

201231110A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための安心安全のナノ
医療製剤（希少疾病用医薬品）の実用化臨床試験
（H24-難治等(難)-一般-009）

平成24年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成25(2013)年5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための安心安全のナノ
医療製剤（希少疾病用医薬品）の実用化臨床試験
（H24－難治等（難）－一般－009）

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 25（2013）年 5 月

【目 次】

I.	研究組織	1
II.	総括・分担研究報告書	2
1.	研究の要約(概要)	2
2.	研究の必要性ならびに目的	4
3.	期待される効果	6
4.	独創的な点と特色	6
5.	研究計画・方法	7
6.	平成24年度の成果	9
7.	考察と今後の展開	12
8.	健康危険情報	13
9.	研究発表	13
10.	知的財産権の出願・登録状況	13
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	14
IV.	研究成果の刊行物・別刷	16

【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 循環器病先端医療研究開発学・教授

※分担研究者：

砂川 賢二 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・教授

中野 覚 九州大学大学院医学研究院 循環器病先端医療研究開発学・准教授

的場 哲哉 九州大学病院 循環器内科・講師

中西 洋一 九州大学大学院医学研究院 呼吸器内科学・教授

九州大学病院 ARO 次世代医療センター（橋渡し拠点）・センター長

戸高 浩司 九州大学病院 ARO 次世代医療センター（橋渡し拠点）准教授

桑原 良宇 興和株式会社 医薬事業部 製品戦略センター・センター長

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業))

【総括・分担研究報告書】

「重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための安心安全のナノ医療製剤
(希少疾病用医薬品) の実用化臨床試験」(H24-難治等(難) -一般-009)

主任研究者 江頭 健輔

(九州大学大学院医学研究院 循環器病先端医療研究開発学 教授)

1. 研究の要約 (概要)

【研究の必要性、背景】

重症肺高血圧症は QOL の悪化をもたらす予後不良の希少難治性疾患である。現行の治療薬の有効性は限定的であり、より低侵襲かつ効果的で安全安心な医薬品の実用化が強く求められている。

また、ナノ Drug Delivery System (DDS) を活用した日本発の革新的な医薬品・医療機器開発は「新成長戦略 2009」のライフイノベーションによる健康大国戦略の優先施策である。

申請者らは、ナノ医工薬学融合技術に基づいて重症肺高血圧症の治療に有効なナノ DDS を開発した。HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) の血管保護作用に注目して研究し、ピタバスタチン封入ナノ粒子 (ピタバ NP) 製剤の気管内投与、あるいは静脈内投与によって肺高血圧症モデルや急性肺傷害モデル、慢性閉塞性肺疾患モデルの病態が著明に改善することを明らかにした (Egashira K et al. Hypertension 2011 など)。

その成果を基盤にピタバ NP の GLP 基準での安全性試験を実施し、治験薬 GMP 製造を確立した。

【目的】

本研究の目的は重症肺高血圧症の予後と Quality of Life (QOL) を改善する低侵襲かつ安全・安心なピタバ NP 製剤を希少疾病用医薬品として実用化 (国内での薬事承認を最終目標) するための臨床試験を行い、Proof of Concept (POC) を取得することである。

【研究計画・方法】

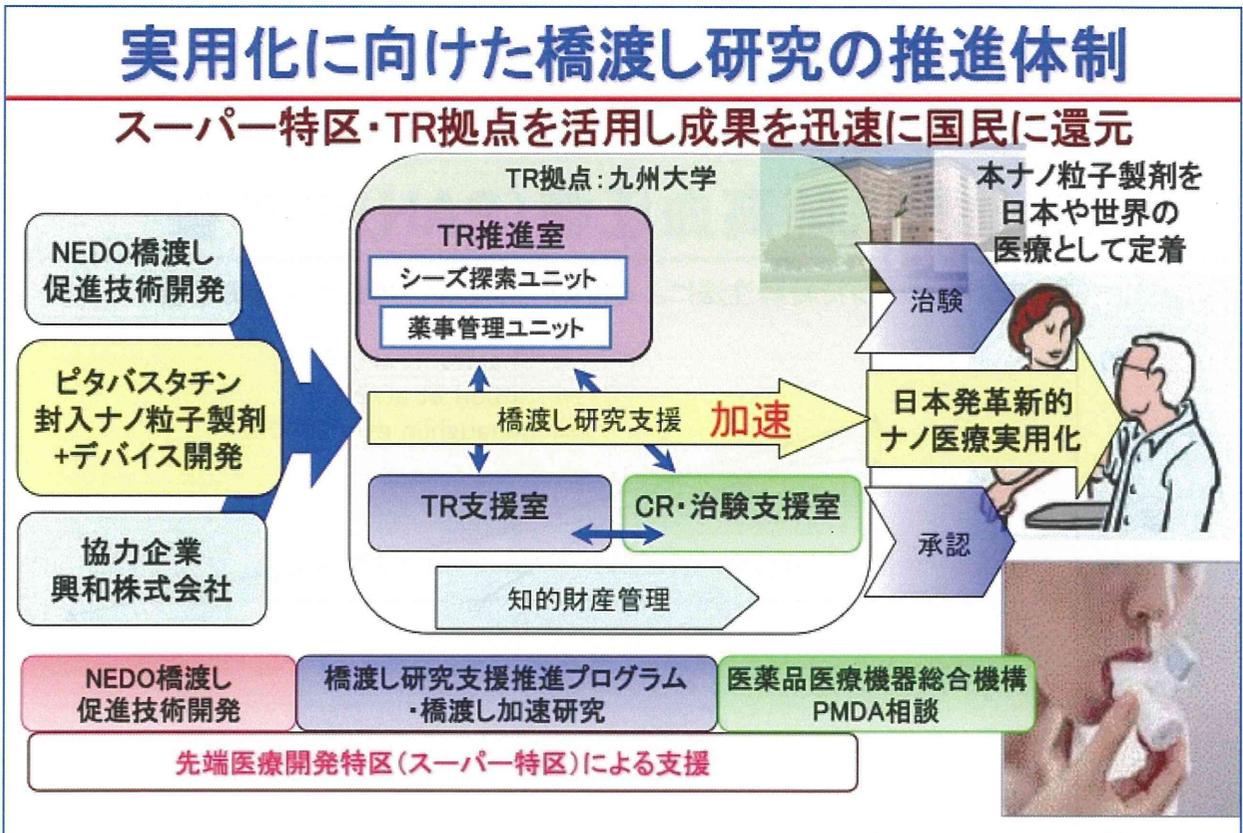
- (1) ピタバ NP 注射製剤を用いた第 I 相試験 (治験) (単回静脈内投与試験、反復投与試験)
- (2) POC 取得のための探索的第 II 相試験の開始
- (3) ピタバ NP 吸入投与の治験を実施するための非臨床試験 (製剤の最適化と安全性試験) と第 I 相臨床試験 (治験)

