

2009/2008B

## 厚生労働科学研究費補助金

### 医療機器開発推進研究事業

先端技術(医・工・薬・ナノ)融合のインテリジェントナノ DDS 制御  
技術開発に基づく低侵襲血管内医療システム(分子標的医薬溶出・  
生体吸収性ステント etc)の創製と臨床応用  
(H19-ナノ-一般-008)

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成22(2010)年 5 月

# 厚生労働科学研究費補助金

## 医療機器開発推進 研究事業

先端技術（医・工・薬・ナノ）融合のインテリジェントナノ DDS 制御技術開発に基づく低侵襲血管内医療システム（分子標的医薬溶出・生体吸収性ステント etc）の創製と臨床応用  
(H19-ナノ-一般-008)

平成 19 年度～平成 21 年度 総合研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 22 (2010) 年 5 月

## 【目 次】

I.	研究組織	1
II.	総合研究報告書	
1.	研究要約（概要）	2
2.	研究の必要性ならびに目的	3
3.	期待される効果：新産業創出と我が国産業の競争力強化	5
4.	本研究における国内外の研究状況、独創的な点と特色	6
5.	研究計画・方法	7
6.	平成 19-21 年度の成果	9
7.	本研究開発事業のまとめと実用化に向けた展望	13
8.	健康危険情報	14
9.	研究発表	14
10.	知的財産権の出願・登録状況	14
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	15
IV.	研究成果の刊行物・別刷	23

**【研究組織】**

## ※主任研究者：

江頭 健輔 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・准教授

## ※分担研究者：

市来 俊弘 九州大学大学院医学研究院 寄付講座・客員准教授

戸高 浩司 九州大学病院 循環器内科・特任准教授

中野 覚 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・学術研究員(特任講師)

的場 哲哉 九州大学大学病院 循環器内科・医員

向井 靖 九州大学大学病院 循環器内科・医員

片山 佳樹 九州大学工学研究院 応用化学部門・教授

高原 淳 九州大学先導物質化学研究所・教授

川島 嘉明 愛知学院大学薬学部・教授

辻本 広行 ホソカワミクロン株式会社 美容科学研究所・所長

山田 英 (株)アンジェス MG・社長

上田 恭義 (株)カネカ・研究開発本部・所長

坂本 満 産業技術総合研究所

実環境計測サステナブルマテリアル研究部門・副研究部門長

佐藤 富雄 産業技術総合研究所サステナブルマテリアル研究部門

環境適応型材料開発研究グループ・グループ長

板井 昭子 (株)医薬分子設計研究所・社長



厚生労働科学研究費補助金  
(医療機器開発推進 研究事業)

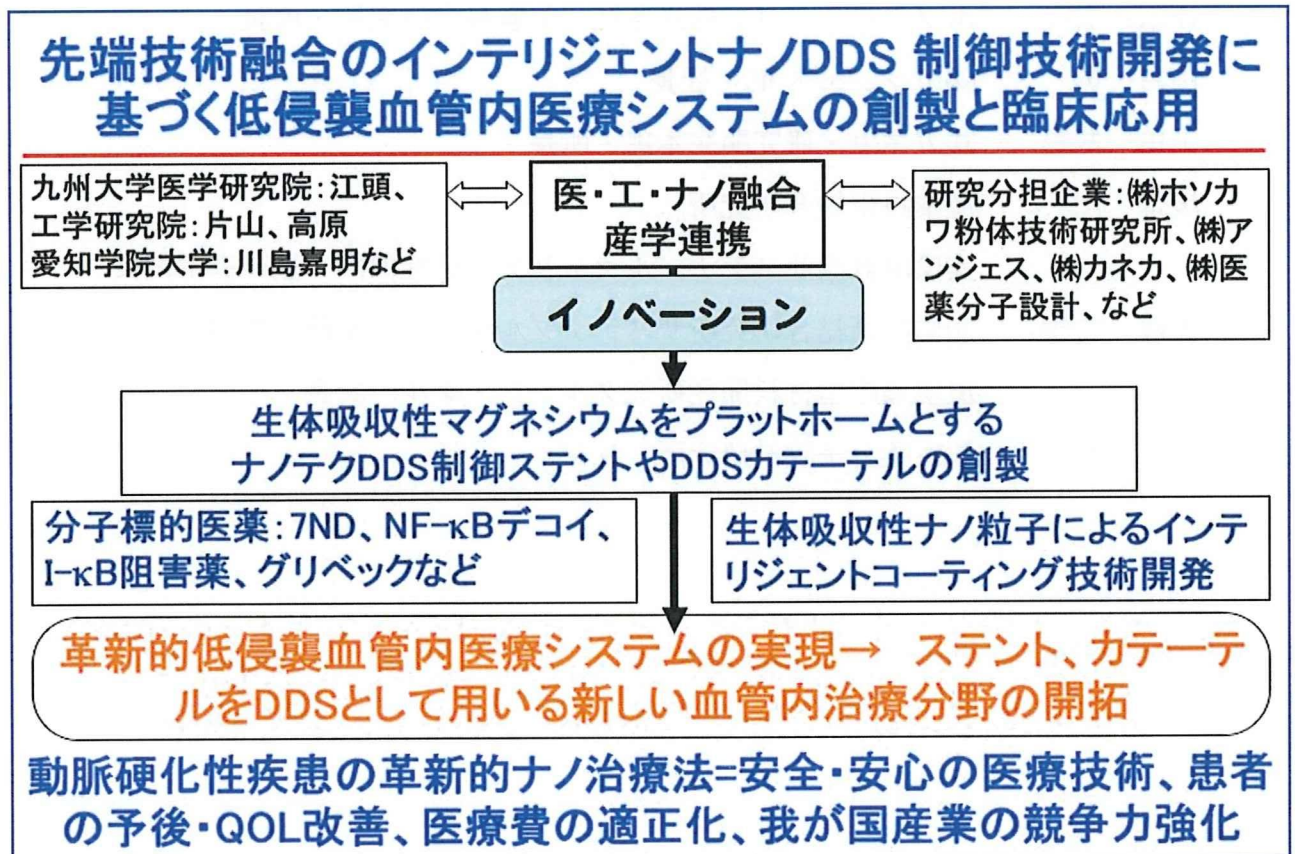
【総合研究報告書】

「先端技術（医・工・薬・ナノ）融合のインテリジェントナノ DDS 制御技術開発に基づく低侵襲血管内医療システム（分子標的医薬溶出・生体吸収性ステント etc）の創製と臨床応用」（H19-ナノ一般-008）

