

カテーテルを使った薬剤・遺伝子の局所送達による PTCA後再狭窄予防

安田 聡* 野々木 宏* 宮崎 俊一* 由谷 親夫* 松田 武久**

要 旨：経皮的冠血管形成術(PTCA)に伴う血管壁の傷害部位には、引き続いて修復反応が進展し、新生内膜増殖が生じる。血管局所に薬物ないしは遺伝子を投与・蓄積することで、この増殖過程に何らかの修飾を加える試みが注目されている。局所送達は、効率性(局所に高濃度の投与が可能)・低コスト(総投与量を少なくすることが可能)・安全性(全身的な副作用の回避が可能)という三つの利点を有する。治療効果を高める工夫として、より長時間でかつ均一性の高い送達を特徴とするカテーテルの開発を行った。このカテーテルを用いて行った動物実験では、1)抗ガン剤：ドセタキセルによる平滑筋細胞増殖抑制、2)内皮増殖因子である肝細胞増殖因子(HGF)による内皮再生促進(re-endothelialization)、3)広範囲マトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)阻害薬による血管リモデリング(remodeling)、いずれの治療戦略も再狭窄予防に有用であった。さらに内因性血管作動物質であるC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は、その効果の多様性(血栓抑制、内皮再生作用、平滑筋増殖抑制作用)から、今後の臨床応用が期待される。デバイスと薬物・遺伝子の組み合わせにより、今後標的分子に応じた多様な局所送達が可能であり、治療効率の向上に役立つものと期待される。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003; 43: 585-589)

Key words: Angioplasty, Drug delivery, Restenosis

はじめに

近年冠動脈ステントの応用により、弾性反跳や収縮性リモデリングへの対策を講じ得るようになった。しかしながら、経皮的冠血管形成術(PTCA)の最大の問題点は約20%に生じる再狭窄である。この事実は、バルーンやステントによる機械的拡張の限界を示すものともいえる。

PTCAに伴う血管壁の傷害部位には、引き続いて修復反応が進展し、新生内膜形成が引き起こされる。血管局所に薬物ないしは遺伝子を投与・蓄積することで、この増殖過程に何らかの修飾を加える局所送達^{1,2)}が注目されている。

局所送達カテーテルの開発³⁾

開発したカテーテルの特徴は、病変拡張、血液灌流ならびに薬物局所送達が可能で多機能性にある。カ

テーテルは3.6Fでシングルバルーンのover-the-wire方式である。マイクロマシ技術を用いてバルーンの近位部に灌流孔を8カ所、バルーンの遠位部に薬液注入孔を1カ所設けた。狭窄開大に引き続いて、病変の近位部で再度バルーンを低圧拡張して血管を閉塞し、インフュージョンポートから薬物を注入する(Fig. 1)。薬物は標的部位にて滞留し血管壁へと浸透する。この間、バルーン近位部の血液流入孔より末梢への血流は維持されるため(～40ml/min)、比較的長時間(20分間)の薬物送達が可能である。このデバイスを用いてEvans Blueを局所送達したところ、Fig. 2左に示すように標的領域にほぼ均一な染色が認められた。Fig. 2右には、蛍光標識した薬剤を局所送達した際の組織移行性を示す。薬剤は送達直後に内膜から外膜にかけて広く浸透していた。以後時間経過とともに漸減したが、送達24時間後の時点においても内膜面において薬剤の蓄積が確認された。

* 国立循環器病センター心臓内科

** 九州大学医工学

2002年12月12日受付 2003年5月1日受理

デバイスによる局所送達能の相違

デバイスの重要性は示唆されていたが、実際に局所送達能を同じモデルを使って比較した研究はこれまでなかった。そのため、以下の実験を行った⁴⁾。

ウサギ総腸骨動脈を用いて作成したバルーン擦過モデルに⁵⁾、コントロール遺伝子(Lac-Z)をHVJリポソーム法を用いて導入した。デバイスは、先に紹介した多機能カテーテル³⁾、DispatchTM⁶⁾、Infiltrator[®]⁷⁾を使用し(n=各6)、局所送達3日後の導入効率を免疫組織染色法を用いて比較検討した。Fig. 3に結果を示す。Infiltratorでは、全中膜細胞の 11 ± 5 [mean $\pm$ SD]%にLac-Z遺伝子陽性細胞が認められるにすぎなかったが、われわれが開発した多機能カテーテルならびにDispatchTMでは、おのおの $66 \pm 9\%$ 、 $72 \pm 11\%$ とより高率にその発現が認められた(P<0.01 vs Infiltrator[®])。デバイスによりその遺伝子導入効率に差異が認められる、という興味深い結果が得られた。今後デバイスに関しても、さらなる検討・改良が必要であると思われる。