【独創性、特色など】

ピタバ NP が示す格段に優れた治療効果と低副作用の医薬品はこれまでに全く無いことから、独創性が極めて高い。ピタバ NP の国内外特許は各国で登録されつつある（国内特許登録、欧州特許登録、米国特許審査中、中国特許登録、その他は審査中）。

本研究は、先端医療開発スーパー特区の研究課題であり、九州大学に設備された分子イメージングシステムを活用することから、分子細胞病態の解析とナノ治療の効果を評価できるので、格段に優れた成果が期待できる。

図 1 実用化に向けた橋渡し研究の推進体制



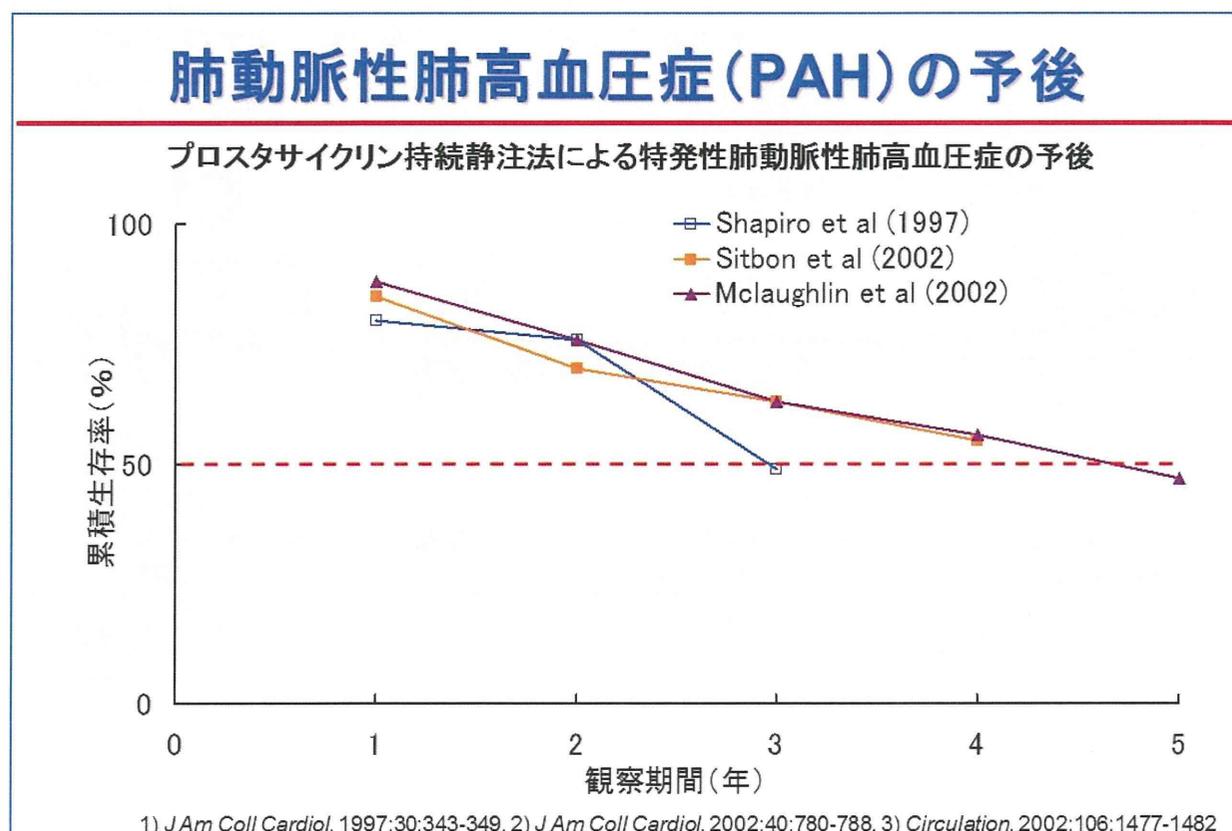
2. 研究の必要性ならびに目的

【必要性、背景】

重症肺高血圧症は QOL の悪化をもたらす予後不良の希少難治性疾患である。近年、プロスタサイクリン持続静注法や、ホスホジエステラーゼ V 阻害薬、エンドセリン受容体拮抗薬などの新しい治療法が導入されているが、その有効性は限定的で 5 年生存率は 50% 以下であり、長期的生命予後改善効果は未確立である（図 2）。