主任研究者 江頭 健輔  
(九州大学大学院医学研究院 循環器内科学 准教授)

1. 研究の要約（概要）

我が国は高齢化社会を迎えて動脈硬化性疾患が増加し、死因・寝たきりの原因と医療費の主たる部分を占めており、革新的医療の開発が国策として期待されている。本研究では、医・工・薬・ナノテクノロジーの先端技術の融合によって国際競争力を有する低侵襲血管内医療システム（生体吸収性 Mg-Ca 合金ステント、生体吸収性ナノ DDS ステント、ナノ DDS カテーテル）を創製し臨床応用する。これによって QOL・生命予後改善を実現する安心安全の血管内治療を創出し、社会貢献（革新的治療法による国民救済、医療費適正化、経済活性化）を目指す。



## 2. 研究の必要性ならびに目的

【必要性・背景】我が国は未曾有の高齢化社会を迎えて、生活習慣や加齢を基盤として発症する動脈硬化性疾患（心筋梗塞、狭心症、脳卒中、末梢動脈の閉塞性動脈硬化症）が増加し、我が国の死因と寝たきりの原因の主たる比率を占めている。超高齢化社会への道を進む我が国において動脈硬化性疾患はさらに増加し、社会が医療費高騰に耐えられない事態が生じつつある。その克服は「健康フロンティア」の目標である、健康寿命の延長、健康安心の推進、の達成に大きく貢献することから、国家的課題として取り組む必然性がある。

動脈硬化性疾患に対する治療として冠動脈ならびに末梢動脈に対する経皮的カテーテルインターベンションが世界的に普及しており、その殆ど（80%以上）が金属ステントによる拡張術である。また、その市場は極めて大きい。

最近、経皮的冠動脈インターベンション（PCI）後の再狭窄の対策として薬剤溶出ステント（drug-eluting stent: DES）が登場し世界的に注目されている。DESによって再狭窄が減少する一方で、その需要が激増し「市場」は急成長している（2010年の日本市場は1,000億円；世界的には1兆円）。すなわち、DESの登場によって国民医療費は益々増加することになる。

一方、現行の第一世代 DES には解決すべき重要な問題が存在することも明らかになってきた。

第一に、再狭窄の発生はかなり抑制するが、植え込み数年後に発生する遅発性血栓による急性心筋梗塞と死亡が増加すると報告されている。その主因は、薬剤（sirolimus, paclitaxel, etc）あるいは生体非適合性ポリマーに起因する修復遅延反応（内皮再生不全、炎症、増殖など）と考えられている。血管内視鏡検査や病理解剖による臨床研究によって、内皮再生不全が遅発性血栓の重要な予知因子であることが示されている。そのため、抗血小板剤の長期投与が必須であり、いかなる理由であれ中止すると遅発性血栓症のリスクが格段に増加する。さらに重要なことは、心血管イベント（心筋梗塞、心臓死）の発生は抑制しないことである。

第二に、ステントそのものがステンレス製であることから「永久体内残存型」デバイスである。

第三に、コーティング技術が未熟であり水溶性の分子標的薬や低分子化合物、遺伝子プラスミド、人工核酸のコーティングは難しい。換言すれば現行の DES は医療機器として「完成度」が低い。

第四に、国家経済産業的問題として、現行の DES は全て外国製であり完全に外国の技術に依存している点がある。最近テルモ社が上市した DES は、ステントプラットフォームはテルモ社製であるがコーティングする技術・薬は外国製である。

これらの医学的ならびに医療経済学的問題の解決のためには、日本の先進技術を活用して心血管イベントの減少をもたらす「世界標準」の低侵襲血管内医療システム（生体吸収性 Mg-Ca 合金ステント、生体吸収性ナノ粒子 DDS ステント、ナノ DDS カテーテル）の実用化が期待されている。



【目的】ナノ医療（特に医療機器開発）は将来性の高い有望分野であり、府省「連携プロジェクト」ならびに、ナノ医療研究開発（革新的医薬品・医療機器創出のための5カ年戦略）として優先的に推進されている。本研究の目的は、臨床の現場から上がっている問題点を全て解決できる次世代製品として、ナノ DDS 制御機能を兼ね備え生命予後を改善する世界標準の低侵襲血管内医療システム（生体吸収性 Mg-Ca 合金ステント、生体吸収性ナノ粒子 DDS ステント、ナノ DDS カテーテル）を創製し臨床応用することである（スーパー特区分担課題として採択）。

第一に、製造特許を有する国産の生体吸収性 Mg-Ca 合金ステントを用いて次世代ステントプラットフォームを提案する。

第二に、独自に開発したコーティング技術によって生体吸収性ナノ粒子をコーティングし、生体吸収性ナノ粒子 DDS ステントを創出する。

第三に、ステントの適応とならない重症動脈硬化病変に対する間欠式パルスインフュージョン-ナノ DDS カテーテルを開発する。

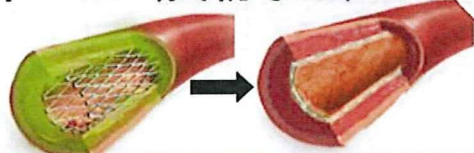
これらの組み合わせによって、高効果・低副作用の低侵襲医療機器の研究開発を目指す。これによって、低侵襲で血管保護・再生を促進し病変の安定化を実現する血管内治療分野が新たに創出される。

## 未来医療を拓く低侵襲血管内医療システム： 生体完全吸収性ナノDDSステントの創製

分子標的治療薬：遺伝子、人工核酸（デコイ、siRNA）、  
細胞内シグナル阻害（受容体チロシンキナーゼ）

抗炎症、血管再生促進（特許公開・取得）

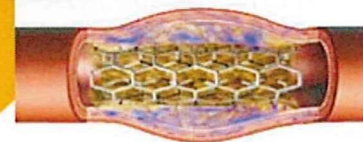
生体吸収性  
Mg-Ca合金  
による安心の  
ステントプラット  
ホーム（異物なし）



