

第1回

DDS 徐放化再生医療研究会



プログラム・抄録集

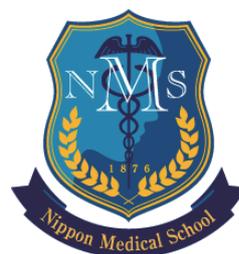
日時：平成23年12月3日（土）午前9時15分開始

会場：日本医科大学同窓会橘桜会館 2F ホール

〒113-0023 東京都文京区向丘2-20-7

会長：宮本正章

日本医科大学付属病院再生医療科教授



第1回DDS徐放化再生医療研究会 プログラム

日時 : 平成23年12月3日(土) 午前9時00分会場 9時15分開始
会場 : 日本医科大学同窓会橘桜会館 2階ホール
〒113-0023 東京都文京区向丘2-20-7 TEL : 03-3827-6028
会長 : 宮本正章(日本医科大学付属病院再生医療科教授)
事務局 : 日本医科大学大学院器官機能病態内科学講座
〒113-8603 東京都文京区千駄木1-1-5
TEL 03-3822-2131 内線 6743
Fax 03-5685-0987
Email : gen52@nms.ac.jp

■ 演者の方へ

1. 一般演題の発表時間は10分、討論5分です。
2. 口演予定の時間の30分以上前までに演者受付にお越し下さい。
3. 発表形式は、windows版Microsoft Power Pointによる口演のみです。
 - ・PCプロジェクターは1台です。
 - ・Windows版Microsoft Power Point 2007で再生可能なファイルをUSBメモリまたはCD-Rでご持参下さい。
 - ・フォントはWindows XPに標準添付のものを用いて下さい。
 - ・ご自身のPCを持参して頂くことも可能です。(ただしWindowsに限ります。)
 - ・ご不明の点は、予め上記事務局にお問い合わせ下さい。
4. 予めご提出いただきました抄録の差し替えは、当日受付で承ります。
Windows XP対応のUSBメモリまたはCD-Rにてご持参下さい。

■ 来場される方へ

受付で会費5,000円を徴収させていただきます。学生、研修医、コメディカルの方は会費1,000円を徴収させていただきます。

会場アクセスマップ

◆ 最寄交通機関

- 地下鉄 千代田線
南北線

千駄木駅又は根津駅下車 徒歩 8 分
東大前駅下車 徒歩 7 分

※ 前日東京ドームホテルにお泊りの方は、ホテルより徒歩
5 分の南北線：後樂園駅をお使いになると便利です。

地下鉄千代田線
千駄木駅 団子坂口出口

日本医科大学同窓会
橘桜会館
(夏目漱石旧居跡)

日本医科大学
大学本部 附属病院 救命救急センター
根津神社

地下鉄千代田線
根津駅 1番出口

地下鉄南北線
東大前駅 2番出口

向丘2 向丘高校
向丘1 文京学院大学 短大
日本医大前

団子坂下 千駄木2 大塚通2

駒込学園前 一方通行

日本医科大学同窓会
〒113-0023 文京区向丘2-20-7
TEL 03-3827-6028
FAX 03-3824-7691

日程表

(1) 世話人会 12月2日(金) 18:30～19:00

東京ドームホテル B 1F会議室

(2) 会長招宴 12月2日(金) 19:00～21:00 東京

ドームホテル 42階 アリエス(着席形式)

| | | |
|-------|--|----------------------------------|
| 9:15 | 開会の辞 | 会長 宮本正章 |
| 9:30 | 一般演題 (1～5) | 座長 日本医科大学付属 病院 再生医療科 高 木 元 |
| 10:45 | 特別講演 「バイオマテリアル技術を利用した再生医療」 京都大学再生医科学研究所 教授 田畑 泰彦 | 座長 日本医科大学付属病院 再生医療科 宮本 正章 |
| 11:45 | 休憩 | |
| 12:00 | ランチョンセミナー 「TGF- β シグナルを応用したがん治療法の開発」 東京大学大学院医学研究科分子病理学 教授 宮園 浩平 | 座長 日本医科大学付属病院 再生医療科 宮本 正章 |
| 13:00 | 休憩 | |
| 13:10 | 一般演題 (6～11) | 座長 日本医科大学付属 病院 再生医療科 高木 元 |
| 14:40 | 教育講演 「高度医療評価制度による臨床試験と実用化に向けた展開」 京都大学医学部付属病院探索医療センター 教授 清水 章 | 座長 日本医科大学付属病院 再生医療科 宮本 正章 |
| 15:40 | 休憩 | |
| 15:50 | 一般演題 (12～15) | 座長 日本医科大学付属 病院 再生医療科 高 木 元 |
| 16:50 | 閉会の辞 | 京都大学 再生医 科学研究所 田畑 泰彦 |
| 17:00 | 閉会 | |

