

先端医療を支える機能性薬物キャリアの開発

田畑泰彦

Development of Functional Drug Carriers to Realize Advanced Medical Therapy

Yasuhiko TABATA

Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, 53 Kawara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan

(Received January 5, 2007)

Drug delivery systems (DDS) have customarily been developed as part of the technology and methodology used to enhance the *in vivo* efficacy of therapeutic drugs. However, the DDS concept can also be used for prophylactic and diagnostic drugs to enhance their respective medical efficacy. When applied to biological signaling factors, such as growth factors and genes, which can regulate the proliferation and differentiation of cells, DDS are expected to realize cell-based tissue regeneration therapy. Basic research on biology and medicine which scientifically supports the advanced medical therapies currently available will be advanced by making use of DDS techniques. This paper overviews functional drug carriers indispensable for DDS which are part of the fundamental technology and methodology to achieve such advances.

Key words—functional drug carriers; drug delivery systems; cell-based tissue regeneration; tissue engineering; advanced medical therapy; basic research

1. ドラッグデリバリーシステム (DDS) 概念の変遷

ある生物活性を持つ物質を体内に投入、その活性によって病気を治すのが薬物治療である。これらの物質はその目的から治療薬と呼ばれる。ところが、この治療薬の体内での動き、運命を考えると、その作用部位への到達性の点からは、かならずしもうまく制御されているとはいえない。体内に入った治療薬は、その作用部位及び作用細胞に届かなければ、その効果は発揮されない。作用部位に届かなかった場合には、治療効果が望めないだけでなく、しばしば正常部位に対して毒性を示し、副作用の原因となる。そこで、治療薬をその作用部位へ効率よく運び、その治療効果を最大限に高める工夫が必要となる。そこで、治療薬の体内動態、運命をコントロールする目的で、高分子、セラミックス、金属などの様々な材料がデザインされ、それらと治療薬と

の組み合わせ技術、方法論としてのドラッグデリバリーシステム (DDS) が発展してきた。このように、これまでの研究開発の発展の経緯から、DDSの対象は治療薬であり、薬学の製剤学の1つであると考えられてきた。

DDS技術、方法論は、このように薬物治療のみに限定されるものであろうか。病気の診断、予防に利用できる物質、すなわち診断薬、予防薬にDDSを適用すれば、診断、予防効果は高まるはずである。あるいは、DDS概念をUV吸収、美白物質に適用すれば、これらの生物効果は高められ、スキンケア、化粧分野にもよい効果を与える。新規な遺伝子がみつけれられ、それらの生物活性を調べたいとき、その遺伝子を細胞内に取り込ませ、核までデリバリーさせ、核内で遺伝子を発現させる技術が必要となる。この目的のためにもDDS技術、方法論は利用できる。このように、DDSとは、生物活性を期待する物質の効果を高めるための基盤概念であり、その材料、技術、方法論が適用できる範囲は極めて広い。Table 1に、現在、考えられるDDS概念の適応可能な分野を示す。近年のゲノム科学、生物医学研究のめざましい進歩に伴い、利用できる物

京都大学再生医学研究所生体組織工学研究部門生体材料学分野 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53)

e-mail: yasuhiko@frontier.kyoto-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第126年会シンポジウムS2で発表したものを中心に記述したものである。

Table 1. Biodegradable Biomaterials Applicable for Cell Scaffold

		Abbreviation	Crystinity	Typical shape
Synthetic polymer	Poly (glycolide)	PGA	Crystal	Fiberics
	Poly (L-lactide-co-glycolide) (10 : 90)	P (L-LA/GA) (10 : 90)	Crystal	Fiberics
	Poly (D,L-lactide-co-glycolide) (50 : 50)	P (D,L-LA/GA) (50 : 50)	Amorphous	Sponge, film
	Poly (D,L-lactide-co-glycolide) (85 : 15)	P (D,L-LA/GA) (85 : 15)	Amorphous	Fiberics, sponge
	Poly (glycolide-co- ϵ -caprolactone) (75 : 25)	P (GA/CL) (75 : 25)	Amorphous	Fiberics
	Poly (L-lactide)	P-L-LA	Crystal	Fiberics
	Poly (D,L-lactide)	P-D, L-LA	Amorphous	Sponge
	Poly (L-lactide-co- ϵ -caprolactone) (75 : 25)	P (L-LA/CL) (75 : 25)	Crystal	Fiberics
	Poly (L-lactide-co- ϵ -caprolactone) (50 : 50)	P (L-LA/CL) (50 : 50)	Amorphous	Sponge
	Poly (ϵ -caprolactone)	PCL	Crystal	Fiberics
	Poly (ρ -dioxanone)	PDS	Crystal	Fiberics
Natural polymer	Collagen		Crystal	Gel, sponge
	Gelatin		Amorphous	Gel, sponge
	Fibrin		Crystal	Gel, sponge
	Polysaccharide		Crystal	Gel, sponge
Inorganic material	Tricalcium phosphate	TCP	Crystal	Porous substrate
	Calcium carbonate	CaCO ₃	Crystal	Porous substrate

