

201309005A

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・治験推進研究事業)

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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 坂田 隆造

平成 26 (2014) 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・治験推進研究事業)

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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 坂田 隆造

平成 26 (2014) 年 5 月

目 次

平成25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・治験推進研究事業）

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	-----	1
・総括研究報告	-----	2
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臨床研究総合センター 丸井 晃	
・平成25年度 坂田班 班会議開催状況報告	-----	10
・先進医療に係る定期・総括報告書	-----	11
II. 分担研究報告	-----	18
・分担研究報告 1	-----	19
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	-----	21
研究分担者	京都大学医学部附属病院臨床研究総合センター 清水 章	
・分担研究報告 3	-----	23
研究分担者	京都大学医学部附属病院臨床研究総合センター 横出 正之	
・分担研究報告 4	-----	26
研究分担者	京都大学大学院医学研究科 森田 智視	
・分担研究報告 5	-----	28
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	-----	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	36

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 京都大学大学院医学研究科
心臓血管外科
研究代表者 坂田 隆造
研究分担者 丸井 晃

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内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、を計画している。研究開始当初は基礎研究として、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」、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」、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」の基礎的検討を行う計画であったが、該当技術の臨床応用のための前臨床研究以外の基礎的研究は当科学研究費の趣旨に合致しないことを昨

年に指摘されたため、平成 25 年度以降は当研究費による前臨床研究以外の基礎的検討は行っていない。

今年度は臨床研究①②および②における前臨床基礎研究について報告する。

【臨床研究①】

先進医療 B「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

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>

京都大学大学院医学研究科 心臓血管外科学
京都大学医学部附属病院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>

京都大学医学部附属病院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>

京都大学医学部附属病院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>

京都大学医学部附属病院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。2013年3月には「先進医療に係る定時・総括報告書」の提出を完了した(別項「先進医療に係る定時・総括報告書」)。

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終了し、速やかに総括報告書の提出を完了した。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. 丸井 晃, 坂田 隆造 【血管炎-基礎と臨床のクロストーク-】 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 日本臨床. 2013, vol. 71, no. 増刊1 血管炎, p. 464-469.

著書

1. 丸井 晃, 坂田 隆造 【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 再生治療 血管. 遺伝子医学 MOOK. 2013, vol. 別冊, no. ここまで広がるドラッグ徐放技術の最前線, p. 143-147.
2. 熊谷 基之, 丸井 晃, 坂田 隆造. 第5節【9】心臓血管外科で起こるトラブルと求められる足場材料. 体内埋め込み医療材料の開発とその理想的な性能・デザインの要件. 技術情報協会. 2013, p. 80-83.

学会発表

1. 丸井 晃, 田畑 泰彦, 清水 章, 坂田 隆造 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.
2. 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.
3. 丸井 晃, 田畑 泰彦, 清水 章, 坂田 隆造 動脈硬化治療にせまる 近未来の内科と外科治療 バイオマテリアルを応用した心血管再生医療 心臓血管外科医の視点から 第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 2013.7.18-19. 東京都.
4. Kumagai M., Marui A., Tabata Y., Takeda T., Yamamoto M., Yonezawa A., Tanaka S., Yanagi S., Ito-Ihara T., Ikeda T., Murayama T., Teramukai T., Katsura T., Matsubara T., Kawakami K., Yokode M., Shimizu A., Sakata R.. Safety and Efficacy of Sustained Release of basic fibroblast growth factor Using Biodegradable Gelatin Hydrogel in Patients With Critical Limb Ischemia. American Heart Association. 2013.11.16-20. Texas, U.S.A..
5. 熊谷 基之, 丸井 晃, 田畑 泰彦, 吉川 英治, 武田 崇秀, 山本 雅哉, 米澤 淳, 池田

隆文, 松原 和夫, 川上 浩司, 森田 智視, 横出 正之, 清水 章, 坂田 隆造. 一般口演. 重症下肢虚血に対する生体材料 DDS を用いた血管新生療法. 第3回 DDS 徐放化再生医療研究会. 2013.11.23. 東京都.

6. Marui A., Tabata Y., Shimizu A., Sakata R.. Plenary Session . Biomaterial - Based Regenerative Therapy in Cardiovascular Field. 12th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems. 2013.12.16-20. Lahaina, Maui.

