

## 第2回 DDS徐放化再生医療研究会 ご案内

日 時：平成24年12月22日（土）午前9時00時開場9時30分開始

会 場：京都大学再生医科学研究所 東館5階 ルーフテラス

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53

電話：075-751-4108

会 長：田畑泰彦（京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野 教授）

事務局：京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53

電話：075-751-4108

ファックス：075-751-4646

メール：[masaya@frontier.kyoto-u.ac.jp](mailto:masaya@frontier.kyoto-u.ac.jp)

# 世話人

(50 音順 敬称略 11 月 22 日現在)

秋山 治彦	京都大学整形外科
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	近畿大学形成外科
伊藤 壽一	京都大学耳鼻咽喉科
内田 英二	日本医科大学一般外科
落 雅美	日本医科大学心臓血管外科
金指 幹元	鶴見大学歯周病学
貴志 和生	慶應義塾大学形成外科
黒田 良祐	神戸大学整形外科
斎木 佳克	東北大学心臓血管外科
齋藤 繁	群馬大学麻酔科蘇生科
鈴木 茂彦	京都大学形成外科
清水 章	京都大学探索医療センター
高井 信朗	日本医科大学整形外科
高木 元	日本医科大学付属病院再生医療科
田畑 泰彦	京都大学再生医科学研究所
土方 重樹	科研製薬学術部
中村 雅也	慶應義塾大学整形外科
羽藤 直人	愛媛大学耳鼻咽喉科
百束 比古	日本医科大学形成外科
松野 智宣	日本歯科大学口腔外科
丸井 晃	京都大学心臓血管外科
水野 博司	順天堂大学形成外科
宮本 正章	日本医科大学付属病院再生医療科
森本 尚樹	関西医科大学形成外科
山本 雅哉	京都大学再生医科学研究所
吉増 達也	和歌山県立医科大学第一外科

第2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2回 DDS 徐放化再生医療研究会

## ご挨拶

再生医療とは、体本来のもつ自然治癒力を高める治療法であります。自然治癒力の基は、細胞自身の増殖、分化能力(細胞力)であり、この細胞力を高めることによって病気を治すという、体にやさしい治療法であります。細胞力は、細胞自身の元気度に加えて、細胞の周辺環境に大きく影響されます。周辺環境は、細胞の食べ物であるタンパク質と家であるタンパク質や多糖からなる3次元構造物からなります。元気な細胞であっても、適当な食べ物や家がなければ、弱ってしまう。細胞の元気度を高めるためには、例えば、食べ物を細胞に効率よく届け、細胞力をUPするために、タンパク質のドラッグデリバリーシステム(Drug Delivery System、DDS)が必要となります。

DDSとは、生物活性をもつ物質(Drug)を材料と組み合わせ、その活性を高める技術、方法論であります。その対象となるDrugは、治療、診断、予防、化粧品などの多岐にわたり、その大きな目標は治療、診断、予防、化粧効果を高め、その成果を世の中に還元することにあります。これまでも、薬学、バイオマテリアル、DDSに関する学会や研究会が行われています。しかしながら、臨床応用や産業化を具体的に目指した試みは意外と少ないのが現状であります。

研究会の目的は、細胞力を高める物質(細胞の食べ物)をDrugととらえ、それをDDS化することで細胞力を高め、再生医療を実現する技術、方法論について議論することにあります。生物活性をもつ細胞増殖因子タンパク質を数週間にわたって徐々に放出(徐放)させ、細胞力を高め、自然治癒力を促すことができれば、再生治療は実現できます。すでに、生体吸収性ゼラチンハイドロゲルにより、細胞増殖因子タンパク質を体内でうまく作用させ、血管を作るための細胞を元気づけ、虚血性疾患に対する血管再生治療の臨床研究(先進医療)が始まっています。血管以外にも、皮膚、脂肪、骨、軟骨、神経などの様々な生体組織の再生治療が進められています。本研究会では、DDS技術を活用した再生治療臨床研究を推進している研究者や臨床家が集まり、再生医療の普及とその産業化を目指して、その安全性と効果の検証を行うとともに、情報と人的交流を深めることです。

平成23年12月3日に、日本医科大学宮本正章教授によって行われた第1回研究会では、活発な議論が行われ、DDS徐放化再生医療ネットワークが形成されました。その後、参加者から次回研究会開催の希望が上がり、この度、DDS技術を中心に活用した臨床における再生医療を安全かつ効果的に行うために必要なエビデンスをまず国内において構築すべく、第2回研究会のお世話をすることになりました。至らない所もあるかと思いますが、皆様のお力添えで、実りある研究会にしたいと思っております。よろしくお願い申し上げます。

平成24年12月

第2回 DDS 徐放化再生医療研究会

会長 田畑泰彦

## 会場のご案内

主要鉄道駅	乗車バス停	市バス系統	経路・下車バス停	所要時間
JR／近鉄 京都駅から	京都駅前	206 系統	東山通 北大路バスターミナル行／ 熊野神社前下車	約 35 分
阪急河原町駅 から	四条 河原町	201 系統	祇園・百万遍行／熊野神社前下車	約 25 分
		31 系統	熊野・岩倉／熊野神社前下車	約 25 分
地下鉄烏丸線 烏丸今出川駅から	烏丸 今出川	201 系統	百万遍・祇園行／熊野神社前下車	約 15 分
地下鉄東西線 東山駅から	東山三条	206 系統	高野・千本北大路行／熊野神社前下車	約 15 分
		201 系統	百万遍・千本今出川／熊野神社前下車	約 15 分
		31 系統	修学院・岩倉／熊野神社前下車	約 15 分
京阪電車 神宮丸太町駅から	徒歩 出町柳方面出口から北東へ約 2 分			



## 参加者へのご案内

### ■ 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。
  - ・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メモリにてご持参下さい。

### ■ 来場される方へ

受付で会費 5,000 円（非医師：3,000 円）を徴収させていただきます。

# プログラム

- 世話人会 12月21日(金) 17:45~18:15  
京都大学再生医科学研究所東館4階会議室
- 全員懇親会 12月21日(金) 18:30~20:30  
芝蘭会館別館
- 研究会 12月22日(土) 9:00 開場
- 9:30 開会の辞  
会長 田畑泰彦
- 9:35 一般演題(1~6)  
座長 高木 元 (日本医科大学付属病院再生医療科)
- 11:05 特別講演  
座長 宮本正章 (日本医科大学付属病院再生医療科)  
多血小板血漿 (PRP) 療法の原理とその臨床応用について  
楠本健司 (関西医科大学 形成外科学講座)
- 11:55 休憩
- 12:05 ランチョンセミナー  
座長 田畑泰彦 (京都大学再生医科学研究所)  
造血幹細胞と血液細胞の産生を調節する司令塔  
~骨髄の微小環境ニッシュ~  
長澤丘司 (京都大学再生医科学研究所)
- 12:55 休憩
- 13:00 一般演題(7~13)  
座長 水野博司 (順天堂大学医学部形成外科)
- 14:45 教育講演  
座長 田畑泰彦 (京都大学再生医科学研究所)  
再生医療を早期に臨床応用へと繋ぐための橋渡し研究  
伊藤達也 (京都大学医学部附属病院探索医療センター)
- 15:35 休憩
- 15:45 一般演題(14~21)  
座長 山本雅哉 (京都大学再生医科学研究所)
- 17:45 閉会の辞  
宮本正章 (日本医科大学付属病院再生医療科)

