

心血管病に対する遺伝子および細胞治療への新しいDDSの開発

横山真一郎¹ 福田 昇^{1,2} 齋藤 穎^{1,3}

要 旨：従来の薬物療法に対し、抵抗性の難治性疾患への遺伝子治療や再生医療の適応が考えられている。冠動脈へのステント留置後再狭窄に対して、核酸医薬による第2世代の薬物溶出型ステント(DES)の開発が考えられている。重症虚血性心疾患および重症心不全に対し遺伝子または細胞治療が試みられており、血管新生および心筋再生を目的とした安全かつ簡便な心筋への到達法であるDDS(drug delivery system)の開発が必要である。これらをわれわれの自験を含めて総括する。(J Jpn Coll Angiol, 2005, 45: 179-186)

Key words: gene therapy, cell therapy, drug delivery system (DDS), drug-eluting stent, retroperfusion

はじめに

冠動脈に対する遺伝子治療について多くの研究が報告がされるようになってきたが、いまだ臨床応用には至っていない。最近、薬剤溶出型ステント(DES; drug-eluting stent)が臨床応用され、各施設で盛んに使用されているが、問題点がいくつか指摘されている。つまり亜急性の血栓形成に対する抗血小板剤の持続投与、独特の再狭窄形態に対する施策、ステント留置位置決めなどの問題点である。当然ながらDESは従来のステント(conventional stent)の再狭窄を解決するために開発されたものではあるが、これらの新たな問題点をクリアするべく、さらに第2,3世代のDESの開発が考えられている。

また、最近の再生医学、再生医療研究の目ざましい進展により、難治性疾患に対する新しい戦略が立てられるようになってきた。特に、幹細胞や前駆細胞に代表されるような細胞移植療法、核酸医薬や遺伝子薬を用いた遺伝子治療は、循環器、特に脈管領域において、血管新生を目的としたものが下肢虚血、虚血性心疾患に対して臨床応用されるまで進展してきており、

今後もさまざまな検討がなされ、治療抵抗性虚血疾患に対する新たな対策の一つとして患者さんたちに寄与していくことが期待されている。ただし、それらの有効な細胞や遺伝子を臓器へ到達させる方策は、再生医療の中で大きなピットホール(pit hole)となっており、開発が遅れているのが現状である。基本的には、直接標的臓器に注入する方法がティッシュエンジニアリング(tissue engineering)の手法を用いた不全臓器への移植の2種類が主体であった。

心臓領域における局所投与の標的は、冠動脈および心筋である。基本的に、冠動脈に対しては、再狭窄の抑制を目的とし、心筋に対しては、血管新生および心筋再生を目的としている。投与される細胞や遺伝子薬をいかに効率よく、効果的に目的部位に取り込ませるかが重要な課題であり、それらの細胞や遺伝子自身の特徴と投与に用いられる経路である道具(device)の特徴、工夫が臨床的には重要な点の一つである。いわゆる、局所到達(local delivery)性についてわれわれの自験例を含めて総括させていただきたい。

遺伝子治療の種類と特徴

現在、行われている遺伝子導入法は、ウイルスベクターを用いる方法(トランスダクション)と物理学的な

¹ 日本大学医学部内科学講座

² 日本大学総合科学研究科生命科学

³ 日本大学医学部先端医科学講座

2005年3月11日受理

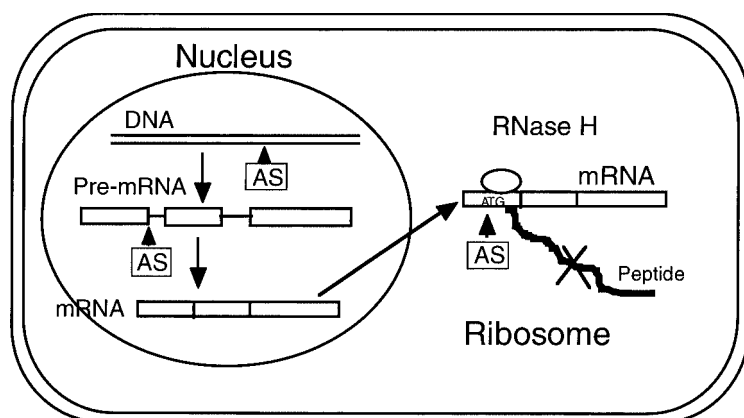


Figure 1 Mechanisms of action of antisense DNA. Antisense DNA (AS) is designed to hybridize to the double-stranded DNA, the splice junction of a pre-mRNA, or the start codon (ATG), which inhibits transcription, splicing, or translation respectively. Antisense DNA also stimulates RNase H activity and degrades mRNA.