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が完了し（臨床研究②-2）、引き続き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計画しており、大動物による前臨床試験が終了したため、それに引き続き臨床試験を行うべく準備を進めている。

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していない。

G. 研究発表

論文発表

1. Minakata K., Sakata R.. Perioperative control of blood glucose level i
2. n cardiac surgery. General Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2013, vol. 61, no. 2, p. 61-66.
3. Yamazaki K., Tanaka S., Sakata R., Miwa S., Oriyanhan W., Takaba K., Minakata K., Marui A., Ikeda T., Toyokuni S., Komeda M., Ueda K.. Protective effect of cardioplegia with poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor against

- myocardial ischemia-reperfusion injury: In vitro study of isolated rat heart model. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2013, vol. 28, no. 1, p. 143-147.
4. 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, p. 8-14.
 5. Masumoto H., Yamashita JK., Strategies in cell therapy for cardiac regeneration. *Inflammation and Regeneration*. 2013, 33(2), p 114-20. Review.
 6. Marui A., Okabayashi H., Komiya T., Tanaka S., Furukawa Y., Kita T., Kimura T., Sakata R. The CREDO-Kyoto Investigators. Impact of occult renal impairment on early and late outcomes following coronary artery bypass grafting. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2013, vol. 17, no. 4, p. 638-643.
 7. Nakano J., Marui A., Muranaka H., Masumoto H., Noma H., Tabata Y., Ido A., Tsubouchi H., Ikeda T., Sakata R.. Effects of hepatocyte growth factor in myocarditis rats induced by immunization with porcine cardiac myosin. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2013
 8. Uehara K., Minakata K., Funamoto M., Yamazaki K., Marui A., Sakata R.. Alternative redo sternotomy in a patient with tracheostoma and patent grafts. *Asian Cardiovascular and Thoracic Annals*. published online 9 October 2013.
 9. Nakano J, Okabayashi H, Noma H, Sato T, Sakata R. Early angiographic evaluation after off - pump coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2013;146(5):1119-25.
 10. 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
 11. 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;77(6):1508-17.

著書

1. 船本 成輝, 南方 謙二, 山崎 和裕, 川東 正英, 瀬戸崎 修司, 武田 崇秀, 恒吉 裕史, 丸井 晃, 坂田 隆造. 【重症心不全に対する外科治療】機能性僧帽弁閉鎖不全症に対する左室形成術の適応と限界. *胸部外科*. 2013, vol. 66, no. 1, p. 17-23.
2. 南方 謙二, 坂田 隆造. 【胸部外科領域における再手術-最近の動向】心臓血管領域弁手術後冠状動脈バイパス術. *胸部外科*. 2013, vol. 66, no. 8, p. 618-624.
3. 丸井 晃, 木村 剛, 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, p. 16-22.
4. 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. 丸井 晃, 塩見 紘樹, 北 徹, 木村 剛, 坂田 隆造. シンポジウム 1. 新たなガイドラインを踏まえた LMT 治療戦略の検証 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.
2. 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 Heart 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.
3. Ohnaka M., Marui A., Yamahara K., Minakata K., Yamazaki K., Kumagai M., Masumoto H., Ikeda T., Sakata R.. Poster1. microRNA-145 Prevents Intimal Hyperplasia in Rabbit Vein Graft Disease Model by Regulation of Smooth Muscle Cell Phenotype. The 21st Annual Meeting Of The Asian Society For Cardiovascular And Thoracic Surgery. 2013.4.4-7. Kobe, Japan.
4. Masumoto H., Marui A., Ikeda T., Shimizu T., Okano T., Sakata R., Yamashita JK.. 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. 2013.4.4-7. Kobe, Japan.
5. Masumoto H., Marui A., Ikeda T., Shimizu T.,

