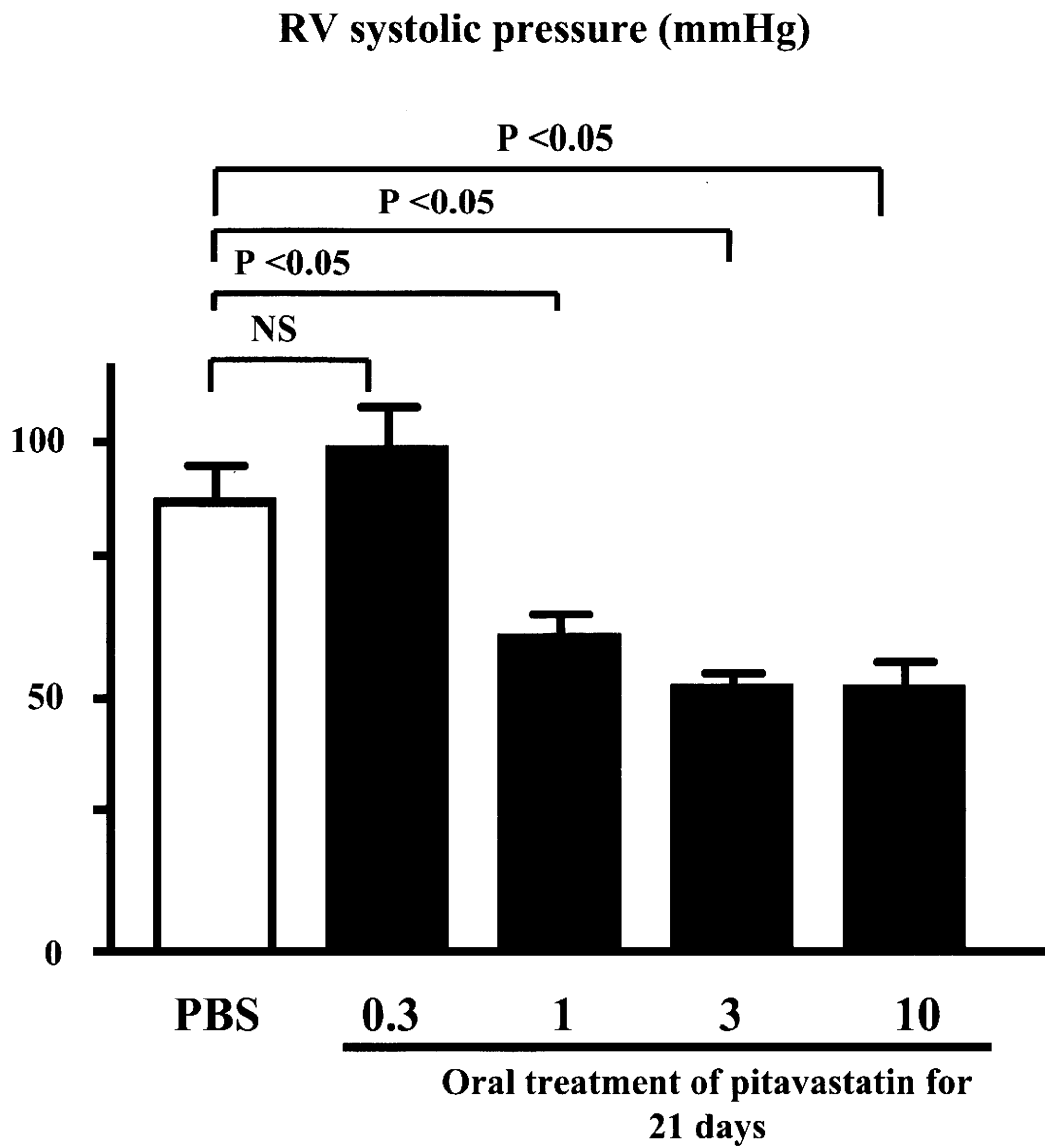
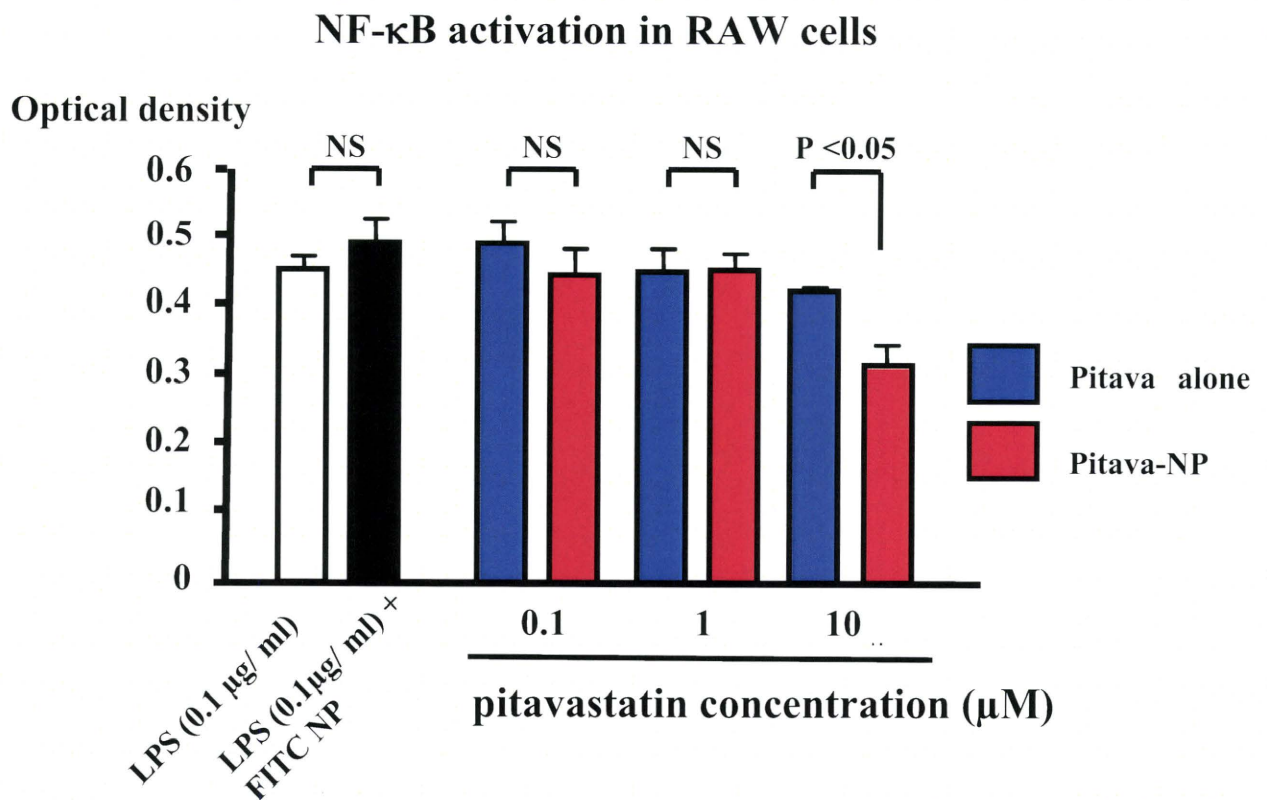


**Figure S1.** Localization of FITC alone and FITC-NP post-instillation in the rat lung. A, Fluorescent micrographs of cross-sections from lung instilled with FITC alone and FITC-labeled NP on day 3 post-instillation. Nuclei were counterstained with propidium iodide (red). Scale bars: 200  $\mu\text{m}$  and 20  $\mu\text{m}$ . B, Micrographs of cross-sections stained immunohistochemically against FITC from lung instilled intratracheally with FITC-NP on days 14 post-instillation.



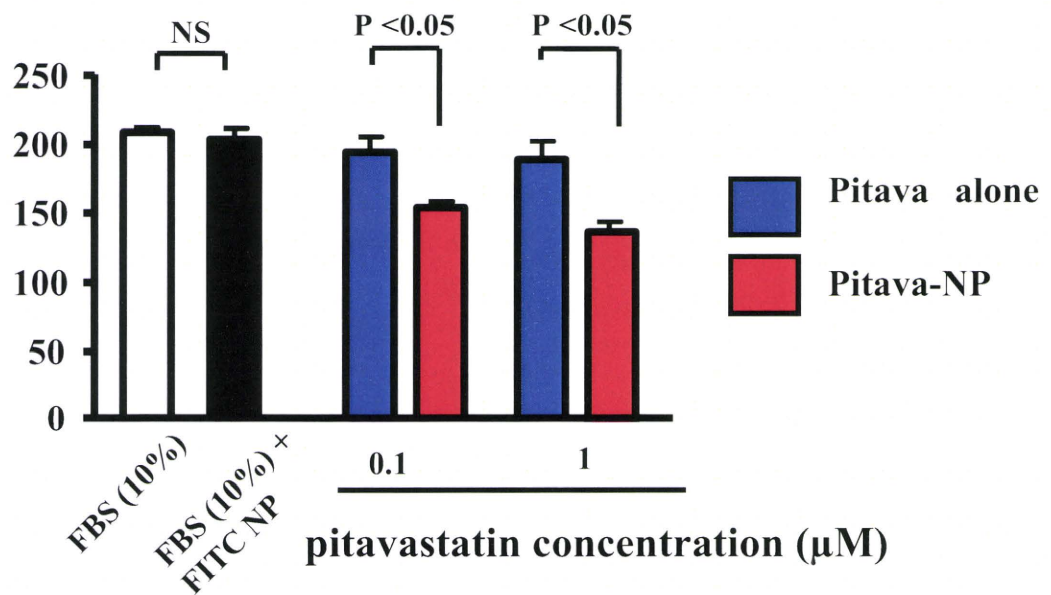
**Figure S2.** Effects of oral treatment of pitavastatin on right ventricular (RV) systolic pressure 3 weeks after MCT injection. Data are mean  $\pm$  SEM ( $n = 6$  each).