一般演題発表スケジュール

| | | | |
|-------|-----------|---|--------------------------------|
| 9:30 | 1 | 「ゼラチンハイドロゲからの多血小板血漿 (PRP) 徐放による血管新生効果」 | 京都大学 再生医科学研究所 松井 誠 |
| 9:45 | 2 | 「DDS 徐放化多血小板血漿の歯周組織再生療法への応用に向けた多血小板血漿応用症例の7年経過例」 | 鶴見大学 歯学部 金指幹元 |
| 10:00 | 3 | 「徐放化 bFGF を用いた末梢循環障害治療ならびに新規徐放化鎮痛薬作成」 | 群馬大学医学部附属病院 麻酔科蘇生科 戸部 賢 |
| 10:15 | 4 | 「bFGF 徐放化ハイドロゲルを用いた鼓膜再生治療」 | 愛媛大学 耳鼻咽喉科 白馬伸洋 |
| 10:30 | 5 | 「内耳薬物投与システムを用いた新しい内耳障害の治療」 | 京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科 坂本達則 |
| 10:45 | 特別講演 | | |
| 11:45 | 休憩 | | |
| 12:00 | ランチョンセミナー | | |
| 13:10 | 6 | 「ゼラチンハイドロゲルを用いた複数の細胞増殖因子の徐放化」 | 京都大学 再生医科学研究所 山本雅哉 |
| 13:25 | 7 | 「形成外科領域における b F G F 徐放システムの有効性について」 | 近畿大学医学部 形成外科 磯貝 典孝 |
| 13:40 | 8 | 「細胞成長因子保持・徐放化機能を持つ足場材料の開発」 | 京都大学大学院医学研究科 形成外科 森本 尚樹 |
| 13:55 | 9 | 「高分子ハイドロゲルを用いた整形外科領域の再生医療研究」 | 神戸大学大学院医学研究科 整形外科 岡 真也 |
| 14:10 | 10 | 「bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルによる重症下肢虚血に対する血管新生療法」 | 京都大学医学研究科 心臓血管外科 熊谷基之 |
| 14:25 | 11 | 「臨床試験の出口 －産業化のためになにが必要か－」 | 科研製薬株式会社 海外開発推進部 土方重樹 |
| 14:40 | 教育講演 | | |
| 15:40 | 休憩 | | |
| 15:50 | 12 | 「臍消化管吻合への再生医療の応用 －術後臍液瘻の完全克服への試み－」 | 日本医科大学 外科 相本隆幸 |
| 16:05 | 13 | 「生体吸収性素材を用いて中膜再生をもたらすことによりイヌ解離性大動脈壁の組織学的統合性とコンプライアンスは保持される」 | 東北大学大学院医学系研究科 心血管外科学分野 佐藤 充 |
| 16:20 | 14 | 「重症虚血肢に対する DDS 徐放化 Platelet-Rich Plasma (PRP) による血管新生療法」 | 日本医科大学付属病院 心臓血管外科 栗田 二郎 |
| 16:35 | 15 | 「徐放化再生誘導医療の基礎から実践的臨床応用へ」 | 日本医科大学付属病院 再生医療科 高木 元 |

世話人及び出席予定者名簿 (敬称略・50音順)

| | |
|-------|-----------------------|
| 朝比奈 泉 | 長崎大学口腔外科 |
| 和泉 雄一 | 東京医科歯科大学歯周病科 |
| 磯貝 典孝 | 近畿大学医学部形成外科 |
| 伊藤 壽一 | 京都大学耳鼻咽喉科 |
| 岡 真也 | 神戸大学整形外科 |
| 金指 幹元 | 鶴見大学歯学部 |
| 貴志 和生 | 慶応大学形成外科 |
| 熊谷 基之 | 京都大学探索医療センター |
| 黒田 良祐 | 神戸大学整形外科 |
| 齋木 佳克 | 東北大学心臓血管外科 |
| 斎藤 繁 | 群馬大学大学院医学系研究科麻醉神経科学分野 |
| 坂本 達則 | 京都大学耳鼻咽喉科 |
| 佐藤 充 | 東北大学心臓血管外科 |
| 清水 章 | 京都大学医学部附属病院探索医療センター |
| 鈴木 茂彦 | 京都大学形成外科 |
| 田畑 泰彦 | 京都大学再生医科学研究所 |
| 徳永 昭 | 日本創傷治癒学会理事長 |
| 戸部 賢 | 群馬大学大学院医学系研究科麻醉神経科学分野 |
| 中村 雅也 | 慶応大学整形外科 |
| 白馬 伸洋 | 愛媛大学耳鼻咽喉科 |
| 土方 重樹 | 科研製薬株式会社 海外開発推進部 |
| 松井 誠 | 京都大学再生医科学研究所 |
| 松野 智宣 | 日本歯科大学口腔外科 |
| 丸井 晃 | 京都大学探索医療センター |
| 水野 博司 | 順天堂大学形成外科 |
| 宮園 浩平 | 東京大学大学院医学研究科分子病理学 |
| 森本 尚樹 | 京都大学形成外科 |
| 山本 雅哉 | 京都大学再生医科学研究所 |
| 相本 隆幸 | 日本医科大学外科 |
| 石井 庸介 | 日本医科大学心臓血管外科 |
| 内田 英二 | 日本医科大学外科 |
| 落 雅美 | 日本医科大学心臓血管外科 |
| 栗田 二郎 | 日本医科大学心臓血管外科 |
| 高井 信朗 | 日本医科大学整形外科 |
| 高見 佳宏 | 日本医科大学形成外科 |
| 服部 幹彦 | 日本医科大学整形外科研究生 |
| 百束 比古 | 日本医科大学形成外科 |
| 水野 杏一 | 日本医科大学循環器内科 |

第1回 DDS 徐放化再生医療研究会の開催にあたり、多くの大学・企業からご参加いただきました。深く感謝し、御礼を申し上げます。

第1回 DDS 徐放化再生医療研究会

会長 宮本正章

特別講演

バイオマテリアル技術を利用した再生医療

京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野 教授 田畑泰彦

細胞の増殖、分化ポテンシャルを介した生体のもつ自然治癒力を活用することによって、生体組織の再生修復あるいは臓器機能の代替を行う新しい治療の試みがある。この再生治療（一般には再生医療と呼ばれる）の実現には、細胞移植とバイオマテリアルを利用した組織工学のアプローチがある。近年の再生現象に係わる細胞の基礎生物医学研究の進歩はめざましく、増殖分化ポテンシャルの高い幹細胞の利用が可能となり、細胞移植による再生治療が行われている。一般に、体内では、細胞が単独で生存、機能していることはほとんどなく、細胞はその周辺環境と相互作用しながら、その生物機能を発揮していることが知られている。そのため、細胞の増殖、分化能力を活用した治療を考えるのであれば、細胞の機能に加えて、細胞の増殖、分化を促す適切な局所周辺環境を作り与えることも重要である。これによって、細胞の能力は高められ、組織再生治療の効率は上がるであろう。

再生治療を目指した細胞の周辺環境を作り与える医工学技術・方法論が組織工学 (Tissue Engineering) である。組織工学には多くのバイオマテリアルが利用されている。その利用技術は、1) 体内での細胞の増殖・分化を促す足場、2) 宿主タンパク質や細胞の侵入から再生誘導環境を守るための隔離、3) 移植細胞を単離、増殖させる培養基材・装置、4) 細胞の生物機能の改変・増強、5) 生体シグナル因子（タンパク質や遺伝子）を働かせるドラッグデリバリーシステム (DDS) などがある。