局所送達の利点

局所送達には、効率性(局所に高濃度の投与が可能)・低コスト(総投与量を少なくすることが可能)・安全性(全身的な副作用の回避が可能)という、臨床応用に際して三つの利点がある。これらの局所送達の利点を検証するために以下のモデル実験を行った⁸⁾。

ドセタキセル[®]は、微小管に作用して過剰形成を引き起こし、抗ガン剤として高い抗腫瘍活性を示す反面、白血球減少が用量規制因子である。ドセタキセルは、平滑筋増殖に至る複雑なカスケードの最終段階である転写因子レベルにおいても作用することが期待されるため、再狭窄過程を抑制し得る可能性がある⁹⁾。

ウサギ腸骨動脈を用いて作成したバルーン擦過モデルに⁵⁾、低用量(2 mg)のドセタキセルを局所送達した。

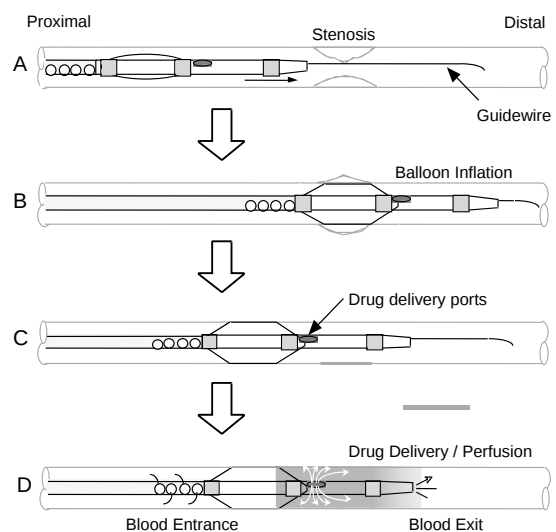


Figure 1 Schema of multifunctional balloon catheter.

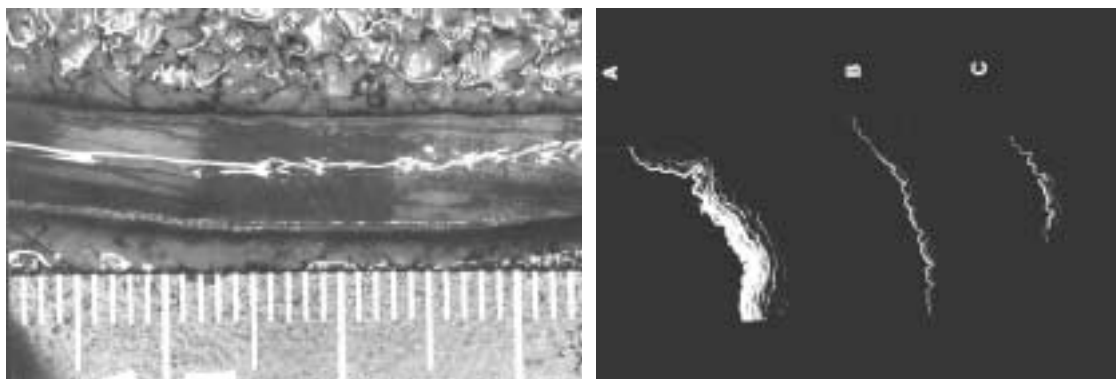


Figure 2 Function of drug delivery by multifunctional balloon catheter.

Left panel: Photomicrograph of vessel wall in the canine carotid artery following the local administration of Evans Blue.

Right panel: Photomicrographs of canine carotid arteries immediately (A: 0hr), 6hrs (B) and 24hrs (C) following the local administration of fluorescein isothiocyanate-conjugated heparin.

