

末梢動脈閉塞による四肢虚血を治療する新しい血管新生療法の開発

育成研究：JSTイノベーションプラザ石川 平成17年度採択課題
「脂質メディエータースフィンゴシン-1-リン酸（S1P）を用いた新しい血管新生再生療法の開発」



代表研究者：〔金沢大学 医学系研究科 教授 多久和 陽〕

■ 研究概要

体内に存在するリン脂質の一種であるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は血管内皮細胞を活性化して血管新生を促進する。このS1Pを生分解性ポリマー乳酸・グリコール酸重合体(PLGA)を用いて徐放製剤とし、実験動物の虚血肢で至適な血流改善効果を得る投与量、投与回数などの条件を定め、新規血管新生療法の事業化に向けての基盤を確立した。

■ 研究内容、研究成果

四肢動脈閉塞性疾患による“虚血肢”に苦しむ患者は全世界で2000万人以上存在する。代替療法のない重症虚血肢に対する血管新生療法が強く望まれているが、未だ確立されていない。本研究では、脂質性の血管新生促進物質であるS1Pに着目し、世界初のS1Pを用いた血管新生療法を動物モデルで確立した。少ない投与回数で有効なS1P製剤を開発するために、S1Pを徐放化した。生体内で徐々に生分解を受けるPLGAをS1P徐放化の基剤に用い、S1Pを含有するPLGA微粒子（マイクロパーティクル）を合成した。種々検討したPLGAの中で、PLGA5005を用いて合成した（PLGA/S1P重量比60:1）S1P含有微粒子（PLGA5005-S1P）が最も安定したS1Pの徐放能を示した。PLGA5005-S1Pは安定で長期保存可能であり、投与直前に乾燥PLGA5005-S1Pを0.1%アルブミン含有生理的食塩水に懸濁し、マウス大腿動脈の結紮により実験的に虚血にした後肢筋肉内6カ所に局所投与した。投与間隔は3日間隔、S1P換算で1回投与量6 pmol 投与の条件で既知の血管新生因子と同等かそれ以上の血流回復促進効果が得られた。この血流回復促進は虚血肢筋肉内の毛細血管数の増加（血管新生）を伴い、血管新生によるものであった。本技術の利点は、1）投与回数を減らせる製剤の徐放化を可能にしたこと、2）ペプチド性血管新生因子に比較して低コストと見積もられること、3）負担の軽い治療法であること、4）毛細血管新生促進作用の他に、側副血行路を発達させること、5）S1P自体に浮腫の副作用がなく、VEGFなど他の血管新生因子による浮腫を抑制できること、6）S1P受容体サブタイプの選択化や他の血管新生因子との併用投与など、今後の発展性が見込めること、とまとめられる。

■ 今後の展開、将来の展望

動物を用いたPLGA-S1Pの安全性試験、その後人に投与可能な品質のPLGA-S1P徐放製剤を合成しこれを用いて人における安全性試験（第一相臨床試験）、さらに虚血肢患者における有効性試験（第二相臨床試験）を展開する。動物における安全性試験および臨床試験で使用するGMP品質のPLGA-S1Pの合成は、外部の研究開発メーカーに製造委託する。臨床試験は大学付属病院等の先端医療開発研究機関で橋渡し研究（トランスレーショナルリサーチ）として実施する。臨床試験の実施には、虚血肢患者を診療する臨床科との連携が必要である。また、PLGA-S1Pの合成や動物安全性試験、臨床試験を進めるには、製薬企業、ベンチャー企業を探索し、提携した共同企業から臨床試験のノウハウ、研究資金の提供を受けることが必須である。また、省庁等の医薬品開発研究費の申請も検討する。S1Pを含有するPLGA製剤の他に、複数存在するS1P受容体の中で、血管新生を促進するS1P受容体(S1P₁)選択的な合成受容体活性化薬、あるいは逆に、血管新生を抑制するS1P受容体(S1P₂)選択的な合成受容体遮断薬をPLGAを用いて徐放製剤とし、これらを単独あるいは併用して局所投与することによって、より有効性の高い血管新生薬を開発することが期待できる。また、S1Pは血管透過性を抑制して浮腫を抑えるので、副作用を有する他の血管新生因子と併用することにより、その血管新生因子の副作用を軽減する薬効も期待できる。