質の種類も、低分子から高分子物質、ウイルス、細菌、細胞に至るまで増え、これらを用いた新しい先端医療（治療、予防、診断）の発展が期待されている。「ドラッグ＝生理活性を持つ物質」という言葉の意味をより広く考えることが必要な時代となっている。

2. 先端医療の中での再生医療の位置付け

移植肝臓の不足のために、命を落としていく肝不全の子供を目の前にして、米国の小児肝臓移植外科医と材料工学者とがアイデアを出し合って、肝細胞を生体吸収性高分子からなる3次元スポンジ材料内で培養、得られた肝細胞の増殖塊を治療に利用できないかと考えた。これが再生医療の始まりである。用いる細胞が患者由来のものであれば、得られた肝臓様構造体に対する免疫拒絶反応もなく、かつ材料が消失するため異物反応もなく、理想的な治療法となる。ここで大切な点は、この再生医療のアイデアを実現させるためには、細胞とその周辺環境を作るための生体吸収性材料との両方が必要であることである。近年の再生現象に係わる基礎生物医学研究の進歩により、生体組織や臓器中にも細胞分化能力の高い幹細胞や前駆細胞の存在¹⁾が明らかとなり、それらの利用も可能になってきた。また、増殖分化を促し、生体組織の再生を誘導するためには、細胞の局所周辺環境が不可欠であることも明らかになって

きている。このように、細胞の再生誘導を活用した再生誘導治療（と一般には呼ばれている）再生医療には、細胞とともに細胞が増殖、分化し易い場を設定することが必要不可欠となる。²⁻⁵⁾ この生体組織の再生誘導を手助けするための場を作り与える医学技術、方法論が生体組織工学（Tissue Engineering）であり、多くの材料が、様々な目的で利用されている。細胞の増殖、分化を制御している細胞の周辺環境は、タンパク質、多糖、脂質などからなる細胞外マトリクス（天然の足場）と生体シグナル因子と細胞の表面成分などから構成されている。再生現象に係わる基礎生物医学（再生医学と呼ばれる）が発展し、細胞の周辺環境の働きや再生のメカニズムが解明されることが大切であることは疑いない。しかしながら、それらの基礎的知見が直接には患者の治療（つまり再生医療）につながらないことも多い。この基礎生物医学である再生医学と前述した生



田畑泰彦

京都大学再生医科学研究所教授。大阪大学大学院医学系研究科教授。1959年大阪府生まれ。京都大学工学部高分子化学専攻博士課程終了。1981年京都大学医用高分子研究センター助手、1996年助教授、2000年教授、現在に至る。京大工博、京大医博。京大薬博。米国MIT、ハーバード大学医学部に留学。

生体材料、生体組織工学、DDSの研究に従事。抱負は生命科学のわかる材料科学研究者の育成。

体組織工学との両研究分野が車の両輪のごとく機能して初めて、再生誘導治療に再生医療が実現されることを忘れてはいけない。生体シグナル因子の生物作用を發揮させ、かつ細胞の増殖、分化を促す性質を持つ足場材料は、先端医療としての再生医療を支える機能性薬物キャリアの代表例である。