## 一般演題発表スケジュール

時間	演題番号	演題	演者
9:35	1	FGF-2 含浸ゼラチンハイドロゲル/ $\beta$ -TCP 顆粒複合体による歯槽骨再生の臨床研究	日本歯科大学生命歯学部 口腔外科 松野智宣
9:50	2	ゼラチンハイドロゲル徐放化多血小板血漿の歯周組織再生療法への応用	鶴見大学歯学部 歯周病学 金指幹元
10:05	3	bFGF 徐放化生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによる歯槽骨の再生治療	京都大学大学院医学研究科 口腔外科学 田村佳代
10:20	4	塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) を用いた新規組織再生医薬品の開発に向けて	科研製薬株式会社 学術部 土方重樹
10:35	5	bFGF 保持・徐放機能を持つ新規人工真皮臨床試験	関西医科大学 形成外科 森本尚樹
10:50	6	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	近畿大学医学部 形成外科 磯貝典孝
11:05	特別講演		
11:55	休憩		
12:05	ランチョンセミナー		
12:55	休憩		
13:00	7	熱傷治療における塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) DDS の有効性の検討	京都大学大学院医学研究科 形成外科 河合勝也
13:15	8	医療用低エンドトキシンゼラチンについて	新田ゼラチン株式会社 経営企画部 井田昌孝
13:30	9	末梢神経損傷に対する bFGF 徐放化人工神経の有用性～自家神経と比較して～	慶應義塾大学医学部 整形外科 中村雅也
13:45	10	徐放化局所麻酔薬の臨床応用へ向けて	群馬大学医学部附属病院 麻酔科蘇生科 戸部 賢
14:00	11	嗅覚障害モデルマウスに対する drug delivery system を用いた bFGF 局所投与の効果	愛媛大学医学部 頭頸部・感覚器外科 能田淳平
14:15	12	内耳治療への DDS の応用：現状と展望	京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 坂本達則
14:30	13	徐放化 basic-FGF 製剤の胸腔内投与による肺気腫の再生医療	和歌山県立医科大学 第一外科 吉増達也
14:45	教育講演		
15:35	休憩		
15:45	14	骨再生を誘導する多血小板血漿徐放化ゼラチンハイドロゲルの作製	京都大学 再生医科学研究所 松井 誠
16:00	15	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	京都大学大学院医学研究科 心臓血管外科 熊谷基之
16:15	16	徐放化再生誘導医療の臨床応用プラン	日本医科大学付属病院 再生医療科 高木 元
16:30	17	大腿骨頭壊死症に対する徐放性 FGF-2 単回注入療法の開発	京都大学大学院医学研究科 整形外科 秋山治彦
16:45	18	マウス変形性関節症モデルに対する徐放化 rapamycin 投与による関節症進行抑制効果	神戸大学大学院医学研究科 整形外科 松崎時夫
17:00	19	消化器癌腹膜播種性転移に対する DDS 徐放化を用いた治療法の開発	京都大学大学院医学研究科 消化管外科 小濱和貴
17:15	20	bFGF とストロマ細胞由来因子 (SDF-1) の局所同時徐放による皮弁着生率の検討	京都大学大学院医学研究科 形成外科 中村陽子
17:30	21	局所の炎症性サイトカインの抑制と BMP-2 による	京都大学

## 特別講演

### 多血小板血漿（PRP）療法の原理とその臨床応用について

楠本健司

関西医科大学 形成外科学講座

血小板については、一般に外傷や手術での出血に続く止血機序に役立つことが主たる知識であるが、引き続き生体で生じるべき創傷治癒を進める上で極めて重要な役割を果たしている。止血がなされる場合には、血小板が凝集して血小板内からの多くの生理物質が放出されることが知られている。そして、この中に PDGF、TGF- $\beta$ 、VEGF、EGF など多くの増殖因子（サイトカイン）が含まれている。これを目的の部位に応用し、細胞や組織の活性化や増殖を導こうとするのが PRP 療法である。つまり、換言すれば“局所サイトカイン療法”であり、サイトカインが多種複合されていることから、“局所カクテルサイトカイン療法”とも言える。

血液を採取することは、一般に患者さんやボランティアに治療の目的を説明すると比較的容易に了解され、提供してもらいやすい。また、自己の血液由来物質を本人に応用するため極めて安心、かつ安全である。患者自身の侵襲は採血のみと極めて少ないことから繰り返して PRP 療法を行えるなど多くの利点がある。我々はこの全血から血小板を濃縮し、活性化させて血小板が内包するサイトカインを強制的に放出させ、治療目的の部位に適用する方法を進めてきた。我々の直接関連する臨床では主に慢性潰瘍（褥瘡や足・下腿の難治性潰瘍など）や熱傷、一般創傷、美容医療や抗加齢医療（アンチエイジング）としてのシワ治療にこの PRP 療法を用いてきた。また、その効果も良好で、それぞれの症例を供覧する。

前述したように、この PRP 療法は、細胞や組織の活性化や増殖に寄与することから、演者は、現在この原理を応用できる多方面の検討を開始しているが、手術や創傷治癒に留まらず、医療全般や再生医療にまで応用が可能と考えている。これら PRP 療法の展望についても触れたい。

# 教育講演

## 再生医療を早期に臨床応用へと繋ぐための橋渡し研究

伊藤達也、清水章

京都大学医学部附属病院探索医療センター 探索医療開発部

我国における再生医療における基礎研究の成果は目覚ましい。しかしながら、再生医療に対する薬事規制は、研究や技術のスピードに比べ、法令及びガイドラインなど規制の整備が遅れている。また、臨床応用のためには臨床研究支援基盤との連携による出口を見据えた事業化も必要である。ヒトへの応用を早期に実現するためにも研究者を中心に、薬事規制の選択と支援基盤の連携の両輪が重要である。