例えば、生体吸収性ハイドロゲルを用いることによって、体内で不安定な細胞増殖因子や遺伝子を再生治療を期待する部位近傍で、必要な量、必要な期間にわたって、徐々に放出（徐放）させる。この徐放技術を活用することで、血管、骨、軟骨、皮膚、脂肪、半月板、歯周組織などの様々な生体組織の再生治療が現実になっている。血管再生治療は、移植細胞の生着率と治療効果を向上させている。薬物治療によって、線維化組織のコラーゲンを消化、分解し、周辺組織の再生能力を介して難治性慢性線維性疾患の悪化進行を抑制したり、治療したりすることも可能となっている。

バイオマテリアルからなる体内の細胞周辺環境に近い培養基材（足場）は、幹細胞の増殖、分化機構の解明と制御の研究を加速し、細胞調製にも必要である。また、細胞毒性の低い遺伝子導入バイオマテリアルによって、幹細胞への遺伝子発現とその生物機能の改変が可能となっている。バイオマテリアルによる細胞機能の改変、増強、制御技術は、基礎細胞研究のみならず、創薬研究にも大きく貢献する。バイオマテリアル技術は、再生治療、細胞研究、創薬研究などの再生医療領域の今後の発展に大きく影響を与え、その重要性和必要性がきわめて大きいことを強調したい。

田畑泰彦：細胞増殖因子と再生医療 (株)メディカルレビュー社 2006 年；田畑泰彦：再生医療のためのバイオマテリアル (株)コロナ社 2006 年；進みにつづける細胞移植治療の実際、上巻、下巻(株)メディカルドゥ社 2008 年；患者までとどいている再生誘導治療 (株)メディカルドゥ社 2009 年；田畑泰彦：ますます重要になる細胞周辺環境（細胞ニッチ）の最新科学技術 (株)メディカルドゥ 2009 年

TGF- β シグナルを応用したがん治療法の開発

東京大学大学院医学研究科分子病理学 教授
宮園浩平

TGF- β は多彩な作用を持ったサイトカインであり、多くの細胞の増殖を抑制する。さらに TGF- β は組織の線維化、EMT (epithelial-mesenchymal transition) を促進するなどの作用を有する。さらに TGF- β はがん細胞自身、さらには腫瘍微小環境に作用し、とくに進行したがんにおいてはその進展を促進する働きがあることも知られている。このため、TGF- β シグナルを抑制する薬剤の開発が進められており、TGF- β に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド、モノクローナル抗体、I 型レセプターキナーゼの作用を遮断する低分子化合物の開発などが進められている。

EMT とは上皮細胞が上皮としての形質を失い、間葉系細胞の形質を獲得する現象である。EMT では細胞間接着がわれ、細胞の運動・浸潤能が亢進する。間葉系細胞に分化した細胞は組織の線維化を促進し、またがん細胞への形質転換にも寄与する。TGF- β は Snail などの転写因子を誘導し、この結果 E-cadherin などの上皮マーカーの発現の抑制、N-cadherin などの間葉マーカーの発現亢進に関与する。我々は TGF- β による EMT 誘導の分子機構に関する研究を行い、がん遺伝子 Ras のシグナルが TGF- β による Snail の発現と EMT の誘導に重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに TGF- β による EMT が他のサイトカインや増殖因子によって制御されていることを明らかにした。

我々は低用量の TGF- β 抑制剤を投与し、抗がん剤のがん組織への送達を亢進させることを試みた。その結果、血管に乏しい膵臓がんやスキルス胃がんに対して TGF- β 抑制剤を投与すると腫瘍血管の漏出性が著しく亢進することを見いだした。組織学的には TGF- β 抑制剤の投与により、血管内皮細胞に隣接して存在する壁細胞が脱落していることが明らかとなった。こうした知見をもとに種々の抗がん剤と TGF- β 抑制剤の併用効果を検討したところ、薬剤内包高分子ミセル (ミセルアドリアマイシン; micelle-ADR) は TGF- β 抑制剤によって極めて効率よく膵臓がんやスキルス胃癌組織に移行し、腫瘍の増殖を動物実験モデルで顕著に抑制することが明らかとなった。以上から薬剤内包高分子ミセルと低用量の TGF- β 抑制剤の併用は臨床的にもきわめて有効であると考えられた。

がんにおける TGF- β の作用は複雑で、時に両方向性に作用する。がんの進展における TGF- β シグナルの作用を明らかにすることで、今後の診断・治療への応用を可能にすることを期待したい。

1. ゼラチンハイドロゲルからの多血小板血漿 (PRP) 徐放による血管新生効果

京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

○松井 誠、田畑 泰彦

近年、糖尿病や高脂血症、肥満など生活習慣病の罹患率が高まり、動脈硬化に由来した閉塞性動脈硬化症 (ASO) に対する治療法の開発が望まれている。現在の ASO 治療は、主に外科的処置による壊死部位切断および薬物補助療法が主であり、患者の Quality of life を著しく低下させている。これまでわれわれは、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を生体吸収性ゼラチンハイドロゲルから徐放させ、それによる血管新生治療法を確立してきた。ゼラチンハイドロゲルによる細胞増殖因子の徐放は、低侵襲で効果的な再生治療法である。本研究では、多血小板血漿 (PRP) と bFGF の組み合わせによる血管新生効果について検討した結果を報告する。PRP は、BALB/c マウスの採取血液を密度勾配遠心法によって調製した。PRP および bFGF を、豚皮由来ゼラチン (等電点 5.0) から作製した凍結乾燥ゼラチンハイドロゲルに含浸させた。In vitro において、PRP 中に含まれる細胞増殖因子がハイドロゲルから徐放されていることを確認した。BALB/c マウスの下肢動脈を結紮・剥離して下肢虚血モデルを作製し、PRP および bFGF 含浸ハイドロゲルをモデル動物の筋肉内へ投与したところ、PRP と bFGF の組み合わせ徐放は、PRP 単独群や bFGF 単独群に比べて、有意に高い血管新生作用と血管成熟度の向上が認められた。加えて、ゼラチンハイドロゲルからの徐放に最適な PRP の抽出条件についても報告する。

2・DDS 徐放化多血小板血漿の歯周組織再生療法への応用に向けた多血小板血漿応用症例の7年経過例

1) 鶴見大学歯学部歯周病学講座、2) 経済産業省診療所歯科、3) 日本医科大学付属病院再生医療科、4) 京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門生体材料学分野