たは化学的な導入法(トランスフェクション法)に分けられる。トランスダクション法は、遺伝子導入効率はよいものの、ウイルスによる感染の問題が指摘されている。一方、トランスフェクション法では、導入したい標的臓器へ直接もしくは血管を通じて投与されるが、組織内への拡散の問題により、治療効率的には効率が悪い。

現在、血管に対する遺伝子治療の導入方法はレトロウイルスベクター法、アデノウイルスベクター法、リボソーム法、HJV-リボソーム法、ハイドロゲル法が挙げられる。

レトロウイルスベクター法は、分裂細胞にはよく導入できるが、非分裂細胞への導入は困難である。アデノウイルスベクター法は、非分裂細胞への導入効率が優れており、発現時間も比較的長い。抗原性や炎症などを引き起こしたり、全身臓器への導入が懸念される。リボソーム法は取り扱いの容易さには優れており、特に電位を帯びたりリポフェクションを用いた検討が多く報告されており、ウイルスベクターと比較して細胞毒性の面で優れているが、導入効率があまり高くないのが難点である。HJV-リボソーム法は、脂質の膜に包み込み複合体を形成した後に不活化センダイウイルス(HJV)を加え、その融合能により直接細胞質に導入するものである。ハイドロゲル法は、デタージェントの一つであるハイドロゲルを付着させ、直接塗布する方法であるが、導入効率が非常に低いことが問題点である。

そのほかに、遺伝子をドーナツ状にした「プラスミドDNA」もよく使用される。プラスミドはもともと大腸

菌などの菌類に見られる、いわゆる「天然のベクター」であり、これをまねしてベクターを作り、遺伝子治療に用いている場合もある。

いずれの導入方法にしろ、導入効率、細胞毒性などの点で相違点があり、治療に適応させる場合に、どれが最も優れているかよりも、これらの利点と欠点を十分に理解し、いかに標的細胞、標的臓器に導入するかを考慮する必要がある。

核酸医薬

遺伝子治療は、遺伝子そのものを導入する、いわゆる遺伝子治療と核酸医薬などで遺伝子発現を抑制する方法とに大きく分けられる。核酸医薬は、RNAを標的とするため、これまでに特効薬のなかったウイルス病に対する特異性の高い治療薬としての期待が高く、HIVを筆頭にさまざまなウイルスなどに対する抗ウイルス剤が研究開発されている。ウイルス以外では(癌 遺伝子発現の抑制など)、炎症(接着分子発現の抑制)、血管再狭窄(細胞周期関連遺伝子発現制御による血管平滑筋増殖抑制)などに対して、実用化されようとしている。核酸医薬には、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アンチセンスペプチド核酸、リボザイム、デコイなどがある。

アンチセンスオリゴは15~20塩基程度の短いオリゴを標的mRNAに相補的に分子設計を行い、細胞自身の貪食作用により細胞内へ取り込まれ、主にmRNAからタンパクへの翻訳を抑制し、加えてRNase Hの活性化によりRNAを分解することによってもmRNAの発現を抑制する(Fig. 1)。リボザイムは、RNAを酵素的に切断

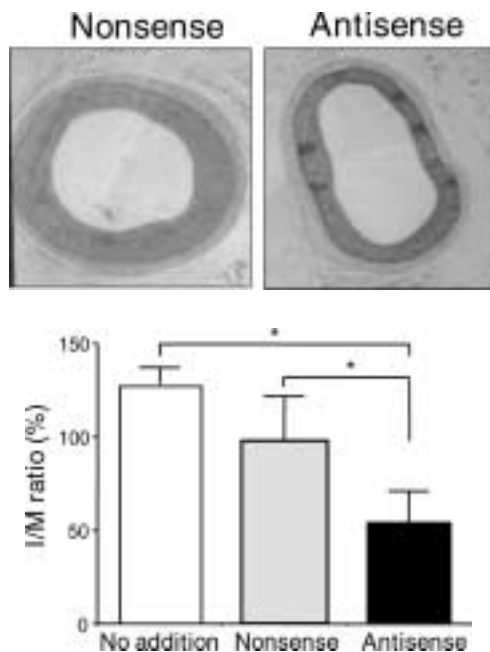


Figure 2 Effect of antisense oligodeoxynucleotide targeting PDGF-A chain on the neointimal formation of rat carotid artery after arterial injury. $p < 0.05$ between indicated column.