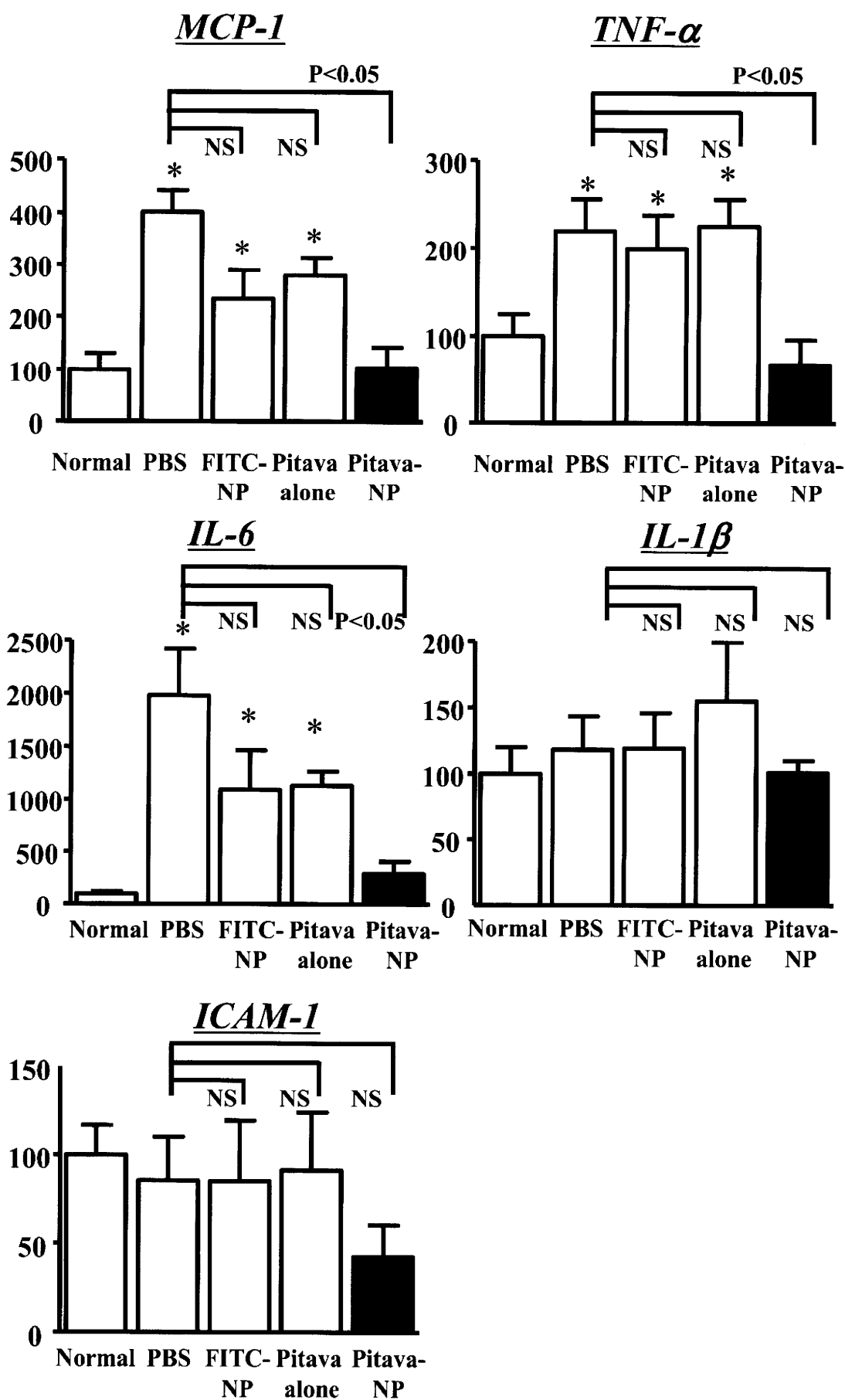
**Figure S3** Effect of pitavastatin-NP on NF- $\kappa$ B activation of monocyte cell line (RAW cells)

Effects of pitavastatin-NP on LPS-stimulated activation of NF- $\kappa$ B (ELISA-based DNA binding assay against NF- $\kappa$ B p65 subunit: arbitrary unit). Data are mean  $\pm$  SEM ( $n=6$  each).

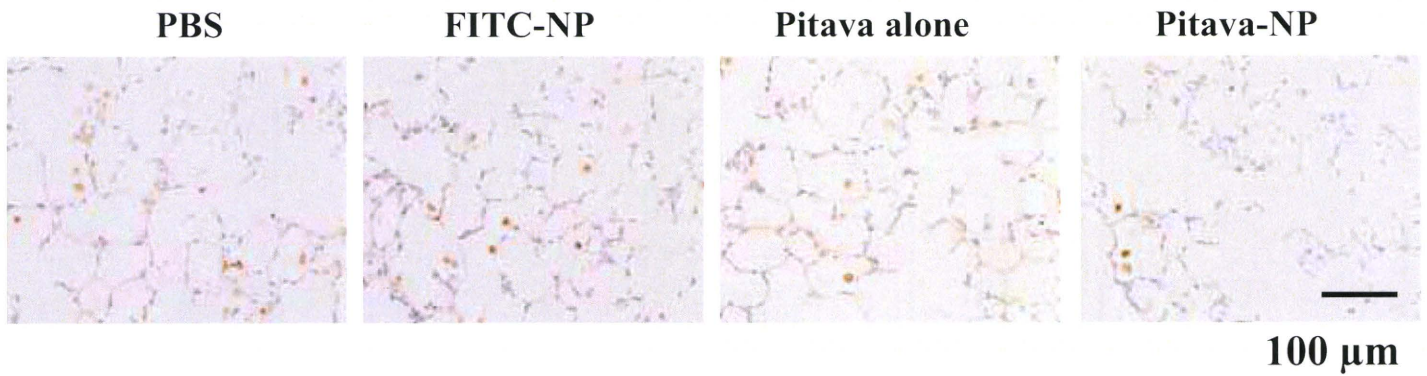
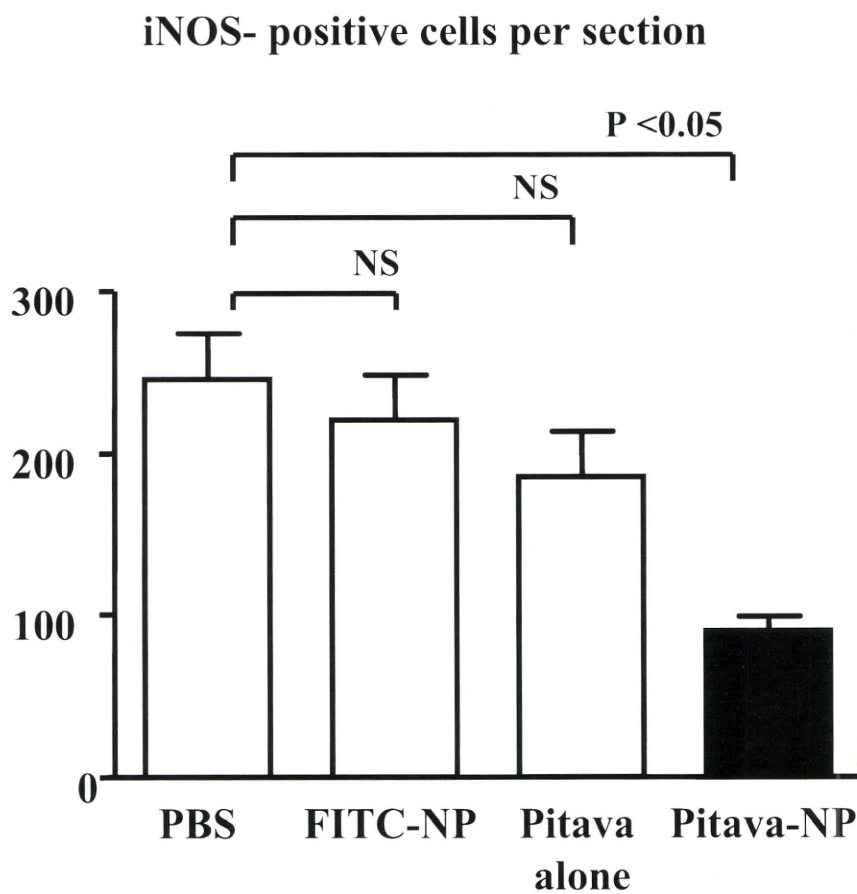
### FBS-induced proliferation of human pulmonary artery SMC (% of control)



**Figure S4.** Effects of pitavastatin-NP versus pitavastatin on FBS-induced proliferation of human PASMCS (cell count per well). Data are mean  $\pm$  SEM ( $n = 6$  each).



**Figure S5.** Effects of pitavastatin-NP on mRNA levels of various inflammatory and proliferative factors 21 days after MCT injection (n = 6 each). \* $P < 0.05$  versus Normal. Data are mean  $\pm$  SEM. NS; Not Significant.

**A****B**

**Figure S6.** Effects of pitavastatin-NP on iNOS protein expression

A, Representative micrographs of lung tissues stained immunohistochemically for iNOS.