京都大学医学部附属病院探索医療センター（以下、本センター）は、トランスレーショナルリサーチ（橋渡し研究）を推進するナショナルセンターとして、全国に先駆けて平成13年に設立され、これまで学内外の多くのプロジェクトを支援してきた。本センターのミッションの一つは、産官学が協力連携のもと、質の高い臨床研究の実施をより多く支援し、先端医療や新規医薬品や医療機器の普及を早期実現することである。本センターは探索医療開発部、探索医療検証部、探索医療臨床部の3つの部門より組織され、新薬および新規医療機器を用いた医師主導治験に関しては、プロジェクトマネジメント、プロトコルライティング、モニタリング、データマネジメント、統計解析、安全性情報管理、CRC、薬事、渉外、GCP文書管理等を院内で支援している。医師主導治験は、4件終了し、3件実施中である。また、先進医療などの制度下の臨床試験を4件、それらの制度を目指すための臨床試験も多数支援している。

本発表では、現在の臨床試験を行う上での薬事制度や事業化に必要な事項について説明する。またこれまでの自験例を交えて、今後の再生医療における臨床応用に向けた道筋などを述べる。

# ランチョンセミナー

## 造血幹細胞と血液細胞の産生を調節する司令塔～骨髄の微小環境ニッチェ～

長澤丘司

京都大学再生医科学研究所 生体システム制御学分野

哺乳類の全ての血液細胞は、骨髄で造血幹細胞から前駆細胞を經由して産生される。また、造血幹細胞・前駆細胞はニッチェ (niche) と呼ばれる骨髄の特別な微小環境に局在し、ニッチェによってその分化・増殖が調節されていると推測されている。したがって、骨髄ニッチェを人工材料で模倣できれば骨髄と同様の造血が試験管内で再現できると考えられるが、生体でのニッチェの実体は長年不明である。2003年、造血幹細胞ニッチェを構成する細胞として骨辺縁に局在する N-カドヘリンを高発現する骨芽細胞の一種 (SNO 細胞) が報告されたが、その機能が証明されるには至っていない。私たちは、ケモカイン CXCL12 とその受容体 CXCR4 が、造血幹細胞の維持と免疫担当細胞の産生に必須であることを明らかにし、CXCL12 遺伝子座に GFP 蛍光蛋白質遺伝子を挿入したマウスを作製することにより、骨髄腔内に一様に分布し CXCL12 を高発現する長い突起を持った細網細胞の一種 (CAR 細胞) を同定した。骨髄の洞様毛細血管は CAR 細胞に取り囲まれており、造血幹細胞の大部分が CAR 細胞の突起と接着していた。更に、フローサイトメトリーによる CAR 細胞の分離や、ジフテリア毒素受容体遺伝子を用いた CAR 細胞欠損マウスを作製することによって、CAR 細胞が脂肪・骨芽細胞前駆細胞であること、CXCL12 に加えて造血幹細胞や赤血球前駆細胞の増殖に必須のサイトカイン SCF の骨髄での主要な産生源であること、造血幹細胞・前駆細胞ニッチェとして必須の役割をはたすことを明らかにした。以上より、CAR 細胞は、哺乳類の造血制御に中心的役割を担う細胞であることが示唆され、CAR 細胞の解析は人工造血ニッチェ作製のための重要な情報を提供することが期待される。

### 参考文献

- Nagasawa, T. et al. *Nature* 382, 635-638 (1996)
- Tachibana, K. et al. *Nature* 393, 591-594 (1998)
- Sugiyama, T. et al. *Immunity* 25, 977-988 (2006)
- Omatsu, Y. et al. *Immunity* 33, 387-399 (2010)
- Nagasawa, T., et al. *Trends Immunol.* 32; 315-320 (2011)

## 一般演題

### 1. FGF-2 含浸ゼラチンハイドロゲル/ $\beta$ -TCP 顆粒複合体による歯槽骨再生の臨床研究

松野智宣<sup>1</sup>、田畑泰彦<sup>2</sup>、小俣和彦<sup>1</sup>、高森 等<sup>3</sup>、足立雅利<sup>3</sup>、佐藤田鶴子<sup>1</sup>

1) 日本歯科大学生命歯学部 口腔外科

2) 京都大学再生医学研究所 生体材料分野

3) 日本歯科大学附属病院 口腔外科

【目的】骨誘導再生療法における scaffold には、骨誘導能と骨伝導能を具備した骨補填材が望まれる。しかし、臨床に応用されている合成アパタイトには骨誘導能がないため、周囲の幹細胞や前駆細胞などを効率良く誘導することは困難で、迅速かつ十分な骨再生は望めなかった。そこで、ゼラチンハイドロゲルに Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) を含浸させて  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) 顆粒との複合体を作製し、抜歯窩や嚢胞腔の歯槽骨欠損に応用した臨床研究を行った。

【方法】日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認のもと、同意が得られた 11 名、12 部位（抜歯窩 11 部位、嚢胞腔 1 部位）に対し、本材の有効性と安全性を評価する臨床試験フェーズ第 I/IIa 相として行った。複合体は FGF-2（フィブラストスプレー250）をゼラチンハイドロゲルに含浸させ、 $\beta$ -TCP 顆粒（オスフェリオン G1）と混和して作製した。局所症状や副作用、有害事象の有無と術後 6 か月までのエックス線像を画像解析した。

【結果】本材が原因となる局所的炎症症状や全身的副作用は認められず、創部軟組織の治癒は良好であった。術後 3 か月で  $\beta$ -TCP 顆粒の吸収とそれに伴う X 線不透過性の低下を認め、6 か月では新生骨の石灰化に伴い X 線不透過性は亢進する傾向を認めた。また、骨再生およびリモデリングの指標となる  $\beta$ -TCP 顆粒の残存率は術後 6 か月で平均 22.5%であった。

【結論】 $\beta$ -TCP 顆粒を FGF-2 含浸ゼラチンハイドロゲルと複合化することで、歯槽骨の誘導再生が促進されることが確認できた。

## 2. ゼラチンハイドロゲル徐放化多血小板血漿の歯周組織再生療法への応用

金指幹元<sup>1</sup>、宮本正章<sup>2</sup>、長野孝俊<sup>1</sup>、田畑泰彦<sup>3</sup>、五味一博<sup>1</sup>

- 1) 鶴見大学 歯学部 歯周病学講座
- 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 生体材料学分野

現在の歯周組織再生療法は、GTR 法、エナメルタンパク質 (Emdogein®Gel) があり、この 2つの方法はいずれも歯周組織をある程度回復させることが可能であるが、術式がとても難しい、手術後に感染が起きやすい (GTR 法)、薬剤に動物 (ブタ) 由来の原材料を用いている、そして歯周組織再生までに 6~8 ヶ月と時間がかかるなど諸問題がある。

自分の血液を遠心・分離して得られる多血小板血漿 (Platelet rich plasma:PRP) 中には、血小板由来成長因子をはじめ多くの成長因子を含んでいる。