- Okano T., Sakata R., Yamashita JK.. Poster Presentation II. Transplantation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Engineered Tissue Sheets with Defined Cardiovascular Cell Populations for Infarcted Rat Hearts. International Society for Stem Cell Research 11th Annual Meeting. 2013.6.12-15. Boston, U.S.A..
6. Ikuno T., Masumoto H., Marui A., Ikeda T., Sakata R., Yamashita JK.. Poster Presentation III. Efficient and Scalable Endothelial Cell Differentiation Method from Human Induced Pluripotent Stem Cells Based on 2-D Monolayer and Serum-Free Culture . International Society for Stem Cell Research 11th Annual Meeting. 2013.6.12-15. Boston, U.S.A.
 7. 中村 将基, 南方 謙二, 山崎 和裕, 瀬戸崎 修司, 川東 正英, 鄒 貴光, 武田 崇秀, 恒吉 裕史, 丸井 晃, 坂田 隆造. 優秀演題 1. 冠動脈口からステントが突出し、大動脈弁置換術に難渋した 2 症例. 第 56 回関西胸部外科学会学術集会. 2013.6.13-14. 広島市.
 8. 丸井 晃, 岡林 均, 小宮 達彦, 北 徹, 木村 剛, 坂田 隆造. シンポジウム 5. CABG グラフト選択 ~ CREDO-Kyoto CABG Registry からの検証~. 第 56 回関西胸部外科学会学術集会. 2013.6.13-14. 広島市
 9. 大仲 玄明, 丸井 晃, 山原 研一, 南方 謙二, 山崎 和裕, 熊谷 基之, 升本 英利, 池田 義, 坂田 隆造. 会長要望演題 1 新しい治療法. 自家静脈グラフトにおけるマイクロ RNA-145 を用いた血管平滑筋制御. 第 18 回日本冠動脈外科学会学術大会. 2013.7.11-12 福岡市.
 10. 山崎 和裕, 南方 謙二, 丸井 晃, 恒吉 裕史, 武田 崇秀, 瀬戸崎 修司, 川東 正英, 鄒 貴光, 中田 朋宏, 池田 義, 坂田 隆造. 会長要望演題 8 冠動脈再建・IMR. 当科における大動脈基部再建術の冠動脈再建法. 第 18 回日本冠動脈外科学会学術大会.2013.7.11-12. 福岡市.
 11. 南方 謙二, 恒吉 裕史, 山崎 和裕, 鄒 貴光, 瀬戸崎 修司, 川東 正英, 武田 崇秀, 中田 朋宏, 池田 義, 丸井 晃, 坂田 隆造. 会長要望ビデオ演題 3 再手術・複合手術. 川崎病後冠動脈狭窄に対する再冠動脈バイパス術. 第 18 回日本冠動脈外科学会学術大会. 2013.7.11-12. 福岡市.
 12. 中村 将基, 南方 謙二, 山崎 和裕, 船本 成輝, 瀬戸崎 修司, 川東 正英, 鄒 貴光, 武田 崇秀, 恒吉 裕史, 丸井 晃, 坂田 隆造. 会長要望ビデオ演題 4 吻合・MVP. 冠動脈分岐部狭窄に対する大伏在静脈の Y 字型吻合. 第 18 回日本冠動脈外科学会学術大会. 2013.7.11-12. 福岡市.
 13. 丸井 晃, 羽生 道弥, 小宮 達彦, 北 徹, 木村 剛, 坂田 隆造. シンポジウム 2. バイパスグラフトの遠隔成績 両側内胸動脈による CABG の功罪~CREDO-Kyoto CABG Registry Cohort-2~. 第 18 回日本冠動脈外科学会学術大会. 2013.7.11-12. 福岡市.
 14. Matsuo T., Masumoto H., Tajima S., Marui A., Ikeda T., Tabata Y., Sakata R., Yamashita JK.. Poster Session 2. An efficient piling up of pluripotent stem cell-derived cardiac tissue-like sheets that robustly promotes cell engraftment and ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction. ESC Congress2013. 2013.8.31-9.4. Amsterdam, Netherlands.
 15. Ikuno T., Masumoto H., Marui A., Ikeda T., Sakata R., Yamashita JK.. Rapid Fire - Remodelling the vessel wall . Efficient endothelial cell differentiation protocol from human induced pluripotent stem cells based on monolayer and serum-free culture for realization of vascular regenerative medicine. ESC Congress2013. 2013.8.31-9.4. Amsterdam, Netherlands.
 16. Marui A., Shiomi H., Kimura T., Tanaka S., Hanyu M., Komiya T., Kita T., Sakata R.. Surgical revascularisation: refining the outcomes. Impact of coronary artery bypass surgery on long-term outcomes in patients with heart failure: from the CREDO-Kyoto PCI/CABG registry Cohort-2 . ESC Congress2013. 2013.8.31-9.4. Amsterdam, Netherlands.
 17. Marui A., Kimura T., Hanyu M., Komiya T., Shiomi H., Kita T., Sakata R.. Impact of Coronary Artery Bypass Surgery on Long-Term Outcomes in Patients with Heart Failure :From The Credo-Kyoto Percutaneous Coronary Intervention/Coronary Artery Bypass Graft Registry Cohort-2. European Association For Cardio-Thoracic Surgery. 2013.10.5-9. Vienna, Austria.
 18. 山崎 和裕, 南方 謙二, 中村 将基, 鄒 貴光, 津丸 真一, 中根 武一郎, 川東 正英, 瀬戸崎 修司, 中田 朋宏, 吉川 英治, 阪口 仁寿, 丸井 晃, 池田 義, 坂田 隆造. ワークショップ (成人心臓 1). 機能性僧帽弁逆流に対して両乳頭筋間縫縮術の成績. 第 66 回日本胸部外科学会定期学術集会. 2013.10.16-19. 仙台市.
 19. 丸井 晃, 川東 正英, 井上 寛治, 田崎 淳一, 山崎 和裕, 南方 謙二, 阪口 仁寿, 吉

川 英治, 木村 剛, 坂田 隆造. ワークショップ (成人心臓 2). TEVAR/PCI 時代における虚血性心疾患を伴う胸部大動脈瘤の治療戦略. 第 66 回日本胸部外科学会定期学術集会. 2013.10.16-19. 仙台市.

