

201215015A

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業（臨床研究推進研究事業）

研究課題名：生体内吸収性高分子担体と細胞増殖因子
を用いた難治性虚血性疾患に対する新しい再生医療
の開発：オーダーメイド医療の実現に向けた検討

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 坂田 隆造

平成 25（2013）年 5 月

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業（臨床研究推進研究事業）

研究課題名：生体内吸収性高分子担体と細胞増殖因子
を用いた難治性虚血性疾患に対する新しい再生医療
の開発：オーダーメイド医療の実現に向けた検討

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 坂田 隆造

平成 25（2013）年 5 月

目 次

平成24年度厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業（臨床研究推進研究事業）

研究課題名：生体内吸収性高分子担体と細胞増殖因子を用いた難治性虚血性疾患に対する新しい再生医療の開発：オーダーメイド医療の実現に向けた検討（H23-臨研推-一般-006）

I. 総括研究報告

- ・ 総括研究報告 ----- 1
研究代表者 京都大学大学院医学研究科 坂田 隆造
研究分担者 京都大学医学部附属病院探索医療センター 丸井 晃
- ・ 平成24年度 坂田班 班会議開催状況報告 ----- 12
- ・ 臨床試験実施計画書 ----- 13
- ・ 先進医療に係る総括・定期報告書 ----- 57

II. 分担研究報告

- ・ 分担研究報告 1 ----- 64
研究分担者 京都大学再生医科学研究所 田畑 泰彦
- ・ 分担研究報告 2 ----- 68
研究分担者 京都大学医学部附属病院探索医療センター 清水 章
- ・ 分担研究報告 3 ----- 70
研究分担者 京都大学医学部附属病院探索医療センター 横出 正之
- ・ 分担研究報告 4 ----- 74
研究分担者 京都大学医学研究科 川上 浩司
研究分担者 京都大学医学部附属病院探索医療センター 手良向 聡
- ・ 分担研究報告 5 ----- 77
研究分担者 京都大学医学部附属病院 松原 和夫

III. 研究成果の刊行に関する一覧 ----- 79

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 83

I. 総括研究報告

生体内吸収性高分子担体と細胞増殖因子を用いた 難治性虚血性疾患に対する新しい再生医療の開発： オーダーメイド医療の実現に向けた検討

所 属 京都大学医学部附属病院
心臓血管外科

代表研究者 坂田 隆造

分担研究者 丸井 晃

研究要旨

近年、従来の方法では治療困難な重症下肢虚血や虚血性心疾患の患者が増加しており、遺伝子治療や細胞移植治療などの「血管新生療法」試みられているが遺伝材料の安全性・複雑な手技・高コスト等の課題が指摘されている。

我々は遺伝子や細胞の代わりに、安全かつ細胞増殖因子を必要十分に作用できる「ゼラチンハイドロゲル」を開発した。この最大の利点はゼラチンハイドロゲルが生体吸収性であり臨床における安全性が期待できる点にある。また様々な細胞増殖因子を組み合わせることで効果的な徐放投与が可能であり、遺伝子治療・細胞移植治療と比べて手技が非常に簡便・低コストであることも特徴である。我々は塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放化ゼラチンハイドロゲルの有効性を多くの基礎研究で検証し、臨床治験に向けた治験薬 GMP 基準での製剤施設を立ち上げ、平成 22 年 6 月には「生体内吸収性高分子担体と bFGF による血管新生療法」が第三項先進医療（現先進医療 B）の承認を受け、臨床試験を開始した。

本研究では先進医療 B の臨床例を重ね(H23~24)、将来的な薬事承認および保険診療化を目標とする(H24~27)。また当技術を重症虚血性心筋症に応用し、昨今のドナー不足が深刻である心移植や補助人工心臓などの「置換型医療」の代替の可能性を探る(H23~27)。この技術を発展させる基礎研究として①複数の増殖因子の計画的徐放による効果的な血管新生を行う「カクテル治療」(H23~24)、②当技術により細胞移植治療の効率を高める「ハイブリッド治療」(H24~26)、さらにこれらを組み合わせ、③各患者に応じて最適な有効性と同時に副作用を回避する「オーダーメイド治療」の基礎的検討を行い、将来的な臨床応用の足がかりとする(H25~27)。

この技術が薬事承認・保険診療化されれば、臨床応用された世界初の血管新生療法となり、重症下肢虚血患者の救済のみならず、世界初の血管新生製剤販売による医療産業の育成、少ない医療費で患者予後が改善する医療経済効果、また心臓における応用により、ドナー不足が深刻な重症末期心不全患者に対する置換型医療の代替医療としての可能性が期待できる。

本研究は臨床研究としては①重症下肢虚血に対する先進医療 B の遂行および発展、②先進医療当該技術の虚血性心疾患への応用、を計画し、基礎研究としては①複数の細胞増殖因子の計画的徐放による「カクテル治療」、②細胞移植治療との併用による「ハイブリッド治療」、③各疾患に適した「オーダーメイド治療」、を計画している。基礎研究①については昨年度で終了しており、基礎研究③については次年度以降に計画し

ているため、今年度は臨床研究①②および基礎研究②について報告する。

【臨床研究①】

第三項先進医療「生体内吸収高分子担体を用いた塩基性線維芽細胞増殖因子による血管新生療法」

A. 研究目的

従来の方法では治療困難できわめて近い将来において下肢切断術が免れられない下肢末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症、バージャー病）患者を対象として、塩基性線維芽細胞増殖因子（Basic Fibroblast Growth Factor : bFGF）徐放化ゼラチンハイドロゲル細粒の安全性および臨床効果を評価する。