するRNA核酸であり、人工的に設計し、特定遺伝子発現を抑制することが可能である。リボザイムはmRNAとハイブリッドし、RNA切断酵素活性により、一度切断すると、さらに別のmRNAにハイブリッドし、切断を繰り返す。リボザイム医薬は、アンチセンス核酸医薬と異なり、標的核酸に結合するだけでなく、その核酸の切断反応に伴う機能性医薬分子ということになる。デコイは「おとり」という意味で、転写調節因子に結合する遺伝子の転写を阻害する。デコイDNAは転写調節因子が本来結合する遺伝子に似ている二重核酸なので、転写調節因子をトラップし、プロモーター活性が上昇しないことで以後の遺伝子発現を抑制する。リボザイムやデコイの応用は、アンチセンスに若干の後れをとっているものの、臨床試験の計画があり、リボザイム医薬もアンチセンス医薬を追うような形で続々と登場し、実現化されていくと思われる。

核酸医薬を医薬品として使用する場合、薬剤として直接体内へ導入する手法と、遺伝子治療として導入遺伝子に目的のRNAを産生する情報を組み込むことにより、作用点に発現させる手法がある。アンチセンス核

酸の場合、前者をアンチセンスDNA法、後者をアンチセンスRNA法と呼ぶ場合もあり、いずれも遺伝情報の流れを阻害するもので、広い意味の遺伝子治療の一領域に含まれる。ただし、核酸医薬の問題点は、遺伝子そのものではなく、人工的に合成した短いDNAであるために、特異性の問題や、生体へ投与した場合の分解などの問題が残っている。

核酸医薬による冠動脈形成術後の再狭窄抑制

われわれは、以前より血管増殖性疾患に対する遺伝子治療法を研究してきた。冠動脈新生内膜と同様に合成型形質を示す高血圧自然発症ラット (SHR) 由来の培養血管平滑筋細胞 (VSMC) を用いて、増殖関連分子を同定してきた。冠動脈形成術 (PTCA) 後の再狭窄機転である新生内膜の増殖に、TGF- β 、PDGF-A鎖の発現異常亢進が重要な役割を担っていると考えられた。特に、PDGF-A鎖は血管障害後の新生内膜増殖の発現遺伝子の一つで、合成型形質を示すVSMCでのみ発現することが報告されており^{1, 2)}、正常な収縮型形質のVSMCにおいては発現は認められないために、血管増殖性疾患のよいターゲットである。

そこで、われわれは、米国サンディエゴのISIS Pharmaceuticalと共同で100%核酸分解酵素に耐性なMMI-linkage PDGF-A鎖アンチセンスオリゴを開発した³⁾。これを用いて、合成型VSMCの増殖抑制効果を確認した後に、バルーン血管障害モデルの再狭窄に対する効果を検討し、約60%の抑制を認めた (Fig. 2)⁴⁾。再狭窄機転に働く分子の一つだけの抑制という作用機序から100%抑制することはできないが、十分な効果であったと考える。また、このアンチセンスをブタの冠動脈形成術後再狭窄モデルに用いても、血小板抑制効果と併せて新生内膜増殖抑制効果が認められた。

さらに、PDGF-A鎖mRNAの二次構造を解析し、ループ部分に存在するGUC配列に対するハンマーヘッド型リボザイムを設計し、切断活性を確認した。また、切断活性を持つ保存配列のみをRNAとし、さらに3'末端をphosphorothioate型に修飾、RNaseに耐性のキメラ型リボザイムを分子設計した。このリボザイムは、SHR由来VSMCの基礎増殖、PDGF-A鎖mRNA、およびタンパク発現を濃度依存性に抑制した⁵⁾。さらに、ラットの頸動脈バルーン傷害モデルへ局所投与したところ、同様に有意な新生内膜形成抑制効果を確認した (Fig. 3)⁶⁾。

