

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790986

研究課題名（和文）大動脈瘤に対するラッピング効果と DDS を利用した低侵襲治療法の開発

研究課題名（英文）Alternative Therapeutic Strategy for Aortic Aneurysm Using Rapping Technique and Drug (Doxycycline) Delivery System

研究代表者

江田 匡仁 (Tadahito Eda)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：70467299

研究成果の概要（和文）：

本研究では、大動脈瘤に対する低侵襲手術のための治療デバイス開発を行った。動脈瘤の進展を防ぐ Doxycycline(DOXY)に着目し、生体吸収性材料（ポリ乳酸）と DOXY を混和して electrospinning 法で紡糸し担体を作製した。DOXY の徐放化が可能で、平滑筋細胞やマクロファージと共培養すると MMPs、カテプシン、炎症性サイトカイン、ケモカインを抑制し、エラスチン発現が亢進した。大動脈組織との共培養ではエラスチン分解が抑制され、MMP-2 の発現も抑制した。さらに、アポ E 欠損マウスによる大動脈瘤モデルでは、エラスチン分解抑制、MMP2,9、IL-6、TNF- α の発現抑制、TIMP-1、IGF-1 の発現促進を認め、新たな動脈瘤治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Surgery for aortic aneurysm (AA) has still high mortality rate. Therefore, alternative therapeutic strategy is awaited. Meanwhile, doxycycline (DOXY) has capability of progression of AA. In this study, we demonstrated the possibility of local administration of DOXY using DOXY controlled releasing biodegradable fiber (DCRBF) for AA. DCRBF was fabricated using electrospinning technique. We evaluated expression of proteases, elastin and inflammatory markers from SMCs, macrophages and aortic tissue co-cultured with or without DCRBF. DCRBF was administrated to *in vivo* AA which was induced apolipoprotein E deficient mice. In the presence of DCRBF, elastin content was preserved, and expression of proteases, inflammatory markers was reduced *in vitro* and *in vivo*. These results suggest that administration of DCRBF to AA may be promising alternative therapeutic strategy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：大動脈瘤、低侵襲手術、ドラッグデリバリーシステム(DDS)、doxycycline

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患の終末像の一つである大動脈瘤は、本邦において増加の一途を辿っている。厚生労働省の人口動態統計によると、約1%が「大動脈瘤及び解離」で死亡している。また、罹患率は、65歳以上の6-9%に腹部大動脈瘤が認められるという欧米の報告もある。一方で、大動脈瘤のスタンダードな治療は、人工血管置換術であるが、一般的にこの治療（手術）は侵襲が非常に大きいことが特徴である。特に胸部大動脈における人工血管置換術では、あらゆる心臓血管外科手術術式の中で最も侵襲が大きく、かつ危険度の高い手術で、胸部大動脈瘤（含大動脈解離）の手術死亡率はおおよそ10%と、いまだ高い。また、年々この手術の対象症例は予備能力の乏しい高齢者が増えている現況で、さらに、この手術の *morbidity* や *mortality* を悪化させる一因となる。一方で、一般的に動脈瘤破裂の救命率は、総じて20%以下であり、ほとんどの症例は社会復帰できないことから、臨床の現場では、高齢者で瘤径の拡大を認める患者に対する手術適応に関しては、手術をするべきか否か未だ議論の分かれるところである。以上のことから、大動脈瘤治療は新たな低侵襲治療戦略の確立は急務であり、国民的課題と考えている。

一方、大動脈瘤における細胞分子生物学的研究は近年飛躍的な発展を見せている。大動脈瘤の発症要因は、炎症や動脈硬化に起因したマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)2, 9と、そのインヒビター(TIMP)系、カテプシンとシスタチンなどのバランスを欠いた状態の結果、瘤壁内の血管平滑筋細胞数の減少、壁内細胞外マトリックスの代謝制御等が崩壊し、動脈瘤を発症してくることがわかってきた。それに対し、タンパク分解酵素を阻害作用のある薬剤(*doxycycline*)の投与による、動脈瘤の進行抑制あるいは退行効果が小動物実験レベルで報告されている。しかしながら、臨床応用を考慮した場合、薬剤の全身投与による副作用の懸念やなど、解決すべき課題は多い。