B. 研究方法

【試験デザイン】

第 I-II 相臨床試験（非ランダム化、コントロール無し）で、bFGF 200 μ g の単一用量にて臨床効果、安全性の検討を行う。

【エンドポイント】

<主要エンドポイント>

- ・安全性の評価
- ・経皮的酸素分圧測定（TcO₂）の変化

<副次エンドポイント>

- ・上肢下肢血圧比（ABI）
- ・上肢足趾血圧比（TBI）
- ・虚血性潰瘍の面積、チアノーゼ
- ・6分間歩行距離
- ・Rutherford 慢性虚血肢臨床分類
- ・疼痛スケールによる安静時疼痛

【目標症例数・観察期間】

10 例・治療後 24 週

【適格基準】

選択基準（抜粋）

- 1) 下肢末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病）と診断されている。
- 2) 対象側について、以下すべてを満たす下肢末梢性血管疾患である。
 - ・下肢虚血による潰瘍、限局性の壊疽、安静時疼痛のいずれかの症状がある。
 - ・Rutherford 慢性虚血肢臨床分類の 4 群～5 群と判定される。
 - ・骨・腱の露出した深部潰瘍または広範な壊疽いずれも認めない。
- 3) あらゆる内科的治療（血管拡張剤、抗血小板剤、経皮的血管形成術）または外科的治療（バイパス血行再建術等）を施行した後も、臨床症状の改善が得られない患者
- 4) 登録時の年齢が 20 歳以上 80 歳未満である。

除外基準（抜粋）

- 1) 以下のいずれかの合併症を有する。
 - ・コントロール不良な虚血性心疾患・心不全・不整脈
 - ・臨床的に問題となる感染症（蜂窩織炎・骨髄炎を含む）
 - ・コントロール不良の糖尿病患者（HbA_{1c} > 10%）
 - ・余命が 1 年以内と考えられる合併症
- 2) 以下のいずれかの既往を有する。
 - ・過去 6 か月以内に発症した心筋梗塞・脳梗塞・脳出血・一過性脳虚血発作
 - ・重度の薬剤アレルギー
 - ・過去 1 年以内に治療を要するアルコール依存または薬物依存を認めた
- 3) 現在、慢性腎不全により維持透析中である。
- 4) 糖尿病性網膜症（増殖前糖尿病性網膜症または増殖糖尿病網膜症）で治療中である。
- 5) ゼラチンハイドロゲル細粒の皮内反応が陽性である。
- 6) 過去、以下の臨床試験・治験に参加している。
 - ・bFGF に関する試験
 - ・遺伝子治療に関する試験
- 7) 活動性の悪性腫瘍（無病期間が 3 年以内の悪性腫瘍）を有する。
- 8) 喫煙者である、または禁煙期間が 1 か月未満である。

【製剤】

京都大学附属病院薬剤部内に治験薬 GMP に準拠した設備を立ち上げ、そこでゼラチンハイドロゲル細粒の作製を行っている。また「治験薬に関する文書（臨床研究用）」を作成し、製造したゼラチンハイドロゲルを用いて、無菌試験、エンドトキシン試験ならびに安全性試験を実施した。

【治療法】

日帰り手術室で腰椎麻酔下に bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲル 200 μ g（40ml）を虚血下肢に 40 ヲ所筋肉内注射により単回投与。治療後 24 週間の観察を行う。

【健康被害に対する補償について】

- ・健康被害に対する治療に係る医療費は、患者の健康保険を適用する。
- ・健康被害に対する補償措置として病院が補償賠償責任保険に加入している。

【研究体制】

＜研究統括＞

京都大学心臓血管外科

京都大学臨床研究総合センター 開発企画部

＜製剤＞

京都大学再生医科学研究所

京都大学附属病院薬剤部

＜患者リクルート＞

京都大学臨床研究総合センター 早期臨床試験部

＜データマネジメント・モニタリング＞

京都大学臨床研究総合センター データサイエンス部

＜スタディデザイン・統計解析＞

京都大学臨床研究総合センター データサイエンス部

C. 研究結果

2012年3月に目標登録症例数の10症例の登録を完了、8月に全例の24週の観察期間を終了した。結果として治療に関連すると思われる明らかな有害事象は無く、有効性評価のエンドポイントも改善を認めている。詳細は別項「**先進医療に係る定時・総括報告書**」に記載している。

D. 考察

今回高度医療評価制度という枠組みで、新規血管新生療法の臨床研究を完遂することができた。京大病院の支援体制も充実しており、製剤・患者リクルート・データ管理・統計解析などにおける学内での支援体制が整っており、非常にスムーズに目標症例登録・観察を完了することができた。今後はその結果を十分に吟味し、追加症例を行うか治験に移行するかを検討する。また治験を念頭においた治験薬 GMP 基準でのゼラチンハイドロゲルの製造を企業にて行うべく調整を現在行っている。将来的には医師主導治験・国際共同治験等を念頭に薬事承認、保険診療化を目指している。

E. 結論

先進医療Bの目標症例数を達成し試験を速やかに完了した。薬事承認・保険診療化を目指した企業との折衝、医師主導治験・国際共同治験などの方向性を検討中である

F. 健康危険情報

目標症例数10例を登録完了し、24週の経過観

察を行っているが、現時点で治療に関連があると考えられる有害事象は認めていない。

G. 研究発表

論文発表

1. 坂田隆造. 新規医療技術開発の法的・制度的枠組みⅡ. 高度医療から保険医療へ事例紹介: bFGF徐放化ゼラチンハイドロゲルによる心血管再生. 臨床評価 2012;40(Suppl XXXI):178-81.
2. 血管炎の血管新生療法と免疫療法 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを用いた血管新生療法 丸井 晃、坂田隆造 日本臨床 71巻 Page 464-9

著書

1. ここまで広がるドラッグ徐放技術の最前線 古くて新しいドラッグデリバリーシステム (DDS) 第2章 徐放技術の医療応用 3. 再生医療 2)血管 丸井 晃、坂田隆造 メディカルドゥ 143-7

