

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19390216
 研究課題名（和文） 未来医療を拓く我が国発世界標準の生体完全吸収性ナノテク DDS 制御ステントの開発
 研究課題名（英文） formulation of bioabsorbable nanoparticle-eluting stent and Mg-Ca alloy stent

研究代表者
 江頭 健輔（EGASHIRA KENSUKE）
 九州大学・大学院医学研究院・准教授
 研究者番号：60260379

研究成果の概要：

1. 生体吸収性ステントプラットホームの研究開発
Mg-Ca合金を用いて生体吸収性ステントを開発した。現在、臨床に向けて、材質や形状等の最適化を実施中である。
2. 生体吸収性ナノ粒子溶出ステントの研究開発
生体吸収性PLGAナノ粒子を電気工学的にコーティングする新技術を開発した。
3. ナノ粒子溶出DDSステントの有効性試験
スタチン封入ナノ粒子溶出DDSステントを作製し、現行の薬剤溶出ステントの問題点を克服できることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：血管病態学、ナノテクノロジー、DDS、再狭窄、動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

我が国は未曾有の高齢化社会を迎えて、生活習慣や加齢を基盤として発症する動脈硬化性疾患（心筋梗塞、狭心症、脳卒中、末梢動脈の閉塞性動脈硬化症）が増加し、我が国の

死因、寝たきりの原因と医療費の主たる比率を占めている。動脈硬化性疾患に対する治療として冠動脈ならびに末梢動脈に対する経皮的カテーテルインターベンションが世界的に普及しており、その殆ど（80%以上）が

金属ステントによる拡張術である。また、その市場は極めて大きい(2004年の日本市場:年間500億円以上、世界市場:5,000億円以上)。

最近、経皮的冠動脈インターベンション(PCI)後の再狭窄の対策として薬剤溶出ステント(drug-eluting stent: DES)が登場し世界的に注目されている。DESによって再狭窄が減少する一方で、その需要が激増し「市場」は急成長している(2010年の日本の年間症例数の予測は40万症例、市場は1,000億円;世界的には400万症例、1兆円)。すなわち、DESの登場によって国民医療費は益々増加することになる。

一方、現行の第一世代DESには解決すべき重要な以下の問題が存在することも明らかになってきた(以下に記載)。

- (1) 再狭窄は抑制しても重要な心血管イベント(心筋梗塞、脳卒中など)の発生は抑制しない。むしろ遅発性血栓による急性心筋梗塞と死亡が増加すると報告されている。
- (2) ステントがステンレス製の「永久植え込み型」であり、かつ、ポリマーが生体非適合性であることに起因する異物反応(修復遅延、炎症、血栓など)が生じている。そのため、抗血小板剤の長期投与が必須であり、その中止による急性心筋梗塞発症(ステント内血栓)などの重大な有害事象が生じている。
- (3) コーティング技術が未熟であり遺伝子や分子標的薬のコーティングは難しい。
- (4) 国家経済産業的問題として、薬剤溶出ステント(DES)は全て外国製であり完全に外国(米国)に依存している点がある。

これらの医学的ならびに医療経済学的問題の解決のためには、心血管イベント(心筋梗塞、脳卒中など)の減少をもたらす我が国発、世界初「世界標準」の生体吸収性ナノテクDDSステントの実用化が期待されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、これらの臨床の現場から上がっている問題点を全て解決できる次世代製品として、ナノテクドラッグデリバリーシステム(ナノテクDDS)機能を兼ね備えた我が国発、世界初、世界標準の生体完全吸収性ナノテクDDS制御ステントを開発することである。具体的には、バイオナノテクノロジーの先端的技術の融合によるイノベーションによって国際競争力を有する革新的生体完全吸収性ナノDDSステントを開発する。そのために、以下の三位一体の研究開発を推進する。

- (1) 基本特許を有する国産の難燃性マグネシウム(Mg-Ca合金)を用いて生体完全吸収性の画期的次世代ステントを提案する。
- (2) 独自に開発したコーティング技術(特許出願)によって、このMgステントに生体吸収性ナノ粒子をコーティングする。
- (3) 最終的に、遺伝子・分子標的薬などの優れた治療因子を動脈硬化性病変部位(再狭窄、心筋梗塞・脳梗塞責任病変である不安定プラーク)に効果的に局所送達を可能にする生体完全吸収性ナノテクDDSステントの研究開発を目指す。