B, Effects of pitavastatin-NP on infiltration of iNOS-positive cells 21 days after MCT injection. Data are mean  $\pm$  SEM ( $n = 6$  each).

## ■ 綜 説 ■

# ナノテクノロジーの循環器疾患への応用\*

中野 覚<sup>1</sup> 江頭 健輔

### はじめに

ナノテクノロジーは様々なマテリアル(カーボン, リポソーム, コロイドソーム, 高分子ミセル, 金属, 高分子ポリマーなど)をナノサイズに加工し, 応用する複合技術であり, 多くの分野に応用されている。ナノテクノロジーの医療への応用(ナノ医療)は特に注目されている分野の一つであり, ナノ粒子の特長を活かして分子イメージングやドラッグデリバリーシステム(drug delivery system; DDS)に応用することによって新しい医療の創製が期待されている。

悪性腫瘍の新しい治療として抗がん剤や分子標的薬・遺伝子を封入したナノ粒子製剤の臨床試験が進んでいる。一方, 循環器疾患に対するナノ医療の実用化研究開発は極めて少ないのが現状である。

われわれは生体吸収性高分子ポリマーである乳酸・グリコール酸共重合体(co-poly-lactic acid/glycolic acid; PLGA)をナノ粒子製剤化し, 循環器疾患(再狭窄, 虚血再灌流, 急性心筋梗塞, 治療的血管新生, 肺高血圧症など)の治療に応用することを目指している。本稿では, ナノ粒子溶出ステントの臨床応用に向けた取り組みについて紹介したい。

### 薬剤溶出ステントの光と陰

経皮的冠動脈血行再建術(PCI)は日本国内で概ね年間20万例, 世界的に年間200万例以上実施

されている。その大部分(8~9割)はステント留置・拡張術である。

従来PCI後の再狭窄がPCI後のQOLと予後を制限する重大な因子であったが, 薬剤溶出ステント(drug eluting stent; DES)の登場によって再狭窄は減少している。この第一世代DESはシロリムスやパクリタキセルを溶出するDDS機能を有するデバイスであり, 初期の臨床試験において劇的な再狭窄抑制効果が報告されたことから, ブレイクスルーテクノロジーとして歓迎され臨床使用総数が著しく増加し, その結果, 市場規模も増大した。再狭窄に対する効果を期待して, 全ての症例にDESを使用することを方針としている循環器医療チームは少なくない。

しかし, 2006年以降上記DESには薬剤あるいは生体非吸収性ポリマーに起因する重大な安全性の問題(遅発性血栓症, 冠攣縮など)があることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。その主な機序として, 血管壁細胞(特に血管内皮細胞)の修復・再生不全(anti-healing effects)が関わっていることが示唆されている。また, DES使用30日から2年後までの遅発性血栓症の頻度は欧米では約0.6%/年<sup>2)</sup>, 日本では0.2%/年<sup>3)</sup>と報告されており, 頻度は高くないが, いったん発症すればほとんどの症例(70%以上)が急性冠症候群(急性心筋梗塞症, 心臓死)に至ることから臨床的意義は大きい。さらに, DESの問題点として, ①遅発性血栓の対策として2剤以上の抗血小板薬の長期間投与の必要性, ②第二世代DESは全てシロリムス類似物

\* Application of Nanotechnology to Cardiovascular Disease

<sup>1</sup> 九州大学大学院医学研究院循環器内科学(〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1) Kaku Nakano, Kensuke Egashira: Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

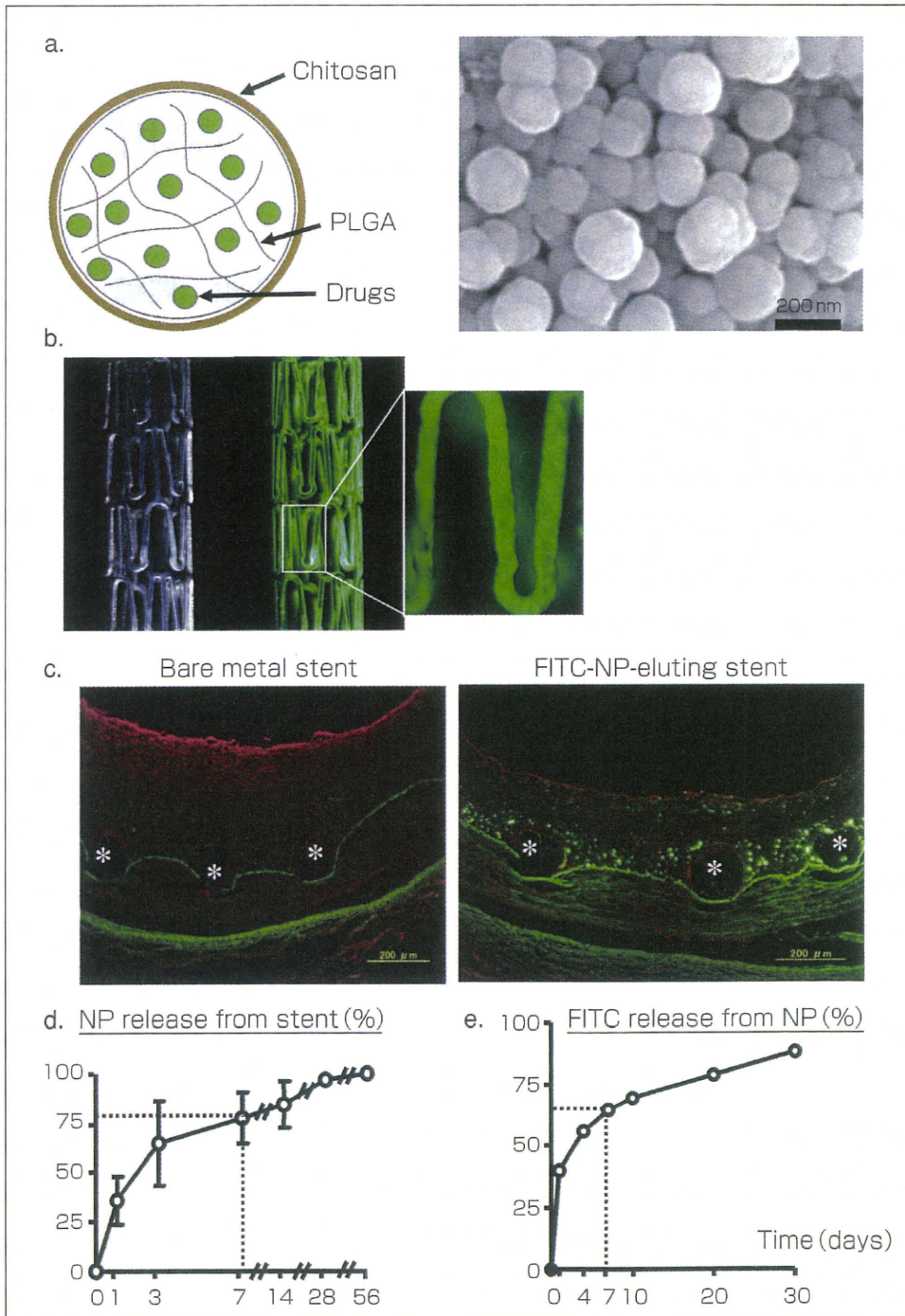


図1 生体吸収性 PLGA ナノ粒子製剤と電着コーティングによるナノ粒子溶出ステントの創製とナノ粒子溶出ステントのダブル DDS 機能

**a.** 生体吸収性 PLGA ナノ粒子の模式図(左図)および走査型電子顕微鏡像(右図)。平均粒径 200 nm の PLGA ナノ粒子が観察される。

**b.** 実体顕微鏡および蛍光実体顕微鏡による FITC 封入ナノ粒子ステント。薄く均一にナノ粒子がステント表面にコーティングされるのが観察される。

**c.** FITC 封入ナノ粒子溶出ステント留置 28 日後の血管壁へのナノ粒子の送達と停留を確認した。凍結切片を作製し、血管の横断面を観察するとステントストラット(\*)周囲に強い蛍光が認められた。ステントストラット周囲だけでなく、新生内膜組織、内皮直下および中膜組織においても FITC ナノ粒子が認められる。スケールバーは 200 μm を示す。

**d.** ステント表面からのナノ粒子の徐放曲線

**e.** ナノ粒子からの FITC の徐放曲線

質を用いていることから薬剤に起因する安全性の懸念が継続する可能性などがある。したがって、現行の DES は血栓という安全性の問題を抱えているために急性冠症候群に対する予防的治療に使用することができない。

われわれは、これら临床上重要な問題を克服するために、より効果的かつ安全な生体吸収性ポリマーナノ粒子溶出ステントの開発を進めている。

## 生体吸収性高分子ポリマー(PLGA) ナノ粒子溶出ステントの開発

ナノテクノロジーを基盤とした DDS の分野ではナノミセルやリポソームを中心にして抗がん剤封入ナノ粒子製剤の開発が進んでいる。ナノミセルは細胞膜に接着すると含有する薬剤が細胞内に放出される。ナノミセル表面などに様々な化合物修飾を施すことにより細胞・組織選択性や徐放性



機能を獲得できる。

一方、ナノ粒子溶出ステントを開発するためには、金属表面にナノ粒子をコーティングしなければならない。また、先に述べたように、生体適合性・親和性の低いポリマーは血管修復・再生不全を惹起し、遅発性ステント内血栓症の誘因となることから、生体適合性・親和性の高い生体吸収性キャリアマトリックスの開発が必須である。そこで、われわれは生体吸収性高分子ポリマー(PLGA)ナノ粒子が適切と考え、「高分子球形晶析法」<sup>9)</sup>を用いて薬剤封入ナノ製剤を開発した(図1a)。