学会発表

1. 坂田隆造. 新規医療技術開発の法的・制度的枠組み 2.高度医療から保険医療へ 事例紹介②bFGF徐放化ゼラチンハイドロゲルによる心血管再生 文部科学省 橋渡し研究支援推進プログラム平成23年度成果報告会「ライフサイエンス・イノベーション～生まれ変わる日本の大学像～」 2012.3.2-3 東京都
2. Ohnaka M. Impact of MicroRNA - 145 to prevent vein graft disease in rabbit by regulation of smooth muscle cell phenotype. American Heart Association, Scientific Sessions 2012 (AHA 84th) 2012.11.3-7 Los Angeles, U SA.
3. 丸井 晃、田畑泰彦、清水 章、坂田隆造. Topic10 Biomaterial-Based Regenerative Medicine in Cardiovascular Field 循環器再生医療のNeedsとSeedsとは? 第77回日本循環器学会学術集会 2013.3.15-17横浜市
4. 丸井 晃、田畑泰彦、清水 章、坂田隆造. パネルディスカッション バイオマテリアルを用いた心血管再生医療 ～ From bench to bedside ～ 第12回日本再生医療学会総会 2013.3.21-23 横浜市

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

【臨床研究②-1】

先進医療当該技術の重症虚血性心疾患への応用

先進医療当該技術心臓への応用にあたり現在大動物による安全性試験を進めている。臨床試験プロトコルについては現在検討中であり、以下研究目的および研究方法の案を提示する。

A. 研究目的

虚血性心疾患を有し、従来の血行再建法（経皮的冠動脈形成術または冠動脈バイパス術）では血流改善が得られない虚血心筋領域を有する患者を対象として bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルの安全性および臨床効果を評価する。

B. 研究方法

【試験デザイン】

第 I-II 相臨床試験。単一容量の単回投与試験

【適格基準】

- 1) 虚血性心疾患を有する患者で心臓外科手術を必要とする患者
- 2) 年齢 20-80 歳
- 3) 左室駆出率 35%以下

【治療箇所の決定】

心筋 viability が心筋シンチグラフィ（負荷タリウム SPECT および FDG-PET）によって証明される虚血部位を有すること。MRI 遅延造影による 17 セグメントモデルにおける評価を併用

【治療法】

心臓外科手術を行うときに、ゼラチンハイドロゲルシートを目的虚血部位に貼付する。シートの作製は治験薬 GMP に準拠した京大病院薬剤部内の施設で作製する。

【エンドポイント】

- ・安全性の評価
- ・局所心機能・局所心筋血流（MRI, シンチグラフィ）

【観察期間】

6 ヶ月

C. 研究結果

なし

D. 考察

現在、安全性・有効性の検証を目的とした前臨床試験を実施中である。また臨床試験プロトコルを並行して作成中であり、患者リクルートも開始している。まず安全性ならびに薬剤徐放形態による有効性の差異の検証を大動物による前臨床試験で検証し、前臨床試験終了時に速やかに臨床試験に入れるように準備を進めている。

E. 結論

当該技術を応用した虚血性心疾患への臨床応用を検討中である。それと平行して大動物による前臨床試験を行っている。

F. 健康危険情報

臨床試験の実施には至っていないが、大動物による毒性試験では当該技術に関連する有害性は認めていない。

G. 研究発表

論文発表

1. Marui A, Okabayashi H, Komiya T, Tanaka S, Furukawa Y, Kita T, Kimura T, Sakata R; The CREDO - Kyoto Investigators. Benefits of off - pump coronary artery bypass grafting in high - risk patients: A propensity - score analysis. Circulation. 2012;126:S151-7.
2. Nakano J, Okabayashi H, Noma H, Sato T, Sakata R. Early angiographic evaluation after off - pump coronary artery bypass grafting. J Thorac Cardiovasc Surg, in press
3. Marui A, Kimura T, Tanaka S, Okabayashi H, Komiya T, Furukawa Y, Kita T, Sakata R; CREDO - Kyoto Investigators. Comparison of Frequency of Postoperative Stroke in Off - Pump Coronary Artery Bypass Grafting versus On - Pump Coronary Artery Bypass Grafting versus Percutaneous Coronary Intervention. Am J Cardiol. 2012;110:1773-8.
4. Minakata K, Bando K, Takanashi S, Konishi H, Miyamoto Y, Ueshima K, Sato T, Ueda Y, Okita Y, Masuda I, Okabayashi H, Yaku H, Yasuno S, Muranaka H, Kasahara M, Miyata S, Okamura Y, Nasu M, Tanemoto K, Arinaga K, Hisashi Y, Sakata R; JMAP Study Investigators. Impact of diabetes mellitus on outcomes in Japanese patients undergoing