この新規デバイスをDDSとして駆使すれば、低侵襲で血管保護・再生を促進し病変の安定化を実現する血管治療デバイスに関する全く新しいコンセプトが創出される。

3. 研究の方法

(1) Mg-Ca合金による生体完全吸収性ステントプラットフォームの研究開発

① 細胞を用いた安全性の検討: Mg-Ca合金を粉末状にして、血管壁細胞(血管内皮、平滑筋、線維芽細胞など)に投与して安全性・毒性を検討する。

② Mg-Ca合金ステントの作製: Mg-Ca合金を用いてステント(直径2.5、3.0、3.5、4.0mm)を作製する。作製したステントをバルーンにマウントして滅菌し、以下の動物実験に用いる。異なるCa含量のMg-Ca合金を作製することによって生体内吸収時間を制御し、3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月で吸収するステントをデザインする。

③ 動物での安全性および有効性の検討: Mg-Ca合金が吸収される過程における細胞・生体に及ぼす影響を明らかにする。

(2) 生体吸収性ナノ粒子作製とコーティング技術の研究開発

① 生体吸収性高分子製ナノ粒子の作製: 独自の水中エマルジョン溶媒拡散法を用いて生体吸収性高分子ポリマー(ポリラク酸グリコーゲン酸=PLGAなど)製ナノ粒子を作製する。

② ナノ粒子のコーティング技術の研究開発: 表面を電荷修飾したナノ粒子を分散させた溶液中にステントを浸漬し、通電することによって能動的にナノ粒子をステント表面に集積させることができる。

本研究では、このような新技術を用いて、例えば、通電条件によってコーティングさ

れるナノ粒子の量を制御可能かどうか、ナノ粒子の強固かつ均一なコーティングが可能かどうか、多層化・多剤コーティングが可能か、等を明らかにする。任意の薬剤・遺伝子を多層にコーティングできることを明らかにする。

(3) 上記の組み合わせによる「生体完全吸収性ナノテク DDS ステント」の研究開発

① 生体完全吸収性ナノテク DDS ステントの有効性試験：

上記の研究成果を基盤にして、製品化を想定した適切な Mg-Ca 合金基材、ナノ粒子、コーティング技術、治療因子の組み合わせを決定し、ブタ冠動脈モデルを用いて有効性試験を行う。治療因子として、申請者が、その有効性と安全性を検証してきた遺伝子プラスミド (7ND)、人工核酸 (NF-kB デコイ)、分子標的薬などから選択する。抗炎症だけでなく、抗血栓、抗増殖ならびに血管内皮再生促進等の組み合わせも「より効果的」で「より安全」な対策となるであろう。

製品化に向けたステントの作製とバルーンカテーテルのデザイン、マウントは㈱カネカが担当する。

② 生体完全吸収性ナノテク DDS ステントの安全性試験：

Mg-Ca 合金製ナノテク DDS ステントの安全性 (と有効性) を霊長類 (カニクイザル) モデルを用いて明らかにする。


4. 研究成果

(1) Mg-Ca 合金による生体完全吸収性ステントプラットフォームの研究開発：

Mg-Ca 合金を用いてパイプ標本の作製、レーザーカット、バルーンマウントなどに成功し、ステントを作製することが出来た。小動物に植え込み、生体吸収されることを確認した。異なる Ca 含量の Mg-Ca 合金を作製することによって生体内吸収時間を制御し、3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月で吸収するステントをデザインする予定である。現在、ブタ冠動脈に植え込み安全性を検討している。

(2) 生体吸収性ナノ粒子作製とコーティング技術の研究開発：

生体吸収性Mg-Ca合金をプラットフォームとするステントの創製



Mg-Ca合金ステントの重量 = 5-6 mg

特徴

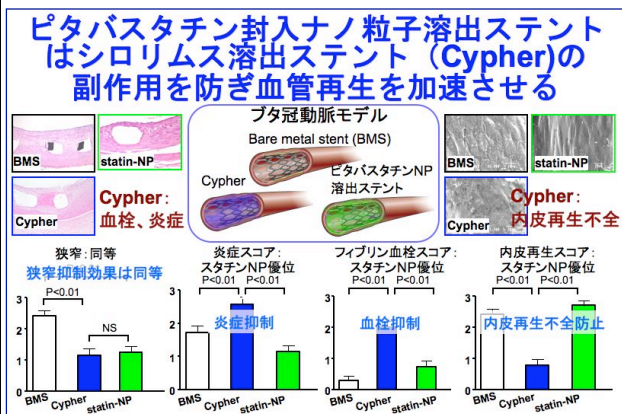
- ◆ 生体完全吸収性金属
- ◆ マグネシウム+カルシウム：人体必須元素のみ=安全
- ◆ 生体内吸収時間をCa含量を変えることによって可変
- ◆ レーザー加工可能、ゆえに量産可能、
- ◆ 製造特許有り

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

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

治療因子として血管内皮再生作用や抗炎症作用を有するスタチン、分子標的薬 (グリベック)、抗炎症因子 (NF-kB デコイ、7ND-MCP-1)、抗血栓薬 (シロスタゾール)、を封入したナノ粒子溶出ステントの作製に成功し、それらの有効性をブタ冠動脈モデルならびに霊長類 (カニクイザル) 腸骨動脈モデルを用いて検証している。