血管修復促進（特許取得）

再狭窄・  
心筋梗塞の  
抑制

生体吸収性ナノ粒子の  
革新的コーティング  
技術開発がもたらす  
優れた治療効果



優れたナノDDS（特許公開）



### 3. 期待される効果：新産業創出と我が国産業の競争力強化

**ナノ DDS に基づく革新的低侵襲ナノ医療の実現**：ナノテク DDS 制御技術開発に基づく生体完全吸収性分子標的医薬溶出ステントが事業化されれば、動脈硬化性疾患（再狭窄、心筋梗塞、脳卒中）に対する革新的低侵襲ナノ治療が確立できる。

**国民・社会・経済への貢献**：その結果、患者の QOL・生命予後改善、早期社会復帰を実現する高効果・低副作用の低侵襲医療が達成され、医療費の削減と適正化をもたらされるので厚生労働科学に対する貢献は十分ある。また、国際競争力を有するナノ医療の誕生によって、新しい医療産業がもたらされ我が国産業の競争力強化への貢献も大きい。具体的な経済効果は、本製品が事業化された場合、国内市場シェアを 10% として年間約 100 億円、シェア 50% として年間 500 億円) の売り上げとなる（直接額のみ、海外展開は含まず）。

**先端技術の融合によるイノベーション創出がもたらす高い独創性**：本研究は先端技術融合による世界標準の低侵襲医療機器開発に挑戦するものであり独創性が極めて高い。全ての技術・材料・アイデアに関して特許を取得・出願しており、本技術を模倣することは極めて困難である。

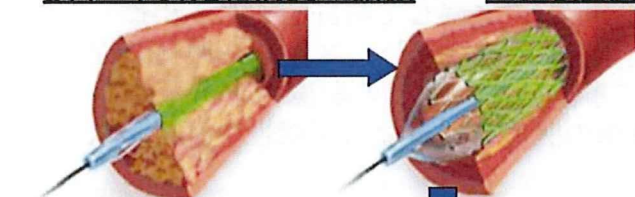
したがって、本製品は国際的競争力を有する日本発世界標準の医療機器となる可能性が高い。本研究課題は総合科学技術会議や厚生労働省のナノ医療研究開発などの国家的施策に良く整合するものであり優先順位の高い重要課題である。

## 血管壁代謝情報伝達に介入する 革新的生体完全吸収性ナノDDSステント

再狭窄防止だけでなくプラーク安定化による心血管イベント  
(心筋梗塞・脳梗塞)抑制

1. ナノDDSステントによる  
狭窄・不安定化病変の拡張

2. ナノDDSステント  
による遺伝子・薬物の送達



3. 狭窄の解除、内皮再生  
病変の安定化

4. 異物なしによる  
血管再生の促進



血管内皮再生・修復を促進し病変を安定化させる

- ◆ 生体完全吸収性ナノDDSステントを新しいDDSと捉える。
- ◆ 血管保護・再生を促進し病変の安定化を目指す全く新しいコンセプトの血管内治療機器

**薬剤・遺伝子候補(企業)**  
 スタチン(興和)、シロスタゾール(大塚)、ピオグリタゾン(武田)、NF-κBデコイ(XX)、アドレノメジュリン(XX)、7ND-MCP-1(XX)



#### 4. 本研究における国内外の研究状況、独創的な点と特色

##### 【国内外における研究状況】

Mg を用いた生体吸収性ステントの開発状況について：Mgを用いたステントプラットフォームの開発においては欧州Biotronik社が先行している。同社は市販の工業用Mg合金（WE43）を用いてステントを製造し臨床試験を実施している（Lancet 2007）。アンジェス社は同じMg合金（WE43）を用いて、(独)物質材料機構は独自のMg合金を製造しステント作製を試みている。しかし、これらのステントはいずれも非完全吸収性であり、安全性が担保されていない成分を含有し、量産が難しい。

本研究では製造特許を有し不純物を含まない完全吸収性の Mg-Ca 合金を用いることから、Biotronik 社の Mg 合金ステントなどとは差別化が可能であり、本提案の事業化には支障がない。本研究によって Mg-Ca 合金ステントが実用化されれば、先行する WE43 合金ステントと置き換わり「世界標準」になるであろう。この点は本研究構想の極めて優れた潜在性を示唆するものである。

##### 生体吸収性ナノ粒子の製造とコーティング技術の開発状況について：

医療用だけでも異なる材料・形状・機能を有する多くのナノ粒子が提案されている。本研究開発に用いるナノ粒子は、1) 生体吸収性ポリマーPLGA を材料とする粉体であり安定性がある、2) 製造特許を有する、3) 米国 FDA 基準を満たす製造プロセスに沿って製造される、等の特徴とする。このナノ粒子の生体内安全性と吸収性については九州大学において検証してきた。さらに申請者らは生体吸収性ナノ粒子をステント表面に電着コーティングする技術を独自に開発し、それが極めて優れた DDS として機能することを見いだしている。したがって、本研究は DDS ステントや DDS カテーテル製造のための革新的ナノテク DDS コーティング技術の研究開発につながる可能性が十分あり独創性が高い。

##### 【特色・独創的な点】

先端技術の融合によるイノベーション創出がもたらす高い独創性：本研究はナノ工学融合によるイノベーション創出によって世界標準の医療機器開発に挑戦するものであり独創性が極めて高い。全ての技術・アイデアに関して特許を取得・出願しており、本技術を模倣することは極めて困難である（下図参照）。ステント製造販売企業を共同研究機関に組み入れることによって事業化に向けての配慮も十分なされている。したがって、本製品は我が国発世界標準の医療機器となる可能性が高い。

## 5. 研究計画・方法

【臨床応用を目指した研究開発体制】研究代表者江頭が研究を総括する。中野と的場がMg-Ca合金ステント作製、動物実験、病理組織学所見解析、効果と安全性評価を担当する。市来はナノ粒子コーティング、病理組織解析を担当する。川島はナノ粒子作製指導と品質管理を担当する。