- coronary artery bypass grafting. *J Cardiol.* 2012;59:275-84.
5. Marui A, Kimura T, Tanaka S, Furukawa Y, Kita T, Sakata R; CREDO - Kyoto Investigators. Significance of off - pump coronary artery bypass grafting compared with percutaneous coronary intervention: a propensity score analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012;41:94-101.
 6. 丸井 晃, 岡林 均, 小宮達彦, 坂田隆造. エビデンスに基づく至適冠血行再建— CREDO-Kyoto からの検証— 日本心臓血管外科学会雑誌 2013;Vol.42,No.1:16-22
 7. 南方謙二, 坂田隆造. 循環器学 2012 年の進歩 冠疾患学研究の進歩 - 外科系の進歩 - 日本循環器学会専門医誌 循環器専門医 第 20 巻 第 2 号 南江堂 2012;20:320-323.
 8. Minakata K, Yamazaki K, Miwa S, Funamoto M, Kumagai M, Marui A, Sakata R. Ventricular Approach for Functional Mitral Regurgitation in Cardiomyopathy. *World Journal of Cardiovascular Surgery.* 2013;3,8-14.
 9. Nakano J, Okabayashi H, Noma H, Sato T, Sakata R. The impact of incomplete revascularization and angiographic patency on midterm results after off-pump coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*, in press
 10. Toyota T, Furukawa Y, Ehara N, Funakoshi S, Morimoto T, Kaji S, Nakagawa Y, Kadota K, Iwabuchi M, Shiomi H, Yamamuro A, Kinoshita M, Kitai T, Kim K, Tani T, Kobori A, Kita T, Sakata R, Kimura T; on behalf of the CREDO-Kyoto Investigators. Sex-Based Differences in Clinical Practice and Outcomes for Japanese Patients With Acute Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. *Circ J.* 2013, in press
 11. Natsuaki M, Furukawa Y, Morimoto T, Sakata R, Kimura T; CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators. Renal function and effect of statin therapy on cardiovascular outcomes in patients undergoing coronary revascularization (from the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2). *Am J Cardiol.* 2012 110:1568-77
 12. Shiomi H, Morimoto T, Hayano M, Furukawa Y, Nakagawa Y, Tazaki J, Imai M, Yamaji K, Tada T, Natsuaki M, Saijo S, Funakoshi S, Nagao K, Hanazawa K, Ehara N, Kadota K, Iwabuchi M, Shizuta S, Abe M, Sakata R, Okabayashi H, Hanyu M, Yamazaki F, Shimamoto M, Nishiwaki N, Imoto Y, Komiya T, Horie M, Fujiwara H, Mitsudo K, Nobuyoshi M, Kita T, Kimura T; CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators. Comparison of long-term outcome after percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass grafting in patients with unprotected left main coronary artery disease (from the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2). *Am J Cardiol.* 2012;110:924-32
 13. Natsuaki M, Furukawa Y, Morimoto T, Nakagawa Y, Ono K, Kaburagi S, Inada T, Mitsuoka H, Taniguchi R, Nakano A, Kita T, Sakata R, Kimura T; CREDO-Kyoto PCI/CABG registry cohort-2 investigators. Intensity of statin therapy, achieved low-density lipoprotein cholesterol levels and cardiovascular outcomes in Japanese patients after coronary revascularization. Perspectives from the CREDO-Kyoto registry cohort-2. *Circ J.* 2012;76:1369-79
 14. Tokushige A, Shiomi H, Morimoto T, Furukawa Y, Nakagawa Y, Kadota K, Iwabuchi M, Shizuta S, Tada T, Tazaki J, Kato Y, Hayano M, Abe M, Ehara N, Inada T, Kaburagi S, Hamasaki S, Tei C, Nakashima H, Ogawa H, Tatami R, Suwa S, Takizawa A, Nohara R, Fujiwara H, Mitsudo K, Nobuyoshi M, Kita T, Kimura T; CREDO-Kyoto PCI/CABG registry cohort-2 investigators. Incidence and outcome of surgical procedures after coronary bare-metal and drug-eluting stent implantation: a report from the CREDO-Kyoto PCI/CABG registry cohort-2. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5:237-46

著書

1. 坂田隆造. 編集 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点 第 2 版 文光堂 2012 年 10 月 1 日発行

学会発表

1. 坂田隆造. 特別講演「虚血性僧帽弁閉鎖不全の外科治療」. 第 70 回神戸臨床心エコー図研究会 2012.1.14 神戸市
2. Minakata K, Bando K, Takanashi S, Konishi H, Okita Y, Ueda Y, Ueshima K, Okabayashi H, Yaku H, Tanemoto K, Okamura Y, Miyamoto Y, Arinaga K, Hisashi Y, Yasuno S, Tanaka S, Masuda I, Muranaka H, Sato T, Sakata R. Chronic kidney disease as a strong predictor for postoperative infection and mortality after coronary artery bypass grafting. 第 76 回日本

循環器学会学術集会 2012.3.16-18 福岡市

3. 丸井 晃、木村 剛、三和千里、山崎和裕、南方謙二、古河 裕、北 徹、坂田隆造。エビデンスに基づく至適冠血行再建～CREDO - Kyoto からの検証～。第 42 回日本心臓血管外科学会学術総会 2012.4.18-20 秋田市
4. 山崎和裕、工藤雅文、石道基典、中村 健、仲原隆弘、船本成輝、武田崇秀、中田朋宏、南方謙二、丸井 晃、三和千里、池田 義、坂田隆造。虚血性僧帽弁逆流 (IMR) に対する外科治療とその成績。第 55 回関西胸部外科学会学術集会 2012.6.21-22 大阪市
5. 山崎和裕、工藤雅文、石道基典、中村 健、仲原隆弘、船本成輝、武田崇秀、南方謙二、丸井 晃、三和千里、坂田隆造。重症度に応じた虚血性僧帽弁逆流に対する外科治療。第 17 回日本冠動脈外科学会学術大会 2012.7.12-13 東京都
6. 丸井 晃。Off - pump vs. On - pump CABG ～CREDO - Kyoto からの検証～。第 17 回日本冠動脈外科学会学術大会 2012.7.12-13 東京都
7. 坂田隆造。教育講演「虚血性心疾患外科治療の将来」。第 45 回日本胸部外科学会九州地方会総会 2012.7.21-22 佐世保市
8. 南方謙二、山崎和裕、船本成輝、川東正英、仲原隆弘、上原京勲、武田崇秀、丸井 晃、池田 義、坂田隆造。重症心不全に対する外科治療：機能性僧帽弁閉不全症に対する左室形成術の適応と限界。第 65 回日本胸部外科学会定期学術集会 2012.10.17-20 福岡市
9. 丸井 晃、木村 剛、小宮達彦、羽生道弥、北 徹、坂田隆造。DES/OPCAB 時代の冠血行再建選択～CREDO - Kyoto Cohort 2～。第 65 回日本胸部外科学会定期学術集会 2012.10.17-20 福岡市
10. 山崎和裕、南方謙二、丸井 晃、坂田隆造。ビデオセッション 1 もう一度見たいこのビデオ (IMR) 「重症度に応じた虚血性僧帽弁逆流に対する外科治療 Surgical treatment for ischemic mitral regurgitation」第 26 回日本冠疾患学会学術集会 2012.12.14-15 東京都
11. Marui A. Myocardial revascularization in the ERA of drug-eluting stent/Off - pump coronary surgery: from the CREDO - KYOTO PCI/CABG registry cohort-2. European Association for Cardio-thoracic Surgery 2012.10.27-31 Barcelona, Spain.
12. Marui A. Impact of occult renal dysfunction on early and late outcomes following coronary