現時点において、スタチン封入ナノ粒子溶出ステントの成果が出ているので報告する。スタチン封入ナノ粒子溶出ステントは現行の DES と同等のステント内狭窄抑制効果を有し、一方で DES の副作用 (内皮再生不全、炎症、血栓 (フィブリン沈着) etc) を防止することが明らかとなった。搭載するスタチンの量はごく少量 (20-30 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。現在、ステントメーカーとライセンス業務や実用化に向けた取り組みが進んでいる。



今後、病理組織解析を進めてステント内狭窄抑制だけでなく、血管内皮再生促進ならびに抗炎症・抗血栓・抗増殖等の組み合わせが「より効果的」で「より安全」な治療対策となる

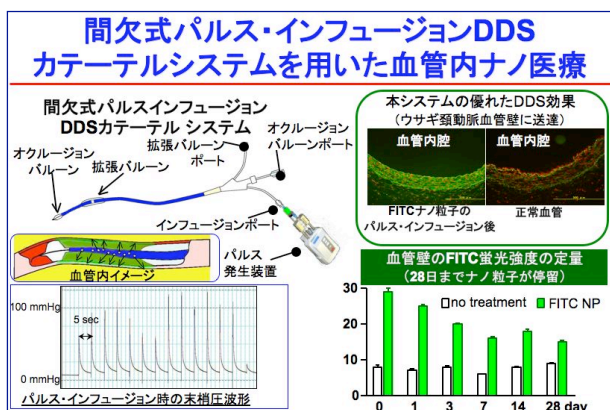
かどうかを明らかにする。これらの新技術の組み合わせによって、本研究成果を革新的次世代基盤技術としたい。

(3) 安全性試験：

霊長類（カニクイザル）を用いて短期（1ヶ月）有効性と安全性を明らかにする試験を終了した。とくに、上記の試験で有効性が高かったナノ粒子溶出ステントについて、6ヶ月の長期試験を来年度に準備している。

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

臨床の現場では、ステントによる治療適応にならない重症病変（細径、蛇行、分枝部 etc）が多く存在する。そこで、そのような重症病変に治療因子封入ナノ粒子を送達するためのDDSカテーテルを開発した。即ち、ナノ粒子溶液注入時に間欠的にパルスを負荷して、DDS効率を格段に向上させることができた。この間欠式パルスインフュージョンDDSカテーテルを用いたナノDDSをナノ医療として実用化するために、前臨床試験を進めている。このナノDDS技術によって、冠動脈や末梢動脈のステント再狭窄だけでなく急性心筋梗塞症の責任病変である不安定プラークの治療にも応用が可能になるであろう。



【主な報道】

- 平成20年3月28日掲載、日刊工業新聞「九大 次世代DESにめど 血管狭窄防止治療 副作用抑制を確認」
- 平成20年6月15日掲載、西日本新聞「ステント治療副作用少なく九大病院 ナノテクで開発」
- 平成20年10月22日掲載、日経産業新聞「2030年への挑戦 次世代産業技術」
- 平成21年3月23日掲載、化学工業日報「九大-ホソカワ粉体技研 次世代DES、前臨床へ ナノ粒子に薬剤封入実用化でメーカーと交渉」

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ①. Kimura S, Egashira K, Chen L, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Morishita R, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K: Nanoparticle-Mediated Delivery of Nuclear Factor κ B Decoy Into Lungs Ameliorates Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension. *Hypertension*. 2009 in press.
- ②. Kubo M, Egashira K, Inoue T, Koga J, Oda S, Chen L, Nakano K, Matoba T, Kawashima Y, Hara K, Tsujimoto H, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K: Therapeutic Neovascularization by Nanotechnology-Mediated Cell-Selective Delivery of Pitavastatin into the Vascular Endothelium. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2009 in press.
- ③. Koga JI, Matoba T, Egashira K, Kubo M, Miyagawa M, Iwata E, Sueishi K, Shibuya M, Sunagawa K: Soluble Flt-1 Gene Transfer Ameliorates Neointima Formation After Wire Injury in flt-1 Tyrosine Kinase-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 有、133(2): 2009; 139-143.
- ④. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Egashira K, Hashimoto N: Impact of monocyte chemoattractant protein-1 deficiency on cerebral aneurysm formation. *Stroke*. 有、40(3): 2009; 942-951.
- ⑤. Koga J, Egashira K, Matoba T, Kubo M, Ihara Y, Iwai M, Horiuchi M, Sunagawa K: Essential Role of Angiotensin II Type 1a Receptors in the Host Vascular Wall, but Not the Bone Marrow, in the Pathogenesis of Angiotensin II-Induced Atherosclerosis. *Hypertens Res*. 有、31(9): 2008; 1791-1800.
- ⑥. Kimura S, Egashira K, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Kawashima Y, Tominaga R, Sunagawa K: Local Delivery of Imatinib Mesylate (STI571) Incorporated Nanoparticle Ex Vivo Suppresses Vein Graft

Neointima Formation. *Circulation*.
有、118: 2008; S65-S70.