20. Matsuo T., Masumoto H., Tajima S., Marui A., Minakata K., Ikeda T., Tabata Y., Sakata R., Yamashita JK.. Efficiently Piled-Up Cardiac Tissue-Like Sheets With Pluripotent Stem Cell-Derived Cells Robustly Promotes Cell Engraftment and Ameliorates Cardiac Dysfunction After Myocardial Infarction. American Heart Association. 2013.11.16-20. Texas, U.S.A..
21. Kumagai M., Marui A., Tabata Y., Takeda T., Yamamoto M., Yonezawa A., Tanaka S., Yanagi S., Ito-Ihara T., Ikeda T., Murayama T., Teramukai T., Katsura T., Matsubara T., Kawakami K., Yokode M., Shimizu A., Sakata R.. Safety and Efficacy of Sustained Release of basic fibroblast growth factor Using Biodegradable Gelatin Hydrogel in Patients With Critical Limb Ischemia. American Heart Association. 2013.11.16-20.
22. Marui A., Kimura T., Shiomi H., Tanaka S., Hanyu M., Komiya T., Kita T., Sakata R., The CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators. Impact of coronary artery bypass surgery in patients with ischemic heart failure: 5-year outcomes of the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2. American Heart Association. 2013.11.16-20. Texas, U.S.A..
23. Marui A., Kimura T., Shiomi H., Hanyu M., Komiya T., Kita T., Sakata R.. Percutaneous Coronary Intervention versus Coronary Artery Bypass Grafting in Patients with End-Stage Renal Disease Requiring Dialysis: 5-year Outcomes of the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Chort-2. American Heart Association. 2013.11.16-20. Texas, U.S.A..
24. Marui A., Tabata Y., Shimizu A., Sakata R.. Plenary Session. Biomaterial - Based Regenerative Therapy in Cardiovascular Field. 12th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems. 2013.12.16-20. Lahaina, Maui.

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】

イヌ慢性期虚血性心疾患モデルに対する、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートの心臓貼付による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。今回の研究は、イヌ慢性期虚血性心疾患モデルを用いて、bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルシートを心筋梗塞部及びその周囲の心表面に貼付した時の有効性及び安全性の評価を目的とする。

平成 24 年度は、心筋梗塞後慢性期に低左心機能を呈したイヌモデルの作製方法の検討を行った。今年度は、前臨床研究として、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行った。試験は昨年同様、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と共同で行っている。

B. 研究方法

病態モデルとして当該技術の臨床研究を行うにあたり、対象患者と同様なモデルが必要なため、イヌを用いて心筋梗塞後慢性期に低左心機能を呈したモデル作成を行った。まず、全身麻酔下にてビーグル犬(8~11kg)を左開胸し、冠動脈前下行枝及び第1~3対角枝を4-0 monofilament糸で結紮することで心筋梗塞を作製し、血行動態が安定している事を確認後閉胸した。4週後の超音波検査で左心室局所壁運動の低下及び心機能低下を確認し、慢性期虚血性心疾患モデルとした。

続いて、この慢性期虚血性心疾患モデルを全身麻酔下のもと再開胸し、生食のみをゼラチンハイドロゲルシートに含浸させた群(対照群)、及び bFGF(200µg)を含浸させた群(bFGF群)の2群に分け、それぞれのシートを心筋梗塞部及びその周囲を覆うように貼付し閉胸した。評価は、心筋梗塞作製前、治療前、治療3週後、及び治療6週間後に血液検査と心臓超音波検査による心機能測定を行った。また、治療6週後の検査後に犠牲死

させ、心臓及び他の臓器を摘出・固定を行い、組織学的評価を行った。

C. 研究結果

対照群は5匹、bFGF群は7匹で解析を行った。治療に起因した有害事象は認めず、血中bFGF濃度は全例検出限界以下だった。また、左室心筋に占める心筋梗塞による心筋線維化面積の割合は、両群間に優位差は認められなかった(対照群:15% vs. bFGF群:17%)。