PLGA ナノ粒子製剤の特徴として、① PLGA は加水分解により生体内で吸収されることから、長年臨床で使用されてきた実績がある、② 粉体であり安定であることから金属表面のコーティングに適している、③ 標的細胞・組織に到達した後、内包薬剤を徐放する、④ PLGA の分子量を変化させることにより生体内吸収(加水分解)速度が変わり、それに伴い内包薬剤などの徐放速度の制御が可能となることなどが挙げられる。したがって、PLGA ナノ粒子製剤は医療機器材料あるいは医薬品として承認されやすいという利点もある。

#### カチオン電着コーティングの開発による ダブル DDS 機能

われわれは粉体ナノ粒子をステント表面にコーティングする技術開発に成功した<sup>4)</sup>。詳細については紙面の都合上割愛するが、金属メッキの原理を応用したカチオン電着コーティング技術によりステント表面に FITC 封入ナノ粒子をコーティングできた。その結果、ナノ粒子を薄く均一にステント表面にコーティングすることが可能となった(図1b)。ステントを拡張後、走査型電子顕微鏡で観察したところ、ナノ粒子はその形態を保持したままステント表面にコーティングされていた。FITC 封入ナノ粒子からの FITC の擬似体液中での放出を検討したところ、24 時間以内におよそ 40% の FITC が初期バーストで放出され、その後、30 日以上にわたり徐放されることが明らかになった(図1d)。次いで、FITC ナノ粒子

溶出ステント表面からのナノ粒子の放出を、同様に擬似体液中で検討したところ、同様に初期バーストが生ずるが、その後、56 日以上にわたり溶出されることが分かった(図1e)。次に実際にブタ冠動脈に蛍光マーカーとして FITC を封入した PLGA ナノ粒子コーティングステントを留置し、28 日後に剖検し組織内ナノ粒子の停留および病理学的な解析を行った。蛍光顕微鏡で観察するとステントストラット周囲に強い蛍光が認められたほか、内膜直下、中膜にもナノ粒子に起因する蛍光が認められた(図1c)。これらのことから、ステント表面にコーティングしたナノ粒子はステント表面から徐々に溶出され血管壁に送達、さらには組織内に停留したナノ粒子からの薬剤の徐放という二重での徐放性(ダブル DDS)機能を有することが示唆された。

#### ナノ粒子溶出ステントに搭載する候補となる 薬剤としてのスタチン

第一世代の DES には平滑筋細胞増殖抑制作用を有する免疫抑制剤シロリムスあるいは抗がん剤パクリタキセルが用いられている。これらの薬剤はステント留置後の過剰な平滑筋増殖の抑制作用により再狭窄を抑制する。しかし、平滑筋細胞増殖抑制作用だけでなく、内皮細胞の再生遅延・骨髄由来の内皮前駆細胞の動員抑制、組織因子の発現亢進などの修復・再生不全作用をもたらす点が問題とされている。このシロリムスやパクリタキセルによる修復・再生不全作用が遅発性血栓症の主因と考えられている。

そこで、われわれは、血管平滑筋増殖抑制作用を有し、かつ内皮再生を促進する血管に優しい薬剤を *in vitro* でスクリーニングした。いくつかの候補化合物(スタチン、PPAR $\gamma$  アゴニスト、フォスホジエステラーゼ III (PDE-3) 阻害薬、抗炎症作用を有するペプチド、遺伝子など)を得ているが、そのなかでもスタチン封入ナノ粒子が最も優れた血管保護作用を有することが明らかになった。

HMG-CoA 還元酵素阻害剤(スタチン)は、血清コレステロールの低下薬として世界的に用いられている薬剤である。スタチンは、このコレステ

表1 6種類のスタチンのヒト平滑筋細胞増殖抑制効果の比較

	IC <sub>50</sub> values (nmol/l)	efficacy ratio	95% Wald confidence intervals	P value
ピタバスタチン	193	1	—	—
フルバスタチン	836	0.230	0.119, 0.446	<0.001
アトルバスタチン	2,512	0.077	0.039, 0.150	<0.001
シンバスタチン	3,951	0.049	0.023, 0.104	<0.001
ロスバスタチン	Not calculated	Not calculated	Not calculated	Not calculated
プラバスタチン	Not calculated	Not calculated	Not calculated	Not calculated

N=6 each. P values versus pitavastatin by Wald tests in 4 parameters logistic regression model

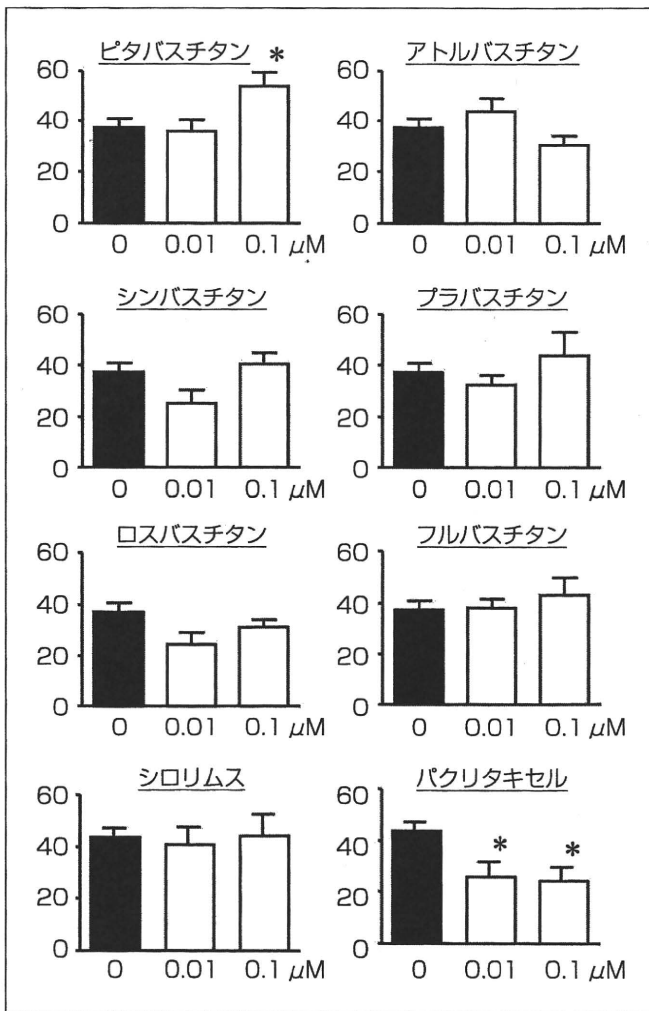


図2 培養ヒト臍帯動脈血管内皮細胞スクラッチアッセイ

スクラッチアッセイにより内皮再生能を6種類の市販されているスタチン間で比較した。興味深いことにピタバスタチンのみが本アッセイで内皮再生促進能を有することが明らかになった。また、現行のDESに用いられている薬剤であるパクリタキセルでは内皮細胞の減少が認められた。\* $p < 0.05$

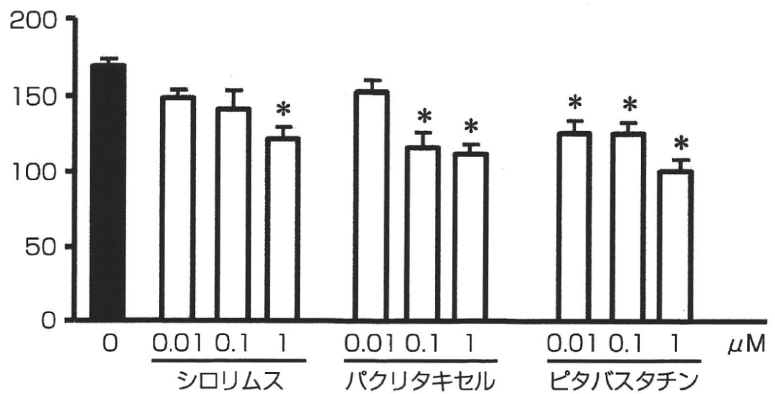
ロール低下作用には依存しない血管保護作用 (pleiotropic effects) を持つことが広く知られている。実際、スタチンの全身投与によって、動脈硬化の発生抑制、いったん生じた動脈硬化の退縮作用、ステント内狭窄抑制作用、末梢血中の血管内皮前駆細胞の増加、傷害血管の再内皮化促進、内皮機能の改善など数多く報告されている。その作用機序としては、スタチンがPI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)-Akt経路を介してeNOSを活性化させること、イソプレノイド生成を阻害することにより、低分子量GTP結合蛋白質の活性を抑制し、eNOS発現量を増加させることなどの作用機序が知られている。スタチン高用量の内服により、ベアメタルステントの再狭窄は抑制される傾向があることが知られているが、反面、全身投与による副作用も懸念される。

#### なぜピタバスタチンを選択したか？

現在プラバスタチン、シンバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンの6種類のスタチン製剤が臨床使用されており、臨床用量におけるLDL-コレステロールの低下作用は、プラバスタチン、シンバスタチン、フルバスタチンに比べて、アトルバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンは強力であることが知られている。一方で、これらの薬剤間におけるコレステロール低下作用とは異なるpleiotropic effectsにも差があるかどうかは十分検討されていない。