artery bypass grafting. American Heart Association Scientific Sessions. 2012.11.3-7 Los Angeles, USA.

13. Marui A. Optimal myocardial revascularization in the era of off-pump coronary surgery/drug - eluting stent: insights from the CREDO-Kyoto registry cohort 2. American Heart Association Scientific Sessions. 2012.11.3-7 Los Angeles, USA.
14. 坂田隆造。演題 1 「冠血行再建術 (PCI,CABG) の選択 - 新ガイドラインをもとに一」濱野公一教授開講十周年記念講演会 2012.11.10 宇部市
15. 坂田隆造。教育講演 2 「ガイドラインに基づく冠血行再建術」。第 101 回日本循環器学会中国地方会 2012.12.8 出雲市
16. 丸井 晃、塩見紘樹、北 徹、木村 剛、坂田隆造。シンポジウム 1 非保護左主幹部病変に対する冠血行再建～CREDO-Kyoto Registry Cohort 2～ 第 43 回日本心臓血管外科学会学術総会 2013.2.25-27 東京都
17. 丸井 晃、木村 剛、塩見紘樹、田中司朗、羽生道弥、小宮達彦、北 徹、坂田隆造。シンポジウム 01 Impact of Coronary Artery Bypass Surgery on Long-Term Outcomes in Patients with Hert Failure:From the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 重症冠動脈疾患患者の冠動脈血行再建：PCI と CABG の進歩 第 77 回日本循環器学会学術集会 2013.3.15-17 横浜市

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

【臨研究②-2】

イヌ慢性期心筋梗塞モデルに対する、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートの安全性および有効性試験

A. 研究目的

末期重症心不全に対し、有効な治療法は心臓移植療法であるが、ドナー不足のため一般的ではない。我々は先進医療 B の該当技術、すなわち bFGF をゼラチンハイドロゲルに含浸させ、心臓に局所徐放させることで心筋再生を促す

新しい治療法を確立させ、心臓移植療法に代わる新たな治療法の開発を目指している。

平成 23 年度には bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルの心筋注射による有効性を大動物虚血性心疾患モデルにて確認し、心臓表面への bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルシート貼付による小動物虚血性心疾患モデルにおける有効性、及び大動物モデルにおける毒性試験は行ってきた。今年度は臨床研究を行うに当たって大動物虚血性心疾患モデルにおいて bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルシートの有効性及び安全性の確認を、現在行っている。試験は国内有数の安全性試験専門の施設を持っており、国内外の企業との安全性試験の豊富な実績を持っており、当該技術の毒性試験を委託した株式会社新日本科学及び株式会社ケーエーシーと共同で行っている。試験はイヌ慢性期虚血性心疾患モデルを用いて、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートを心表面に貼付したときの有効性及び安全性の評価を目的とした。

B. 研究方法

当該技術の臨床研究を行うにあたって、対象患者と同様な病態モデルが必要なため、まず心筋梗塞後慢性期低左心機能モデル作成を行った。雄ビーグル犬(10~14kg)を使用し、冠動脈結紮部位による心筋梗塞範囲及び心機能に与える影響を評価した。モデルは、それぞれ左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮モデル、左冠動脈前下行枝第 2 対角枝末梢での結紮モデル、左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮及び第 1、2、3 対角枝結紮モデル、左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮及び第 1、2、3 対角枝結紮及び左室自由壁冷凍凝固モデルとした。

方法は、全身麻酔下で左第 4 肋間にて開胸し、心膜切開後目的冠動脈を 4-0 monofilament 糸で結紮し、血行動態が安定している事を確認後閉胸した。

評価は治療前、心筋梗塞作成直後、及び心筋梗塞作成 4 週後の剖検前に超音波検査で心機能評価を行い、摘出心臓を Hematoxylin Eosin 染色及び Sirius Red 染色にて心筋組織評価を行った。

イヌ慢性期心筋梗塞モデルができたことを確認し、現在有効性及び安全性試験に関して検討予定である。

C. 研究結果

左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮モ

デルは、軽度心機能低下及び心筋線維化は認められたものの貫壁性梗塞は認められず、小範囲の心筋線維化であった。左冠動脈前下行枝第 2 対角枝末梢での結紮モデルは、全く心筋梗塞及び心筋線維化が認められなかった。左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮及び第 1、2、3 対角枝結紮モデルに関しては、心機能低下及び貫壁性梗塞が認められ、再現性も確認できた。また、左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮及び第 1、2、3 対角枝結紮及び左室自由壁冷凍凝固モデルに関しても、心機能低下及び貫壁性心筋梗塞ができていたが、心筋梗塞には認められない冷凍凝固による心表面の細胞損傷が認められた。(図 1)