○金指幹元¹⁾²⁾、宮本正章³⁾、日下輝雄²⁾、田畑泰彦⁴⁾、五味一博¹⁾

現在、組織再生誘導法（GTR 法）、エナメルタンパク質（EmdogeinGel）を用いた歯周組織再生療法が臨床応用され、b-FGF など成長因子を用いた再生療法の臨床試験が行われている。すでにアメリカでは 0.3%PDGF-BB と β -TCP 複合体が歯周組織再生材料（GEM21TM）として販売されている。我々もトロント大学 John E Davies 教授との共同研究から多血小板血漿（以下 PRP）の歯周組織再生における優位性に注目し、2002 年より臨床応用を始めた。今回、PRP とコラーゲン・多孔性ハイドロキシアパタイト混合骨補填材（以下 Boneject）を混和し歯周骨内欠損に移植し7年間の経過をみた一症例を報告し、DDS 徐放化PRPの歯周組織再生療法への応用の可能性を検討する。

患者：43 歳男性 初診日：2002 年 9 月 7 日 主訴：上顎前歯部の歯肉腫脹 口腔内所見：全顎にわたる歯間乳頭歯肉腫脹。上顎前歯部においては、歯間乳頭だけでなく辺縁歯肉の発赤と腫脹も認められた。上下顎左右臼歯部において高度の歯周組織破壊が認められた。13-14,24-26,36-37,46-47 の歯周ポケットからの排膿が見られた。

X 線所見：13-14,16-17,24-25,25-26,36-37 ならびに 46-47 間に垂直性歯槽骨吸収像を認めた。診

断：広汎性・慢性歯周炎

治療経過：2002 年 7 月～2003 年 7 月 歯周基本治療 2003 年 8 月～2004 年 4 月 上記歯周骨内欠損に対し歯周外科処置を行った。外科処置に際し PRP の調整はラボフェージュ 300 とその付属キットを用い、PRP の活性は Boneject 中のコラーゲンを利用した。現在まで7年を経過したが良好な骨レベルを維持している。この様に PRP は歯周組織の再生を生じ長期間安定することが示されたことから、今後はゼラチンハイドロゲル徐放多血小板血漿を用いた DDS-PRP の歯周組織再生効果及びその安全性について臨床研究を行う予定である。なお本臨床研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の審査と承認を得て、大学病院医療情報ネットワーク（試験 ID:UMIN000006594、薬物送達システム徐放化多血小板血漿の歯周組織再生効果）に登録済みである。

3・徐放化 bFGF を用いた末梢循環障害治療ならびに新規徐放化鎮痛薬作成

群馬大学医学部附属病院麻酔科蘇生科

○戸部賢、齋藤繁、須藤貴史

慢性動脈閉塞症は、動脈の粥状硬化や血栓、あるいは糖尿病、膠原病などによる血管壁傷害により動脈が次第に閉塞し、四肢末梢の組織が虚血性壊死に陥る疾患である。多くの重症例で激しい痛みを伴うことから、疼痛管理の観点から、麻酔・ペインクリニック科に紹介されることも少なくない。また、更なる血管収縮を予防するための交感神経ブロックの適用、手術的操作に伴う麻酔の施行等でも、麻酔科診療に関係の深い疾患群である。

我々は、2001年より、既存の治療で症状のコントロールが困難となった TAO 患者に対して、自家骨髄細胞移植による血管新生治療を施行している。全身麻酔下に腸骨から骨髄液を採取し、単核細胞成分を分離・濃縮する。そして、母指球、小指球、下腿腓腹筋、足底筋などに筋肉内注入する。高気圧酸素治療も虚血部の酸素化促進のために、施行後 2-4 週目に行っている。

これまでに自家骨髄細胞移植を TAO の 6 症例に対して施行した。治療効果は症例間でばらつきがあるが、安静時痛の改善、サーモグラフィーにより観察される皮膚温、経皮酸素分圧の上昇などを認めている。

骨髄液採取が困難な症例に対しては、線維芽細胞増殖因子 (FGF - 2) の徐放化製剤を局所に注入する治療法を導入し 2 例施行した。これまでの治療と細胞移植治療などの再生医学的治療をうまく組み合わせることにより、画期的な治療効果が得られる可能性があるかと期待している。

さらに薬剤徐放化技術を応用し、局所麻酔薬や α 2 アドレナリン受容体作動薬の徐放薬を作成し、疼痛治療へ役立つ技術を開発中である。どちらも動物実験では一定の効果を確認することができ、現在臨床応用を模索している。

4・bFGF 徐放化ハイドロゲルを用いた鼓膜再生治療

愛媛大学耳鼻咽喉科

○白馬伸洋

抄録本文：穿孔性中耳炎は、鼓膜に穿孔があることで音の伝導が悪くなり難聴が生じる。穿孔の原因として、反復性中耳炎や滲出性中耳炎の治療として鼓膜に挿入した tube によるものや、耳搔きをはじめ、棒、割り箸、マッチ棒などの外傷により鼓膜穿孔が生じることもある。現在一般的に行われる鼓膜穿孔の閉鎖方法としては、耳後部にある側頭筋膜などの自己組織を採取し、鼓膜穿孔部に移植する鼓膜形成術が行われており、治療成績は良好であるが、採取に際し術野以外の部位より新たに皮膚切開を施行する必要が生じる。

ゼラチンハイドロゲルは化学架橋によりウシ骨ゼラチンを重合させたポリマーである。もしこのゼラチンハイドロゲルによる薬物送達システム (drug delivery system:DDS) が応用され、穿孔縁に鼓膜新生を促す栄養因子を安定して供給できれば、鼓膜再生による穿孔閉鎖がより確実に、また短期間で可能となり、筋膜を採取するための手術侵襲を加える必要もなくなると考えられる。

今回、鼓膜穿孔の治療に対し、低侵襲で治療成績の高い鼓膜再生法として、血管新生や肉芽増殖、再上皮化を促す線維芽細胞増殖因子の basic fibroblast growth factor; bFGF 製剤をゼラチンハイドロゲルを用いて徐放させる方法を考案し、臨床応用に向けて動物モデルを用いた研究を行ったので報告する。