既存薬はいずれも血管拡張作用を主作用とする姑息的治療薬であり、臨床現場では根本的に肺細動脈病変の進行を阻止し、さらには、治癒に導くことの出来る、より低侵襲かつ効果的で安全安心な医薬品の実用化が強く求められている。

図 2 肺動脈性肺高血圧症（PAH）の予後



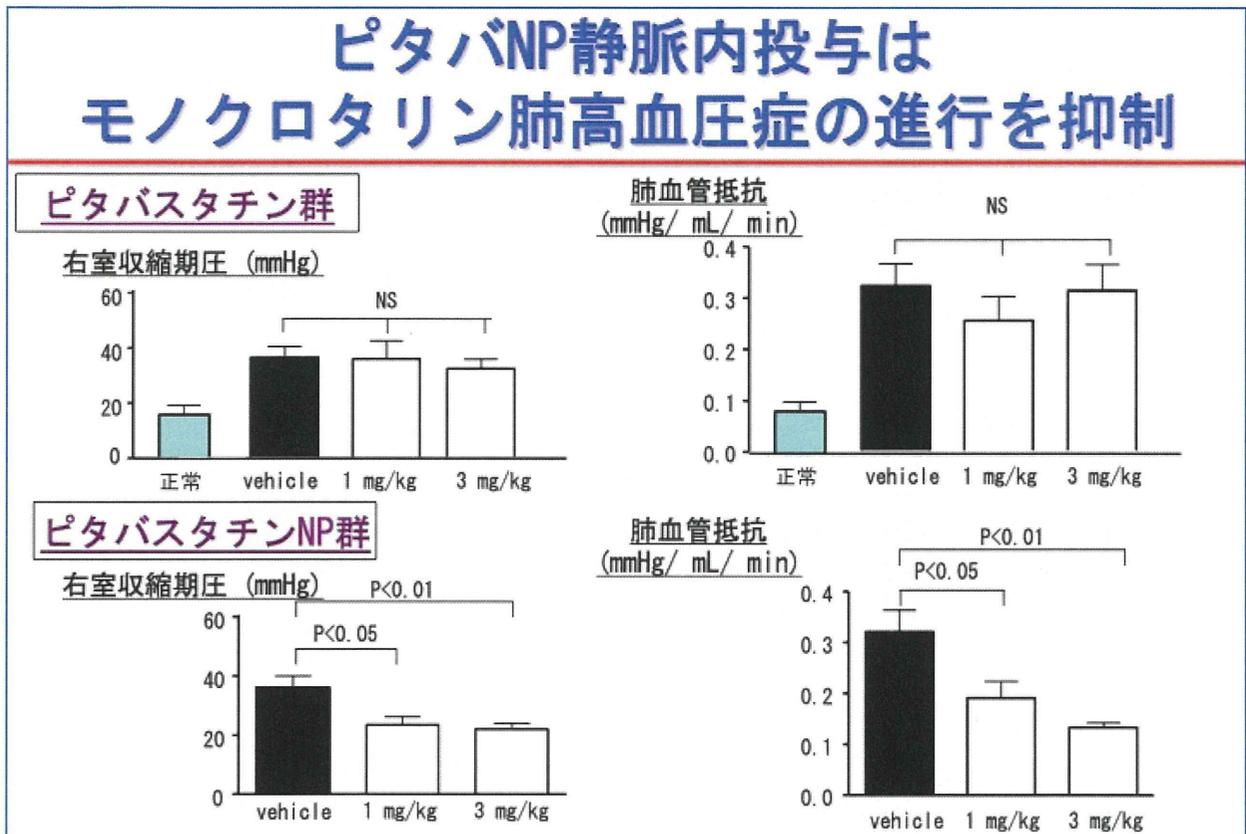
【問題解決のためのアプローチ】

ナノ DDS を活用した日本発の革新的な医薬品・医療機器開発は「新成長戦略 2009」のライフイノベーションによる健康大国戦略の優先施策であり、日本発世界標準医療につながる可能性がある。

申請者らは、難治性疾患克服事業（平成 21-23 年度、重点研究分野、スーパー特区研究）において、スタチン（HMG-CoA 還元酵素阻害薬）の血管保護作用に注目して研究し、（1）ピタバスタチンがもっとも強力な血管保護作用を有すること、（2）培養ヒト肺動脈細胞においてピタバスタチン封入ナノ粒子製剤（ピタバ NP）はピタバスタチン単独と比較して、より優れた増殖抑制作用を示すこと、（3）ピタバ NP 気管内投与によ

って肺高血圧症モデル（次ページの図：生命予後の改善に伴って右心室圧の低下が認められた）や急性肺傷害モデル、慢性閉塞性肺疾患モデルの病態が著明に改善すること、を明らかにした（Egashira K et al. Hypertension. 2011）。

図3 ピタバ NP 静脈内投与による肺高血圧症進行抑制作用



【目的】

本研究の目的は重症肺高血圧症の予後と QOL を改善する低侵襲かつ安全・安心なピタバ NP 製剤を希少疾病用医薬品として実用化（国内での薬事承認を最終目標）するための臨床試験を行い、Proof of Concept (POC) を取得することである。具体的には、以下の臨床治験と非臨床試験を実施する。