2. 研究の目的

本研究は、組織工学的および材料工学的手法による、新しい低侵襲大動脈瘤治療法の開発を試みる。すなわち、「大動脈瘤に対する材料によるラッピングと、ドラッグデリバリーシステムを用いた局所薬物療法の開発」として、生体吸収性の材料を使った、ドラッグデリバリーシステム(DDS)を用いて、全身投与では副作用が危惧される薬剤を局所投与

し、さらには、材料によるラッピング効果を期待した治療法を開発する。使用薬剤としては、動脈瘤を抑制すると報告のある *doxycycline* を用いる。薬剤を生体吸収性ポリマーと混和させ、シート状あるいはメッシュ状に形成する。生体吸収性の材料が吸収されることによって、薬剤溶出機構を発現させ、動脈瘤の拡大抑制、あるいは縮小をはかる治療法である。

3. 研究の方法

(1) 薬剤溶出担体の作製・評価

①担体の作製；エレクトロスピニング(E-spin)法で作成する。出来るだけ溶出期間を長くするため、生体吸収期間の長いポリマーを選択し、薬剤を混和のための溶媒等も工夫し作製する。

②担体の評価方法

doxycycline 含有生体吸収性担体の *in vitro*, *in vivo* における、徐放性を評価する。PBS中の薬剤溶出率、マウス背部皮下に埋植し、溶出率をHPLCを用いて計測する。

(2) 薬剤溶出担体の大動脈瘤への効果判定

① *in vitro* (細胞レベルでの) 効果判定
薬剤溶出担体と平滑筋細胞あるいはマクロファージとの共培養を行い、MMP、カテプシン、炎症性サイトカイン等の発現を、単培養と比較する。