本研究は企業との産学官連携研究であり、医工ナノ融合研究である点も特徴である。Mg-Ca合金ステントは坂本、佐藤（独立法人 産業技術総合研究所）が製造を担当する。また、生体吸収性ナノ粒子は川島の指導のもとに、ホソカワ粉体技術研究所（辻本研究所長）との共同で作製する。NF- $\kappa$ B阻害薬は(株)アンジェスから供給される。ステントの形状設計は、(株)カネカのステント設計部門の協力を得て行う。ステントのレーザー加工、表面研磨、仕上げ、バルーンマウントは、医療機器メーカーに委託して作製する。

本研究事業は先端医療開発特区（スーパー特区）の分担課題として採択された。したがって、ナノメディシン研究事業の目標である日本発医療機器の実現が加速される。

### 【研究計画】

#### 1. Mg-Ca合金（難燃性Mg）による生体吸収性ステントプラットフォームの研究開発（平成21年度）

1) 細胞を用いた安全性の検討（担当 九州大学、カネカ）：Mg-Ca合金を粉末状にして、血管壁細胞（血管内皮、平滑筋、線維芽細胞など）に投与して安全性・毒性を検討する。培養細胞培地内でMg-Ca合金が分解する過程において血管壁細胞の細胞死、細胞増殖、遊走などを観察することで、Mg-Ca合金が直接細胞に与える影響を明らかにする。

2) Mg-Ca合金ステントの作製（担当 産業技術総合研究所、カネカ）：Mg-Ca合金を用いてステントを作製する。異なるCa含量のMg-Ca合金を作製することによって生体内吸収時間を制御し、3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月で吸収するステントをデザインする。

3) 動物での安全性および有効性の検討（担当 九州大学）：Mg-Ca合金はMgとCaから構成される。両者とも生体必須の元素であり、生体親和性が高い。体重70kgのヒトの体内において、約20gのMg、約10gのCaが存在する。人体に用いるステントの重量は一個あたり約15-20mgと極めて少量であることから、人体に直接悪影響を及ぼす可能性は少ないと考えられる。

異なるCa含量のMg-Ca合金ステントをブタ冠動脈に植え込み、生体内吸収の動態を病理組織学的検査を用いて解析する。Ca含量と生体内吸収時間の関係を明らかにし、新生内膜が完成し病変が安定する3-12ヶ月間で吸収されるステントをデザインする。安全性に関しては、病理組織学的解析と経時的採血を行い、吸収される過程で組織障害や臓器障害が生じるかどうかを明らかにする。これらの検討によって生体にとって安全性に優れたステントとなる条件を探索する。

#### 2. 生体吸収性ナノ粒子作製とコーティング技術の研究開発（平成21年度）

1) 生体吸収性高分子製ナノ粒子の作製：水中エマルジョン溶媒拡散法を用いて生体吸収性高分子ポリマーPLGA製ナノ粒子を作製する。この技術を駆使して、現行のコーティング技術では困難である水溶性の遺伝子プラスミド、人工核酸（デコイ、siRNAなど）、分子標的薬（グリベック）、ピタバスタチン、ピオグリタゾン、シロスタゾール、etcをナノ粒子に封入する。次に、マーカー（FITC）封入ナノ粒子が効果的に細

胞内に送達されることを細胞レベル、生体レベルで明らかにする。

2) ナノ粒子のコーティング技術の研究開発：ナノ粒子をステント表面に能動的に電着コーティングする技術を確立している（特許公開）。例えば、表面を電荷修飾したナノ粒子を分散させた溶液中にステントを浸漬し、通電することによって能動的にナノ粒子をステント表面に集積させることができる。

3) ナノ粒子 DDS ステントの有効性試験：上記の研究成果を基盤にして、製品化を想定した適切なナノ粒子材料配分、コーティング法、治療因子の組み合わせを決定し、ブタ冠動脈モデルを用いて有効性試験を行う。

### 3. 毒性・安全性試験（平成 21 年度）

実用化に向けて GLP 基準による安全性試験を 20 年度に開始した。21 年度中に安全性が明らかになると予測される。そうなれば、21 年度に GMP 基準でナノ粒子の製造を開始する。霊長類（カニクイザル）を用いて有効性・安全性試験を実施する。

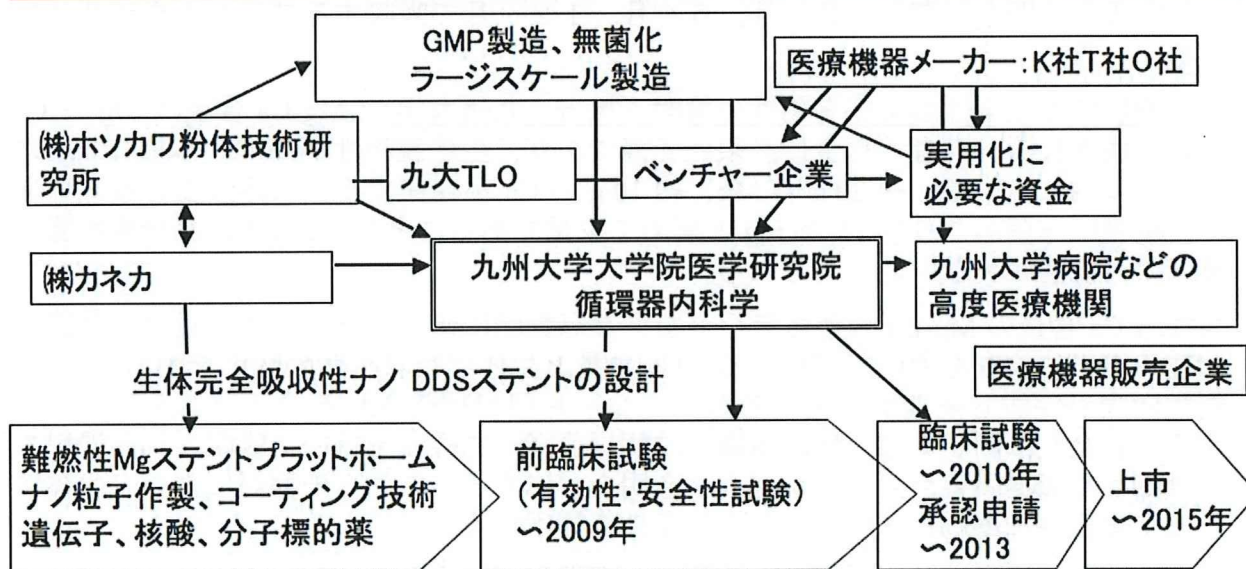
### 4. 間欠式パルスインフュージョン DDS カテーテルの研究開発（平成 21 年度）