- (1) ピタバ NP 注射製剤を用いた第 I 相試験（治験）（単回静脈内投与試験、反復投与試験）
- (2) POC 取得のための探索的第 II 相試験の開始
- (3) ピタバ NP 吸入投与の治験を実施するための非臨床試験（製剤の最適化と安全性試験）と第 I 相試験（治験）

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

【期待される成果】

安心安全の革新的低侵襲ナノ医療の実現：

ピタバ NP 注射製剤あるいは吸入製剤の実用化によるピタバスタチンの病巣選択的送達が可能になれば、重症肺高血圧症に対する革新的低侵襲治療法となり、患者の QOL・生命予後の改善や早期社会復帰を可能とする高効果・低副作用の低侵襲医療が達成できる。日本発の革新的低侵襲ナノ治療が創出される点で臨床的意義は大きい。

本ナノ DDS 技術は肺高血圧症以外の難治性疾患（特発性間質性肺炎・肺線維症、びまん性汎細気管支炎）や閉塞性肺疾患、肺ガンの治療にも応用できることから（適応拡大）、臨床的ならびに市場的重要性が高い。

ピタバスタチン以外のコンセプトの異なる新薬とナノ DDS 技術の融合によって、全く新しいナノ粒子製剤の実用化も可能であり、将来性も高い。

国民・社会への貢献：

生活の質や予後を改善する高効果・低副作用の希少疾病用医薬品が実用化できる。

また、国際競争力を有する「世界標準」ナノ医療の誕生によって、新しい医療産業がもたらされ雇用が創出できることから、我が国の医療産業の競争力強化への貢献も極めて大きい。

【行政への貢献】

本研究は日本発の独創的なナノ医療を創出することに焦点を絞ったナノ医工薬学融合研究であるだけでなく、適切な日本企業の参加によって推進される産官学連携による実用化を目指した研究開発である。

新成長戦略 2010 のライフイノベーションによる健康大国戦略に沿った研究開発であり重要性は極めて高い。新産業の創出がもたらされることから、厚生労働科学に対する貢献は充分大きい。

4. 独創的な点と特色

ピタバ NP は気管内投与、あるいは静脈内投与によって、肺の責任病変に送達され、肺細動脈病変の進行を抑制するだけでなく、治癒に導くことが出来る効果を有している。このように格段に優れた治療効果と低副作用の医薬品はこれまでに全く無いことから、独創性が極めて高い。

ピタバ NP の国内外特許は各国で登録されつつある（国内特許登録、欧州特許登録、米国特許審査中、中国特許登録、その他は審査中）。

本研究は、先端医療開発スーパー特区の研究課題であり、九州大学に設備された分子イメージングシステム（256 列 Brilliance™ iCT、超音波診断装置 VEVO2100、血管造影装置、分子標的造影剤 nanotracker）を活用して、分子細胞病態の解析とナノ治療の効果を評価できるので、格段に優れた成果が期待できる。

5. 研究計画・方法

【実用化を目指した研究開発体制】

本研究開発は研究代表者の江頭が統括し、以下の課題を推進する：

- (1) ピタバ NP 注射製剤を用いた第Ⅰ相試験（治験）（単回静脈内投与試験、反復投与試験）
 - (2) POC 取得のための探索的第Ⅱ相試験の開始
 - (3) ピタバ NP 吸入投与の治験を実施するための非臨床試験（製剤の最適化と安全性試験）と第Ⅰ相試験（治験）
- 分担研究者の中西は、橋渡し拠点である ARO 次世代医療センターのセンター長として、医師主導治験のための倫理審査・臨床試験計画立案・薬事・試験物製造や管理などの業務支援を行う。
 - 興和株式会社はピタバスタチン内服製剤（リバロ錠）の研究開発・販売の実績があり、ピタバスタチンに関する豊富な情報・経験を有することから、本研究開発について提携し、ピタバ NP 注射製剤の製造、吸入製剤の設計・開発および安全性試験などを担当する。
 - 治験は文科省の橋渡し拠点である九州大学病院の ARO 次世代医療センターで行う。
 - 承認申請資料のデータマネジメントなどは医薬品医療機器総合機構（PMDA）審査官の経験を持ち、レギュラトリーサイエンスの専門家である戸高が担当する。
 - 承認に支障が生じないように、医師主導治験の実施に際しては規制当局である PMDA と適宜情報交換する。既に、ピタバ NP 静脈内投与による第Ⅰ相医師主導治験を実施することの妥当性、およびピタバ NP 吸入製剤での治験を実施するために PMDA 新薬審査第二部と事前面談を行った。

【研究計画】

治験デザインや非臨床試験パッケージについては、PMDA の薬事戦略相談を行い、必要に応じて修正する。また、治験実施に当たっては、希少疾病用医薬品申請を行い、早期実用化を目指す。

(1) 医師主導治験の実施

- ① 第Ⅰ相単回静脈内投与試験：平成 24 年度
第Ⅰ相単回静脈内投与試験を実施する。
- ② 第Ⅰ相反復静脈内投与試験：平成 25 年度
第Ⅰ相単回静脈内投与試験終了後、第Ⅰ相反復静脈内投与試験を実施する。
- ③ 探索的第Ⅱ相試験：平成 25～26 年度
第Ⅰ相反復静脈内投与試験終了後、探索的第Ⅱ相試験を実施する。