そこでわれわれは、6種類のスタチンの効果を比較検討した。培養ヒト冠動脈由来平滑筋細胞を96-well culture platesに $1 \times 10^4$  cellsずつ播種

a. PDGFによって誘導されるヒト冠動脈平滑筋の増殖抑制



b. トロンビンによって誘導されるヒト内皮細胞培養における組織因子の発現

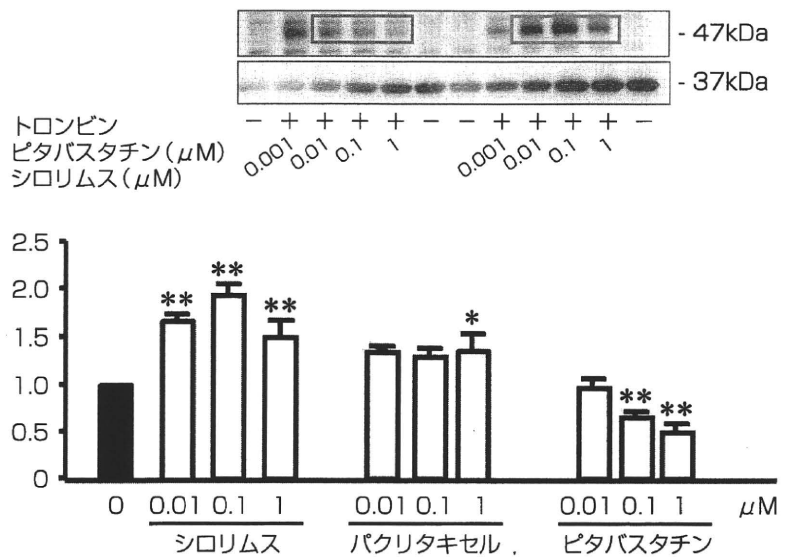


図3 ピタバスタチン、シロリムスおよびパクリタキセルのヒト平滑筋増殖抑制効果およびヒト内皮細胞における組織因子の発現

a. 各薬剤のPDGFによって誘導されるヒト平滑筋細胞の増殖抑制効果。シロリムス、パクリタキセルおよびピタバスタチンでいずれもヒト平滑筋細胞の増殖を抑制したが、最も低濃度でピタバスタチンが抑制効果を示した。

b. 各薬剤のトロンビン刺激に対するヒト内皮細胞での組織因子の発現。シロリムスおよびパクリタキセルではトロンビン刺激に対する組織因子の発現更新が認められるのに対し、ピタバスタチンでは組織因子の発現抑制が濃度依存的に認められた。

\*p<0.05, \*\*p<0.01

し、10 ng/mlのヒトPDGF-BBを添加して細胞増殖を誘導し、次いでピタバスタチン、フルバスタチン、ロスバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチンおよびプラバスタチンを添加し、5'-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)の取り込みを測定した。水溶性スタチンであるロスバスタチン、プラバスタチンは培養ヒト冠動脈由来平滑筋細胞の増殖を抑制しなかった。ピタバスタチンは、フルバスタチン、アトルバスタチンおよびシンバスタチンよりも強力に培養ヒト冠動脈由来平滑筋細胞の増殖を抑制した(p<0.001, 表1)。

さらにステント留置後の再内皮化力価を検討するために、培養ヒト臍帯動脈血管内皮細胞を用い

てスクラッチアッセイを常法により行った。その結果、ピタバスタチンが最も内皮再生能が強いことが判明した。さらに、現行のDESに用いられているシロリムスおよびパクリタキセルの効果を検討すると、パクリタキセルは有意に内皮再生能を抑制した。シロリムスは影響しなかった(図2)。

ヒト冠動脈平滑筋細胞の増殖抑制効果をピタバスタチン、シロリムス、パクリタキセルの3剤で比較すると、ピタバスタチンが最も効果的であった(図3a)。ステント内血栓の観点から、血栓の原因物質である組織因子の発現を比較すると、シロリムスとパクリタキセルはその発現を増強した

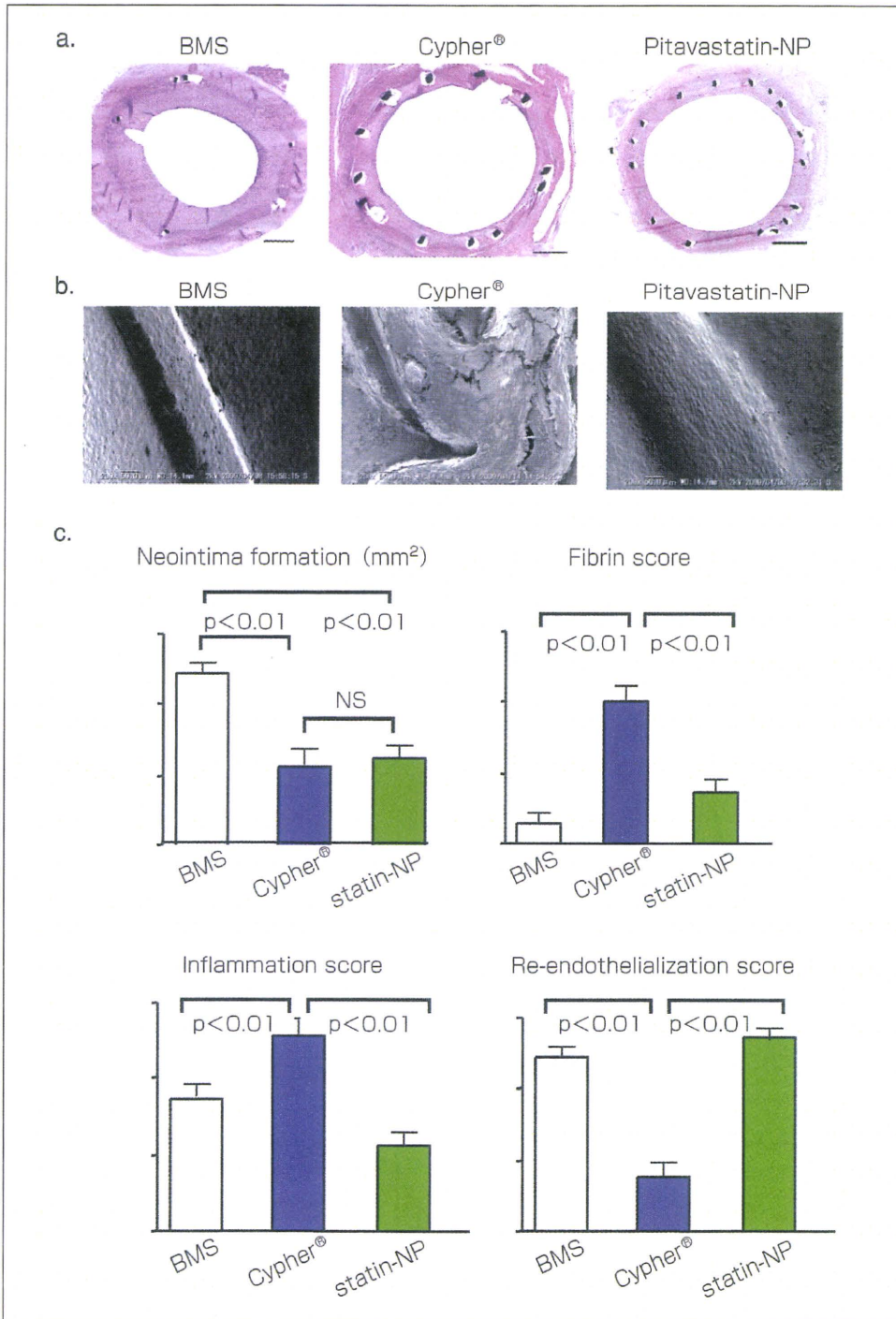


図4 ピタバスタチン PLGA 封入ナノ粒子溶出ステントの有効性

a. ステント留置28日後のベアメタルステント, Cypher®およびピタバスタチン PLGA 封入ナノ粒子溶出ステントの H-E 染色像

b. 上記3種類のステント留置7日後の走査型電子顕微鏡像, ベアメタルステントおよびピタバスタチン PLGA ナノ粒子溶出ステントではステントストラットが内皮細胞に覆われているのに対して, Cypher®では炎症細胞の接着やフィブリン様の形態が認められる。

c. ステント留置28日後のベアメタルステント, Cypher®およびピタバスタチン PLGA 封入ナノ粒子溶出ステントの新生内膜, フィブリン沈着, 炎症および再内皮化の定量。ベアメタルステント, スタチン封入ナノ粒子ステントおよび Cypher®をブタ冠動脈に留置し, 28日後における病理学的な評価を行った。Cypher®においては強度の炎症, フィブリン沈着および再内皮化の遅延が認められたが, それら副作用はスタチン封入ナノ粒子溶出ステントでは認められなかった。狭窄抑制効果においてはスタチンナノ粒子溶出ステントと Cypher®で同程度であった。

が, ピタバスタチンは抑制した(図3b)。

これらの成果から, 血管平滑筋の増殖を抑制し内皮再生を促進する作用に関して, ピタバスタチンが最も強力な薬剤であることが明らかとなった。そこで, ピタバスタチンをナノ粒子溶出ステントへ搭載する候補化合物として選択した。

### スタチン封入ナノ粒子溶出ステントの有効性と安全性

市販のシロリムス溶出ステント(Cypher®), ベアメタルステントおよびスタチン封入ナノ粒子溶出ステントをブタ左冠動脈に留置し, 28日後に常法に従い病理学的な評価を行った(論文投稿中)。その結果, ステント内再狭窄の抑制効果は