再生誘導治療（＝再生医療）は、人工臓器、免疫抑制剤を用いない点で、再建外科、臓器移植などの外科治療とは大きく異なるが、もちろん、長所短所もあり、オールマイティではない。しかしながら、これまでの先端外科治療の欠点を補い、治療の適用拡大を可能とするだけでなく、新しい治療法を提案する可能性もあるため、患者に福音をもたらす第3の治療法としての位置を確立しつつある。再生医療は患者自身の自然治癒力を介した再生誘導治療がその基本概念であり、患者に対してやさしい理想的な治療法である。このアイデアは、これまでは、主に外科治療と組み合わされて展開されてきた。しかしながら、再生誘導の概念は、慢性疾患の再生治療、組織の器質化促進による動脈瘤の血管内カテーテル治療などにも生かされ、今後は、内科治療に対しても再生誘導治療は重要な役割を演じていくと考えられる。⁴⁻⁶⁾

3. 再生誘導治療のための生体吸収性材料と生体組織工学

生体組織の再生誘導による修復と臓器機能の代替による疾病の治療が行われる場所により、生体組織工学は生体外と生体内とに分けられる。生体外アプローチでは、再生誘導の場の設定に大きな工夫が必要となり、これまでの基礎生物医学知識と細胞培養技術のみでは限界がある。これに対して、生体内では、再生誘導に必要な物質が自動的に供給される可能性がある。再生医療の目的は、患者の病気を治療することであり、現時点では、その実現性の高いことから、ほとんどすべての生体組織の再生誘導治療は生体内アプローチによって試みられている。²⁻⁶⁾

その基本的な戦略は、細胞、細胞外マトリクス、及び細胞増殖因子の生体組織の3要素を組み合わせることで生体組織・臓器の再生を誘導することである。再生誘導させたい部位によって、その組み合わせパターンは変化するが、そのいずれの場合にも生体吸収性高分子材料が重要な役割を果たしている。

現在の医療現場では、高分子、金属、セラミク

ス、それらの複合材料、あるいは生体由来材料などの多くの生体材料が使われている。⁷⁾ そのほとんどは生体非吸収性であるが、生体吸収性材料も用いられている。これらの吸収性材料は、いずれ、体内から消失してしまうため、非吸収性材料に比較して、その生体適合性を考慮する必要性は少ない。また、分解物に細胞毒性がなければ、生体安全性の問題もない。ハイドロキシアパタイト及び免疫隔離膜などを除いて、足場材料、DDS材料などの目的で、生体組織工学に利用されている生体材料のほとんどが生体吸収性材料であるため、ここでは簡単に説明を加える。生体吸収性とは、酵素的であれ非酵素的であれ、生体内で材料の重量が減少して最終的には材料が消滅してしまうことである。現在、生体安全な生体吸収性の金属材料、リン酸三カルシウムと炭酸カルシウム以外の生体吸収性のセラミック材料は存在しないため、今日、生体吸収性材料として臨床応用されたり、研究されているのは、ほとんどが高分子材料である。Table 1には、現在、スキャホールドとして臨床応用あるいは研究中の生体吸収性材料の種類とその性質を示す。Figure 1は高分子材料の化学構造を示す。合成高分子は加水分解あるいは酸加水分解によって、合成ペプチドと天然高分子は加水分解酵素によって分子鎖が切断され、材料が生体内で消滅する。

生体組織工学における生体材料の第1の役割は生体組織再生のための足場である。^{3,8-10)} 生体内では、血液細胞を除くほとんどすべての細胞は細胞外マトリクス（足場）に付着して存在している。例えば、このマトリクスまでもなくなっている場合には、細胞を欠損部に加えるだけでは不十分で、Fig. 2(A)のように、人工的な足場材料を欠損部に与えなければ欠損部位における組織の再生は誘導されない。細胞を立体的に配置させ、その接着・増殖・分化促進のための適当な人工細胞外マトリクスが必要である。¹¹⁾ 足場に要求される性質は、生体吸収性、多孔性、及び細胞親和性である。足場の生体吸収性速度が遅いと、足場の残存が組織の再生課程を物理的に邪魔する。また、早い場合には、細胞の増殖、分化を促すという足場としての役割が果たせない。生体組織の再生誘導のための適切な生体吸収を持つことが必要である。細胞の侵入、あるいは足場内に存在する細胞への酵素、栄養の供給、及び細胞の老