(2) ピタバ NP の非臨床試験など

- ① ピタバ NP 注射製剤治験薬製造：平成 24 年度
医師主導治験のための治験薬製造を行う。

② 薬効薬理試験：平成 24～26 年度

薬効発現に最適な臨床における用法用量設定のための薬効薬理試験をマウス、ラット、ウサギ、サルなどで実施する。

③ 安全性試験：平成 24～25 年度

探索的 第 II 相試験を実施する前に、GLP 基準下でマウス、ラット、イヌにおける 12 週間反復投与毒性試験を実施する。

(3) NK-104-NP 吸入製剤の開発と治験

① 吸入製剤処方検討：平成 24 年度

ピタバ NP をマイクロサイズに複合化するために最適な賦形剤と製造条件の検討を行って、吸入投与に最適な粒子径分布の吸入製剤を作製し、吸入製剤の再分散性の評価を行う。

② ピタバ NP 吸入製剤の試作：平成 25 年度

最適な処方を選択した NK-104-NP 吸入製剤の試作を行う。

③ ピタバ NP 吸入製剤の吸入デバイスの評価：平成 25～26 年度

選択した吸入製剤に適合する吸入デバイスを検討し、肺深部への送達の評価を行う。

④ ピタバ NP 吸入製剤の GMP 製造：平成 26 年度

ピタバ NP 吸入製剤の GMP 製造の検討を行う。

※静脈内投与による治験を先行実施し、静脈内投与による治療の早期実用化を目指す。同時に、より低侵襲で安全安心な吸入製剤を早期実用化するため、更なる製剤改良を継続検討する。

6. 平成24年度の成果

【当初の研究計画との比較】

薬理薬効試験で有効性が得られただけで無く、特許の登録、治験薬 GMP 製造、非臨床試験（安全性試験 etc）の成果に基づく「対面助言」、を実施した。対面助言では現在保有する非臨床データ及び今後実施する毒性試験の結果から、第Ⅰ相単回投与試験の投与量を設定し、本治験を進めることで合意した。

非臨床試験を追加で実施するため、24年度に実施予定であった PhaseⅠ試験の開始が1年遅れることになった。しかし、この追加試験によって「より高用量」の投与が出来ることから、全体の年次計画に遅れは生じない。むしろ、有効性への期待は大きくなった。したがって、24年度の進捗は当初の予定と比較して、100%得られたと判断できる。

【実用化を目指した研究開発体制の進捗】

1. 特許1（スタチン封入ナノ粒子含有医薬組成物）：

日本特許登録、アメリカ特許登録、EU、中国、インドなど順次登録予定

2. 特許2（肺疾患治療薬）：

日本特許登録、アメリカ特許登録、EU、中国、インドなど順次登録予定

3. 医薬品医療機器総合機構(PMDA)との情報交換：

平成24年11月14日に「対面助言」を実施した。ピタバ NP 製剤の PhaseⅠ試験の実施とデザインについて相談し合意を得た（資料添付）。PMDA との合意に沿って、追加で前臨床試験を25年度前半期に実施する。そのため、治験届けの提出は25年度後半期になる予定である。

4. 臨床治験を推進するために、多数の第一相臨床治験を実施している医療法人相生会臨床薬理センター 博多クリニックの白源正成院長を分担研究者として迎えた。

【研究開発項目ごとの全体計画と年次計画の進捗】

(1) 医師主導治験の実施

① 第Ⅰ相単回静脈内投与試験

ピタバ NP 注射製剤を用いた第Ⅰ相単回静脈内投与試験を早期に実施するため、以下の対応を行った。

1) PMDA との薬事戦略相談

PMDA 薬事戦略相談室との薬事戦略相談を行い、①現時点で得られている有効性試験および安全性試験（GLP）の成績で、第Ⅰ相医師主導治験を実施することの妥当性、②静脈内投与での治験を実施する上で必要とされる有効性試験および安全性試験について相談を行った。

2) PMDA との薬事戦略相談対面助言

PMDA 新薬審査第二部および薬事戦略相談室と薬事戦略相談対面助言を行い、①これまでに得られている非臨床試験データに基づき第Ⅰ相単回持続点滴静脈内投与試験を実施することの妥当性、②第Ⅰ相単回持続点滴静脈内投与試験計画について相談を行った。

(2) ピタバ NP の非臨床試験など

① ピタバ NP 注射製剤治験薬製造

医師主導治験として行う第 I 相単回持続点滴静脈内投与試験の開始に合わせ、治験薬を準備するために必要となる対応を検討した。

② 薬効薬理試験

薬効発現に最適な臨床における用法用量設定のための薬効薬理試験をラットモノクロタリン誘発性肺高血圧症モデルで実施した。モノクロタリンとピタバ NP の同時投与による予防実験プロトコールおよびモノクロタリン投与から 14 日経過させ、肺高血圧症が確立された事を心エコー（超音波診断装置 VEVO2100）で確認を行った後、ピタバ NP 投与を行い、治療実験プロトコールを実施した。その結果、いずれのプロトコールにおいても、適切な用量反応性が得られ、非臨床 POC が取得された。

③ 安全性試験

医師主導治験として行う第 I 相単回持続点滴静脈内投与試験の実施のため、安全性試験を実施するために必要な各種非臨床試験、安全性試験および安全性薬理試験を行った。

1) 安全性試験を実施するために必要な各種非臨床試験

安全性試験を実施するために必要な、ピタバ NP 製剤の投与検体中のピタバスタチン濃度分析簡易バリデーション試験、ピタバ NP の原体の含量および安定性試験、ピタバ NP の投与調整液の安定性検討試験、ピタバ NP の投与検体の安定性および均一性試験を行った。