スタチンナノ粒子溶出ステントと Cypher<sup>®</sup>が同程度であったのに対し、Cypher<sup>®</sup>で認められた炎症、再内皮化の遅延およびフィブリンの沈着といった副作用が、スタチンナノ粒子溶出ステントでは認められなかった(図4)。ステントに搭載しているスタチンの量はごく少量(20~30 µg)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。将来、急性冠症候群の予防治療に用いることができるかも知れない。今後、遠隔期での有効性、安全性の評価、薬物の体内動態などのより詳細なデータを集積する必要がある。

#### おわりに

第一世代 DES の有害事象が明らかになり、今後開発される新規 DES には有効性だけではなく、その安全性が十分担保されていなければ臨床への応用は不可能である。FDA から DES の開発における詳細かつ厳格な前臨床試験および臨床試験に関するガイドライン(<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/6255.html>)が提案された。これらのガイドラインは第一世代の DES の

反省点を踏まえて、高いハードルを設けている。われわれが開発しているナノ粒子溶出ステントを臨床へ橋渡しするためにはクリアしていかななくてはならない課題が多い。国内での開発を進めていくには産学官連携体制が必須であり、承認機関(医薬品医療機器総合機構)との連携が望まれる。

#### 文献

- 1) Serruys PW, Kutryk MJ, Ong AT: Coronary-artery stents. *N Engl J Med* 354: 483-495, 2006
- 2) Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, et al: Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institution cohort study. *Lancet* 369: 667-678, 2007
- 3) Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H, et al: Properties of a peptide containing DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. *Eur J Pharm Biopharm* 45: 41-48, 1998
- 4) Nakano K, Egashira K, Masuda S, et al: Formulation of nanoparticle-eluting stents by a cationic electrodeposition coating technology efficient nano-drug delivery via bioabsorbable polymeric nanoparticle-eluting stents in porcine coronary arteries. *JACC Cardiovasc Interv* 2: 277-283, 2009

## MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

# 医療現場の暴力と攻撃性に向き合う 考え方から対処まで

Violence and Aggression in the Workplace  
A Practical Guide for All Healthcare Staff

著 Paul Linsley  
監訳 池田明子・出口禎子

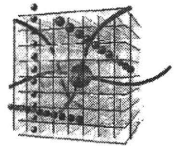
●A5 頁256 2010年  
定価2,730円(本体2,600円+税5%)  
[ISBN978-4-260-00811-2]

これまでほとんど正面から語られてこなかった暴力の問題。本書では、暴力や攻撃性に関する理論的な説明をもとに、対策のための具体的なポイントを幅広く紹介する。暴力問題に関連する理論や定義に加え、病院内でのマネジメント上の注意点や、いち早く対策が進んだ英国での取り組みなども紹介。「どう取り組んだらいいのか?」を知るために最適な1冊。

## 血管医学から 先端医療研究開発への展開

Kensuke Egashira © 江頭健輔

九州大学大学院医学研究院循環器内科学



### Summary

生命科学としての血管医学の重要性は、①血管の形態と機能制御が臓器ならびに生命の維持に不可欠であること、②超高齢化によって血管病の増加が著しく、国民死亡率と医療費の増加に繋がっていること、③血管医学研究が血管病だけでなく生活習慣病や老化などのメカニズム解明につながることで、などから明らかである。

医学の研究成果を先端医療開発へ展開する取り組み(出口を見据えた研究開発)は国策として推進されている(橋渡し研究支援促進プログラム, スーパー特区)。血管医学から先端医療開発への展開には、血管を「診る」、「創る」、「護る」、ことに関する独創的な技術に基づく研究開発体制の構築が必要だろう。そして医療の低侵襲化と効率化が進むことにより、生活の質と予後の改善をもたらす安心安全医療がもたらされることを期待する。

### Key words

- 血管医学
- 臨床橋渡し研究
- 血管生物学
- ナノテクノロジー
- 先端医療開発

### はじめに

血管医学研究の主たる領域を占める動脈硬化性疾患(急性心筋梗塞, 狭心症, 脳卒中, 末梢動脈疾患など)の分子細胞メカニズムに関する研究は2000年以降を振り返ってみるだけでも目覚ましいものがある。新しいコンセプトが構築され、疾患の理解が深まっている。興味あることに、動脈硬化のメカニズムの中心的役割を果たす単球/マクロファージの挙動が肥満の内臓脂肪細胞における単球/マクロファージの挙動と類似していることがわかってきた。このことは、血管医学の研究成果が他領域の疾患メカニズム解明に貢献できることを意味している。また、血管医学から生命科学を開拓していけば、その成果を臨床医学へ還元できることも示唆している。そして、血管医学研究成果の一部は動脈硬化性疾患の先端医療開発へ応用されつつある。

今回、本誌「血管医学」創刊10周年記念号の企画として、血管医学の成果を先端医療研究開発に展開するプロセスの概説をテーマとして与えられた。そこで、僭越ながら不肖私が血管医学研究を通して得た教訓と、先端医療研究開発の道程を紹介することにした。

## 血管医学研究を通じて得た教訓

私の独断と偏見であり、一般化できるとは決して思わないが、私なりに得た教訓を記載してみる。一部でも読者の参考になれば幸いである。

### 1. 自分の頭で考えること！オリジナルに徹すること！筋の通った研究をすること！

研究人生の最初は指導者(mentor)の考えに沿って、与えられたテーマをすすでにあるレールの上を走る汽車のように実験を進めることがほとんどであろう。しかし、一旦独立した研究者を目指したなら、自分自身の頭で考えることが肝要である。ヒトの考えを参考にしても良いが、決して真似はしないこと！

### 2. 権威を疑うこと！

権威ある高名な研究者が言うことや権威ある教科書に記載されていることが正しいとは限らない。新しい発見やブレイクスルーは権威を疑うことから始まる、と私は考えている。それが科学の進歩につながる。

### 3. 新しい方法・技術の導入に逡巡しないこと！

新しければ何でも良いわけではないが、自分の研究に有利になると思えば、どしどし取り入れること！やってみることが重要である。

### 4. 一流紙を目指した研究をすること！

Nature, Science, Cell などインパクトファクターが高い超一流紙を目指すに越したことはないが、少なくとも自分の研究領域の一流紙を目指した研究をすることは重要である。

### 5. 独自のテーマを決めたら迷わず専念すること！

40歳(前半)までに、自分のテーマを決めること！そして一定の評価を獲得するために、適切な方法・技術に基づいて着実に研究成果を上げることが重要である。自分の研究や概要の内容に、インパクトのある

「発見」や「コンセプト」を明示できることを目指していただきたい。

論文になるからと言って、あれこれ手を出さないこと！あやふやな根拠で論じた成果は、その根拠が後に誤りであったとされた場合、無意味になる。たとえば、ある経路 A の阻害薬を使うことが主目的の研究は、その経路 A の阻害作用が後に非特異的と判断されたら、そのすべてが無意味になる。

独創的研究を堅実に実行し成果を発表し続けていると、ほかの研究者がその仕事を発展させてくれる！すべてを自分でやらなくてはいけないことはない。

### 6. 流行に乗っても良いが自分の道を誤らないこと！

流行の研究に手を出しても良いが、自分の道を忘れないこと！自分の足元を見ること！

### 7. 努力は凡人の唯一の武器である！

世間には凡人のほうが多い。凡人が研究という世界で生きていくためには努力が唯一の武器ではないだろうか。才能×努力=成果であると考えれば良い。

## 「血管医学」の重要性

血管に視点をおいた「血管医学」の重要性は以下のように要約される。

第1に、血管の形態と機能がシステムとして正常に作動することが臓器ならびに生命の維持に不可欠であることは言うまでもない。内皮細胞機能不全が心血管イベントの独立した予測因子となること、血管系のシステム欠損によって臓器の形成不全・機能不全が生じることが明らかにされている。心不全は血管病と同様に代表的循環器疾患であるが、その多くは冠動脈疾患(急性心筋梗塞症など)を基盤として発症する。心筋梗塞後リモデリングや高血圧性肥大心において、血管が適切に機能しないと心不全に陥る。大規模臨床試験で心血管病の予後を改善することが示されているアンジオテンシン変換酵素(angiotensin-converting enzyme ;

ACE)阻害薬やアンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬(angiotensinⅡreceptor blocker:ARB)、スタチン、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$ (preoxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ ;PPAR $\gamma$ )アゴニストなどは共通に血管内皮機能を改善させることも血管医学の臨床的重要性を一層高めるものである。

次世代医療として期待されている血管新生/再生療法は健全な血管系の発生/分化を伴わなければ成立しない。健全な血管では血管壁構成細胞群(内皮、平滑筋、線維芽細胞)が相互に機能し合って、循環、細胞遊走/増殖、凝固/線溶などが正常に機能するようにはたっている。さらに、炎症・免疫疾患、造血異常、腫瘍などの病態形成にも血管系の存在は必須である。

第2に、日本における超高齢化による高齢者の増加は人類未経験状況に達している。これによって、血管医学の臨床的重要性が高まっている。虚血性心疾患だけでなく、脳血管疾患・腎疾患・末梢血管疾患・大動脈瘤・網膜疾患などの血管病の増加が著しく、国民死亡率と医療費に占める割合はきわめて大きい。

したがって、血管病の診断と治療に関する知識は循環器専門医だけでなく、それ以外の内科医にとっても重要になってきた。また、これらの血管病の診療や研究に携わる医師・研究者は内科系以外の診療科(血管外科、眼科、腫瘍内科・外科)にも所属しているので、血管病の診療や研究開発には診療科の垣根を越えた横断的体制が必要だろう。