そこで我々は、自己血から得られる PRP を薬物伝送システム (ドラック・デリバリーシステム) であるゼラチン粒子にまぜ、それを失われた歯周組織の部分へ移植することにより、持続的に多血小板血漿中の有効成分を放出 (徐放化) させることで、その歯周組織再生効果を検討する臨床研究を計画し、現在その有効性、安全性を検討している。

**患者:** 52 歳 女性 **主訴:** 上顎右側臼歯部の歯の動揺

**口腔内所見:** 全顎にわたる歯間乳頭歯肉腫脹をみとめ、主訴である 25 近心には 5~6 mm の歯周ポケットが存在した。

**X線所見:** 全顎的に軽度歯槽骨吸収を、さらに主訴である 25 近心には垂直性歯槽骨吸収像を認めた。

**臨床診断:** 限局性・慢性歯周炎

**歯周外科処置:** PRP の調整は 2 回法を用いた。450 G で 6 分間遠心後、血漿と赤血球の境目から下 1 mm 程度のところまで buffy coat を含む血漿成分を採取、15 mL のファルコンチューブに移した。これを 1600 G で 5 分間遠心し PRP と PPP とを分離した。

得られた PRP は 2 wt%塩化カルシウム溶液と混合し“PRP 活性化溶液”とした。最後にゼラチンハイドロゲルに活性化 PRP を含浸させるため、37 °C で 1 時間 incubation したものを移植体とした。

局所麻酔下にて術野を展開し、歯周病に罹患した感染部位を可能な限りデブライドメントし、汚染セメント質の除去後に移植体で歯周骨欠損部を満たし縫合で終了とした。

現在外科処置後 3 ヶ月経過した、他の方法に比較して X 線写真上で歯槽骨再生が観察できたので、有効性についてさらに臨床パラメーターを計測しているところである。

### 3. bFGF 徐放化生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによる歯槽骨の再生治療

田村佳代、高橋 克、三島清香、別所和久  
京都大学大学院医学研究科 口腔外科

#### 4. 塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）を用いた新規組織再生医薬品の開発に向けて

土方重樹

科研製薬株式会社 学術部

細胞成長因子や分化誘導因子を使用した「細胞を用いない再生医療製品」は医薬品、あるいは医療機器として世界中で実用化されている。BMP-2 が整形外科・口腔外科領域で、OP-1 (BMP-7) が整形外科領域で、PDGF-BB が皮膚科あるいは歯科領域で製品化されている。これらはすべて欧米諸国を中心としたもので、日本での実用化はされていない。

科研製薬株式会社では、強力な血管新生作用と未分化間葉系細胞の増殖能を有するFGF-2を用いた医薬品開発を進め、2001年には褥創潰瘍治療薬（フィブラストスプレー）として日本国内で実用化を果たし、現在までに皮膚・形成外科を中心とした医療現場で延べ100万人以上に使用されている。さらに、FGF-2の再生医療への応用として、歯周組織再生医薬品等の開発を進めている。

今回は、FGF-2を用いた各種医薬品の開発経緯を中心に紹介させていただくとともに、GCP省令を遵守した中での製薬企業の医薬品開発体制、そして細胞成長因子製品の将来と問題点等について紹介させていただきたい。

## 5. bFGF 保持・徐放機能を持つ新規人工真皮臨床試験

森本尚樹

関西医科大学 形成外科

【目的】既存人工真皮の問題点として、真皮様組織の形成に数週間必要であること、難治性潰瘍では感染しやすいため使用できない、という点がある。これらを解決するため、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF：フィブラスプレー®）を保持・徐放機能可能な新規人工真皮を開発した。新規人工真皮には10日間程度のbFGF保持作用があり、動物実験では、既存人工真皮よりも真皮様組織の形成が数倍早く、難治性潰瘍モデルに用いても感染せず真皮様組織を形成することを確認している。今回、皮膚難治性潰瘍を対象とした、bFGFと新規人工真皮の併用療法による、安全性と有効性に関する探索的臨床試験（医師主導試験）を行なったので、治療経過及び結果を報告する。

【方法】本試験では、1ヵ月以上保存治療を行っても治癒せず、創傷治癒機転が働いていないと判断される潰瘍を難治性皮膚潰瘍と定義し、試験対象とした。潰瘍のデブリドマンを行った後に、bFGFを散布した新規人工真皮を貼付、縫合固定した。貼付14日後に人工真皮のシリコンフィルムを除去、肉芽形成および創面積を計測し、創傷改善の評価を行い、有効性を評価した。貼付28日後まで経過観察を行なった。

【結果】17症例が試験に登録された。有効性に関して、貼付14日に17症例中16症例で創傷が改善した。安全性に関しては、重篤な有害事象はなかった。

【考察】bFGFと新規人工真皮の併用療法は、既存人工真皮の問題点を克服することができる安全で有効な治療法であると考えられた。

## 6. 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

磯貝典孝、楠原廣久、徳井 琢、伊谷善仁、朝村真一  
近畿大学医学部 形成外科

形成・再建外科領域では、欠損範囲が広く、欠損を構成する組織が複数となる場合、再建時に利用するドナー部の機能的・形態的障害が残存することが多い。この問題を解決する上で、栄養因子を与えて幹細胞を活性化する再生誘導技術の確立は、今後、有効な再建手段となることが推察される。そこで今回は、徐放化 bFGF を臨床応用した再建術式についてビデオにて供覧し、その有効性について検討した結果について報告する。

症例 1：重度の損傷を伴う指末節部切断（subzone II および III）に対して、bFGF 徐放システム組み込み型 graft on flap 法を用いて再建した。手術では、切断面の指腹部を Oblique triangular flap を用いて被覆した後、末節骨を含む perionychium を切断端より採取して、これを composite graft として移植した。composite graft の移植時には、bFGF 徐放システム組み込みこんだ。その結果、移植した爪床より爪甲が良好に再生し、指末節部は、機能的、整容的に再建された。

症例 2：先天性外耳道欠損に対して、皮弁による外耳道形成術を施行した。術後に生じた外耳道骨部の組織欠損部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たところ、上皮化の促進は著しく高まり、外耳道骨部の良好な治癒を得た。

bFGF 含有徐放化ゼラチン粒子を用いた新生血管療法は、新しい再建方法の術式として極めて有効と考えられた。

## 7. 熱傷治療における塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) DDS の有効性の検討

河合勝也<sup>1</sup>、神田則和<sup>1</sup>、藤高淳平<sup>2</sup>、森本尚樹<sup>3</sup>、田畑泰彦<sup>4</sup>、鈴木茂彦<sup>1</sup>

- 1) 京都大学大学院医学研究科 形成外科
- 2) 浜松労災病院 形成外科
- 3) 関西医科大学 形成外科
- 4) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