2) 安全性試験

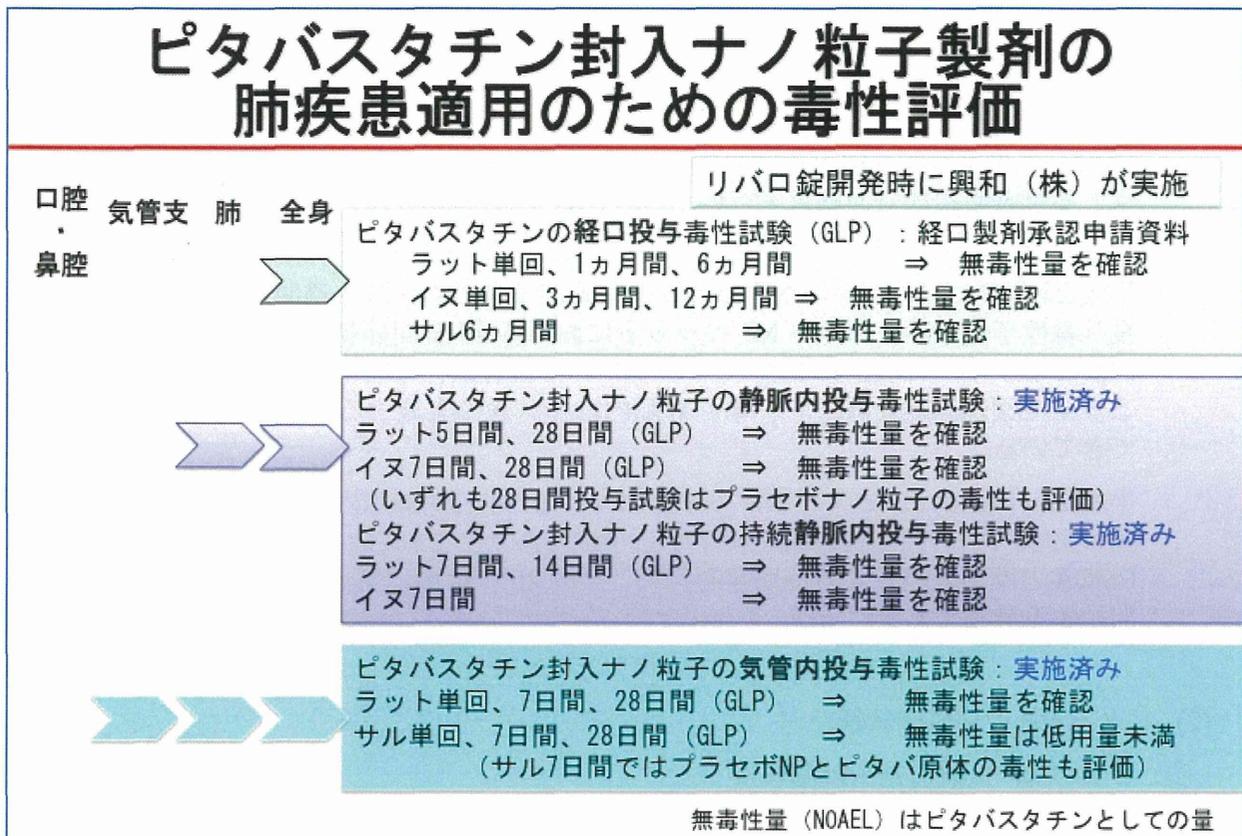
i) ラットおよびイヌにおける 1 週間静脈内持続注入反復投与毒性予備試験

臨床処方製剤により臨床用法に準じた方法でラットおよびイヌにおける 1 週間の反復投与毒性予備試験を実施した。その結果、ピタバ NP は投与部位への局所的な障害を持つものの、全身への影響を及ぼさないと判断された。ピタバ NP の無毒性量が確認された。

ii) ピタバ NP のラットおよびイヌにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験

臨床処方製剤により臨床用法に準じた方法でラットにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験を実施した。その結果、これまでと同様、高用量投与群で投与部位への局所的な障害が認められたが、この障害も回復期間終了時には回復していることが確認された。ピタバ NP の無毒性量が確認された。また、イヌにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験の試験計画書の作成を行った（図 4）。

図4 ピタバ NP 製剤の肺疾患適用のための毒性評価



3) 安全性薬理試験

臨床処方製剤により臨床用法に準じた方法でラット呼吸器系および中枢神経系、イヌ心血管系の安全性薬理試験を実施した。その結果、投与したいずれの投与量においてもラット呼吸器系および中枢神経系、イヌ心血管系への影響は認められなかった。

(3) ピタバ NP 吸入製剤の開発と治験

① 吸入製剤処方検討

1) 第4回粉末吸入剤研究会シンポジウムでの情報収集

吸入剤の開発には、製剤と吸入デバイスの組み合わせからなる吸入システムを開発する必要があり、吸入システム開発時の課題として、吸入試験法の整備、非臨床試験における経肺投与方法の確立、吸入システムの最適化などが挙げられる。粉末吸入剤の開発における課題として、日本では送達量の均一性試験法と空気力学的粒度分布試験法が一般試験法において設定されていないことから、これらが整備される必要がある。また、安全性試験においては、動物における経肺投与方法の確立が課題であり、特に、小動物を用いた非侵襲的・長期間投与可能な経肺投与方法が確立されることが必要である。