心臓超音波検査による心機能評価では、治療前の左室内径短縮率(FS)は両群間で有意差が認められなかったが(対照群:13.9%±2.0 vs bFGF群:13.4±0.9%、 $p=0.62$)、治療3週間後にbFGF群でFSの改善が認められ(対照群:13.9%±3.3 vs bFGF群:17.8±0.1%、 $p<0.05$)、治療6週間後におけるbFGF群のFSも対照群と比べて有意な改善が認められた(対照群:11.9%±1.4 vs bFGF群:18.8±1.9%、 $p<0.01$)。現在、von Willebrand Factor(vWF)を用いた免疫組織学的評価において、対照群とbFGF群のそれぞれにおける心筋梗塞境界部、心筋梗塞部、及び心表面の毛細血管数評価を行っている(図1)。

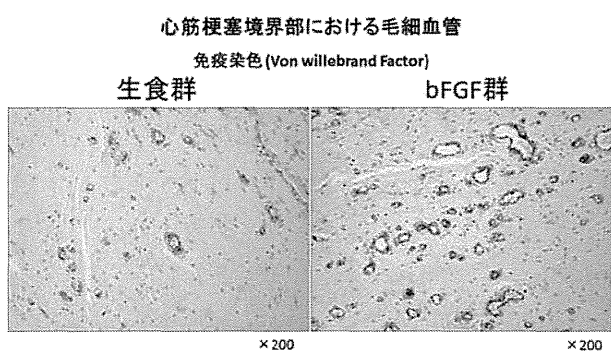


図1 vWFを用いた免疫染色による毛細血管数の評価(心筋梗塞境界部)

D. 考察

今回の研究は、今後の臨床研究を見据えての前臨床試験となるため、当該技術の有効性評価が非常に重要となる。当該技術の有効性評価のために、まずは臨床試験での対象患者と同様な慢性期に心機能低下をきたした虚血性心疾患モデル作製が必要である。心筋梗塞後慢性期を治療対象としているため、治療により心筋梗塞により線維化をきたした面積の大きさは変わらないと考えられるが、今回の結果において対照群とbFGF群との間に心筋線維化面積の割合に差が認められなかったということは、治療対象モデルとして適切であったと考える。

また、心臓超音波検査による心機能評価において、対照群と比べbFGF含浸ゼラチンハイドロゲルシート貼付により左室内径短縮率の改善が認められたことは、当該技術の有効性を裏付けている。平成26年度は、引き続き組織学的評価を行い、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を検討していく。

E. 結論

イヌ慢性期虚血性心疾患モデルに対し、200 μ gの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安全性および有効性試験を行ったところ、治療に起因した有害事象は認められず、心筋梗塞により低下した心機能を改善させる効果が認められた。今後は、組織学的評価でも検討を行い、臨床研究につなげていきたいと考える。

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

平成 25 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・治験推進研究事業）

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 25 年	5 月 24 日	(火)	(出席者 5 名)
第 2 回	平成 25 年	7 月 30 日	(火)	(出席者 4 名)
第 3 回	平成 25 年	10 月 1 日	(火)	(出席者 4 名)
第 4 回	平成 25 年	12 月 3 日	(火)	(出席者 4 名)
第 5 回	平成 25 年	2 月 4 日	(火)	(出席者 4 名)

先進医療に係る定期・総括報告書

1. 標題

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

先進医療名	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
実施医療機関名	京都大学医学部附属病院 計 1 施設
使用医薬品又は医療機器	bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒
先進医療承認日	2010 年 7 月 1 日
先進医療 (予定) 終了日	2013 年 1 月 1 日
倫理基準等の遵守	本試験は、「世界医師会ヘルシンキ宣言 (2008 年 10 月修正)」、「臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号)」、「厚生労働大臣の定める先進医療及び施設基準を定める件 (平成 20 年厚生労働省告示第 129 号)」、「厚生労働大臣の定める先進医療及び施設基準の制定等に伴う実施上の留意事項及び先進医療に係る届け出等の取扱いについて (平成 20 年 3 月 31 日付保医発第 0331003 号)」、及び「高度医療に係る申請等の取扱い及び実施上の留意事項について」 (平成 21 年 3 月 31 日付医政発 0331021 号)」を遵守して実施され、すべての試験にかかわる文書、資料及び試料は各責任部署において適切に保存されている。
報告書作成日	2013 年 2 月 12 日
実施責任医師	京都大学大学院医学研究科 器官外科学講座心臓血管外科学 教授 坂田 隆造 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54 電話 : 075-751-3780 FAX : 075-751-3098
実施者	京都大学医学部附属病院 探索医療センター 准教授 丸井 晃 探索医療センター 助教 武田 崇秀 探索医療センター 助教 柳 茂樹 心臓血管外科 医員 熊谷 基之
問い合わせ窓口	問い合わせ先 : 京都大学大学院医学研究科 器官外科学講座心臓血管外科学 教授 坂田 隆造 電話 : 075-751-3780 FAX : 075-751-3098