ナノ粒子を血管壁に送達できる DDS カテーテルの開発に成功した。このカテーテルは、その名称の通り物理的エネルギー（パルス）を追加することによって DDS 効率を格段に向上させることが出来る。このダブル DDS 技術の有効性試験を進める。

### 5. 探索的臨床研究（平成 21 年度以降）

上記の前臨床試験で優れた有効性と安全性が示された場合、臨床試験センターと倫理委員会などの審査機関の承認を得て探索的臨床試験を実施する（下図参照）。

## 事業化ロードマップ



本研究は、第3期科学技術基本計画「健康・福祉・機器・サービス」分野のアクションプラン「我が国の優れた材料・製造技術を生かした治療機器など次世代の医療機器の開発・実用化」に資するキーデバイスの実現を目指す研究開発である。



## 6. 平成19-21年度の成果

### 1. Mg-Ca合金による生体完全吸収性ステントプラットホームの研究開発：

既に述べたように、現行のステントプラットホームはステンレス製であり、生体内永久植え込み型である。これによるアレルギー・異物反応、画像診断の制限、抗血小板薬の長期投与の必要性、等の問題点が指摘されている。これらの問題点を克服するために、

本事業において、製造特許を有する Mg-Ca 合金を用いて生体吸収性ステントを開発した。動物に植え込み、生体吸収されることを確認した。Mg-Ca 合金を用いてパイプ標本の作製、レーザーカット、バルーンマウントなどを進めた。Mg-Ca 合金ステントの製品化に向けてプロトタイプを作製することが出来た（下図参照）。その過程で、ある種の Mg-Ca 合金ステント製品においてはバルーン拡張時にステントストラッドが脆くなる現象が認められたので以下の検討も進めた。

即ち、パイプ標本のレーザーカットだけでなく、金属ワイヤー標本からステントを編み込みステント製品を作製した。これによって、上記の問題点を改善できた。


現在、ブタ冠動脈モデルやサル腸骨動脈モデルにおいて植え込み安全性を検討している。本研究によって Mg-Ca 合金ステントが実用化されれば、先行する Mg 合金 (WE43) ステントと置き換わり「世界標準」になる可能性がある。

本研究事業が先端医療開発特区（スーパー特区）の課題として採択されたことを受けて、21年度は製品化に向けての取り組みを行った。また、先端医療開発特区（スーパー特区）の制度を活用し、承認申請に必要な安全性試験の内容について以下のように相談した。

- (1) 材料規格の特定化
- (2) 材料評価（上記（1）を反映できる資料が必要）
- (3) 非臨床試験Ⅰ（分解速度に合わせた材料の経時的な変化を示す資料）
- (4) 非臨床試験Ⅱ（分解速度に合わせた製品の特性変化を示す資料）

## 生体吸収性Mg-Ca合金を プラットホームとするステントの創製

---



Mg-Ca合金ステントの  
重量 = 5-6 mg

**特徴**

- ◆ 生体完全吸収性金属
- ◆ マグネシウム+カルシウム：  
人体必須元素のみ=安全
- ◆ 生体内吸収時間をCa含量  
を変えることによって可変
- ◆ レーザー加工可能、ゆえに量  
産可能、
- ◆ 製造特許有り

## 2. 生体吸収性ナノ粒子作製、コーティング技術の研究開発とナノ粒子溶出ステントの研究開発：

従来のコーティング技術では水溶性の治療因子（分子標的薬などの低分子化合物、遺伝子プラスミド、デコイ・siRNA等の人工核酸）を金属ステント表面にコーティングすることは困難であった。本研究によって、水溶性治療因子をナノ粒子に封入できること、その封入ナノ粒子を独自に開発した電着コーティング法によってステントにコーティングできること、を明らかにした。

次に、ナノ粒子コーティングステントからナノ粒子の溶出を検証し、2段階のDDS（ステントからのナノ粒子の溶出、溶出したナノ粒子からの治療因子の溶出）が生じることを明らかにした。このダブルDDSによって、ナノ粒子内に封入された治療因子が標的血管壁組織・細胞内に停留し徐放された。

上記成果は *J Am Coll Cardiol: Cardiovascular Intervention* 2009 に論文として掲載され、同時に米国心臓病学会の公式ホームページに **Editor's Choice Article**、**Must Read Journal Article** として本論文が取り上げられた。

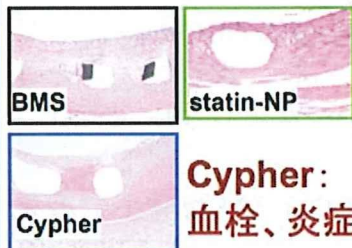
血管内皮再生作用や抗炎症作用を有するスタチン封入ナノ粒子溶出ステントならびに分子標的薬（グリベック）封入ナノ粒子溶出ステントの有効性試験をブタ冠動脈モデルを用いて終了し、現在論文投稿中である。抗血栓薬（シロスタゾール）封入ナノ粒子溶出ステントの有効性試験を終了し、現在結果の解析中である。

スタチン封入ナノ粒子溶出ステントは現行のDESと同等のステント内狭窄抑制効果を有し、一方でDESの副作用（内皮再生不全、炎症、血栓（フィブリン沈着）etc）を防止する、ことが明らかとなった。搭載するスタチンの量はごく少量（20-30  $\mu\text{g}$ ）であり安全な低侵襲ナノ医療になる可能性が示唆される。また、霊長類（カニクイザル）を用いて1ヶ月（短期）後と6ヶ月後（長期）の有効性と安全性を明らかにした。これらの成果を基盤にして、現在、ステントメーカーとライセンス業務や実用化に向けた取り組みが進んでいる。