第3に、血管病は現代の国民病ともいえる生活習慣病と密接に関連する。脂質異常症、高血圧症、糖尿病、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病の治療においては単に脂質、血圧、血糖、体重の値をコントロールするだけでなく、全身の「血管保護」を意識した血管合併症の管理が生命予後の改善につながる。動脈硬化性狭窄の治療として、バルーンやステントで拡張する血管インターベンション治療が普及しているが、インターベンション治療そのものは患者の生命予後を改善しないことが認識されつつある。薬剤溶出ステントは再狭窄抑制には効果的であるが、安全性の懸念

(遅発性血栓による急性心筋梗塞と心臓死)が払拭されていない点が問題であり、血管内皮再生不全による血栓性の亢進がその主因と考察されている。したがって、インターベンション治療の適応となる動脈硬化性疾患患者においても「血管保護」が患者の生命予後の改善にますます重要となってきた。

また、「ヒトは血管とともに老いる」と言われるように、老化と血管病は密接にかかわっている。したがって、血管医学の研究を推進することは、生活習慣病や老化による血管病のメカニズム解明と先端医療研究開発の促進につながるであろう。

最後に、血管医学の診療は内科学の基本領域であり、臨床医学としての重要性は大きい。また、その研究成果は広く臨床医学全体にフィードバックできることから、血管医学は生命科学としても重要な分野である。

## 血管医学研究に基づく先端医療の研究開発

血管病を克服する先端医療の研究開発には、血管を「診る」、「創る」、「護る」をキーワードとする研究を一体的に推進することが重要である。その成果として、たとえば急性心筋梗塞症の責任病変である不安定プラークの分子イメージングと低侵襲治療デバイスが同時に開発できれば、イメージング(診断)と予防・治療を一体的に行うことができるインターベンション治療法が実現するだけでなく、治療効果の評価を適切に行えることから、医療の低侵襲化(患者の負担軽減)と効率化を達成できる。生活の質(QOL)と予後の改善をもたらす安心安全医療がもたらされるであろう(図1)。

血管を「診る」新しい方法・技術の開発が期待されている。炎症マーカーである高感度CRPの有用性と限界はすでに認識されているので、次世代バイオマーカーや遺伝子診断法の探索が必須である。心血管イベントの発症リスクをより高い精度で予知し、個々の患者のリスクの層別化を可能にするバイオマーカーを策定する必要がある。そうすれば、患者ごとに適切な予防法、治療法を提示できるだけでなく、治療の効果を



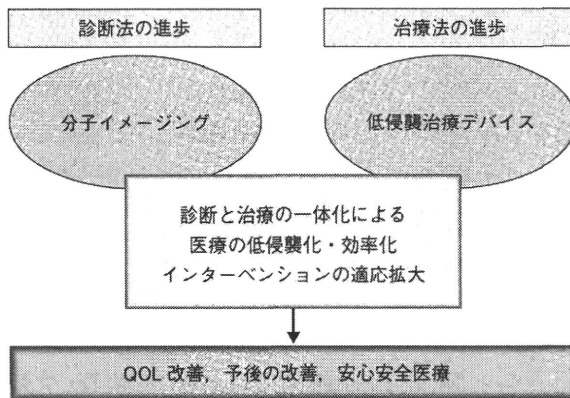


図1 血管インターベンションの将来像

—予後の改善をもたらす低侵襲安心安全医療—  
分子イメージングと治療を一体的に行うことができれば、医療の低侵襲化(患者の負担軽減)と効率化を達成できる。生活の質と予後の改善をもたらす、安心安全医療がもたらされる。

評価できるので医療の効率化が推進される。

新しいイメージング法の開発もアンメットニーズを解決する革新技術として重視される。多列CTや高性能MRIの登場によって狭窄の非侵襲的診断は進歩したが、不安定プラークの診断能はいまだ不十分であり、現行の技術のさらなる向上、ならびに新しいインターベンション技術の創出が必要である。この領域では分子イメージングを可能にする診断機器や、新しいドラッグデリバリーシステム(DDS)を活用した造影剤の研究開発が次世代技術として期待される。ナノ医工融合学に基づくDDSは癌の治療分野ではすでに実用化が始まっている。このような分子イメージング技術の開発によって、不安定プラーク部位の炎症・酸化脂質をターゲットにした分子イメージング技術が開発できれば、心筋梗塞の発症リスクが一定の精度でわかるようになるであろう。

血管を「創る」新しい治療法開発の研究も大きく進歩している。血管新生/再生は臓器の発生/再生に必須であり、癌も血管なしには成長できないことから、血管新生/再生の研究は医学全体に大きく貢献するものである。自己細胞やiPS・ES細胞を用いた血管新生療法、医工学技術を駆使したハイブリッド人工血管、細胞シートを用いた血管新生/再生医療などの開発研究が進んでいる。

血管増殖因子(vascular endothelial growth factor ;

VEGF など)や自己骨髄細胞を用いた治療的血管新生療法は、日本の研究者らが世界に先駆けて開発し、臨床で有効性を示した点を強調したい。しかし、この方法による治療的血管新生療法は転換期を迎えていると言えるだろう。すなわち、臨床試験における効果のありなしに関して異なる結果が報告されている。その原因として、新生血管(angiogenesis)の機能が不十分で、かつ側副血行路(arteriogenesis=collateral circulation)の発達が不足であること、患者の細胞の血管新生能が不足していること、骨髄細胞が血管細胞に分化し血管新生を誘導(vasculogenesis)することはほとんどないこと、などが議論されている。その結果、先端医療として普及していないのが現状である。現在、血管増殖因子と細胞のハイブリッド治療や細胞シートを用いた方法などを用いて、臨床効果をさらに向上させる技術の開発が進んでいる。

われわれは、内皮細胞選択的ナノDDS技術が上記の臨床上的問題点を克服する新しい医学的対策になる、という仮説(図2)に基づいて、探索的研究開発を行った。その結果、HMG-CoA還元酵素阻害薬であるスタチンを封入したナノ粒子製剤がスタチンの血管新生能を格段に向上させ、かつ側副血行路を発達させること、さらに副作用を回避できる新規アプローチであることを、小動物だけでなくヒトに類似する霊長類モデルを用いて明らかにした。すでに、優良試験所基準(good

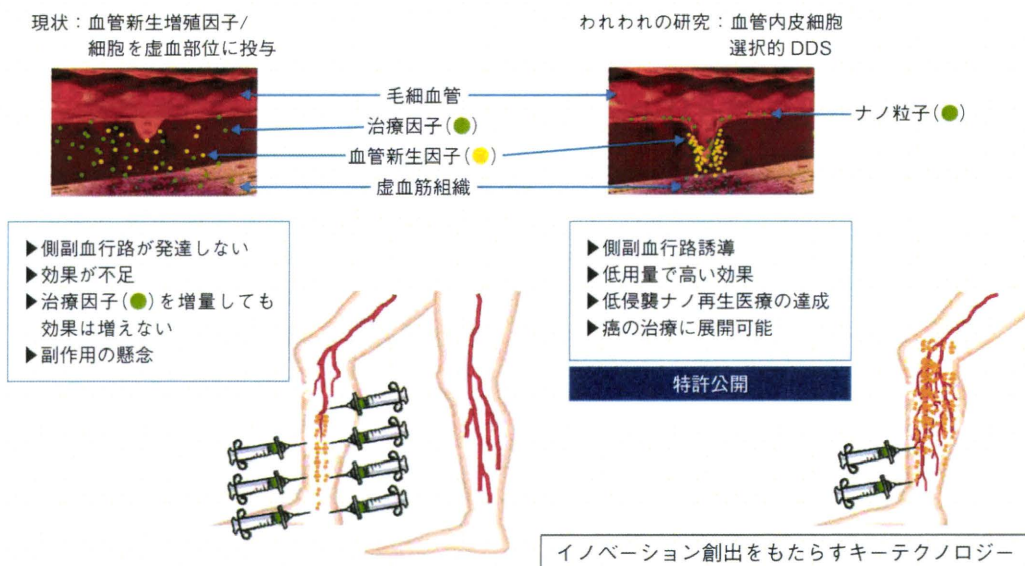


図2 内皮細胞選択的ナノ DDS 技術  
—より効果的かつ安全安心の治療的血管新生(再生医療)を達成—

laboratory practice ; GLP)での安全性試験をほぼ終了し、臨床治験に向けて製造管理及び品質管理規則 (good manufacturing practice ; GLP)に準拠した治療薬の製造を開始した。九州大学橋渡し研究支援促進プログラムやスーパー特区の支援によって臨床治験を実施し、proof of concept (POC)を獲得した後、実用化を目指す予定である。

生活習慣病は、血管傷害を生じさせることによって臨床的に重要な病態となる。したがって、血管を「護る」治療法の開発は「血管医学」の大きなテーマである。われわれは血管を護る対策として抗炎症療法を提案し検証してきた。すなわち、単球走化性タンパク質-1(monocyte chemoattractant protein-1 ; MCP-1)のN末端欠失体(7ND-MCP-1)がMCP-1の強力な抑制因子として作用することを利用して、7ND-MCP-1遺伝子導入による抗MCP-1療法を開発した。この抗炎症治療によって動脈硬化の発生・進行の抑制とプラーク安定化がもたらされること、再狭窄反応(傷害後内膜肥厚)が抑制されることを、霊長類モデルを含