- ⑦. Egashira K, Suzuki JI, Ito H, Aoki M, Isobe M, Morishita R: Long-term follow up of initial clinical cases with NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide transfection at the site of coronary stenting. *J Gene Med*. 有、10(7): 2008; 805-809.
- ⑧. Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Iwata E, Miyagawa M, Sunagawa K: Azelnidipine Has Anti-atherosclerotic Effects Independent of its Blood Pressure- Lowering Actions in Monkeys and Mice. *Atherosclerosis*. 有、196: 2008; 172-179.
- ⑨. Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Zhao G, Funakoshi K, Ihara Y, Sunagawa K: Catheter-based adenovirus-mediated anti-monocyte chemoattractant genetherapy attenuates in-stent neointima formation in cynomolgus monkeys. *Atherosclerosis*. 有、194(2): 2007; 309-316.
- ⑩. Egashira K, Nakano K, Ohtani K, Funakoshi K, Zhao G, Ihara Y, Koga J, Kimura S, Tominaga R, Sunagawa K: Local Delivery of anti-monocyte chemoattractant protein-1 by gene-eluting stents attenuates in-stent stenosis in rabbits and monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 有、27(12): 2007; 2563-2568.

[学会発表] (計 8 件)

- ①. 江頭健輔: 生体吸収性ナノ粒子 DDS を基盤とする血管内ナノ医療 (ステント、カテーテル) の研究開発、次世代医療システム産業化フォーラム (平成 21 年 3 月 2 日、大阪)
- ②. 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の血管新生療法の実現 (招待講演)、第 5 回ナノバイオ国際シンポジウム (平成 21 年 2 月 19 日、東京)
- ③. Egahira K: Impact of Nanotechnology on Innovation of Cardiovascular Medicine (Special Lecture)、The Annual Scientific Meeting of Taiwan Society of Lipids and Atherosclerosis 2008 and The 8th Taipei International Vascular Molecular Biology

Symposium (September 20, 2008, Taipei)

- ④. 江頭健輔: 生体吸収性ナノ DDS ステントによる革新的血管内ナノ医療の創製 (Featured Session)、第 40 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (平成 20 年 7 月 10 日、茨城)
- ⑤. Egahira K: Drug-eluting stents: where are we and where we are going? (Special lecture)、The 2nd Oriental Congress of Cardiology (May 30, 2008, Shanghai)
- ⑥. Egahira K: Impact of nanotechnology-Based Drug Delivery System (NanoDDS) for Treatment of Cardiovascular Disease (symposium)、The 16th Asian Pacific Congress of Cardiology (December 13-16, 2007, Taipei)
- ⑦. 江頭健輔: 薬剤溶出性ステントの問題点 (遅発性血栓症、など) と新しい次世代アプローチ (分子細胞標的薬溶出・生体吸収性ナノ DDS ステント) (教育講演)、第 55 回日本心臓病学会学術集会 (平成 19 年 9 月 11 日、東京)
- ⑧. 江頭健輔: 生体吸収性ナノ DDS ステントの創製-我が国発世界標準の次世代低侵襲血管内ナノ医療を目指して- (シンポジウム)、第 32 回九州 MMC 研究会 (平成 19 年 7 月 7 日、福岡)

[産業財産権]
○出願状況 (計 1 件)

名称: 薬物含有ナノ粒子
発明者: 江頭健輔
権利者: 江頭健輔、九州大学、武田薬品工業 (株)
種類: 特許権
番号: 2007-322409
出願年月日: H19 年 12 月 13 日
国内外の別: 国内、国外優先審査出願

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等
<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/cardiol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江頭 健輔 (EGASHIRA KENSUKE)
九州大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：60260379

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

中野 寛 (NAKANO KAKU)
九州大学・大学院医学研究院・学術研究員
研究者番号：30420607

市来 俊弘 (ICHIKI TOSHIHIRO)
九州大学・大学院医学研究院・客員准教授
研究者番号：80311843

居石 克夫 (SUEISHI KATSUO)
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：70108710

川島 嘉明 (KAWASHIMA YOSHIAKI)
愛知学院大学・薬学部・教授
研究者番号：30082978

的場 哲哉 (MATOBA TETSUYA)
九州大学・大学病院・医員
研究者番号：20448426