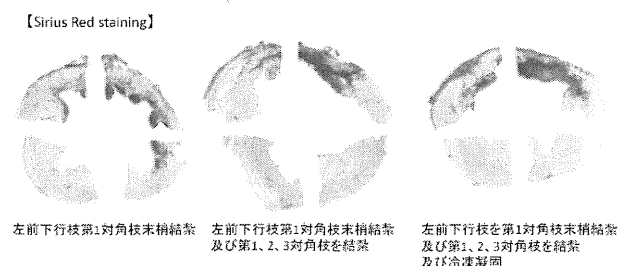


図 1 冠動脈結紮部位による心筋梗塞範囲の違い

D. 考察

今回の研究は、今後の臨床研究を見据えて適切なモデル作りが必要であるため、当該技術の有効性評価前に、慢性期心筋梗塞のモデル作りの検討が必要であった。冠動脈結紮部位により心機能及び心筋梗塞及び心筋線維化範囲は異なるが、今回の検討結果から、左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢で結紮し、第 1、2、3 対角枝もそれぞれ結紮することが心筋梗塞後慢性期低左心機能モデルと適切と考えられた。平成 25 年度はこのモデルを使用し、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートの心臓貼付による治療効果及び安全性試験を行う予定である。

E. 結論

イヌにおいて、左冠動脈前下行枝第 1 対角枝末梢での結紮及び第 1、2、3 対角枝結紮することで再現性をもって心筋梗塞後慢性期低左心機能モデルを作成することができた。このモデルを用いて、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートの心臓貼付による治療効果及び安全性試験を行い、臨床研究につなげていきたいと考えている。

F. 研究発表

なし

G. 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

【基礎研究②】

＜ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートを用いたミニブタ心筋梗塞モデルへの細胞移植実験＞

A. 研究目的

2006 年山中（京都大学 CiRA）により発見された iPS 細胞は、心筋細胞などの心臓構成細胞を免疫学的な問題なしに多量に移植使用できる可能性から、細胞移植による心臓再生医療において有望な細胞ソースと考えられている。

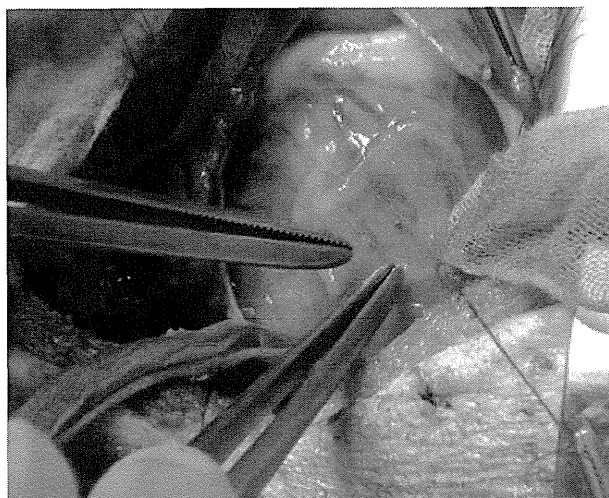
我々はゼラチンハイドロゲルを用いた治療効果をさらに高めるため、細胞移植治療を併用した「ハイブリッド治療」について研究を進めている。その前段階として、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シート移植による梗塞心の機能回復効果を大動物（ミニブタ）を用いて検討することが本研究の目的である。

B. 研究方法

マイクロミニブタ（富士マイクラ、20-25kg）を使用した。左前下行枝(LAD)にアメロイドコンストラクターを留置し、2 週後に冠動脈造影による LAD 閉塞および左室前壁の壁運動低下を確認の後、ヒト iPS 細胞由来心筋シートを梗塞部を覆うように移植した（図 1）（4 枚、2,800-3,000 万細胞相当）。

細胞シートは、単層高密度培養を用いた心筋細胞分化誘導法 (Laflamme, *Nat biotechnol* 2007 / Uosaki, *PLoS One* 2011) を改変して誘導した心臓構成細胞群を、温度感受性培養皿（セルシード）上に播種することにより作製した。

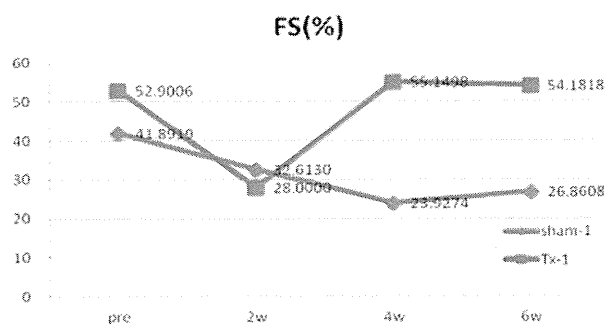
（図 1）ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シート移植



C. 研究結果

移植後 2 週および 4 週の段階で、左室収縮能の指標である短径短縮率 (FS) が、移植個体において Sham（偽手術）個体に比べ倍以上の高値を認めた（図 2）。移植個体において、当観察期間における移植に関連する合併症（腫瘍形成など）は認めなかった。

（図 2）移植後 FS の推移



D. 考察

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートの梗塞心への移植が心機能回復に寄与する可能性が示されたが、まだ検討個体数が少なく、さらに検討を重ねる必要がある。

細胞移植に伴う心機能回復メカニズムは多くの報告によると血管新生などのパラクリン効果が主であり、より進行した虚血性心筋症などの病態ではそれらのパラクリン作用単独では治療効果を発揮しにくい可能性がある（完成梗塞巣での進行した線維化などのため）。さらに治療効果を高めるためのゼラチンハイドロゲル技術を併用した「ハイブリッド治療」について、今後さらに検討する必要がある。

E. 結論

ヒト iPS 細胞由来心筋シート移植は梗塞心に対する治療として有望であることが示唆された。

F. 研究発表

論文発表

1. Masumoto H, Sakata R. Cardiovascular surgery for realization of regenerative medicine. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2012;60:744-55.
2. Masumoto H, Matsuo T, Yamamizu K, Uosaki H, Narazaki G, Katayama S, Marui A, Shimizu T, Ikeda T, Okano T, Sakata R, Yamashita JK. Pluripotent stem cell - engineered cell sheets reassembled with defined cardiovascular populations ameliorate reduction in infarct heart function through cardiomyocyte - mediated neovascularization. Stem Cells. 2012;30:1196-205.