2. 概要

臨床研究登録 ID : UMIN000002671

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。

技術の内容 :

〔先進性〕

近年、糖尿病患者や高齢者の増加に伴い動脈硬化を原因とする下肢の閉塞性動脈硬化症が増加しており、血行改善薬などの内科的治療や下肢の血管拡張術・血栓除去術、動脈血栓除去術、血管移植術、バイパス移植術などの外科的治療はその治療に大きく貢献している。しかし、閉塞性動脈硬化症やバージャー病のために下肢切断を余儀なくされる患者も多く、現存の治療法が十分であるとは言い難い。

近年、新たな治療法として、虚血部周辺組織からの血管新生及び側副血行の発達を促し虚血組織の血流を確保するという血管新生療法が注目されている。この治療法には主として血管新生タンパクを投与する「タンパク治療」、血管新生タンパクを発現する遺伝子を投与する「遺伝子治療」、血管新生を促す細胞を移植する「細胞移植治療」があるが、「タンパク治療」は血管新生タンパクを全身へ大量・反復投与を必要とすることによる副作用、「遺伝子治療」には安全性に対する懸念や遺伝情報の発現コントロールが十分ではないという問題、「細胞移植治療」には移植細胞採取の侵襲性、手技的煩雑さ、倫理問題、高額な費用などの問題が存在していることから、新たな方策の開発が求められている。

そこで本治療は「タンパク治療」の問題点であった全身への大量反復投与による副作用を解決すべく、ドラッグデリバリーシステムである生体吸収材料（ゼラチンハイドロゲル）を開発し、血管新生タンパクを十分かつ必要期間及び必要部位に作用させることを可能とした。このゼラチンハイドロゲルは血管新生タンパクの生理活性を保ったままで固定化包含できること、また血管新生タンパクを含んだゼラチンハイドロゲルが生体内で分解される期間を調整できることから、1回の局所投与にて、必要部位における血管新生タンパクの濃度維持が可能である。また、「遺伝子治療」や「細胞移植治療」と比較し、患者投与までの手技が非常に簡便であり低コストであることも特徴である。

〔概要〕

トラフェルミン（bFGF）を生理食塩水で溶解し、濾過滅菌後にゼラチンハイドロゲルに浸潤させ、注射剤を用時調製した。

腰椎麻酔下で、この bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲル 1 mL ずつを虚血下肢腓腹筋に 40 箇所（計 40 mL bFGF として計 200 μ g）注射した。

患者数

①計画時 : 10 例

②終了時 : 最大の解析対象集団 (FAS) 10 例、安全性解析対象集団 10 例

【②/③ : 約 0.0025%、②/④ : 約 0.03~0.05%】

③日本国内における当該疾病患者数 : 推定約 40 万人（患者数の根拠 : 末梢閉塞性動脈疾患の治療ガイドライン及び血管炎症候群の診療ガイドライン）

④日本国内における当該技術の対象となる患者数 : 推定約 2~3 万人 [患者数の根拠 : Trans-Atlantic Inter-Society Consensus II (TASC II) (J Vasc Surg. 2007 Jan;45 Suppl S:S5-67.)、末梢閉塞性動脈疾患の治療ガイドライン及び血管炎症候群の診療ガイドライン]

⑤考察 : 登録期間 15 か月間で、総紹介患者数 78 名のうち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）を有する患者は 62 名であった。そのうち重症下肢虚血患者は 34 名であり、最終的に 10 名が登録された。15 か月間の登録期間中に総紹介患者のうち 13% (10/78 名) が治療適応であった。

診断及び主要な組入れ基準：

[対象疾患]

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）

[選択基準]

- (1) 下肢末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症又はバージャー病）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又は広範な壊疽のいずれも認めない。
- (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（PTA）〕又は外科的治療（バイパス血行再建術など）を施行した後も、臨床症状の改善が得られない患者である。
- (4) 治療開始 4 週間以内に下肢大切断（足関節以上）を受ける可能性がないと判断される。
- (5) 登録時の年齢が 20 歳以上 80 歳未満である。
- (6) 骨髄、肝機能が保持されている。（登録前 4 週間以内の最新の検査）
 - ・ ヘモグロビン量 ≥ 10.0 g/dL
 - ・ 血小板数 ≥ 7.0 万/ μ L
 - ・ GOT/AST ≤ 100 IU/L
 - ・ GPT/ALT ≤ 100 IU/L
- (7) 試験参加について、患者本人から文書による同意が得られている。