7. 考察と今後の展開

(1) 医師主導治験の実施

① 第Ⅰ相単回静脈内投与試験

PMDA 薬事戦略相談室との薬事戦略相談、PMDA 新薬審査第二部および薬事戦略相談室と薬事戦略相談対面助言を行い、ピタバ NP 注射剤を用いた静脈内持続投与での第Ⅰ相単回投与試験を実施するために必要となる試験項目を確認することができた。

平成 24 年度には、ピタバ NP のラットおよびイヌにおける 1 週間静脈内持続注入反復投与毒性予備試験、ピタバ NP のラットにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験、ピタバ NP の心血管系、呼吸系および中枢神経系における安全性薬理試験を終了し、単回静脈内投与試験の実施するためのデータが蓄積されてきている。

平成 25 年度には、ピタバ NP のイヌにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験を終了する予定であり、これらの試験の結果を基にして、PMDA と薬事戦略相談対面助言を行い、平成 25 年度中に第Ⅰ相単回静脈内投与試験を開始する計画である。

(2) ピタバ NP の非臨床試験など

① ピタバ NP 注射剤治験薬製造

医師主導治験として行う第Ⅰ相単回持続点滴静脈内投与試験の開始に合わせ、平成 25 年度に治験薬の準備を行う。

② 薬効薬理試験

ラットモノクロタリン誘発性肺高血圧症モデルにおいて、ピタバ NP の予防効果と治療効果が明らかになり、非臨床 POC が取得されたことから、平成 25 年度は生命予後曲線の解析ならびに機序の解明の研究を推進する。

さらに、ピタバ NP の有効性と優位性を明らかにするために、既存の市販薬（PGI2 アナログ、PDE 阻害薬など）と比較研究を実施する。

③ 安全性試験

医師主導治験として行う第Ⅰ相単回持続点滴静脈内投与試験の実施に必要な安全性試験がほぼ終了した。平成 25 年度にピタバ NP のイヌにおける 14 日間静脈内持続注入反復投与毒性試験および 14 日間回復試験を行う。

(3) ピタバ NP 吸入剤の開発と治験

これまでに検討した製剤化技術では、ピタバ NP をマイクロサイズに複合化し、ターゲット部位でナノサイズのピタバ NP へと再分散させることが困難であった。この問題点を解決できる製剤化技術の課題が抽出できたため、今後も継続して情報収集等を行い、ピタバ NP 吸入剤の可能性を検討する。製剤化に成功した場合には、臨床試験開始に必要な安全性試験や GMP 製剤の製造の検討を行う。

8. 健康危険情報

なし

9. 研究発表

- 1) 国内 口頭発表： 4件
 - 原著論文による発表： 0件
 - それ以外（レビュー等）の発表： 2件
- 2) 国外 口頭発表： 1件
 - 原著論文による発表： 2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 0件：

国内公開 0件

国際公開 0件

登録 2件：

発明の名称：スタチン封入ナノ粒子含有医薬組成物
特許第 4881385 号（登録日、平成 23 年 12 月 9 日(2011.12.9)）
日本特許登録、アメリカ特許登録、EU、中国、インドなど順次登録予定

発明の名称：肺疾患治療薬
特許第 4896220 号（登録日、平成 24 年 1 月 6 日(2012.1.6)）
日本特許登録、アメリカ特許登録、EU、中国、インドなど順次登録予定

【研究成果の刊行に関する一覧表】

(1) 学会誌など発表

<英文原著>

1. Nagahama R, Matoba T, Nakano K, Kim-Mitsuyama S, Sunagawa K, Egashira K: Nanoparticle-Mediated Delivery of Pioglitazone Enhances Therapeutic Neovascularization in a Murine Model of Hindlimb Ischemia. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2012; 32(10): 2427-2434.
2. Tsukie N, Nakano K, Matoba T, Masuda S, Iwata E, Miyagawa M, Zhao G, Meng W, Kishimoto J, Sunagawa K, Egashira K: Pitavastatin-Incorporated Nanoparticle-Eluting Stents Attenuate In-Stent Stenosis without Delayed Endothelial Healing Effects in a Porcine Coronary Artery Model. **J Atheroscler Thromb.** 2013; 20(1): 32-45.

(2) 口頭発表

<国内学会>

1. 第46回粉体工学に関する講演討論会（平成24年9月27日、東京）江頭健輔：血管内皮細胞選択的ナノDDS技術を基盤とする革新的低侵襲治療的血管新生方法（重症虚血治療的ナノ粒子製剤の実用化）（招待講演）
2. 第12回Cardiovascular Frontier Conferenceプログラム（平成24年10月6日、東京）江頭健輔：心血管病に革新的治療効果を示すナノ医療の実用化と臨床治験（特別講演）
3. NEDO「基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発」成果報告会（平成24年10月11日、神奈川）江頭健輔：血管内皮細胞選択的ナノDDS技術開発を基盤とする革新的低侵襲治療的血管新生療法の実現のための橋渡し研究（ピタバスタチン封入ナノ粒子製剤の研究開発）
4. 第32回日本川崎病学会・学術集会（平成24年10月13日、東京）江頭健輔：ナノテクノロジーを用いたdrug delivery system（ナノDDS）による心血管病に対する革新的治療実用化（特別講演）

<国際学会>

1. The 4th Oriental Congress of Cardiology & The 5th AICT (May 26, 2012, Shanghai) Egashira K: Nanoparticle-mediated delivery of pitavastatin via pulse infusion drug delivery catheter attenuates neointima formation after balloon injury in porcine coronary arteries. (Invited lecture)

