect® (Basilicimab)	Novartis社		ヒト化 (IL-2)	腎移植	1998
Herceptin® (Trastuzumab)	Genentech社/ Roche社	日本ロシュ (株)	ヒト化 (HER2)	乳癌	1998
Mylotarg® (Gemtuzumab)	Celltech社/ AHP社		抗癌剤-コンジュゲート (CD33)	急性骨髄性白血病	2000
Zevalin® (Iritumomab)	IDEC社/ Schering AG社		⁹⁰ Y-コンジュゲート (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	2002
Bexxar® (Tositumomab)	Coulter社/ SKB社		¹³¹ I-コンジュゲート (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	2002

PTCA : 経皮的冠動脈拡張術, RSV : 呼吸器多核体ウイルス

(文献 35 より許可を得て転載)