著書

1. Masumoto H, Yamashita JK. Pluripotent stem cells for cardiac cell therapy: the application of cell sheet technology. Pluripotent Stem Cells / Book 1, ISBN 980-953-307-708-1, InTech, In press.

学会発表

1. Masumoto H, Shimizu T, Ikeda T, Okano T, Sakata R, Yamashita J. Therapeutic Potential and Mechanisms of Tissue Sheets Re-assembled with Defined Cardiovascular Populations from Pluripotent Stem Cells. 第9回心血管幹細胞研究会 2012.1.13-14 東京都
2. Masumoto H, Ikeda T, Shimizu T, Okano M, Sakata R, Yamashita J. Generation of cardiac tissue sheets fully engineered with human induced pluripotent stem cell - derived cardiovascular cell populations. 第76回日本循環器学会学術集会 2012.3.16-18 福岡市
3. 升本英利、池田 義、清水達也、丸井 晃、岡野光夫、坂田隆造、山下 潤. ラット心筋梗塞モデルへのヒトiPS細胞由来心臓組織シート移植による心機能回復効果. 第11回日本再生医療学会 2012.6.12-14 横浜市
4. Masumoto H, Ikeda T, Shimizu T, Okano T, Sakata R, Yamashita J. Human induced pluripotent stem cell - engineered tissue sheets with defined cardiovascular cell populations ameliorate function after myocardial infarction. 国際幹細胞学会第10回年次大会 - ISSCR 2012 - 2012.6.13-16 横浜市
5. 升本英利、池田 義、清水達也、岡野光夫、坂田隆造、山下 潤. ヒトiPS細胞由来心臓組織シート移植による亜急性期虚血性心疾患治療の可能性についての基礎的検討. 第33回日本炎症・再生医学会 2012.7.5-6 福岡市
6. 升本英利、丸井 晃、池田 義、坂田隆造. ヒトiPS細胞から分化誘導した心臓構成細胞を含む細胞シート移植による亜急性期虚血

性心疾患治療についての基礎的検討. 第65回日本胸部外科学会定期学術集会 2012.10.17-20 福岡市

7. 升本英利. Efficient differentiation of human iPS cells toward cardiovascular cell populations to generate bioengineered cardiac tissue - like cell sheets: a strategy for cardiac regeneration. 第35回日本分子生物学会年会 2012.12.11-14 福岡市
8. Masumoto H, Ikeda T, Shimizu T, Okano T. Transplantation of cardiac tissue sheets including defined cardiovascular cell populations differentiated from human induced pluripotent stem cells ameliorates cardiac dysfunction after subacute myocardial infarction. BCVS (Basic Cardiovascular Sciences) 2012 Scientific Sessions 2012.7.23-26 New Orleans, US A.
9. Masumoto H, Ikeda T, Shimizu T, Okano T, Sakata R, Yamashita JK. Transplantation of cardiac tissue sheets including human induced pluripotent stem cell - derived defined cardiovascular cell populations ameliorates cardiac function after myocardial infarction. ESC (European Society of Cardiology) Congress 2012 2012.8.25-29 Munich, Germany
10. Masumoto T. Transplantation of cardiac tissue sheets including human induced pluripotent stem cell-derived defined cardiovascular cell populations ameliorates cardiac function after myocardial infarction. ESC(European Society of Cardiology Congress) 2012 2012.8.25-29 Munich, Germany.
11. Masumoto H. Transplantation of cell sheets with human iPS Cell - derived cardiomyocytes and vascular cells for infarcted hearts: a basic study. American Heart Association, Scientific Sessions 2012 (AHA 84th) 2012.11.3-7 Los Angeles, USA.
12. Taki T. Novel approach to prevent systemic inflammation following prolonged. American Heart Association, Scientific Sessions 2012 (AHA 84th) 2012.11.3-7 Los Angeles, USA.
13. 升本英利、池田 義、清水達也、丸井 晃、岡野光夫、坂田隆造、山下 潤. Mouse and human pluripotent stem cell - engineered cell sheets re - assembled with defined cardiovascular populations ameliorate reduction in infarct heart function through cardiomyocyte - mediated neovascularization. 第4回日本再生医療学会YIA受賞講演 2012.6.12 横浜市
14. 升本英利、南方謙二、丸井 晃、池田 義、清水達也、岡野光夫、山下 潤、坂田隆造. シンポジウム 細胞シート技術を用いた多能性幹細胞による心筋再生研究 ～機能的再生から組織再生へ～ 第113回日本外科学会定期学術集会 2013.4.11-13 福岡市
15. 升本英利、丸井 晃、池田 義、清水達也、岡野光夫、坂田隆造、山下 潤. ポスター ヒトiPS細胞由来心臓組織シート移植による虚血性心疾患治療の可能性についての基礎