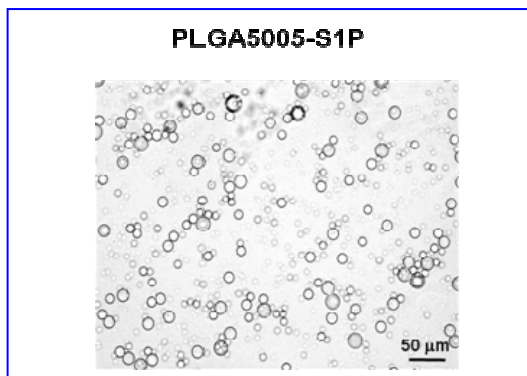


図 1. 合成した PLGA5005-S1P の顕微鏡像。ほとんどの粒子が径数 μm ~ 20 μm の球形である。

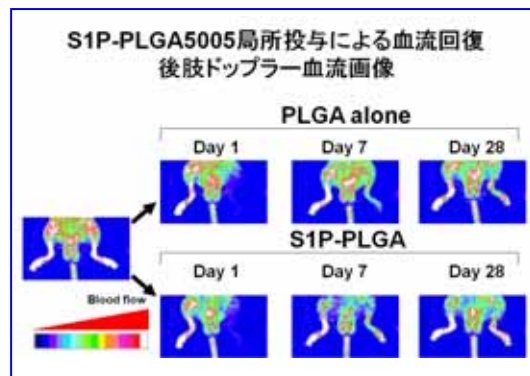


図 2. レーザードップラー血流計によるマウス後肢の血流測定。Day 0 に左大腿動脈を結紮除去し、3 日間隔で PLGA のみ、あるいは PLGA5005-S1P を局所投与した。血流の程度は、擬似色で示されている。

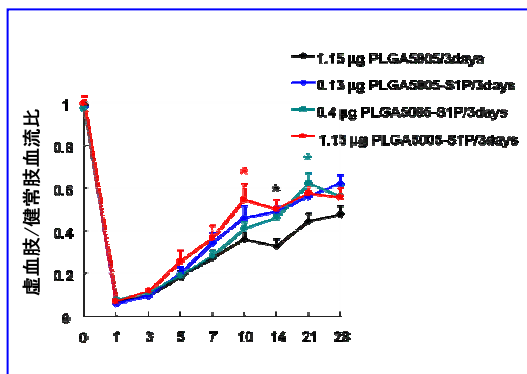


図 3. 3 日間隔投与によるさまざまな容量の PLGA5005-S1P の血流回復促進効果。★は対照群に対して $p < 0.05$ 。

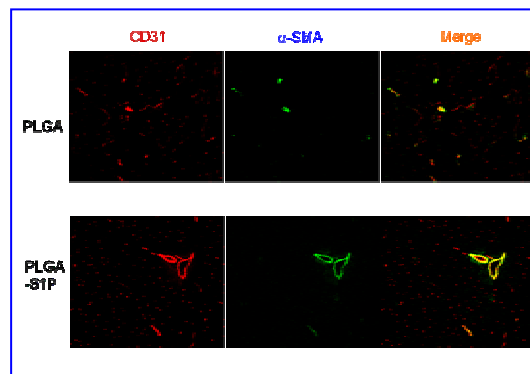


図 4. PLGA5005-S1P 投与による毛細血管増加と血管壁平滑筋の発達。マウス虚血後肢筋肉の CD31 (内皮マーカー) 抗体染色と α -SMA (平滑筋マーカー) 抗体染色による血管の二重免疫蛍光染色。CD31 (左: 緑色)、 α -SMA (中央: 赤色)、融合画像 (右: 黄色)。

■ 研究体制

◆ 代表研究者

〔金沢大学 大学院医学系研究科 教授 多久和 陽〕

◆ 研究者

岡本 安雄 (金沢大学)、戚 勛 (金沢大学)、多久和 典子 (金沢大学)、吉岡 和晃 (金沢大学)、杉本 直俊 (金沢大学)、高村 雅之 (金沢大学)、村川 智美 (JST)、水岸 貴代美 (JST)、黒丸 修 (中外製薬)、深澤 正徳 (中外製薬)

◆ 共同研究機関

中外製薬

■ 研究期間

平成 18 年 4 月 ~ 平成 21 年 3 月