[除外基準]

- (1) 下肢血行再建術（外科的バイパス術、PTA）後 3 か月以内である。
- (2) 冠動脈バイパス術（CABG）又は経皮的冠動脈形成術（PCI）施行後 3 か月以内である。
- (3) 以下の薬剤を投与中で、症状悪化の可能性のために中止することが困難である。
 - ・ アルプロスタジル（リプル®、パルクス®など）
 - ・ アルプロスタジルアルファデクス（プロスタンディン®など）
 - ・ アルガトロバン（ノバスタン®、スロンノン®など）ただし、試験治療開始（bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒の投与）1 週間前から、本試験の観察期間（bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒の投与後 24 週まで）終了まで中止可能と判断できる場合は登録可とする。
- (4) 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（HbA1c > 10%）
 - ・ 余命が 1 年以内と考えられる合併症
- (5) 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又は薬物依存を認めた
- (6) 現在、慢性腎不全により維持透析中である。
- (7) 糖尿病性網膜症（増殖前糖尿病性網膜症又は増殖糖尿病性網膜症）で治療中である。ただし、bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒の投与までに糖尿病性網膜症の治療が終了予定の患者については、眼科医が本試験の参加に問題がないと判断した場合は、登録可とする。
- (8) ゼラチンハイドロゲル細粒の皮内反応が陽性である。
- (9) 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
- (10) 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。ただし、carcinoma in situ

(上皮内癌) や粘膜内癌は活動性の悪性腫瘍に含めない。悪性腫瘍による難治性潰瘍の可能性のある患者については、事前に生検などにより投与部位に悪性腫瘍のないことを確認すること。

(11)喫煙者である、又は禁煙期間が1か月未満である。

(12)妊娠中又は妊娠の可能性のある女性。妊娠を希望している女性。授乳中である女性。パートナーの妊娠を希望する男性。

(13)その他、研究責任者又は担当医師が本試験を安全に実施するのに不相当と判断した患者。

実施計画（スケジュール）：

bFGF 及び凍結乾燥ゼラチンハイドロゲル細粒より調製した bFGF 含有ゼラチンハイドロゲル細粒を、腰椎麻酔下で虚血下肢腓腹筋約 40 箇所（計 40 mL bFGF として 200 µg）に筋肉内注射する。

試験スケジュール

検査・観察・評価項目	時期	登録前	投与前	投与後（観察期間） （投与日=Day0とする）									
				D 1	D 2	D 3	1 W	2 W	4 W	8 W	12 W	24 W	
患者背景		○ ¹											
体重		△	○ ³	←	←	△	→	→					
身長		△	○ ³										
疾患評価	Rutherford 慢性虚血肢臨床分類	○ ¹	○ ³	△	△	△	△	△	○	△	△	○	
	潰瘍の深達度		○ ³						○				○
	経皮的酸素分圧		○ ³						○				○
	上肢・下肢・足趾血圧		○ ³						○				○
	虚血性潰瘍の面積		○ ³						○				○
	チアノーゼ		○ ³						○				○
	6分間歩行距離		○ ³						○				○
	安静時疼痛		○ ³						○				○
検査	血液・生化学・CRP	○ ¹	△	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	HbA1c	○ ¹	△	←	←	△	→	→					
	心電図、心エコー、胸 XP	○ ¹	△	←	←	△	→	→					
	冠動脈造影	○ ²											
	ゼラチンハイドロゲル細粒皮内反応	○ ¹											
	血中 bFGF 濃度			○ ⁴		○ ⁵	○ ⁶	○ ⁷					
安全性評価	有害事象			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	術中・術後合併症			○	○	○	○	○	○	←	△	→	

- ¹ 登録前 4 週以内
- ² 登録前 6 か月以内
- ³ 投与 2 週前～投与前日
- ⁴ 試験薬投与後 24 時間
- ⁵ 試験薬投与後 72 時間
- ⁶ 試験薬投与後 1 週
- ⁷ 試験薬投与後 2 週
- △ 必要に応じて

評価基準

[主要評価項目]

安全性評価基準：有害事象及び副作用の発生

有効性評価基準：経皮的酸素分圧 (TcO_2) の上昇（主たる仮説検定は、投与前と投与後 4 週の TcO_2 の差とし、有意水準 5% の片側対応のある t 検定を行った）

[副次評価項目]