む実験動物を用いて明らかにした。7ND-MCP-1 遺伝子溶出型ステントの創製に成功し、同ステント内狭窄を抑制することを明らかにした。これらの研究によって、動脈硬化性疾患のメカニズムにおける新しいコンセプト(炎症仮説の証明)が構築できたと考えている。また、MCP-1の機能は多彩であり、平滑筋遊走増殖・線維化・血管新生に必須とされている。ほかの研究室との共同研究によって、抗MCP-1療法が高血圧性心疾患・心不全、重症腎疾患、脳血管障害、網膜疾患、病的血管新生、肺高血圧症、線維症、臓器移植後動脈硬化、などの難治性炎症性疾患にも有用であることを示す実験成果が報告されている(図3)。このような成果を基盤にして、ステント内再狭窄抑制を目的とした臨床試験を計画したが、①7ND-MCP-1の特許の有効期限の残りが少ないこと、②治療効果を出すには比較的少量の遺伝子プラスミドが必要であり製造費が高額となること、③新たなDDSとも考えられる薬剤溶出ステントが登場したこと、などの理由で2004年、臨床応用を断念した。そこで、われわれは高効

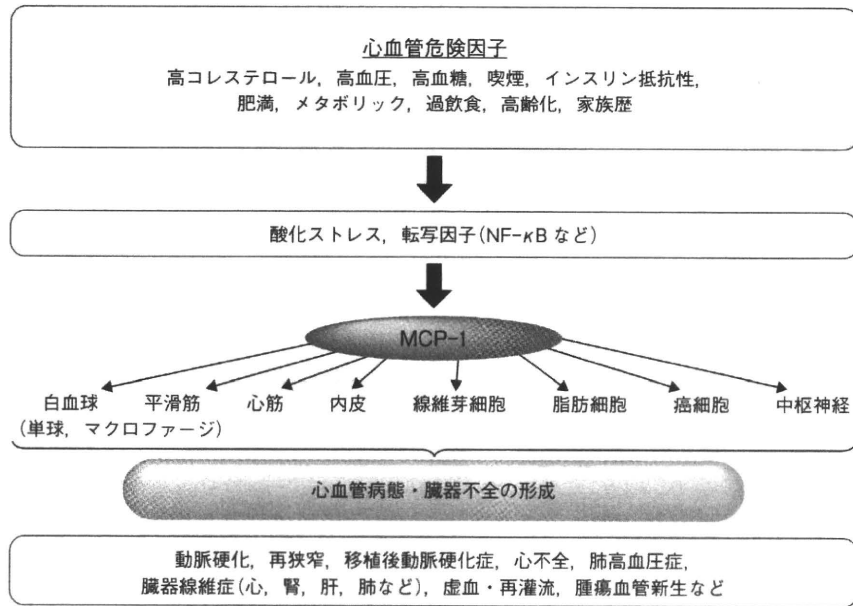


図3 MCP-1の分子病態的意義

果・低副作用の治療効果を発揮する独創的な技術を探索し、その結果、ナノDDS技術を導入し開発するに至った。もちろん、知的財産の確保にも十分配慮した。以下にナノDDS技術によるステントならびにカテーテルの研究開発の概要を述べる。

すでに報告されているように、ナノ粒子は、DDSとして機能し透過性の亢進した組織に送達される、細胞内に受動的・能動的機序によって取り込まれる、などの特徴を有する。新規ナノ粒子溶出ステントの臨床応用を鑑み、生体吸収性ポリマーを基材とする粉体ナノ粒子を選択し薬剤・遺伝子を封入できることを確認した。ステントの金属表面にコーティングするために、カチオン電着コーティング法を新たに開発し、能動的にナノ粒子をコーティングすることに成功した。この独自の技術を活用して、薬剤を封入したナノ粒子の溶出ステントを作製し、いくつかの候補薬剤封入ナノ粒子溶出ステントの有効性が明らかになってきた。ここではピタバスタチンカルシウム封入ナノ粒子溶出ステント(スタチンNP)の成果を紹介する。ピタバスタチ

ンカルシウム封入ナノ粒子180~200 $\mu\text{g}$ (ピタバスタチンカルシウムとして約20 $\mu\text{g}$ )のコーティングによってブタ冠動脈モデルにおいてステント内狭窄が抑制された。その抑制効果はすでに市販されているシロリムス溶出ステント(sirolimus-eluting stent; SES)と同等であった。SESでは内皮細胞修復不全による血栓性の亢進や炎症・増殖亢進が認められるが、スタチンNPではそのようなSESの副作用は認められなかった。すなわち、スタチンNPは市販の薬剤溶出ステント(CYPHER<sup>®</sup>)の安全性の懸念(副作用)を回避できるより安全な新規デバイスとなることが示唆された(図4)。本デバイスの実用化の可能性については、国内外のデバイスメーカーと交渉中である。

仮に上記のような新規デバイスが実用化されれば、それで血管内治療の臨床ニーズを十分満たすだろうか？ 私は上記のようなステントは狭窄の治療には適切に効果を発揮するが、高度狭窄を伴うことが少ない不安定プラーク、あるいはステントの適応とならないびまん性病変・小径病変の治療には不十分と考え、間

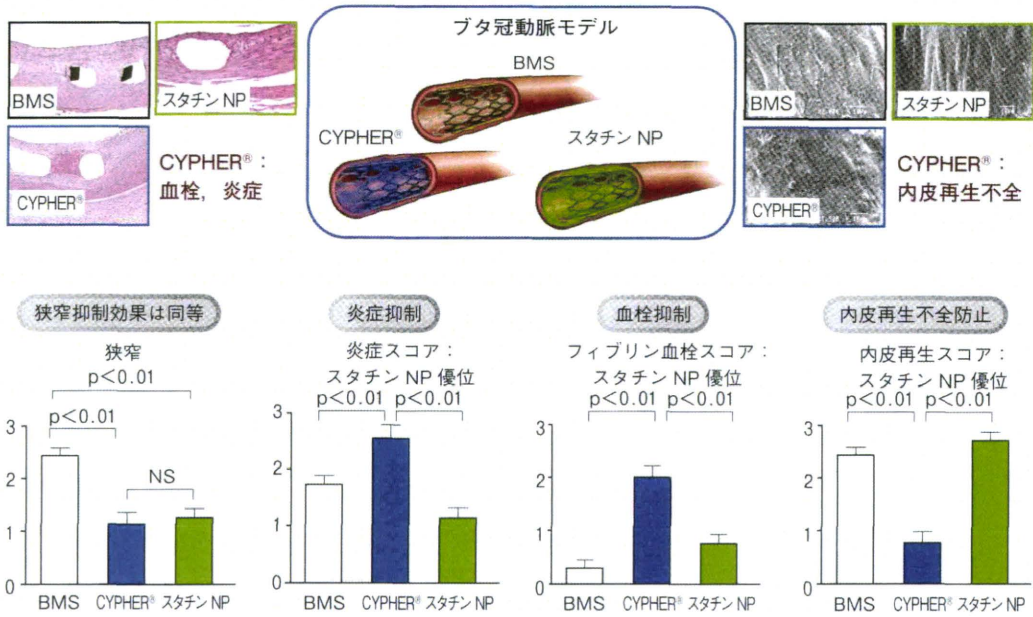


図4 スタチン封入ナノ粒子溶出ステント(スタチン NP)はシロリムス溶出ステント(CYPHER®)の副作用を防ぎ血管代謝を安定化させる  
BMS: bare metal Stent (金属ステント)

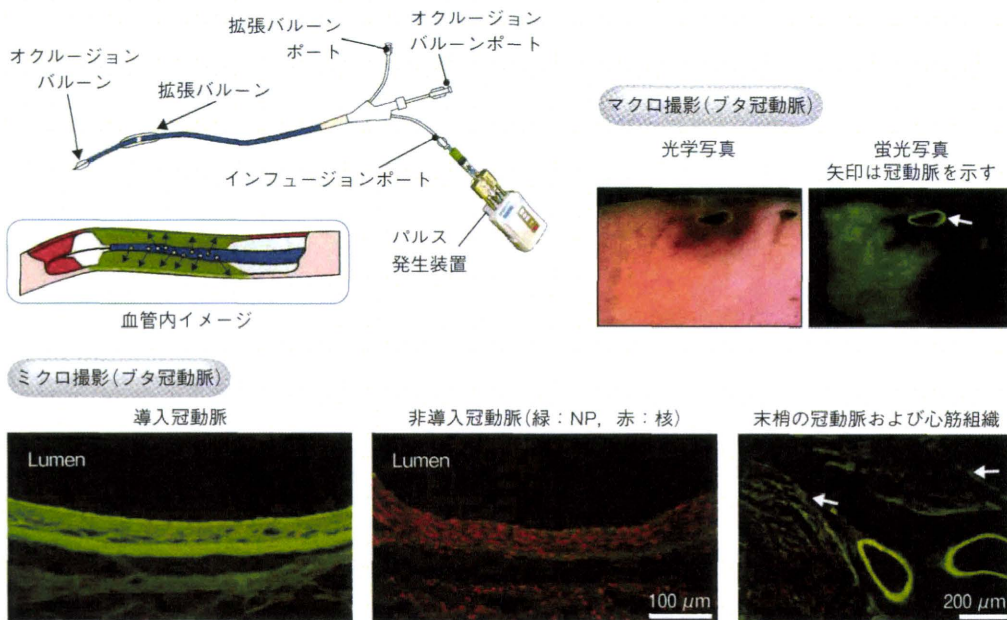


図5 間欠式脈波衝撃投与 DDS カテーテルを用いた血管内ナノ医療