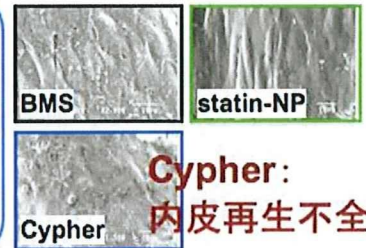
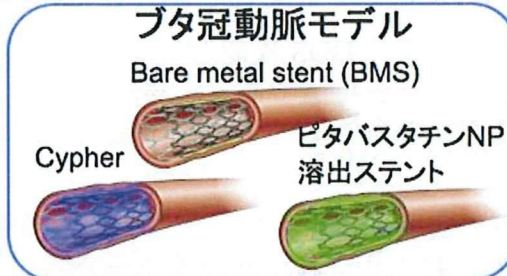
今後、抗炎症因子（NF- $\kappa\text{B}$  デコイ、7ND-MCP-1）や抗血栓薬（シロスタゾール）を封入したナノ粒子溶出ステントの有効性試験を予定している。

今後、病理組織解析を進めてステント内狭窄抑制だけでなく、血管内皮再生促進ならびに抗炎症・抗血栓・抗増殖等の組み合わせが「より効果的」で「より安全」な治療対策となるかどうかを明らかにする。これらの新技術の組み合わせによって、本研究成果を革新的次世代基盤技術としたい。

# ピタバスタチン封入ナノ粒子溶出ステントはシロリムス溶出ステント (Cypher)の副作用を防ぎ血管再生を加速させる

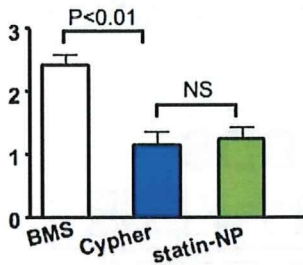


**Cypher:**  
血栓、炎症

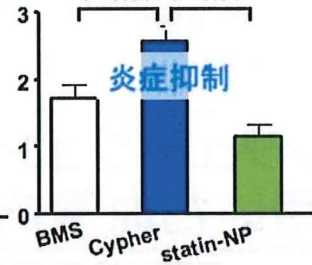


**Cypher:**  
内皮再生不全

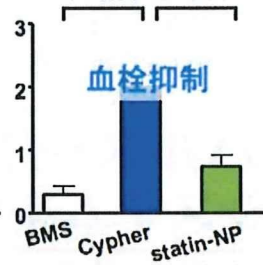
狭窄: 同等  
狭窄抑制効果は同等



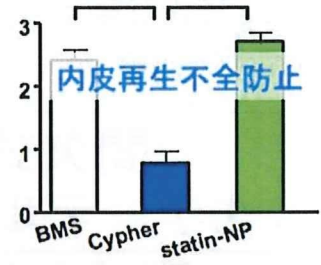
炎症スコア:  
スタチンNP優位  
P < 0.01 P < 0.01



フィブリン血栓スコア:  
スタチンNP優位  
P < 0.01 P < 0.01



内皮再生スコア:  
スタチンNP優位  
P < 0.01 P < 0.01



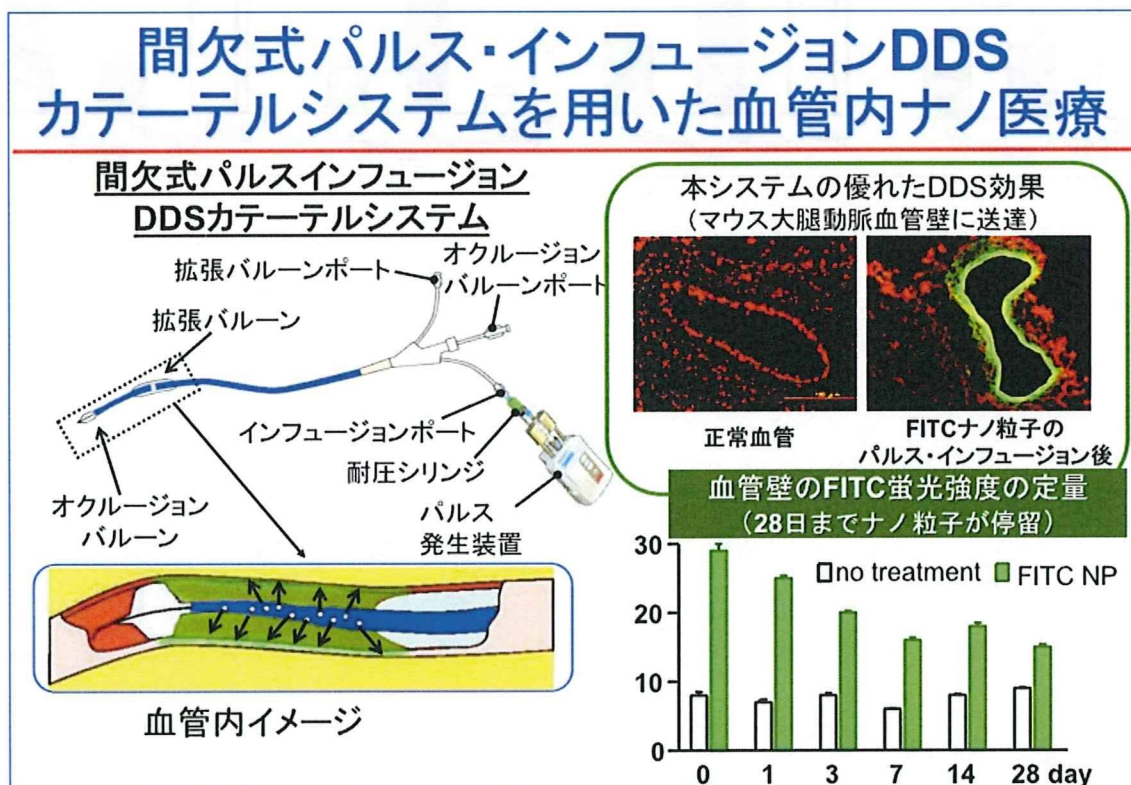


### 3. ナノ粒子を血管病変部位に送達する間欠式パルスインフュージョンナノ粒子 DDS カテーテルの開発

臨床の現場では、ステントによる治療適応にならない重症病変（細径、蛇行、分枝部 etc）が多く存在する。そこで、そのような重症病変に治療因子封入ナノ粒子を送達するための DDS カテーテルを開発した。即ち、ナノ粒子溶液注入時に間欠的にパルスを負荷して、DDS 効率を格段に向上させることができた。