リボザイムは、標的分子に対する特異性が高いことも大きな特徴であり、これらの結果を受けてヒトPDGF-A鎖mRNAに対するリボザイムを分子設計し、今後臨床応用を検討している。

遺伝子薬溶出型ステント (G-DES: gene-drug-eluting stent)

PCIにおける再狭窄のもう一つの問題点はリコイルであり、これまで紹介したような遺伝子薬では抑制することは不可能で、機械的な内腔保持が必要である。DESも同様の考えから生まれてきたものと考えられ、免疫抑制剤や抗腫瘍剤を用いる代わりに遺伝子薬を使用したものが遺伝子薬溶出型ステントと呼ばれ、第2世代のDESということになる。

現在、繁用されているシロリムス塗布DESは細胞周期を強制的に止めるため、ステント内新生内膜形成は強力に抑制するが、内皮細胞化も抑制し、したがって亜急性の血栓形成、ステントエッジの再狭窄の問題などがある^{7,8)}。核酸医薬の利点は、それぞれの問題点をクリアするように設計できることで、実験系で明らかになった点、もしくはDESの欠点を補えるように自由に設計が可能である。当然ながら、遺伝子導入のための特殊なポリマーコーティングの技術も必要となる。

われわれは、これまでの研究に加えて、遺伝子治療用ステントのデザインを新たに設計し、特許化している。このステントにPDGF-A鎖に対するアンチセンスをある方法で塗布し、豚の冠動脈形成術後再狭窄モデルに留置し、IVUS解析において75%抑制した(Fig. 4⁹⁾)。この結果は、再狭窄は完全に抑えられないが、再治療の確率をほぼ0%に近いものにできる可能性を示唆している。また、留置後の内視鏡所見においては、ステント内に内膜が覆っていることが観察され、血栓も抗血小板剤を併用しなくとも全く形成を見なかったという結果であった。このように、シロリムス塗布DESに比べPDGF-A鎖に対するアンチセンスは内皮化を温存するため、臨床上有用であり、今後さらに検討を重ねて臨床応用されることを期待している。

心臓再生医療(遺伝子治療, 細胞療法) としてのカテーテルによる局所投与法

細胞や遺伝子治療の心臓への投与方法は、開胸下での直接注入法(単独投与および冠動脈バイパス術との併

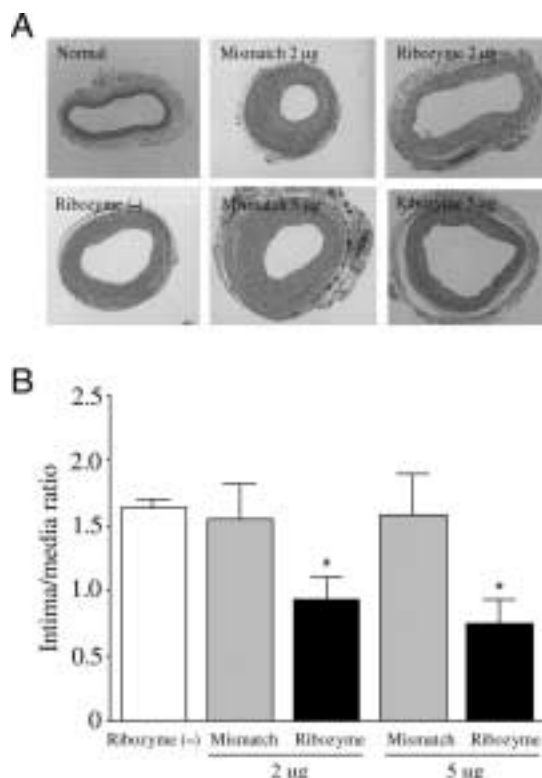


Figure 3 Effect of chimeric DNA-RNA ribozyme against PDGF A-chain on neointima formation in rat carotid artery after balloon injury.

A: Specimens were cross-sectioned at 3 mm and stained with hematoxylin and eosin.

B: Intimal and medial cross-sectional areas of after balloon injury and treatment with the ribozyme. $p < 0.05$ vs. mismatch ribozyme.