実験動物には、4～8 週齢のハートレイト系のモルモットを用いた。CO2 レーザーを用い、経外耳道的に鼓膜の全周性穿孔を作製した。bFGF を含透させたハイドロゲルを穿孔部に挿入し、鼓膜穿孔作製 1 カ月後に 1) 顕微鏡下の鼓膜所見の観察、2) 聴性脳幹反応 (Auditory Brain Response:ABR) を用いた聴力域値変化の測定、3) H.E. 染色を行い再生鼓膜の組織学的観察を行った。結果、全ての穿孔は閉鎖し、ABR 域値の改善も認められ、組織学的にも粘膜層と上皮層の再生に加え、固有層の再生も認められた。以上の事より、鼓膜穿孔に対する治療として、固有層の再生を促す bFGF 製剤を加えることは、正常構造の鼓膜再生を誘導することに有用であると考えられた。

5・内耳薬物投与システムを用いた新しい内耳障害の治療

1) 京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

2) 京都大学再生医科学研究所

○坂本達則¹⁾、荻野枝里子¹⁾、堀江理恵^{1,2)}、平海晴一¹⁾、山本典生¹⁾、中川隆之¹⁾、田畑泰彦²⁾、伊藤壽一¹⁾

内耳障害による難聴は治療が困難である場合が多いが、その要因は治療薬が無いことではなく、内耳への薬物投与が困難であることにある。われわれは、徐放製剤を用いた内耳薬物投与システムを開発し、内耳研究の情報から内耳障害に対する治療効果が期待されるインスリン様細胞成長因子 1 (IGF-1) をゼラチンハイドロゲルによって内耳に徐放投与する治療方法についての臨床試験を行っている。

2007年12月から2009年7月まで、第1段階の臨床試験を行なった。急性高度難聴に対する標準治療であるステロイド全身投与が無効であった 25 例に対し 蝸牛の正円窓膜上に IGF-1 を含浸させたゼラチンハイドロゲルを留置し、治療効果および有害事象を検討した。本治療に関連する重篤な有害事象は発生せず、24週後の聴力改善は56%で、ヒストリカルコントロール（ステロイド無効例に対する高気圧酸素療法、199例中聴力回復が見られたのは33%）と比較して優位に高い改善率がみられた。

これを受けて、2011年4月から当科を中心に全国9施設（予定）において臨床試験を行っている。急性高度難聴でステロイド全身投与の効果が不十分で、発症後25日以内の120例について、ゼラチンハイドロゲルによるIGF-1治療群と、ステロイド鼓室内投与群にランダムに割り付ける。現在、順調に症例登録・プロトコル治療を行っている。

6. ゼラチンハイドロゲルを用いた複数の細胞増殖因子の徐放化

京都大学再生医科学研究所生体材料学分野 ○山本雅哉、松井誠、

Juthamas Ratanavaraporn、田畑泰彦

生体内では、複数の細胞増殖因子が作用して、生体組織の再生が誘導されている。これまで、われわれは、生体吸収性材料であるゼラチンハイドロゲルを用いた細胞増殖因子の徐放化技術を開発し、種々の細胞増殖因子を用いて、異なる生体組織の再生誘導に成功してきた。さらに、その研究成果の一部は、既に、臨床応用がなされている。しかしながら、一種類の細胞増殖因子をゼラチンハイドロゲルへ含浸させて用いる単独投与が多く、生体内のように複数の細胞増殖因子を組み合わせ用いることはほとんどなかった。そこで、本研究では、ゼラチンハイドロゲルからの複数の細胞増殖因子の徐放化について検討した。すなわち、細胞増殖因子を単独で徐放化させた場合と比較することによって、他の細胞増殖因子の存在が、それぞれの細胞増殖因子の徐放性に与える影響について検討した。その結果、他の細胞増殖因子の存在下でも、細胞増殖因子を単独で用いた場合と同様にゼラチンハイドロゲルから複数の細胞増殖因子を同時に徐放化できることがわかった。さらに、複数の細胞増殖因子を組み合わせゼラチンハイドロゲルから徐放化することにより、生体組織の再生誘導の増強効果について検討した。具体的には、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) と肝細胞増殖因子 (HGF) とを組み合わせた血管新生、骨形成因子 (BMP) とストローマ細胞由来増殖因子 (SDF-1) とを組み合わせた骨再生、および bFGF と血小板豊富血漿 (PRP) とを組み合わせた血管新生などである。いずれの組み合わせの場合も、複数の細胞増殖因子を同時に徐放化することにより、それぞれの細胞増殖因子を単独で用いた場合と比較して、有意に生体組織の再生が誘導されることがわかった。

7・形成外科領域におけるbFGF徐放システムの有効性について

形成外科領域におけるbFGF徐放システムの有効性について

○磯貝典孝、橋本隆宏、徳井 琢、伊谷善仁、西脇 仁、楠原廣久

指尖部切断に対しては、複合組織移植術 (composite graft) がしばしば施行される。複合組織移植術とは、皮膚、皮下組織以外に、爪組織や骨・軟骨組織などの複合組織を含む移植であり、良好な組織生着によって、(1) 爪の温存 および (2) 指長の維持が期待できる。しかし、組織生着が不完全な場合、術後の指尖形態のみでなく機能予後も不良となる (指腹萎縮、知覚低下、寒冷時疼痛など) ため、その手術適応は慎重にすべきと考えられている。

一方、指尖部切断が爪および骨組織を含む石川分類 Subzone II では、切断組織量が比較的大きく、複合組織移植術での完全生着は難しいことが知られている。これまでに複合組織移植術による組織生着を向上させる工夫として、(1) 移植片の冷却、(2) 移植片-母床間の接触面積の拡大、(3) Occlusive Dressing 法などが試みられ、生着に必要な血行を付加する新技術の開発が試みられてきたが有効な治療法はいまだに確立されていない。また微小血管吻合術を導入した再接着術は、吻合血管が著しく細く、技術的に困難を伴う。

そこでわれわれは、複合組織移植を行う際に、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF、フィブラスト、科研製薬) を徐放化して投与し、切断組織の生着率を向上しうる可能性について検討した。その結果、石川分類 Subzone II 切断において施行した複合組織移植症例および動脈のみしか吻合できない症例の両群において、組織生着率は著しく高まった。b-FGF 含有徐放化ゼラチン粒子を用いた新生血管療法は、指尖部切断の再接着における新しい治療方法として極めて有効と考えられ、その治療効果が期待される。