的検討 第9回宮崎サイエンスキャンプ 2013.2.15-17 宮崎市

16. 松尾武彦、升本英利、丸井 晃、池田 義、坂田隆造. 一般講演 ヒトiPS細胞由来心筋細胞および血管構成細胞含有細胞シート移植による虚血性心疾患治療についての検討 第12回再生心臓血管外科治療研究会 2013.2.25 東京都
17. Masumoto H, Marui A, Ikeda T, Shimizu T, Okano T, Sakata R, Yamashita J. Oral40. The Transplantation of Human iPS Cell-Derived Cardiac Cell Sheets to Rat Myocardial Infarction Model Ameliorates Cardiac Dysfunction Through Neovascularization. The 21st Annual Meeting Of The Asian Society For Cardiovascular And Thoracic Surgery (ASCVTS 2013) 2013.4.4-7. Kobe, Japan
18. Masumoto H. Strategy for cardiac regeneration based on human iPS cell-Engineered tissue sheet technology. Kosair Charities Pediatric Heart Research Program, Cardiovascular Innovation Institute, University of Louisville.2013.1.23 Louisville, Kentucky, U.S.A

G. 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

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業（臨床研究推進研究事業）

研究課題名

生体内吸収性高分子担体と細胞増殖因子を用いた難治性虚血性疾患に対する新しい再生医療の開発：オーダーメイド医療の実現に向けた検討

－班会議開催状況報告－

坂田班としては班会議を以下の通り行っており、会議議事録を研究代表者のもとで保管している。

第 1 回	平成 2 4 年	5 月 2 2 日（金）	（出席者 5 名）
第 2 回	平成 2 4 年	7 月 2 4 日（火）	（出席者 4 名）
第 3 回	平成 2 4 年	9 月 2 8 日（火）	（出席者 4 名）
第 4 回	平成 2 4 年	1 1 月 3 0 日（金）	（出席者 4 名）
第 5 回	平成 2 5 年	2 月 5 日（金）	（出席者 6 名）
第 6 回	平成 2 4 年	3 月 2 9 日（金）	（出席者 4 名）

臨床試験実施計画書コード: KUTR-008-4

**下肢末梢性血管疾患に対する、
生体内吸収性高分子担体と塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を
用いた血管新生療法の、臨床効果および安全性に関する臨床試験**

臨床試験実施計画書

主任研究者: 心臓血管外科 坂田 隆造
副主任研究者: 探索医療開発部 丸井 晃

第 1.0 版	2009 年 7 月 23 日
第 1.1 版	2009 年 9 月 28 日
第 1.2 版	2010 年 1 月 28 日
第 1.3 版	2010 年 9 月 8 日
第 1.4 版	2011 年 4 月 20 日

目 次

0. シェーマ	16
1. 目的	17
2. 背景と根拠.....	17
2.1 下肢末梢性血管疾患に対する従来の治療法の限界と血管新生療法.....	17
2.2 現在の血管新生療法の問題点.....	17
2.3 試験治療	18
2.4 本試験のデザインおよびエンドポイントの設定根拠	20
2.5 試験参加に伴って予想される利益および不利益	21
3. 薬物情報.....	22
3.1 bFGF.....	22
3.2 凍結乾燥ゼラチンハイドロゲル細粒	22
3.3 bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒の調製方法	23
4. 診断基準と病期・病型分類.....	24
4.1 下肢末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症、バージャー病）	24
4.2 Rutherford 慢性虚血肢臨床分類.....	25
4.3 虚血性潰瘍の深達度	25
5. 適格基準	26
5.1 選択基準	26
5.2 除外基準	26
6. 登録	27
6.1 患者への説明と同意取得	27
6.2 症例登録の手順	28
7. 治療計画	29
7.1 試験治療	29
7.2 併用薬剤	30
7.3 試験治療中止基準.....	31
7.4 有効性評価の中止基準.....	31
7.5 後治療.....	31
8. 有害事象の評価・報告	32
8.1 有害事象および副作用の定義.....	32
8.2 有害事象の評価と報告.....	33
8.3 予期される有害事象	33
8.4 有害事象の緊急報告と対応	34
8.5 健康危険情報に関する報告	36
9. 観察・検査・報告項目とスケジュール.....	36
9.1 患者の試験期間	36

9.2	登録前および投与前の検査・観察・報告項目	36
9.3	試験期間中の検査・観察項目	37
9.4	血中 bFGF 濃度測定の方法	38
9.5	カレンダー	39
10.	目標症例数と試験期間	40
10.1	目標症例数	40
10.2	試験期間	40
11.	エンドポイントの定義	40
11.1	主要エンドポイント	40
11.2	副次エンドポイント	41
12.	統計学的考察	43
12.1	解析対象集団	43
12.2	データの取扱い	43
12.3	統計解析	44
13.	症例報告書の記入と提出	45
13.1	様式と提出期限	45
13.2	記入方法	45
13.3	送付方法	45
14.	モニタリング	45
14.1	モニタリングの方法	45
14.2	モニタリングの項目	45
14.3	医療機関の長への定期報告	46
15.	品質管理・保証	46
15.1	データセンターにおける品質管理	46
15.2	効果安全性評価委員会	46
15.3	医療機関の長による自己点検	46
15.4	倫理審査委員会による調査	46
15.5	厚生労働省による調査	46
16.	倫理的事項	46
16.1	遵守すべき諸規則	46
16.2	説明文書・同意文書の作成と改訂	47
16.3	説明と同意（インフォームド・コンセント）	47
16.4	個人情報とプライバシーの保護	47
17.	試験の費用負担	48
17.1	資金源および財政上の関係	48
17.2	試験に関する費用と患者負担について	48
17.3	健康被害に対する補償について	48

18.	試験実施計画書の逸脱・承認・変更・改訂	49
18.1	試験実施計画書および指針等からの逸脱	49
18.2	試験実施計画書の承認および改訂	50
19.	試験の終了と早期中止・中断	50
19.1	試験の終了	50
19.2	試験の早期中止・中断	50
20.	試験に関する資料の取り扱い	50
21.	研究成果の帰属と結果の公表	51
22.	研究組織	51
23.	文献	52
24.	付録	55

シエーマ