用), および非下開胸下ではカテーテルを用いた心筋内注入法, 冠動脈内投与法が報告されている。それぞれに長所と短所があり、依然としてどの投与方法が最適であるかは明確ではない。比較検討が困難で、コントロールを欠いている研究もあり、やはり今後の課題といえる。

非開胸における投与方法は、およそ3系統に分類される。冠動脈内注入法は、冠動脈血流に直接注入する方法、もしくは標的灌流冠動脈閉塞を行う方法であり、両者とも臨床的に検討され、ある程度の効果を上げて¹⁰⁾。しかしながら、重症狭心症例、陳旧性心筋梗塞合併例では、冠動脈が閉塞していることが想定されるためにこの投与方法のみでは、すべての虚血性疾患を網羅できない問題点がある。また、細胞に関しても

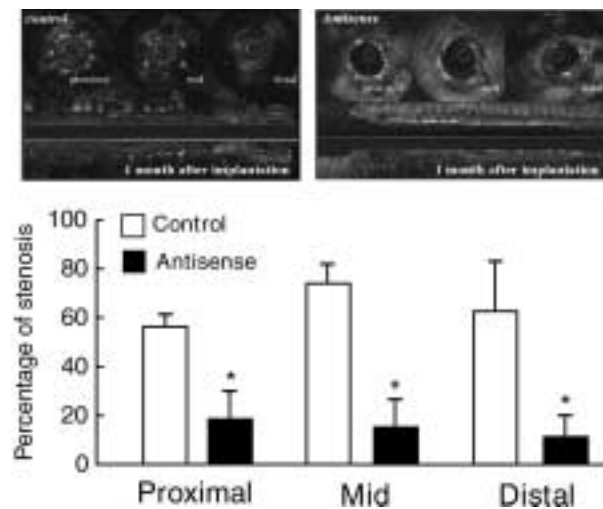


Figure 4 Percentage of in-stent stenosis in porcine coronary artery implanted with hydrogel coating stents without or with antisense oligodeoxynucleotide targeting PDGF A-chain. $p < 0.05$ vs. control.

実際に生着して、分化しているのか、血管新生がなされているのかは不明な点も多い。次に、カテーテルによる経左室腔心筋内注入法であるが、最近、非常に注目を浴びており、遺伝子治療や細胞療法においても臨床応用における効果が報告された¹¹⁾。1990年代前にレーザー血管再建術の際にも用いられた心筋の壁運動と残存心筋を同時に描出可能なmappingシステムであるNOGAシステムを用いることにより、標的心筋内に比較的安全に注入することが可能である。この投与法の一番の問題点は、高価なシステムが必要であり、どの施設においても施行できるわけではないことと時間を要することである。現段階では、限られた施設でのみ(PMLRを施行していた施設が中心)となり、恩恵を受けられる患者数も限られてしまう。

われわれは、このような研究報告を受け、基本的にどの施設でも特殊な装置や技術を要しない方法で、患者さんが最も受け入れやすいと考えられるような方法を模索した。投与法については、低侵襲で、簡便で、施行時間が短く、合併症も少なく、血管造影施設があれば施行可能なものが望ましいと考えられる。PCIやCABGが日常行われている施設は、全国に多数存在し、その技術があれば施行可能な方法が再生医療の普及を加速させることは明白である。そこで、われわれはこれらの条件を満たす経冠静脈細胞投与を行うべくカテーテルの開発を考えた。これに対しNEDO(新エネルギー開発機構)の助成を得て、新たな投与カテーテル(注入冠静脈カテーテル)の作成を試みた。この薬物お

よび細胞注入冠静脈カテーテルは、特殊な装置を必要とせず、どの医療機関でも施行でき、すぐにでも臨床応用可能である。

臨床応用前の実験的検討

心臓の再生医療に用いられる細胞はさまざまで、幹細胞では特に間葉系幹細胞、前駆細胞では内皮前駆細胞の研究が進められている。その中で、われわれは、実験系における投与細胞としては、自己細胞を用いることのできる移植法であることが望ましいために単核球細胞を選択した。単核球細胞は、骨髄血由来、末梢血由来に分けられるが、骨髄血の方がより多くの幹細胞を有すると考えられること、さらに骨髄移植自体が確立された技術と経験があることも大きな要因である。さらに、分離装置が閉鎖回路で可能なことは、清潔操作が簡便で、それらの装置が全国の施設に普及していることも理由の一つである。