今回は、形成外科領域の治療において b-FGF 含有徐放化ゼラチン粒子の投与が著効を示した指尖部切断再接着症例を中心として報告し、さらに最近経験した長期ステロイド投与によって生じた難治性潰瘍の植皮術に b-FGF 含有徐放化ゼラチン粒子を投与した結果についても言及する。

8・細胞成長因子保持・徐放機能を持つ足場材料の開発

京都大学大学院医学研究科形成外科

○森本尚樹、鈴木茂彦

再生医療に用いられる足場材料として、合成高分子、天然高分子、それらの組み合わせなど様々なものが報告されている。しかし、医療機器として承認されている材料は少なく、臨床現場で使用できる材料は限られている。コラーゲンスポンジとシリコンシートの二層性構造を持つ人工真皮は、皮膚全層欠損に適応があり、皮膚再生の足場材料として10年以上臨床現場で使用され、安全性も確立された数少ない医療機器である。我々はこの二層性人工真皮に細胞成長因子保持・徐放機能を付加した新規足場材料の開発を行ってきた。ゼラチンが静電的に細胞成長因子と結合する性質を利用し、コラーゲンとゼラチンの混合スポンジを作製した。この混合スポンジに塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)保持作用があることを確認し、保持可能なbFGF量も検討した。動物モデルとして、健常マウス全層欠損創(全層欠損モデル)、糖尿病マウスに作成した褥瘡(難治性潰瘍モデル)、ビーグル犬粘骨膜欠損創(口蓋粘膜欠損モデル)を用いて新規人工真皮とbFGF併用療法の有効性の確認を行った。これらの結果を受けて、現在難治性皮膚潰瘍に対する医師主導治験を行っている。今回は、新規人工真皮の開発経緯、現状および今後の展開について報告する。

9・高分子ハイドロゲルを用いた整形外科領域の再生医療研究

神戸大学大学院医学研究科整形外科

○岡 真也

整形外科領域において骨、軟骨、靭帯の再生は重要な課題である。巨大な骨欠損や軟骨損傷、関節内靭帯損傷の自己治癒能力は極めて乏しく、現在移植医療が行われているものの完全な再生は難しく再生医療への期待が高まっている。足場材料は再生医療の重要な要素の一つであり、我々はこの足場材料として DDS を有するゼラチンハイドロゲルを利用し、再生医療の臨床応用をめざして実験的研究をおこなっているので紹介する。

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、多血小板血漿 (PRP)、高脂血症治療薬である simvastatin を生体内で 2 週間以上徐放が可能であるゼラチンハイドロゲルと併せて使用した。G-CSF は血管前駆細胞の増殖や分化への関与や骨髄細胞の動員への関与が報告されていること、また PRP は VEGF、TGF- β 、PDGF など生理活性物質のカクテルであり自己末梢血から簡便に採取できること、statin は HMG-CoA 還元酵素阻害薬として、血清コレステロール値を低下させる作用以外に種々の細胞に対する多彩な生物学的作用、特に血管内皮前駆細胞動員作用による血管新生への関与や BMP の activation による骨新生効果も報告されていることなどから、いずれも整形外科領域の再生医療において魅力的な物質である。

実験としては、日本白色家兎の尺骨骨幹部骨欠損モデルに G-CSF 含浸ハイドロゲルを充填し、術後 2・4・8 週で有意な血管・骨新生効果を確認した。また日本白色家兎半月板部分欠損モデルに PRP を含浸させたハイドロゲルを充填し、術後 2,4,8 週において検討したところ type II collagen など軟骨特異的な因子が早期に有意に発現し、組織学的にも組織再生が確認された。ビーグル犬膝前十靭帯再建モデルに G-CSF 含浸ハイドロゲルを、日本白色家兎膝前十字靭帯再建モデルに statin 含有ハイドロゲルを使用し、両モデルともに移植靭帯の固着促進が確認された。ラット難治骨折モデルに statin 含有ハイドロゲルを使用し、statin の局所徐放による血管新生効果と骨新生効果が確認された。

組織再生において生理活性物質は必須であるが、その量、タイミングが重要となる。我々の結果から DDS としてのゼラチンハイドロゲルは組織再生に有効な生理活性物質を長期間一定量だけ局所に徐放することで、周囲からの細胞の誘導、分化、更なる growth factors の発現を促し、骨・軟骨・靭帯の組織再生に有用な医療材料であると考えられる。

10・bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルによる重症下肢虚血に対する血管新生療法

1) 京都大学大学院医学研究科 心臓血管外科

2) 京都大学医学部附属病院 探索医療センター

3) 京都大学再生医科学研究所

4) 京都大学医学部附属病院 薬剤部

○熊谷基之¹⁾、丸井 晃¹⁾²⁾、田畑泰彦³⁾、武田崇秀¹⁾²⁾、山本雅哉³⁾、米澤 敦⁴⁾、池田隆文²⁾、桂 敏也⁴⁾、川上浩司²⁾、横出正之²⁾、清水 章²⁾、坂田隆造¹⁾

動脈硬化を原因とする下肢虚血性疾患である閉塞性動脈硬化症や、自己免疫による重症下肢虚血を呈するバージャー病には、従来の内科・外科のみでは下肢切断を余儀なくされる症例が多数存在している。そのような重症例に対して遺伝子治療や細胞移植治療などによる「血管新生療法」が近年注目を浴びているが、安全性・有効性・免疫反応・倫理問題など多くが解決されていない。そこで我々は遺伝材料や細胞移植を用いず、かつ血管新生タンパクを十分かつ必要期間作用させる「ゼラチンハイドロゲル」によるドラッグデリバリーシステム DDS を開発した。すぐれた血管新生因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 bFGF を徐放化させるゼラチンハイドロゲルを用いて数多くの動物実験で心臓・胸骨・下肢・肺での有効性を確認しており、さらにそれらの結果を踏まえて 7 例の重症下肢虚血症例に対して第 I/II 相臨床試験を行ったところ、潰瘍を有した 6 例中 3 例で潰瘍消失、1 例で縮小を認め、疼痛・歩行距離・経皮的酸素分圧・レーザードップラー血流計での評価血流が有意に改善した。そこで今回、さらなる安全性・有効性の検証のため第 I-II 相臨床試験をさらに進め、bFGF の効能外使用を含む第 3 項先進医療（高度医療評価制度）という制度下で、保険医療に向けた臨床試験を実施しており、その概要を報告する。