【目的】臨床において熱傷治療に対する bFGF の有効性は報告されている。しかし、年齢・部位・受傷範囲などにより、毎日の交換が困難な症例に対しては bFGF の徐放による負担の軽減が望ましい。

熱傷深達度により治療法がことなることから、Ⅱ度熱傷 (Deep Dermal Burn: DDB) とⅢ度熱傷 (Dermal Burn: DB) に対してそれぞれ異なる徐放基材を選択し、bFGF 徐放による治療効果の検討を行った。

【方法】熱傷作製機を用いてラット背部に熱傷モデルを作製した。加熱した金属プローベの皮膚への接触時間を変えることにより DDB モデルと DB モデルを作製した。

DDB に対して、熱傷作製 2 時間後に表皮を剥削し、徐放基材としてゼラチンシートを貼付した。DB に対しては、熱傷作製後 5 日目に壊死組織を除去し、コラーゲンゼラチンスポンジを移植した。ともに含浸する bFGF 濃度は  $7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  とし (bFGF 徐放群)、生食含浸群をコントロールとした。5 日目および 7 日目に組織を採取し、肉眼的および組織学的評価を行った。bFGF 連日投与群との比較も行った。

【結果】DDB において、bFGF 徐放により創の収縮が有意に抑制された。また早期からの bFGF 投与により熱傷の進行を予防する効果も確認された。

DB においては、bFGF 徐放により肉芽組織形成促進および上皮化形成促進に有意差がみられた。

【考察】熱傷治療では、熱傷の進行予防、創治癒の促進、拘縮の予防などが重要である。これらの目的に対して bFGF の適応は有効であり、さらに bFGF を徐放することは将来臨床において役立つことが示唆された。

## 8. 医療用低エンドトキシンゼラチンについて

井田昌孝、平岡陽介

新田ゼラチン株式会社 経営企画部 ライフサイエンス室

新田ゼラチン株式会社は、創業 94 年を迎えたゼラチン、コラーゲン、コラーゲンペプチドのメーカーです。これらの天然素材は、食品、写真、カプセル、接着剤、化粧品、細胞培養基材などの用途に使用されております。近年、再生医療分野（細胞移植、ティッシュ・エンジニアリング）において、ゼラチン、コラーゲンが用いられています。例えば、生体親和性、分解消失期間の制御、シートや粒子などへの加工性の点から、薬剤徐放の担体としてゼラチンが用いられてきました。その臨床研究数の増加に伴い、当社では医療用の低エンドトキシンゼラチン (beMatrix® gelatin) を開発しました。研究試薬ゼラチンと比較しながら、beMatrix® gelatin の特性をご紹介します。

## 9. 末梢神経損傷に対する bFGF 徐放化人工神経の有用性 ～自家神経と比較して～

中村雅也<sup>1</sup>、高木岳彦<sup>1</sup>、芝田晋介<sup>2</sup>、木村祐<sup>3</sup>、戸山芳昭<sup>1</sup>、田畑泰彦<sup>3</sup>、岡野栄之<sup>2</sup>

1) 慶應義塾大学医学部 整形外科

2) 慶應義塾大学医学部 生理学

3) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

【目的】末梢神経損傷に対して、徐放 bFGF とスカフォールドを併用することで自家神経移植に代わる人工神経の可能性を追求した。

【方法】7週齢ラットを用いて以下の実験を行った。1) 放射性物質で標識された bFGF を皮下注射、bFGF 浸潤 PGA tube (以下非徐放化 tube) もしくは bFGF 浸潤 peptide hydrogel (PH) 付加 PGA tube (以下徐放化 tube) を皮下包埋し、それぞれの投与後 28 日までの bFGF 残存率を評価した。2) 後根神経節より神経細胞を採取し、PH、bFGF の存在下で 48 時間培養して軸索伸張を評価した。3) 坐骨神経に 15 mm の欠損を作成し自家神経、PGA tube、bFGF 非徐放化 tube、bFGF 徐放化 tube でそれぞれ架橋した。これら 4 群につき術後 16 週まで下肢筋力試験と von Frey hair による機能評価を行い、その後トルイジンブルー染色による再生軸索、Reca-1 染色による新生血管を組織学的に評価した。

【結果】1. 徐放化 tube で bFGF は 3 日で 53 %、14 日で 29 %、28 日で 5 %と残存していたが非徐放化 tube では 3 日で既に 4 %以下であった。2. PH、bFGF の存在下で他の群より軸索再生が得られた。3. 自家神経移植で運動機能は 16 週で 90 %、知覚機能は 73 %まで回復したが、bFGF 徐放化 tube は 58 %、57 %、bFGF 非徐放化 tube は 41 %、37 %であった。4. 徐放化 tube では他の tube に先立ち 4 週で再生軸索が出現したが、自家神経移植に比べ軸索密度は低かった。自家神経移植では術後 4 週で新生血管があらわれたが他の tube ではいずれも乏しかった。

【考察】徐放化 bFGF は末梢神経損傷に対する血管新生のみならず軸索伸展にも寄与することが示唆されたが、自家神経には及ばない結果となった。bFGF の濃度や徐放速度を検討する必要もあるが、単一の栄養因子では限界があると考えられ、今後細胞移植の併用も計画している。

## 10. 徐放化局所麻酔薬の臨床応用へ向けて

戸部 賢、松岡宏晃、鈴木敏之、須藤貴史、齋藤 繁

群馬大学医学部附属病院 麻酔科蘇生科

近年術後疼痛管理は、硬膜外持続鎮痛法、経静脈的自己鎮痛法(IVPCA)、超音波ガイド下神経ブロック法等様々な鎮痛方法があるが、局所麻酔薬の重要性は今後も増していくことに疑う余地はない。我々は2006年より京都大学再生医科学研究所田畑らと共同で、局所麻酔薬の徐放化を行っている。ゆっくり放出する局所麻酔薬があれば、硬膜外腔や末梢神経周囲、手術創部に単回投与で術後疼痛管理を行うことができる可能性がある。そこで生体内吸収材料であるポリ乳酸とポリグリコール酸(PLGA50:50, MW85000)と局所麻酔薬リドカインを用いて、30%リドカイン徐放シートを作成した。このシートは封入したリドカインのうち2日間で50%、1週間で90%程度放出するものである。このシートを用いて、ラット術後痛モデルにおいて、数日から1週間の鎮痛効果を行動実験(von Frey test)と脊髄の免疫染色(c-fos)で示した。また、血液中濃度測定や神経麻痺の程度、投与部位周囲の組織学的評価も併せて行い、安全性を示すこともできた。さらに、そのリドカイン徐放シートを破碎して粒子化(長径10~20 μm)することで、ラットの硬膜外腔に投与することを可能とした。同様にラット術後痛モデルにおいて硬膜外投与して、その鎮痛効果と安全性を示した。現在、院内の臨床試験委員会を通して、医師主導臨床試験として『徐放性局所麻酔薬の正常粘膜に対する安全性と有効性を確かめる臨床試験』(UMIN000008248)を申請し行っている。ヒトボランティアに対して、鼻粘膜にリドカイン徐放シートを貼って、その安全性と局所麻酔効果の持続を評価した。局所麻酔効果の評価は、Electronic von Frey Anesthesiometerを用いて、貼付部位の鼻粘膜に圧刺激を加えて、その痛み閾値を測定するものとした。当初6名の予定で開始したが、長時間の鎮痛効果が証明できそうなので、数を増やして評価できるように追加申請をして行っている。