最初に、発症より2週後の前壁心筋梗塞である陳旧性心筋梗塞モデルにおいて、骨髄血を採取し、分離装置を用いて約400mlから 10^6 個の単核球細胞として分離後、冠静脈逆行性注入カテーテルを用いて細胞移植療法を行った。その結果、心筋梗塞に陥った心筋細胞の周辺領域で血管新生と考えられる細小血管網(直径 $10 \sim 60 \mu\text{m}$)の血管数の増加が確認された(Fig. 5)。また、投与時の細胞に蛍光染色を施しておくこと、それらの一部は蛍光陽性細胞として観察され、投与した細胞が分化したと考えられる結果であった。さらに、血管新生の

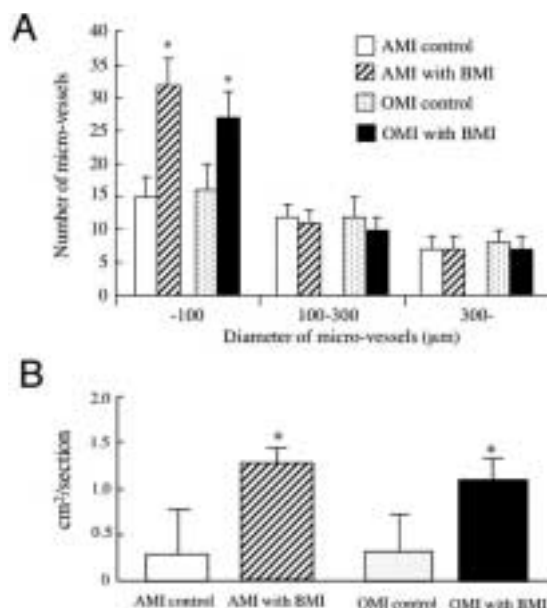


Figure 5 The number and density of micro-vessels in the infarcted area of heart from porcines with acute or old myocardial infarction (AMI or OMI) after bone marrow implantation (BMI).

A: The number of α -SM actin-positive micro-vessels of at the sections 5-mm above the occlusive site. The size of micro-vessels were classified under 100, 100–300, and over 300 μ m. B: Myocardial micro-vessel area (cm^2) in the sections of 10-mm under the occlusive site. * $p < 0.05$ vs. each controls.

効果としての慢性期の心機能改善、心筋酸素消費量の改善、心負荷の改善が認められた。さらに急性心筋梗塞モデルに対しても同様の効果があることを検討した。発症より6時間後に骨髓血単核球細胞移植を行うのであるが、陳旧性心筋梗塞モデルと比較して、慢性期の心機能、心筋酸素消費量、心負荷についてより大きな改善が認められた (Fig. 6)。これは、虚血に陥っている心筋量の相違がもたらした結果である。細胞移植療法が急性期にしろ、慢性期にしても有効性があることを示すが、再生される組織が心筋ではなく、新生血管であることも影響しており、癒痕化してしまつては血管新生をしても、その効果は十分得られず、対象疾患として回復可能な虚血心筋を有することが条件となると考えられた¹²⁾。

その一方で、臨床では急性期に骨髓血を採取することは、貧血に陥ることが危惧され、危険であるために前もって骨髓血を保存しておく手法を考案した。これは、現在、血液バンクなどで用いられている冷凍保存を使用する方法で、われわれの検討でも冷凍保存された細胞は十分に同様の効果が認められた。これも、疾患に陥る以前に自己骨髓血を保存しておくことを全例に施行することは困難を極めるが、一度、虚血性心疾