安全性評価基準：該当なし

有効性評価基準：上肢下肢血圧比 (ABI)、上肢足趾血圧比 (TBI)、虚血性潰瘍の面積、6 分間歩行距離（投与前と投与後 4 週又は投与後 24 週の差に関して、有意水準 5% の片側対応のある t 検定を行った）
チアノーゼ、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類、疼痛スケールによる安静時疼痛（投与前に比べ投与後に 1 段階でも改善が見られた割合とその 95% 信頼区間を求めた）

結果の要約

安全性の評価結果：

安全性の解析対象集団 10 例において、有害事象の発生割合は 50% (5/10 例)、副作用の発生割合は 30% (3/10 例) であった。複数の患者で見られた有害事象は、アラニンアミノトランスフェラーゼ増加及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加 (各 30%、3 例) であった。いずれの有害事象も試験薬との因果関係は不明であり、副作用と判断された。その他の有害事象は 1 例のみの発生であった。

重症度別の有害事象では、重度の有害事象はなく、中等度の有害事象は 1 例（視床出血、蜂巣炎）のみであった。

副作用は、3 例（3 例ともアラニンアミノトランスフェラーゼ増加及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加：試験薬との因果関係は不明）に発生した。

重篤な有害事象は 1 例に 2 件発生したが、いずれも試験薬との因果関係は否定された。

試験薬の投与中止に至るような有害事象は、観察されなかった。

有効性の評価結果：

有効性の解析対象集団である FAS 10 例において、有効性の主要評価項目である試験薬投与前後の TcO_2 の差の平均値は、投与後 4 週では 14.4 mmHg ($p < 0.01$) (TcO_2 の平均値は投与前 28.4 mmHg から 42.8 mmHg に上昇)、投与後 24 週では 17.9 mmHg ($p < 0.01$) (TcO_2 の平均値は投与前 28.4 mmHg から 46.2 mmHg に上昇) であり、有意に上昇した。

副次評価項目では、試験薬投与前後の ABI の差の平均値は、投与後 4 週が -0.01、投与後 24 週が 0.03 であり、有意な変化は見られなかった。試験薬投与前後の TBI の差の平均値は、投与後 4 週が 0.04、投与後 24 週が -0.03 であり、有意な変化は見られなかった。試験薬投与前後の虚血性潰瘍の面積の差の平均値は、投与後 4 週が -32.9 mm²、投与後 24 週が -290.4 mm² であり、投与前と比べ減少したものの、その差は有意ではなかった。試験薬投与前後の 6 分間歩行距離の差の平均値は、投与後 4 週が 80.7 m ($p < 0.01$)、投与後 24 週が 62.2 m ($p = 0.02$) であり、有意に増加した。試験薬投与前に比べ投与後にチアノーゼが改善した患者は、投与後 4 週が 5 例 (50%、95% 信頼区間 18.7~81.3%)、投与後 24 週が 7 例 (70%、95% 信頼区間 34.8~93.3%) であり、有意な改善が認められた。試験薬投与前に比べ投与後に Rutherford 慢性虚血肢臨床分類による臨床症状が改善した患者は、投与後 4 週が 6 例 (60%、95% 信頼区間 26.2~87.8%)、投与後 24 週が 6 例 (60%、95% 信頼区間 26.2~87.8%) であり、有意な改善が認められた。試験薬投与前に比べ投与後に疼痛スケールによる安静時疼痛が改善した患者は、投与後 4 週が 5 例 (50%、95% 信頼区間 18.7~81.3%)、投与後 24 週が 5 例 (50%、95% 信頼区間 18.7~81.3%) であり、有意な改善が認められた。

発生した有害事象：

有害事象

	重篤				非重篤				合計			
	軽度	中等度	重度	合計	軽度	中等度	重度	合計	軽度	中等度	重度	合計
視床出血	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
皮膚潰瘍	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
蜂巣炎	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
腎性貧血	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
アラニンアミノトランスフェラーゼ増加	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	0	3
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	0	3
血中クレアチンホスホキナーゼ増加	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
血中クレアチニン増加	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
C-反応性蛋白増加	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1

副作用

	重篤				非重篤				合計			
	軽度	中等度	重度	合計	軽度	中等度	重度	合計	軽度	中等度	重度	合計
アラニンアミノトランスフェラーゼ増加	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	0	3
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	0	3

結論：

以上の結果から、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲル細粒は、下肢末梢性血管疾患患者に対して虚血組織の血流を確保し、有効であることが示された。また、発生した有害事象はほとんどが軽度であり、重篤な副作用もなかったことから、安全性にも問題はないと考えられた。

報告書作成日：2013年 2月 12日