11・臨床試験の出口 - 産業化のためになにが必要か -

科研製薬株式会社 海外開発推進部

○土方重樹

現在、日本の医療機関で行われている臨床試験は、医薬品・医療機器の承認に関連し行われる薬事法に則った治験や製造販売後臨床試験、2003年に施行された改正薬事法により医療機関が独自に薬事法下にて行うことが可能になった医師主導型治験、承認を目的としない薬事法の規制下でない臨床研究に分けられる。医師主導型治験が可能になったことにより、一定の要件を満たせば、医療機関が企業とは関連せずに行った臨床試験データを、医薬品・医療機器の承認のための資料に使用することが可能になった。米国の場合は上記のような区別はなく、すべて米国食品医薬品局（FDA）の規制のもと臨床試験が行われており、すべてFDAに届け出ることが義務付けられている。よって米国で実施されている臨床試験は原則すべて、米国での承認申請に利用できる可能性を有している。

臨床試験を治験レベルでおこなうためには、Good Laboratory Practice（GLP）、Good Clinical Practice（GCP）、Good Manufacturing Practice（GMP）等の各基準を満たさねばならない。GLPは非臨床試験、特に安全性試験の実施のために、GCPは臨床試験の実施のために、GMPは臨床試験薬や機器の製造のために遵守すべき規準であり、これらを大きく逸脱することは、医薬品・医療機器の承認申請の書類として使用できないばかりか、試験の信頼性を損なうことになり注意が必要である。これらの法規制や基準を医療機関自身がコントロールすることは難しく、専門家の関与が必要となる。ここで大きな問題となるのが人材の固定化である。このような基準をコントロールできる専門家の多くは企業に在籍しているが、人材は概ね企業に固定化されている。企業から多くの良質の人材が流動化することが重要であるものと考えられる。

12. 膵消化管吻合への再生医療の応用 - 術後膵液瘻の完全克服への試み -

日本医科大学 外科 ○相本隆

幸

【目的】膵消化管吻合術後の膵液瘻を完全に克服することは膵臓外科医の究極の願いといえる。我々は、ビーグル犬を用いた膵空腸吻合モデルで増殖因子の徐放性システムである bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲル (bFGF-GH) を用いた基礎的研究を行っており、第 7 病日で処置群に迅速かつ強固な膵空腸吻合が誘導されることを報告してきた。今回、bFGF-GH 投与の意義を検討するため、さらに詳細な経時的検討を施行し検討したため報告する。

【対象と方法】対象はビーグル犬で、bFGF-GH 群 16 頭、コントロール (GH) 群 12 頭。bFGF-GH もしくは GH 単独を吻合予定部位の腸管筋層内に投与。術後第 4,7,21,28 病日に屠殺剖検し、breaking strength test, 組織学的検討、膠原線維量半定量、微小血管濃度測定 (MVD)、TUNNEL index 測定にて両群間を比較検討した。

【結果】第 7 病日の bFGF-GH 群では、吻合部に豊富な肉芽組織が誘導され、GH 群の第 21 病日の組織像に酷似していた。しかし、第 28 病日の両群の組織像はほぼ同様で、膠原線維量と breaking strength test は両群間で有意差は認めず。一方、吻合部の vimentin 陽性細胞数と TUNNEL index は、第 21 病日以降、bFGF-GH 群では GH 群に比し急速に減少していた。また、MVD は、第 7 病日以降 bFGF-GH 群が一貫して高値であった。

【結論】bFGF-GH 投与は、強力な血管新生と線維芽細胞などのアポトーシス誘導促進を通し、肉芽組織の quality of healing の向上に寄与する可能性が示唆された。

13. 生体吸収性素材を用いて中膜再生をもたらすことによりイヌ解離大動脈壁の組織学的統合性とコンプライアンスは保持される

東北大学大学院医学系研究科心臓血管外科学分野

○佐藤 充、増田 信也、安達 理、熊谷 紀一郎、秋山 正年、本吉 直孝、川本 俊輔、齋木 佳克

【背景】 解離大動脈壁の修復法は主に接着剤による解離中膜の再接合、もしくはそれに引き続き血管壁組織外から生体非吸収性素材を用いて補強する方法が主流であるが、それらの修復法に特有な慢性期合併症が報告されている。今回我々は生体吸収性フェルトを用いて中膜再生を試みる新たな治療法を開発した。

【方法】 解離中膜にポリグリコール酸 (PGA) フェルトを挿入する群 (AFm)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を添加した PGA フェルトを解離中膜に挿入する群 (AFm+bF)、bFGF 添加 PGA を解離中膜に挿入したのち外膜側を ePTFE にて補強した群 (AFm+bF/E)、そして特に補強を行わず解離壁を縫合閉鎖したコントロール群の 4 群に分けた。ビーグル犬の胸部下行大動脈解離モデルを作成し上記の補強直後に、大動脈断端の強度を評価するため破断試験を実施した。さらに慢性実験モデルを作成し、6 ヶ月後に生体工学的評価として組織コンプライアンスを測定し、また計量組織学的評価を行った。

【結果】 中膜補強を行った 3 群の解離壁破断荷重は、コントロールに比し約 4 倍の改善を認めた。また大動脈吻合部のコンプライアンスについては AFm+bF/E 群がコントロールに比し有意に低下していたが、他の中膜補強群では有意な低下は認めなかった。中膜弾性線維、外膜膠原線維、修復偽腔内および外膜内血管密度については AFm+bF/E 群でコントロールに比し有意な低下を認めた。一方、それ以外の中膜補強群においては有意な組織学的変性は認めなかった。Basic FGF を PGA とともに解離腔に徐放した群では、今回の実験モデルにおいては有意な組織学的修飾をもたらさなかった。

【結論】 中膜側から解離壁修復を行うことで吻合に耐えうる十分な強度を付加し得た。また生体吸収性フェルトを組織再生の足場として使用することでイヌ解離大動脈のコンプライアンスと大動脈壁組織性状を保持し得た。