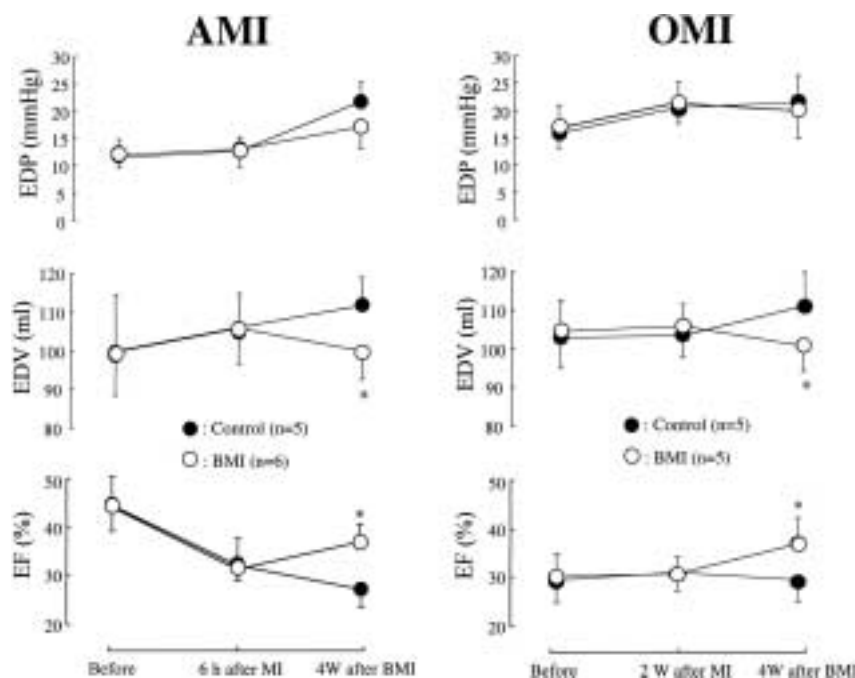


Figure 6 Changes in cardiac function after bone marrow cell implantation (BMI) before and after creation of myocardial infarction in acute myocardial infarction (AMI) group or old myocardial infarction (OMI) group, and after BMI in each groups. Several parameters of LV, endodiastolic pressure (EDP), endodiastolic volume (EDV), and ejection fraction (EF) were evaluated using the conductance method. Data are the mean $\pm$ SD. * $p < 0.05$ vs. each controls.

患に罹患すると再発が多いことは周知の事実であり、危険因子を多数有するhigh risk groupに対して限定的に保存することや、欧米諸国のような個人バンクも可能性を秘めている。

さらに、細胞にHVJ-Eを用いてVEGF遺伝子を導入し、その細胞を運びや(transporter)とし、目的局所での遺伝子発現細胞としての機能を持たせるべく、同様の投与方法で実験検討している。投与後のhVEGFの発現が確認され、血管新生効果として、病理学的には架橋形成、血管形成が認められた。こちらに関しても十分な血管新生効果を得ている。今後、この投与方法を用いた遺伝子治療も検討予定であり、細胞ばかりでなく遺伝子薬においても局所投与方法として期待できる。

ただし、投与される細胞や遺伝子薬はそれぞれの特徴を持っていることから、ただ注入すればよいわけではなく、冠静脈経路の最適の条件はそれぞれに特有の投与方法、投与の仕方、投与時間、標的臓器の状況、圧のコントロールなどがあることが判明しており、今後十分な検討をした後に臨床応用に向かうべきである。

ピロール・イミダゾールポリアミドによる 遺伝子治療

最近、抗生物質であるデュオカルマイシンAとディスタマイシンが二重鎖DNAに結合することをヒントに、ピロール・イミダゾールポリアミドが二重鎖DNAのマイナーグループ塩基特異的に認識し、遺伝子発現を抑制することが発見された¹²⁾。ピロール・イミダゾールポリアミドは、核酸分解酵素で分解されず、特異性も高いために新たな遺伝子治療薬となる可能性を考え、血管増殖性疾患における効果を検討している。

腹腔内投与および経口投与を行い、ピロール・イミダゾールポリアミドの臓器取り込みを検討したところ、心臓、動脈、腎臓、肝臓への集積が確認された。経口投与可能な遺伝子薬として期待できる結果であり、今後創薬に向けて開発研究を行っている。

おわりに

臨床応用における遺伝子治療、再生医療の 位置付けについて

これまで述べてきた遺伝子治療、再生医療は、依然として既存の治療法の補助、代替療法として考えられてきたが、他の治療法と決して相対するものではな

く、これからさらに完成度は上がり、今後進歩していけば、非常に強力な治療戦略をわれわれは手に入れられると考える。現段階では、今までの治療法を否定するような、いわゆる単独治療としての遺伝子、再生医療は、行われるべきではない。治療抵抗性に対するbail outは全く話が異なるが、患者側の疾患単位を考慮し、年齢、背景、基礎疾患などをも含めた患者ニーズに対応するような治療戦略の一つとして期待できる。このことは、現在盛んに叫ばれているテーラーメイド医療として受け入れられる可能性が十分にあると思われる。どれが一番優れているかも重要ではあるが、われわれも今後検討を重ねながら、他施設や他国の報告も十分吟味して、どのようなものが一番合致するのかを考慮し、患者ニーズにあう医療を目指していくべきと考えている。個人の一生涯を通して、心血管病の治療が新たな展開をみることは間違いないと考えている。