本システムは、ナノ粒子製剤のナノ DDS 機能とパルスによる機械的 DDS の融合によるダブル DDS として機能する点が特徴である。後に述べるように、本システムを用いることによって、血管傷害後の血管壁にナノ粒子を効果的かつ安定して送達することが出来る。

実行可能性試験として以下の実験を実施した。マウス大腿動脈ワイヤー傷害モデルを用いて蛍光マーカー（FITC）封入ナノ粒子製剤を血管内腔に 5 分間投与後に FITC の存在を追跡したところ、長期間（21 日）に渡り血管壁に FITC が停留することを明らかにした（下図参照）。上記のナノ DDS 技術を臨床応用するには、ヒト冠動脈と比べて血管壁が薄いマウスモデルを用いた血管結紮実験の成果では不十分であり、中・大型動物を用いた有効性試験が必要と考えられた。



上記実験を受けて以下の研究を行った。即ち、ウサギ腸骨動脈モデルにおいて実行可能性試験を行い、（1）投与直後には血管壁全体にナノ粒子が送達されていること、（2）14 日後にも血管壁（特に中膜平滑筋細胞）に停留すること、（3）血栓や傷害の亢進など安全性に関する懸念は認めなかったこと、などが明らかになった。

## 7. 本研究開発事業のまとめと実用化に向けた展望

これらの成績から、Mg-Ca 合金による生体吸収性ステントプラットフォームや生体吸収性ナノ粒子溶出ステント、間欠式パルスインフュージョンナノ粒子 DDS カテーテルが「より優れた」「安全性の高い」再狭窄抑制効果を発揮する次世代医療機器となる可能性が示された。日本発の独創的な医療機器として実用化できるよう研究開発事業を継続して推進したい。

現在、再狭窄病変や心筋梗塞の責任病変である不安定化プラークの分子イメージングの実用化が進んでいる。そうなれば、それらの病変に対する上記デバイスによる革新的治療が現実化するかもしれない。同時に、治療効果を低侵襲でイメージングできる可能性があり、治療と効果判定の一体化が達成されるであろう。本技術は、そのようなナノ医療の基盤となる先進技術である。

本事業の研究内容は先端医療開発特区（スーパー特区）の課題として採択されている。この制度を活用して、規制当局（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）と薬事相談や承認審査の事前相談を行い、実用化を推進する。

## 8. 健康危険情報

なし

## 9. 研究発表

- 1) 国内 口頭発表： 22 件  
原著論文による発表： 2 件  
それ以外（レビュー等）の発表： 19 件
- 2) 国外 口頭発表： 6 件  
原著論文による発表： 22 件  
それ以外（レビュー等）の発表： 0 件

## 10. 知的財産権の出願・登録状況

出願 9 件（うち国内 2 件、国外 7 件）  
全て下記の公開・登録の段階となっている

公開 5 件

- 「核酸化合物封入膜ナノ粒子を含む経肺投与用医薬製剤」特開 2007-119396
- 「医薬組成物」特開 2007-254452、60/785, 765
- 「スタチン封入ナノ粒子含有医薬組成物」WO 2008/026702 A1
- 「肺疾患治療薬」WO 2008/139703 A1
- 「薬物含有ナノ粒子」WO 2009/075391

登録 4 件

- 「suppression of post-transplant arteriosclerosis」特許登録 US 7,304,040 B2（北米、欧州）
- 「actin related cytoskeletal protein “LACS”」特許登録 US 7,345,158 B2（北米、欧州）
- 「薬物溶出型ステント及びその製造方法」特許第 4297221 号（日本のみ）
- 「薬物溶出型ステント及びその製造方法」特許第 4340744 号（日本のみ）



## 【研究成果の刊行に関する一覧表】

## (1) 学会誌発表

&lt;英文原著&gt;

1. Kumai Y, Ooboshi H, Ibayashi S, Ishikawa E, Sugimori H, Kamouchi M, Kitazono T, Egashira K, Iida M: Postischemic gene transfer of soluble Flt-1 protects against brain ischemia with marked attenuation of blood-brain barrier permeability. *J Cerebr Blood F Met.* 2007; 27(6):1152-1160.
2. Sasaki S, Inoguchi T, Muta K, Abe Y, Zhang M, Hiasa K, Egashira K, Sonoda N, Kobayashi K, Takayanagi R, Nawata H: Therapeutic Angiogenesis by Ex Vivo Expanded Erythroid Progenitor Cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 292(1): H657-665.
3. Monden Y, Kubota T, Tsutsumi T, Inoue T, Kawano S, Kawamura N, Ide T, Egashira K, Tsutsui H, Sunagawa K: Soluble TNF receptors prevent apoptosis in infiltrating cells and promote ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2007; 73(4): 794-805.
4. Kusaba K, Kai H, Koga M, Takayama N, Ikeda A, Yasukawa H, Seki Y, Egashira K, Imaizumi T: Inhibition of Intrinsic Interferon- $\gamma$  Function Prevents Neointima Formation After Balloon Injury. *Hypertension* 2007; 49(4):909-915.
5. Takewaki H, Egashira K, Kimura S, Nishida T, Morita S, Tominaga R: Blockade of Monocyte Chemoattractant Protein-1 by Adenoviral Gene Transfer Inhibits Experimental Vein Graft Neointimal Formation. *J Vasc Surg.* 2007; 45(6): 1236-1243.
6. Koga M, Kai H, Yasukawa H, Yamamoto T, Kawai Y, Kato S, Kusaba K, Kai M, Egashira K, Kataoka Y, Imaizumi T: Inhibition of progression and stabilization of plaques by postnatal interferon-gamma function blocking in ApoE-knockout mice. *Circ Res.* 2007; 101(4): 348-356.
7. Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Zhao G, Funakoshi K, Ihara Y, Sunagawa K: Catheter-based adenovirus-mediated anti-monocyte chemoattractant gene therapy attenuates in-stent neointima formation in cynomolgus monkeys. *Atherosclerosis.* 2007; 194(2): 309-316.
8. Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Iwata E, Miyagawa M, Sunagawa K: Azelnidipine Has Anti-atherosclerotic Effects Independent of its Blood Pressure- Lowering Actions in Monkeys and Mice. *Atherosclerosis.* 2008; 196: 172-179.
9. Ihara Y, Egashira K, Nakano K, Ohtani K, Kubo M, Koga J, Iwai M, Horiuchi M, Zhao G, Yamagishi S, Sunagawa K: Upregulation of the ligand-RAGE pathway via the angiotensin II type I receptor is essential in the pathogenesis of diabetic atherosclerosis. *J Mol Cell*

*Cardiol.* 2007; 43(4): 455-464.