## 1 1. 嗅覚障害モデルマウスに対する drug delivery system を用いた bFGF 局所投与の効果

能田淳平、高橋宏尚、白馬伸洋、羽藤直人、暁 清文

愛媛大学医学部 頭頸部・感覚器外科

我々耳鼻咽喉科医にとって、末梢神経性嗅覚障害による無臭症の治療に難渋することは少なくない。そして、その治療対象となる嗅神経細胞は、「生涯にわたって再生を繰り返す」という特異な性質を持っており、再生のメカニズムが研究の対象として広く注目を集めている。様々な神経栄養因子の関与も解明されており、その1つである basic fibroblast growth factor (bFGF) に着目し、末梢神経性嗅覚障害モデルマウスに対して局所投与を行い、その効果を検討した。bFGF の徐放化を目的に、京都大学田畑研究室にて開発されたゼラチンハイドロゲル (drug delivery system) を用いる事で、治療効果のさらなる向上を図った。効果判定には、マウスの忌避する臭いを持つシクロヘキシミド水溶液を用いた水なめ試験、HE 染色による嗅上皮の厚さ、成熟した嗅神経細胞に発現する Olfactory Marker Protein (OMP) の免疫染色による OMP 陽性細胞数を用いた。その結果、嗅覚障害を防御できることを確認したのでここに報告する。

## 12. 内耳治療への DDS の応用：現状と展望

坂本達則、中川隆之、伊藤壽一

京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

難聴やめまいなど、QOL に大きな影響を及ぼす症状を呈する内耳障害は、様々な理由で治療が困難である。その理由の一つが、内耳への薬物投与が困難であるということにある。内耳血流が少ないこと、血液-内耳関門の存在などにより、全身投与した薬剤はほとんど内耳に到達しない。また局所投与として内耳への注入はそれ自体が内耳障害をきたすのでほとんど行われず、中耳から正円窓膜経由で内耳に拡散させる鼓室内投与は、鼓室に薬液が安定して存在することが難しいため、効率が悪い。これに対し、我々はゼラチンハイドロゲルによる IGF-1 徐放を利用した中耳からの内耳薬物投与方法を開発し、第 1 段階の臨床試験では突発性難聴・ステロイド治療無効例に対する安全性を確認し、何例かの有効症例を経験することが出来た。現在治療効果を評価するための臨床試験を行っているので、その進捗状況について報告する。

この方法は手技として困難なものではないが、内耳への薬物投与としてより良い方法としてどのようなものが望ましいかについては考慮の余地がある。また IGF-1 の内耳障害に対する効果の機序としては「細胞保護」が考えられているが、内耳障害のより根本的な問題を解決するための「内耳再生」治療における DDS の役割、あるいは現在高度な内耳障害に対する治療方法として用いられている人工内耳における DDS の役割についても議論が始まっている。これらについても合わせて議論したい。

### 13. 徐放化 basic-FGF 製剤の胸腔内投与による肺気腫の再生医療

吉増達也<sup>1</sup>、尾浦正二<sup>1</sup>、粉川庸三<sup>1</sup>、川後光正<sup>1</sup>、平井慶充<sup>1</sup>、大橋拓矢<sup>1</sup>、中村理恵<sup>1</sup>、  
岡村吉隆<sup>1</sup>、山本雅哉<sup>2</sup>、田畑泰彦<sup>2</sup>

1) 和歌山県立医科大学 第一外科

2) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

【はじめに】肺気腫を伴う高齢者の気胸では肺実質が高度に破壊されているため瘻孔が閉鎖せず難治性となりやすい。そこで我々は、瘻孔閉鎖の促進と再発の予防を目的とし、徐放性 basic-FGF 製剤を胸腔ドレーンより投与して肺実質を再生させるという strategy を考え、動物実験による検証の後に臨床試験を開始した。

【対象および方法】本治療法に関しては、ラットの肺気腫モデルにて破壊された肺胞隔壁の修復効果が確認されている。臨床試験の対象は高度の気腫性変化を伴う気胸患者でドレナージを受けるも気瘻が閉鎖せず、希釈フィブリン糊注入療法 (Chest 2000; 117: 790-5) が施行される者である。4 倍希釈したフィブリノーゲン液に徐放化 basic-FGF 製剤 (トラフェルミンとして 500 µg) を加え、胸腔ドレーンから注入して胸膜面全体に塗布した後、トロンビン液を注入して固着させた。これまでのところ登録例は院内発生例のみで、症例の蓄積が遅れている。現在までに 3 例が登録され治療を完了した。3 例とも注入直後に気瘻は停止し、気瘻の再発なく胸腔ドレーンは抜去された。3 例ともに特に副作用は認められなかった。CT 画像の解析による評価では、治療前後の low attenuation area の割合は 1 例目が 33.0% から 24.5%、2 例目が 15.2% から 9.6%、3 例目が 23.4% から 18.6% であり、3 例とも治療後に低下しており、臨床例においても肺胞再生の可能性が示唆された。一方、無治療側の low attenuation area の割合は、1 例目が 17.9% から 17.5%、2 例目が 48.1% から 43.2%、3 例目が 19.8% から 20.5% であり、1 例目、3 例目では変化がなかったが、2 例目では健側でも改善傾向がみられた。CT 画像による評価では吸気位により誤差が生じるためと考えられる。