文 献

- 1) Nilsson J, Sjolund M, Palmberg L et al: Arterial smooth muscle cells in primary culture produce a platelet-derived growth factor-like protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985, **82**: 4418-4422.
- 2) Shindo T, Manabe I, Fukushima Y et al: Kruppel-like zinc-finger transcription factor KLF5/BTEB2 is a target for angiotensin II signaling and an essential regulator of cardiovascular remodeling. *Nat Med*, 2002, **8**: 856-863.
- 3) Fukuda N, Kubo A, Watanabe Y et al: Antisense oligodeoxynucleotide complementary to platelet-derived growth factor A-chain messenger RNA inhibits the arterial proliferation in spontaneously hypertensive rats without altering their blood pressure. *J Hypertens*, 1997, **15**: 1123-1136.
- 4) Kishioka H, Fukuda N, Nakayama M et al: Effect of methylene methylimino linkage of antisense oligonucleotide to platelet-derived growth factor A-chain on growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2000, **392**: 129-132.
- 5) Hu WY, Fukuda N, Nakayama M et al: Inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation by DNA-RNA chimeric hammerhead ribozyme targeting to rat platelet-derived growth factor A-chain mRNA. *J Hypertens*, 2001, **19**: 203-212.
- 6) Kotani M, Fukuda N, Ando H et al: Chimeric DNA-RNA hammerhead ribozyme targeting to PDGF A-chain mRNA specifically inhibited neointima formation in rat carotid

- artery after balloon injury. *Cardiovasc Res*, 2003, **57**: 265–276.
- 7) Wong A, Chan C: Drug-eluting stents: the end of restenosis? *Ann Acad Med Singapore*, 2004, **33**: 423–431.
- 8) FDA Public Health Web Notification: Information for Physicians on Sub-acute Thrombosis (SAT) and Hypersensitivity Reactions with Use of the Cordis CYPHER™ Coronary Stent. U.S. Food and Drug Administration. 2003. Available at: <http://www.fda.gov/cdrh/safety/cypher.html> Accessed March 12, 2004.
- 9) Yokoyama S, Saito S, Fukuda N et al: Effect of antisense oligodeoxynucleotides to PDGF A-chain on the stent-induced stenosis of pig coronary artery using a coated multipole stent. *J Am Coll Cardiol*, 2005, **45**: 60A–61A.
- 10) Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al: Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002, **106**: 1913–1918.
- 11) Fuchs S, Satler LF, Kornowski R et al: Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2003, **41**: 1721–1724.
- 12) Yokoyama S, Fukuda N, Kunimoto S et al: A retrogradely injection via the coronary vein into the myocardium as a bone marrow implantation strategy for the treatment of ischemic heart disease. *J Mol Cardiol*, 2005 (submitting).

Development of Novel DDS in Gene and Cell Therapies for Cardiovascular Disease

Shin-Ichiro Yokoyama,¹ Noboru Fukuda,^{1,2} and Satoshi Saito^{1,3}

¹Department of Medicine, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

²Advanced Research Institute for the Science and Humanities, Nihon University, Tokyo, Japan

³Department of Advanced Medicine, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: gene therapy, cell therapy, drug delivery system (DDS), drug-eluting stent, retroperfusion

Novel therapeutic strategies such as gene and cell therapies are going to be applied to treat severe diseases that cannot be improved with present medicines. Drug-eluting stents (DES) with nucleic acid medicines have been developed for the in-stent restenosis of coronary artery as a second-generation DES. In the trials of gene and cell therapies for severe ischemic heart disease and heart failure, development of safe and easy strategies are required to ensure the delivery of genes and cells into the heart. We address the above-mentioned issues using our recent studies.

(*J Jpn Coll Angiol*, 2005, **45**: 179–186)