2. Scientific Sessions 2012 of the American Heart Association (November 3-7 2012, Los Angeles) Ikeda G, Matoba T, Nakano Y, Nagaoka K, Nakano K, Sunagawa K, Egashira K: Nanoparticle-Mediated Selective Delivery into Lesions of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury Enhances Cardioprotection by Cyclosporine A in Mice
3. Scientific Sessions 2012 of the American Heart Association (November 3-7 2012, Los Angeles) Nagaoka K, Matoba T, Nakano K, Sunagawa K, Egashira K: A New Therapeutic Modality for Ischemia-Reperfusion Injury: Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin into Reperfused Myocardium Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Rats

(3) 出版物

< 著書 >

1. 中野覚、江頭健輔：第2章 徐放技術の医療応用 4. 新規治療 8) ナノDDS ステントを用いた血管内治療の臨床への応用. 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) メディカルドゥ 2013 ; 240-245

< 総説 >

1. 中野覚、由布威雄、江頭健輔：ナノDDSデバイスを用いた血管内治療の臨床応用. Drug Delivery System 日本DDS学会 2012; 27(4): 275-282

【研究成果の刊行物・別刷】

○をつけた論文の別刷あるいは資料を次のページ以降に添付します。

Nanoparticle-Mediated Delivery of Pioglitazone Enhances Therapeutic Neovascularization in a Murine Model of Hindlimb Ischemia

Ryoji Nagahama, Tetsuya Matoba, Kaku Nakano, Shokei Kim-Mitsuyama, Kenji Sunagawa, Kensuke Egashira

Objective—Critical limb ischemia is a severe form of peripheral artery disease (PAD) for which neither surgical revascularization nor endovascular therapy nor current medicinal therapy has sufficient therapeutic effects. Peroxisome proliferator activated receptor- γ agonists present angiogenic activity in vitro; however, systemic administration of peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonists is hampered by its side effects, including heart failure. Here, we demonstrate that the nanoparticle (NP)-mediated delivery of the peroxisome proliferator activated receptor- γ agonist pioglitazone enhances its therapeutic efficacy on ischemia-induced neovascularization in a murine model.

Methods and Results—In a nondiabetic murine model of hindlimb ischemia, a single intramuscular injection of pioglitazone-incorporated NP (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) into ischemic muscles significantly improved the blood flow recovery in the ischemic limbs, significantly increasing the number of CD31-positive capillaries and α -smooth muscle actin-positive arterioles. The therapeutic effects of pioglitazone-incorporated NP were diminished by the peroxisome proliferator activated receptor- γ antagonist GW9662 and were not observed in endothelial NO synthase-deficient mice. Pioglitazone-incorporated NP induced endothelial NO synthase phosphorylation, as demonstrated by Western blot analysis, as well as expression of multiple angiogenic growth factors in vivo, including vascular endothelial growth factor-A, vascular endothelial growth factor-B, and fibroblast growth factor-1, as demonstrated by real-time polymerase chain reaction. Intramuscular injection of pioglitazone (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was ineffective, and oral administration necessitated a >500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day dose to produce therapeutic effects equivalent to those of pioglitazone-incorporated NP.

Conclusion—NP-mediated drug delivery is a novel modality that may enhance the effectiveness of therapeutic neovascularization, surpassing the effectiveness of current treatments for peripheral artery disease with critical limb ischemia. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:2427-2434.)

Key Words: endothelium ■ nitric oxide synthase ■ peripheral arterial disease ■ nanoparticle ■ pioglitazone

Peripheral artery disease (PAD) is a common disorder that causes claudication, ischemic pain, and ulcers in the lower extremities and that often requires limb amputation when it develops into critical limb ischemia (CLI). Currently, there is no effective medicinal therapy for CLI. The standard therapy for CLI is lower-extremity revascularization, either by bypass surgery or by endovascular therapy, or lower limb amputation, which is associated with a poor prognosis when revascularization is not applicable. Surgical revascularization is associated with $\approx 5\%$ perioperative mortality rate and a complication rate of 30% to 50%.^{1,2} Endovascular therapy is an option for selected patients with CLI; however, this therapy is rarely an option and is associated with inferior patency. Hence, there is an unmet need for less invasive medical therapies to improve

the quality of life and prognosis of patients with peripheral artery disease.

See accompanying article on page 2337

The peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ) agonists thiazolidines (TZDs) are in clinical use for treating type 2 diabetes mellitus to improve insulin sensitivity in skeletal muscles. PPAR- γ is also expressed in vascular cells, and the TZDs troglitazone and pioglitazone stimulate the migration, proliferation, and survival of endothelial cells and endothelial progenitor cells via the expression of growth factors and cytokines in vitro.^{3,4} This effect suggests that TZDs may enhance ischemic neovascularization. By contrast, the high-dose TZDs troglitazone and rosiglitazone suppress vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced

Received on: June 6, 2012; final version accepted on: July 25, 2012.

From the Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan (R.N., T.M., K.S.); Department of Cardiovascular Research, Development, and Translational Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan (K.N., K.E.); and Department of Pharmacology and Molecular Therapeutics, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan (S.K.-M.).

The online-only Data Supplement is available with this article at <http://atvb.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/ATVBAHA.112.253823/-DC1>.

Correspondence to Tetsuya Matoba, MD, PhD, Department of Cardiovascular Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, 3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan. E-mail matoba@cardiol.med.kyushu-u.ac.jp

© 2012 American Heart Association, Inc.

Arterioscler Thromb Vasc Biol is available at <http://atvb.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.253823