【結語】肺気腫を伴う難治性気胸患者に対する徐放性 basic-FGF 製剤の胸腔内投与は再生医療として有効である可能性が示唆される。

#### 1 4. 骨再生を誘導する多血小板血漿徐放化ゼラチンハイドロゲルの作製

松井 誠<sup>1</sup>、古谷 洋之<sup>1, 2</sup>、田畑 泰彦<sup>1</sup>

1) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

2) 順天堂大学大学院医学研究科 整形外科学

現在の骨折治療法の第一選択は、外科的な骨接合術もしくはギプスによる外固定などである。しかしながら、これらの治療法では、治療期間が長期に及ぶこともあり、骨折部の癒合不全などの合併症を引き起こす場合も多い。一方、骨欠損部に対して、海綿骨の移植なども行われているが、骨採取量の限界や採取組織の侵襲などに問題がある。これまでわれわれは、多血小板血漿 (PRP) と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、それによる骨再生治療法を報告してきた。本研究では、骨再生に最適な PRP 濃縮度の決定を目的とする。PRP は、家兎の採取血液を密度勾配遠心法によって濃縮した。PRP および bFGF は、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 (10mg) に含浸させ、*in vitro* で 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ることを確認した。作製した PRP 徐放化ゼラチンハイドロゲルを、家兎の尺骨欠損モデルに投与し、軟 X 線、および組織学的検査により骨再生を評価した。その際、PRP の濃縮度は、1、2.5、5、および 10 倍に変化させ骨再生に最適な PRP 濃縮度を評価した。その結果、5 倍以上濃縮した PRP を用いたとき、有意な骨再生が認められた。PRP 徐放化ゼラチンハイドロゲルを投与した群では、再生骨組織周囲に新生血管の増加も認められた。

## 15. 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

熊谷基之<sup>1</sup>、丸井 晃<sup>1、2</sup>、田畑泰彦<sup>3</sup>、武田崇秀<sup>1、2</sup>、山本雅哉<sup>3</sup>、米澤 淳<sup>4</sup>、池田隆文<sup>2</sup>、松原和夫<sup>4</sup>、川上浩司<sup>2</sup>、横出正之<sup>2</sup>、清水 章<sup>2</sup>、坂田隆造<sup>1</sup>

- 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 生体材料学分野
- 4) 京都大学医学部附属病院 薬剤部

高齢化および食生活の欧米化により糖尿病や高脂血症などの動脈硬化疾患が増加してきており、それに伴い閉塞性動脈硬化症の患者数も増加してきている。治療の進歩により観血的および経皮的血行再建術が行われているが、重症例では血行再建が難しい。また、自己免疫によるバージャー病においても重症例は血行再建が難しく、これら疾患による重症下肢虚血患者は、結果として下肢切断を余儀なくされる症例が少なくない。

このような血行再建不適応の重症下肢虚血を有する症例に対する治療として、増殖因子蛋白を使用した治療、増殖因子の遺伝子を使用した治療、細胞移植の3種類があるが、それぞれに問題点があるため、いまだ確立された治療法としてはなり得ていない。

そこで我々は、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ように、京都大学再生医学研究所田畑研究室と共同で、血管新生因子である塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を徐放させる方法を開発した。これは生体内吸収材料である「ゼラチンハイドロゲル」を用いることでbFGFを局所に長期間、より効果的に発現させることが可能となり、単独投与に比べより効果的な治療効果をあげることができる。

これまでに、ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGF徐放による有効性を多くの動物実験で示し、これらの実験を臨床応用する形で第I/II相臨床試験を行い臨床での有効性を示してきた。

そこで今回、ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGFの徐放投与のさらなる安全性・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。また、ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGF徐放に関する更なる応用についても報告する。

## 16. 徐放化再生誘導医療の臨床応用プラン

高木 元<sup>1</sup>、宮本正章<sup>1</sup>、久保田芳明<sup>1</sup>、桐木園子<sup>1</sup>、高木郁代<sup>1</sup>、田畑泰彦<sup>3</sup>、水野杏一<sup>2</sup>

- 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 生体材料学分野

我々は、低侵襲、反復投与可能、製剤化可能であり、局所投与濃度の徐法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た臨床血管再生治療を行っている。対象は末梢動脈閉塞性疾患患者。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。単一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) 蛋白を用いた臨床研究の結果をふまえ、platelet derived growth factor (PDGF)、vascular endothelial growth factor (VEGF)、transforming growth factor (TGF)- $\beta$  など様々な増殖因子を含有する多血小板血漿(PRP)による血管再生治療の基礎研究を終了、現在医療機器承認を受けた PRP 自動回収装置: マゼランを使用し、下肢難治性潰瘍治療を企画中である。

## 17. 大腿骨頭壊死症に対する徐放性 FGF-2 単回注入療法の開発

秋山治彦、黒田 隆

京都大学大学院医学研究科 整形外科

## 18. マウス変形性関節症モデルに対する徐放化 rapamycin 投与による関節症進行抑制効果

松崎時夫<sup>1</sup>, 松下雄彦<sup>1</sup>, 田畑泰彦<sup>2</sup>, 齊藤高志<sup>2</sup>, 黒田良祐<sup>1</sup>

1) 神戸大学大学院医学研究科整形外科

2) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

【目的】変形性関節症（OA）は関節軟骨の変性、消失によってもたらされる整形外科領域で最も多い疾患である。Autophagy はストレスなどによって損傷した細胞内小器官および変性タンパク質を分解する細胞内浄化機構であるが、近年、autophagy の機能不全が老化や変性疾患に関連することが報告されている。最近、rapamycin の連日腹腔内投与がマウスの OA 進行を抑制することが報告されたが、腹腔内投与による関節内への薬剤到達効率や、全身投与による rapamycin の副作用などが臨床的実用化にあたり、懸念される。本研究の目的は、OA に対する rapamycin の関節内局所徐放の効果をも、マウス OA モデルを用いて解析することである。

【方法】ゼラチンミセルに rapamycin を内包させ、ゼラチン水溶液と混合した。凍結乾燥のち、熱脱水処理によって rapamycin 含有ハイドロゲルを作製した。また徐放性は *in vitro* にて確認した。次に、週齢 8 週の野生型マウス (C57BL6/J) で OA モデルを作成し、rapamycin 含有ハイドロゲル投与 2 群 (100 ng、1000 ng)、薬剤非含有ハイドロゲル投与群に分けて関節腔内投与を行った後、術後 10 週で組織標本作製し、組織学的スコアにて比較し、免疫組織化学染色を行った。

【結果】徐放性はハイドロゲルの分解挙動と同様であることを確認した。組織学的スコアは、rapamycin 含有ハイドロゲル投与 2 群共に薬剤非含有ハイドロゲル投与群に比べて低く、OA の進行抑制を示した。また、rapamycin 投与 2 群間では、1000 ng 投与群の方が 100 ng 投与群より OA 進行抑制効果を示した。さらに免疫組織化学染色では術後 10 週でも autophagy が活性化されていることが示された。