14. 重症虚血肢に対する DDS 徐放化 Platelet-Rich Plasma (PRP) による血管新生療法

1) 日本医科大学付属病院 心臓血管外科

2) 日本医科大学付属病院再生医療科

3) 京都大学再生医科学研究所

○栗田二郎¹⁾、宮本正章²⁾、石井庸介¹⁾、高木元²⁾、太良修平²⁾、田畑泰彦³⁾、落雅美¹⁾、清水一雄¹⁾

【背景】血管再生過程は無数の因子（蛋白・酵素・血管作動性物質・細胞・細胞外マトリックスなど）が関与しているため、単一成長因子のみによる血管新生療法には限界があると推測される。一方、PRP は platelet derived growth factor (PDGF)、vascular endothelial growth factor (VEGF)、transforming growth factor (TGF)- β など様々な成長因子を含み、それらの相乗効果が期待できる。しかし、そのまま投与された成長因子の活性は短い故にその血管新生効果にも限界がある。そこで Drug Delivery System の概念から開発された gelatin hydrogel は投与された成長因子の徐放化を可能にした。

【目的】重症虚血肢モデルに対する gelatin hydrogel を用いた徐放化 PRP の血管新生効果の検討を行った。

【方法】PRP は Wister 近交系ラットより得られた血液から作成した。同種ラット 32 匹の重症虚血肢モデルを大腿動脈結紮および内腸骨動脈塞栓により作成し、無作為に①no treatment (control)、②platelet-poor plasma (PPP)、③platelet-rich plasma (PRP)、④PRP + gelatin hydrogel (PRP+Gel) の 4 群（各々N=8）に分けた。投与後 4 週間に渡る Laser Doppler 血流計による経時的評価と 4 週間後の血管造影および病理組織学的評価を行なった。

【結果】PPP 群と比較して有意に PRP 群では有意に多量の血小板が存在し、同様により高濃度の PDGF-BB、VEGF、TGF- β 1 が含まれていた。治療 4 週間後の血流量は control 群が $69.6 \pm 12.2\%$ 、PPP 群が $72.2 \pm 11.8\%$ であったのに対して、PRP 群は $82.7 \pm 6.2\%$ まで有意に改善した ($p < 0.05$)。さらに、PRP+Gel 群では $95.1 \pm 8.0\%$ まで改善した ($p < 0.01$)。血管造影による Vascular density においても PRP+Gel 群は他群に比べて有意に高値であった

($p < 0.01$)。免疫組織学的評価では Capillary density が PRP+Gel 群において有意な増加を認めた ($p < 0.05$)。

【結語】PRP は自己血から採取可能なため簡便かつ低侵襲であり、移植材として抗原性の問題は回避される。さらに PRP の徐放化によって、より効率の高い、新たな血管新生療法となる可能性が示唆された。

15. 徐放化再生誘導医療の基礎から実践的臨床応用へ

1) 日本医科大学付属病院 再生医療科

2) 日本医科大学付属病院循環器内科

3) 京都大学再生医科学研究所

○高木 元¹⁾、宮本正章¹⁾、太良修平¹⁾、高木郁代¹⁾、桐木園子¹⁾、田畑泰彦³⁾、水野杏一²⁾

基礎実験による再生医療の試みが多くなされている一方、現在先進医療として確立している治療法は骨髄単核球細胞、末梢血単核球細胞移植と限定されている。臨床応用の問題点として、遺伝子操作による生体への侵襲や危険性に加え、投与細胞数の定量化などの臨床評価上の問題点がある。現実的には高齢や合併症をもつ症例であり、簡便、安全かつ効率的治療法の開発が期待されている。我々は、低侵襲、反復投与可能、製剤化可能であり、局所投与濃度の徐放化効率を規定できるドラッグデリバリーシステムを応用し、動物実験の後、その臨床研究を行った。

対象は末梢動脈閉塞性疾患患者 10 例。徐放化プロファイルは生体吸収性ゼラチンマイクロスフェアを使用。増殖因子製剤としてヒト型遺伝子組み換え塩基性線維芽細胞増殖因子 (b-FGF) 蛋白を用いた。悪性疾患等除外基準を評価後、超音波ガイド下に虚血肢へ投与した。治療前及び治療 4 週後に疼痛スケール (VAS)、ankle-brachial index (ABI)、^{99m}Tc-tetrophosmin シンチおよび経皮酸素分圧 (TcPO₂) による組織血流と最大歩行距離を評価した。治療 4 週後、VAS は有意に減少、TcPO₂ は有意に改善、最大歩行距離は有意に延長した。RI と ABI は有意差に至らなかった。さらに、自己骨髄幹細胞を使用した血管再生治療と b-FGF 蛋白治療の 2 年間の予後が同等であることを確認した。徐放化 b-FGF を用いた蛋白治療を再生医療の有力な手段としてここに提案する。

協賛企業・団体一覧

(50音順敬称略 11月10日現在)

〔広告掲載〕

アステラス製薬株式会社
アストラゼネカ株式会社
エーザイ株式会社
MSD 株式会社 小野薬品工業株式
会社 大塚製薬株式会社 科研製薬株
式会社 協和発酵キリン株式会社 興
和創薬株式会社 サノフィアベンテ
イス株式会社 株式会社アムコ 株式
会社メディカル・クレア 株式会社
三和化学研究所 塩野義製薬株式会
社 大正富山医薬品株式会社 大日本
住友製薬株式会社 中外製薬株式会
社 帝人ファーマ株式会社 日本イー
ライリリー株式会社
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社 日本メジフィジックス株式会
社
ノボ ノルディスクファーマ株式会社 バ
イエル薬品株式会社 ファイザー株式会社
リンパ球バンク株式会社

〔ランチョンセミナー〕

ノバルティスファーマ株式会社

〔協賛〕 エーザイ株

式会社 MSD 株式会社
小野薬品工業株式会社
科研製薬株式会社 第
一三共株式会社
日本医科大学内科学第一講座同窓会げんてん会 日本医科大学同窓
会
他

第1回 DDS 徐放化再生医療研究会の開催にあたり、多くの企業・団体からご協賛いただきました。深く感謝し、御礼を申し上げます。

第1回 DDS 徐放化再生医療研究会
会長 宮本正章