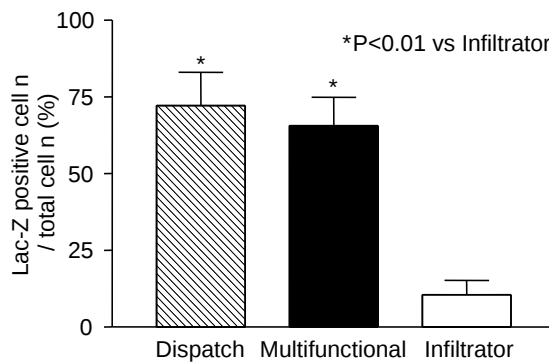


Figure 3 Comparison of drug delivery function among multifunctional catheter³⁾, Dispatch^{TM 6)} and Infiltrator^{® 7)} (n= 6 each). Balloon-injured rabbit iliac arteries were infected with HVJ-liposome vector expressing LacZ. Three days after the gene transfer, the number of LacZ positive cells were counted. Bar shows mean±SD data.

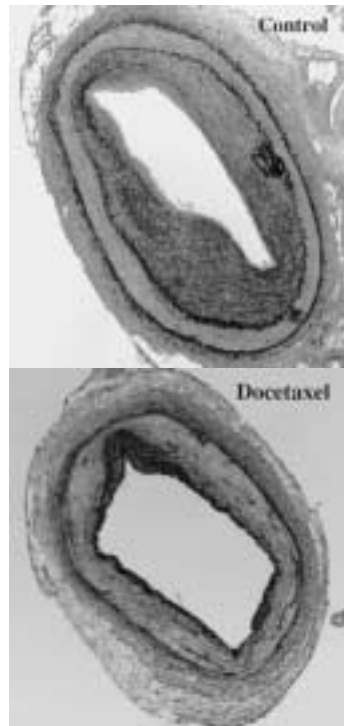
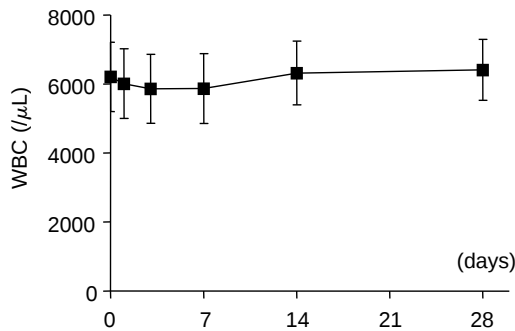


Figure 4 Local delivery of low-dose Docetaxel. Left panel: Serial changes in mean±SD data of white blood cell (WBC) count (n= 4). Right panel: Cross section of rabbit iliac arteries 28 days after balloon injury.

末梢血での薬物濃度はng/mlレベルにとどまり、白血球数の減少も認められなかった (Fig. 4左)。局所送達4週後の内膜面積は、ドセタキセル投与群 (n= 8) において対照群 (生食: n= 8) に比し有意に縮小していた (ドセタキセル: 0.15 ± 0.13 vs 対照: $0.70 \pm 0.13 \text{ mm}^2$, $P < 0.01$)。Fig. 4右に代表例を示す (上: 対照, 下: ドセタキセル)。抗ガン剤・ドセタキセルを少量局所投与することにより、全身的な副作用を回避しつつ新生内膜の増殖を抑制することが可能であった。

治療への応用

再狭窄過程、特に新生内膜増殖に関係した主な機序として、1) 傷害による血栓形成、2) 内皮細胞の傷害・剥離、3) 平滑筋細胞の遊走・増殖、4) 細胞外マトリックスの変容、が考えられている。例えば上述したドセタキセル⁸⁾は、機序3)の抑制 (anti-proliferation) を目的としている。血管内皮増殖因子 (VEGF) や肝細胞増殖因子 (HGF) の送達は、機序2) に対して、内皮細胞修復促進 (re-endothelialization) を目的とした試みである。細

胞外マトリックス分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の広範囲阻害薬についても、その効果が期待される¹⁰⁾。

さらに内因性血管作動物質であるC型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) は、その効果の多様性 (血栓抑制作用、内皮再生作用、平滑筋増殖抑制作用) から注目されている¹¹⁾。ウサギ腸骨動脈を用いて作成したバルーン擦過モデルに⁵⁾、低用量 (100 μ g) のCNPを局所送達した。局所送達2週後の時点での走査電子顕微鏡所見では、CNP投与群で内皮再生がより顕著であった。局所送達4週後の内膜面積はCNP投与群 (n=5) において対照群 (生食: n=5) に比し有意に縮小していた (CNP: 0.44 ± 0.27 vs 対照: $0.96 \pm 0.20 \text{ mm}^2$, $P < 0.05$)。血管機能の保持という観点からCNPの治療薬としての役割が今後期待される。

おわりに

デバイス (カテーテル, スtent) と送達物質 (薬物, 遺伝子) の組み合わせにより、多様な局所送達が可能である。標的分子に応じた選択が重要であり、治療効率の向上に役立つものと思われる。