【結論】マウス変形性関節症モデルで rapamycin 局所徐放により OA 進行抑制効果を認めた。

## 19. 消化器癌腹膜播種性転移に対する DDS 徐放化を用いた治療法の開発

小濱和貴<sup>1</sup> 郡司周太郎<sup>1,2</sup> 田畑泰彦<sup>2</sup> 坂井義治<sup>1</sup>

1) 京都大学大学院医学研究科 消化管外科

2) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

【背景】腹膜播種性転移は、消化器癌の死亡原因の大きな割合を占めており、大きな予後規定因子と認識されている。また、いったん腹膜播種を起こすと、根治的な外科手術が不可能な場合がほとんどである。これまで抗癌剤の全身投与などが行われてきたが、予後はいまだに悪く、新たな治療法の開発が急務となっている。そこで、腹膜播種に対しては抗癌剤を直接腹腔内投与することにより高い腹腔内濃度が得られ有効性が上がるのではないかと考えから、これまでにいくつかの抗癌剤が腹腔内投与されてきた。しかし、抗癌剤の血中移行による副作用の発現、局所濃度の維持をどうするかなど、解決すべき問題は多い。

【目的と方法】高濃度で腹腔内局所に長期間滞留し、なおかつ全身の副作用が少ない治療法として、Gelatin microsphere を担体とする抗癌剤の徐放剤を作製し、その効果と副作用をマウスを用いた実験で確認した。

【結果】Gelatin microsphere を架橋して CDDP (シスプラチン) を含浸させることで Gelatin microsphere incorporating CDDP (GM-CDDP) を得た。これをマウスの腹腔内に投与し、血中・腹水中・腎臓の局所プラチナ濃度を経時的に測定したところ、Free CDDP を同量腹腔内投与したグループに比べて腹水中濃度は高く、血中濃度・腎臓内濃度は低く抑えられた。マウスの大腸癌腹膜播種モデルを作製し、これに腹腔内投与を行ったところ、GM-CDDP 投与群も Free CDDP 投与群も腫瘍の増殖抑制が同程度に見られた。副作用に関しては、Free CDDP 投与群は体重減少や腎機能障害・白血球減少が見られたのと対照的に、GM-CDDP 投与群ではそれらの副作用がほとんど認められなかった。

【考察】マウスの実験から、Gelatin microsphere は CDDP の抗腫瘍効果を保ちつつ、副作用を減弱し、より高用量での治療を行える可能性が示された。Gelatin は止血剤やカプセル等すでに医療に使用されている生体適合性、生体吸収性の物質であり、臨床への応用がしやすい担体であると考えられる。発表では、当施設における消化器癌の腹膜播種に対する治療の現状と予後を評価し、臨床的な観点から今後の DDS 徐放化技術の応用可能性についても報告したい。

## 20. bFGF とストロマ細胞由来因子 (SDF-1) の局所同時徐放による皮弁生着率の検討

中村陽子<sup>1、2</sup>、河合勝也<sup>1</sup>、森本尚樹<sup>3</sup>、田畑泰彦<sup>2</sup>、鈴木茂彦<sup>1</sup>

- 1) 京都大学大学院医学研究科 形成外科
- 2) 京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野
- 3) 関西医科大学 形成外科

【目的】皮弁移植は、形成外科において重要な手術法の一つであり、皮弁の生着面積を向上させるさまざまな工夫が試みられている。bFGF は血管新生を促進させることが知られており、bFGF を利用することで皮弁移植の生着率を向上できることが報告されている。本研究では、造血系幹細胞動因を高める作用を持つストロマ細胞由来因子 (SDF-1) を bFGF と同時に用いることによる血管新生および皮弁生着率の向上について検討した。

【方法】牛骨由来ゼラチン (重量平均分子量 : 10,000、等電点 : 5.0) よりゼラチンハイドロゲル粒子を作製した。乾燥ハイドロゲルに 1) bFGF 2) SDF-1 3) FGF+SDF-1 を含む水溶液を含浸させ、それぞれの細胞増殖因子含浸ゼラチンハイドロゲルを得た。これらのハイドロゲルをラット背部に作製した皮弁内に局所投与した。皮弁作製 7 日後に病理組織観察とレーザー・ドップラー血流装置により血管新生を測定し、肉眼的所見より皮弁生着域の評価を行った。

【結果・考察】bFGF および SDF-1 は、ゼラチンハイドロゲル粒子からの単独および両者の混合同時徐放が可能であった。bFGF および SDF-1 混合投与群では、単独投与群に比べ皮弁内血管数・ドップラー血流が有意に増加し、血管新生の促進効果が示された。またそれに伴い皮弁生着率の向上も認められた。これらの結果より、bFGF と SDF-1 の局所同時徐放が皮弁移植の成績向上に有用であると考えられた。

## 2 1. 局所の炎症性サイトカインの抑制と BMP-2 による骨再生

古谷洋之、Juthamas Ratanavaraporn、田畑泰彦  
京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

本研究の目的は、生体適合高分子であるゼラチンからなるハイドロゲルを用いて、トリプトリド、BMP-2 を局所で徐放させ、過剰な炎症応答を抑制することで、ラットの尺骨骨欠損の修復を促すことである。トリプトリドは、免疫抑制効果、抗炎症効果があり、臨床においても漢方薬の成分として使用されている。BMP-2 は、骨形成能を有し、ゼラチンハイドロゲルからの徐放により、骨欠損部の骨再生が得られると報告されている。本研究では、難水溶性であるトリプトリドを、乳酸オリゴマーをグラフトしたゼラチンを用いてミセル化した。このトリプトリド内包ミセルとともにゼラチンを化学架橋することで、トリプトリド内包ミセル含有ゼラチンハイドロゲルを得た。得られたハイドロゲルを凍結乾燥し、BMP-2 を含浸させることで、トリプトリド内包ミセル含有 BMP-2 含浸ゼラチンハイドロゲルを得た。その生物活性を *in vitro* の細胞培養で調べた。さらに、ラットの尺骨骨欠損モデルを作製し、軟 X 線、 $\mu$ CT、組織切片から評価した。*in vitro* で ALP 活性の上昇、IL-6 の抑制が見られた。また、ラット尺骨骨欠損モデルにおいて高い骨密度と骨再生を認めた。以上の結果は、局所徐放されたトリプトリドと BMP-2 により局所の炎症を抑制し、骨再生を高めたと考えられる。

# 協賛企業一覧

(50音順 敬称略 11月22日現在)

## 【広告掲載】

味の素株式会社  
アステラス製薬株式会社  
大塚製薬株式会社  
株式会社スリー・ディー・マトリックス  
株式会社スリーエス・ジャパン  
DS ファーマバイオメディカル株式会社  
新田ゼラチン株式会社  
日油株式会社  
日東メディカル株式会社  
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  
和光純薬工業株式会社

## 【協賛】

電気化学工業株式会社

第2回 DDS 徐放化再生医療研究会の開催にあたり、多くの企業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2回 DDS 徐放化再生医療研究会  
会長 田畑泰彦