② *ex vivo* (組織レベルでの) 効果判定
薬剤溶出担体と大動脈組織との共培養で、組織変化、MMP、エラスチン等の発現を、単培養と比較する。

③ *in vivo* (動物大動脈瘤モデルレベルでの) 効果判定

アポE欠損マウスのアンジオテンシンII持注大動脈瘤モデルを作製し、その腹部大動脈に、薬剤溶出担体を貼付し、4週後組織学および生化学的に評価した。

4. 研究成果

(1) 薬剤溶出担体の作製・評価

①担体の作製

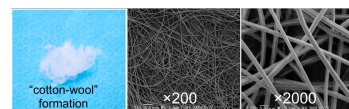


図1. 外観およびSEM所見

②担体の評価

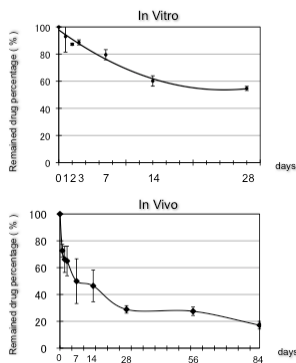


図2. in vitro, in vivoにおけるリリース曲線

(2)薬剤溶出担体の大動脈瘤への効果判定
①in vitro (細胞レベルでの) 効果判定

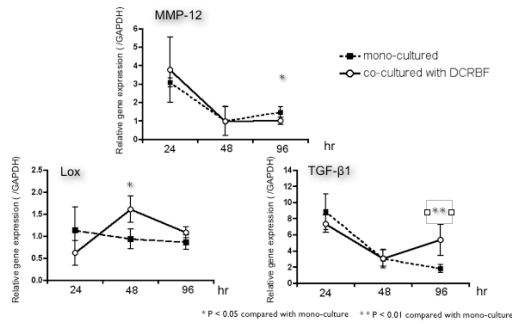


図3. 平滑筋細胞との共培養での遺伝子発現

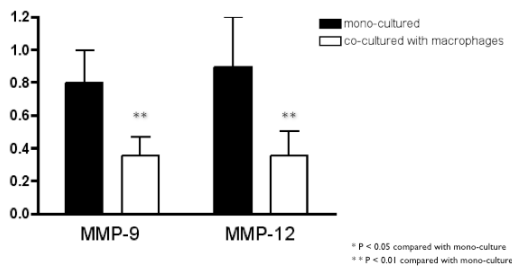


図4. マクロファージとの共培養

② ex vivo (組織レベルでの) 効果判定

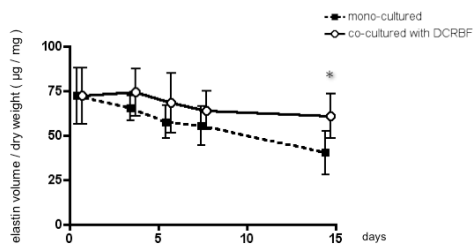


図5. エラスチン量の経時的推移

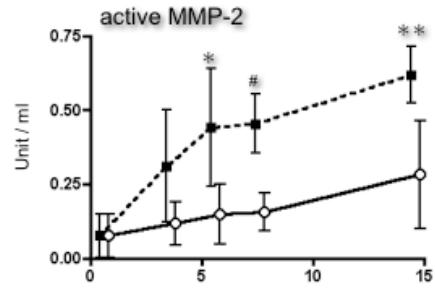


図6. MMP-2 タンパク発現の経時的推移

③ in vivo (動物大動脈瘤モデルレベルでの) 効果判定

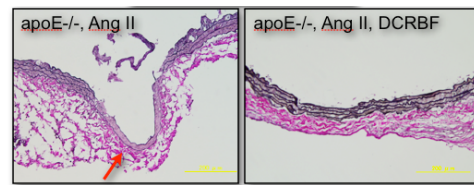


図7. 組織所見; 無治療群 (左) は組織破壊を認める。

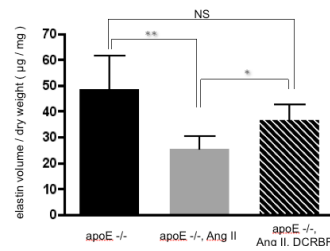


図8. エラスチン量; 治療群は維持される。

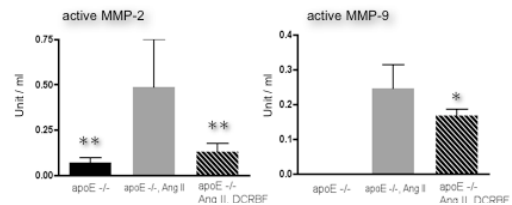


図9. MMP2, 9; 治療群は減じている。

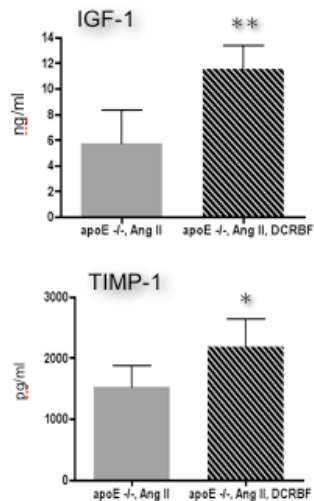


図 10. IGF-1, TIMP-1;発現が増加している。

以上の結果から、Doxy 溶出担体を用いることで、大動脈瘤の進展を抑制させる効果を発揮し、その治療効果が示唆された。

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)

[学会発表] (計 8 件)

- (1) 山脇藍歌、江田匡仁他 薬剤徐放性ファイバーを用いた大動脈瘤治療の可能性 第 9 回日本再生医療学会総会 2010 年 3 月 18 日 広島
- (2) 碓氷章彦、江田匡仁他 弓部大動脈手術の標準術式 第 40 回日本心臓血管外科学会学術総会 2010 年 2 月 15 日 神戸
- (3) 江田匡仁他 大動脈瘤に対する新たな治療戦略—ドキシサイクリン溶出担体の効果— 第 47 回日本人工臓器学会大会 2009 年 11 月 13 日 新潟
- (4) Eda T et al. Alternative Therapeutic Strategy for Aortic Aneurysm Using Mesenchymal Stem Cells or Doxycycline Controlled Releasing Device. 2nd Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society World Congress 2009 年 9 月 2 日 Seoul, South Korea
- (5) 江田匡仁他 間葉系幹細胞および薬剤溶出ナノファイバーを用いた大動脈瘤治療の可能性 第 8 回日本再生医療学会 2009 年 3 月 5-6 日 東京

- (6) 江田匡仁他 AR と SVC 症候群を呈した破裂製バルサルバ洞瘤の 1 例 第 51 回関西胸部外科学会学術集会 2008 年 6 月 20 日 富山
- (7) 江田匡仁他 大動脈二尖弁に対する valve sparing operation 第 51 回関西胸部外科学会学術集会 2008 年 6 月 19 日 富山
- (8) 江田匡仁他 特異な形態を呈した Bentall 術後仮性動脈瘤の 1 手術例 第 51 回関西胸部外科学会学術集会 2008 年 6 月 19 日 富山

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江田 匡仁 (Eda Tadahito)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：70467299