謝 辞

本研究は、上原記念科学財団、日本心臓財団、大阪ハートクラブからの研究助成により一部遂行された。

文 献

- 1) Lincoff AM, Topol EJ, Ellis SG: Local drug delivery for the prevention of restenosis. Fact, fancy, and future. *Circulation*. 1994, **90**: 2070-2084.
- 2) Riessen R, Isner JM: Prospects for site-specific delivery of pharmacologic and molecular therapies. *J Am Coll Cardiol*, 1994, **23**: 1234-1244.
- 3) Noguchi T, Yasuda S, Itoh T et al: New multifunctional percutaneous transluminal coronary angioplasty catheter device capable of balloon inflation, local drug delivery and coronary perfusion. *J Cardiol*, 2000, **35**: 41-45.
- 4) Yin XH, Ikeda Y, Yutani C et al: An efficient gene delivery system using HVJ-liposome vector and the multifunctional catheter in injured or atherosclerotic arteries. *Jpn Cir J*, 2001, **65** [suppl. 1-A]: 379 (Abstr.)
- 5) Yasuda S, Noguchi T, Gohda M et al: Single low-dose administration of human recombinant hepatocyte growth factor attenuates intimal hyperplasia in a balloon-injured rabbit iliac artery model. *Circulation*. 2000, **101**: 2546-2549.
- 6) Fram DB, Mitchel JF, Azrin MA et al: Local delivery of heparin to balloon angioplasty sites with a new angiotherapy catheter: pharmacokinetics and effect on platelet deposition in the porcine model. *Catheter Cardio Diag*, 1997, **41**: 275-286.
- 7) Barath P, Popov A, Dillehay GL et al: Infiltrator Angioplasty Balloon Catheter: a device for combined angioplasty and intramural site-specific treatment. *Catheter Cardio Diag*, 1997, **41**: 333-341.
- 8) Yasuda S, Noguchi T, Gohda M et al: Local delivery of low-dose docetaxel, a novel microtubule polymerizing agent, reduces neointimal hyperplasia in a balloon-injured rabbit iliac artery model. *Cardiovasc Res*. 2002, **53**: 481-486.
- 9) Sollott SJ, Cheng L, Pauly RR et al: Taxol inhibits neointimal smooth muscle cell accumulation after angioplasty in the rat. *J Clin Invest*, 1995, **95**: 1869-1876.
- 10) Lijnen HR, Van Hoef B, Lupu F et al: Function of the plasminogen/plasmin and matrix metalloproteinase systems after vascular injury in mice with targeted inactivation of fibrinolytic system genes. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 1998, **18**: 1035-1045.
- 11) Yasuda S, Kanna M, Sakuragi S et al: Local delivery of single low dose of C-type natriuretic peptide, an endogenous vascular modulator, inhibits neointimal hyperplasia in a balloon-injured rabbit iliac artery model. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, **39**: 784-788.

Local Drug Delivery for Prevention of Restenosis Following PTCA

Satoshi Yasuda*, Hiroshi Nonogi*, Shunichi Miyazaki*, Chikao Yutani* and Takehisa Matsuda**

* National Cardiovascular Center

** Kyushu University School of Medicine

Key words: Angioplasty, Drug delivery, Restenosis

Restenosis remains to be the major challenge to percutaneous coronary intervention procedures. We have specialized catheters locally delivered, which facilitates drug administration at the lesion site during a relatively long duration with blood perfusion maintained. Catheter delivery technique was applied in a balloon-injured rabbit iliac artery model. Therapeutic strategies to prevent restenosis were designed to inhibit vascular smooth muscle cell (VSMC) proliferation directly by taxoid microtubule polymerizing agents. VSMC proliferation was also inhibited indirectly by accelerated reendothelialization using hepatocyte growth factor (one of the most potent endothelial mitogens) or by modulating extracellular component using a broad-spectrum matrix metalloproteinase inhibitor. With respect to clinical use, C-type natriuretic peptide (CNP), an endogenous vascular regulator, may have a therapeutic advantage. In any strategies, inhibition of neointimal hyperplasia was achieved after a single and low-dose administration, indicating a high efficacy of the local drug delivery. Moreover, local dosing, without substantial systemic dosing, could prevent systemic adverse effects from occurring. In conclusion, coupling of pharmacotherapy with interventional device technology could add another dimension.

(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003; **43**: 585-589)