10. Egashira K, Nakano K, Ohtani K, Funakoshi K, Zhao G, Ihara Y, Koga J, Kimura S, Tominaga R, Sunagawa K: Local Delivery of anti-monocyte chemoattractant protein-1 by gene-eluting stents attenuates in-stent stenosis in rabbits and monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27(12): 2563-2568.
11. Koga M, Kai H, Egami K, Murohara T, Ikeda A, Yasuoka S, Egashira K, Matsuishi T, Kai M, Kataoka Y, Kuwano M, Imaizumi T: Mutant MCP-1 therapy inhibits tumor angiogenesis and growth of malignant melanoma in mice. *Biochem Bioph Res Commun.* 2008; 365(2): 279-284.
12. Egashira K, Suzuki JI, Ito H, Aoki M, Isobe M, Morishita R: Long-term follow up of initial clinical cases with NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide transfection at the site of coronary stenting. *J Gene Med.* 2008; 10(7): 805-809.
13. Kimura S, Egashira K, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Kawashima Y, Tominaga R, Sunagawa K: Local Delivery of Imatinib Mesylate (STI571) Incorporated Nanoparticle Ex Vivo Suppresses Vein Graft Neointima Formation. *Circulation.* 2008; 118:S65-S70.
14. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Egashira K, Hashimoto N: Impact of monocyte chemoattractant protein-1 deficiency on cerebral aneurysm formation. *Stroke.* 2009; 40(3): 942-951.
15. Koga J, Egashira K, Matoba T, Kubo M, Ihara Y, Iwai M, Horiuchi M, Sunagawa K: Essential Role of Angiotensin II Type 1a Receptors in the Host Vascular Wall, but Not the Bone Marrow, in the Pathogenesis of Angiotensin II-Induced Atherosclerosis. *Hypertens Res.* 2008; 31(9): 1791-1800.
16. Koga JI, Matoba T, Egashira K, Kubo M, Miyagawa M, Iwata E, Sueishi K, Shibuya M, Sunagawa K: Soluble Flt-1 Gene Transfer Ameliorates Neointima Formation After Wire Injury in flt-1 Tyrosine Kinase-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(4): 458-464.
17. Kimura S, Egashira K, Chen L, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Morishita R, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K: Nanoparticle-Mediated Delivery of Nuclear Factor- $\kappa$ B Decoy Into Lungs Ameliorates Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial *Hypertension*; 2009; 53(5): 877-883.
18. Nakano K, Egashira K, Masuda S, Funakoshi K, Zhao G, Kimura S, Matoba T, Sueishi K, Endo Y, Kawashima Y, Hara K, Tsujimoto H, Tominaga R, Sunagawa K: Formulation of nanoparticle-eluting stents by a cationic electrodeposit coating technology: Efficient and safe nano-drug delivery via bioabsorbable polymeric nanoparticle-eluting stents in porcine coronary arteries. *J Am Coll Cardiol: Cardiovascular Intervention.* 2009; 2(4): 277-283.

19. Kubo M, Egashira K, Inoue T, Koga J, Oda S, Chen L, Nakano K, Matoba T, Kawashima Y, Hara K, Tsujimoto H, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K. Therapeutic Neovascularization by Nanotechnology-Mediated Cell-Selective Delivery of Pitavastatin into the Vascular Endothelium. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29: 796-801.
20. Miyamoto K, Ninomiya K, Sonoda KH, Miyauchi Y, Hoshi H, Iwasaki R, Miyamoto H, Yoshida S, Sato Y, Morioka H, Chiba K, Egashira K, Suda T, Toyama Y, Miyamoto T: MCP-1 expressed by osteoclasts stimulates osteoclastogenesis in an autocrine/paracrine manner. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 383(3): 373-377.
21. Kayama Y, Minamino T, Toko H, Sakamoto M, Shimizu I, Takahashi H, Okada S, Tateno K, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Yoshimura M, Egashira K, Aburatani H, Komuro I: Cardiac 12/15 lipoxygenase-induced inflammation is involved in heart failure. *J Exp Med*. 2009; 206(7): 1565-1574.
22. Oda S, Nagahama R, Nakano K, Matoba T, Kubo M, Sunagawa K, Tominaga R, Egashira K. Nanoparticle-Mediated Endothelial Cell-Selective Delivery of Pitavastatin Induces Functional Collateral Arteries (Therapeutic Arteriogenesis) in a Rabbit Model of Chronic Hindlimb Ischemia. *J Vasc Surg*. 2010 in press

<和文原著>

1. Nakano K, Egashira K, Masuda S, Funakoshi K, Kimura S, Tsujimoto H, Hara K, Kawashima Y, Tominaga R, Sunagawa K. Development of a novel bioabsorbable polymeric nanoparticle drug or gene eluting stent by electro-deposit nanoparticle-coating technology. *Jpn J Intervent Cardiol*. 2007 : 22(3) : 201-210
2. 久保満樹、江頭健輔：血管内皮細胞選択的ナノ DDS を基盤とするスタチン送達による低侵襲治療的血管新生療法の創製。日本薬理学雑誌 社団法人日本薬理学会 2009 ; 133(3) : 139-143

(2) 口頭発表

<国内学会>

1. 第70回日本循環器学会総会（平成19年3月15日、兵庫）江頭健輔：Sustained intracellular delivery of nanoparticles in porcine coronary arteries from a bioabsorbable polymeric nanoparticle-eluting stent（プレナリーセッション）
2. 第13回 Circulation Club（平成19年6月16日、兵庫）江頭健輔：血管内皮細胞標的化ナノ DDS ステントを用いたスタチン局所デリバリーによる低侵襲治療的血管新生療法の開発
3. 第39回日本動脈硬化学会総会・学術集会（平成19年7月13日、大阪）江頭健輔：