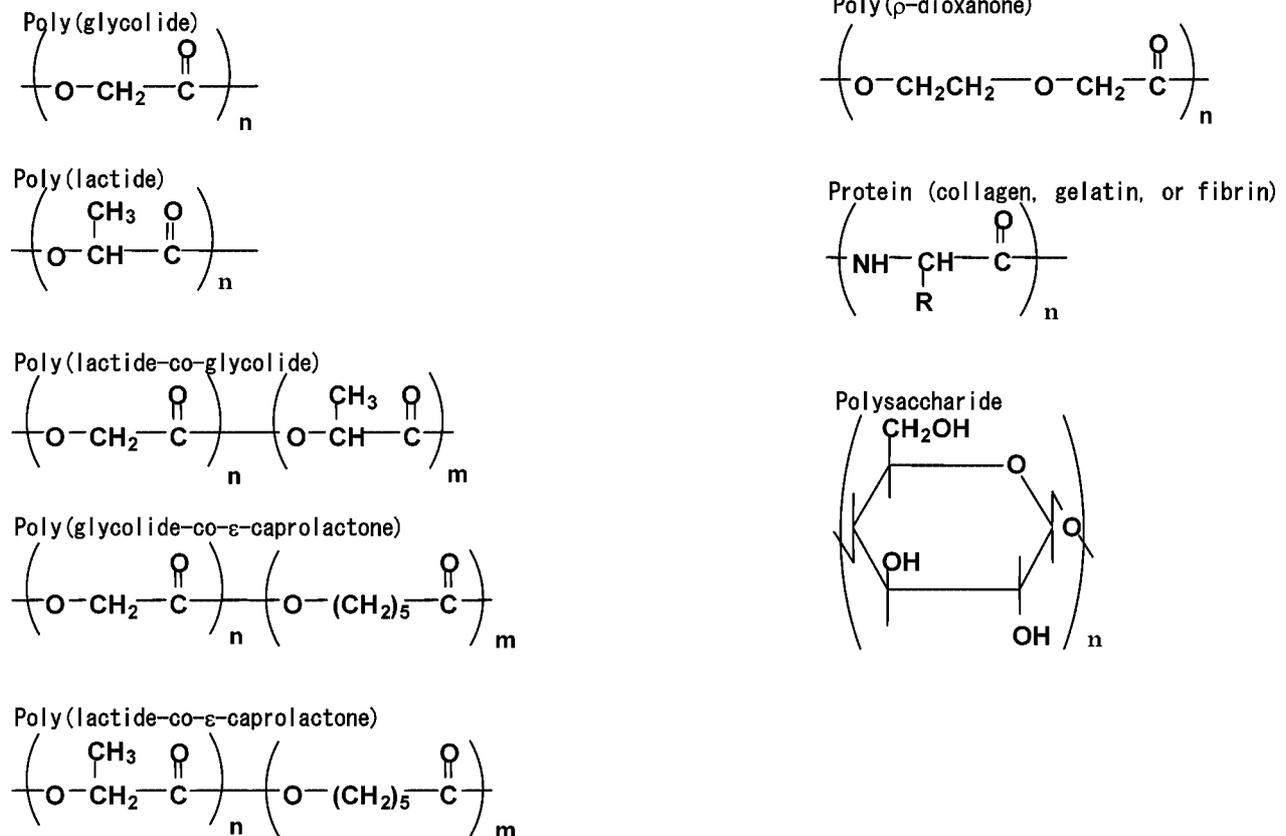


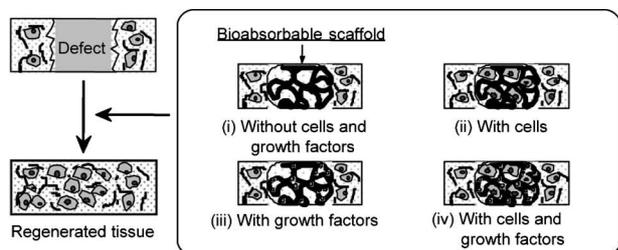
Fig. 1. Chemical Structure of Biodegradable Polymer

廃物の除去のために、足場は適度な多孔性を持つ必要がある。細胞への親和性が必要なことは当然である。また、ハイブリッド人工臓器による臓器代替の場合にも、機能細胞を高密度に充填、その生物機能を維持するために細胞を適切な足場材料とともに利用することが必要である。今後、再生医学の進歩により再生誘導のための生体シグナル因子、細胞外マトリクス成分が同定され、利用できるようになるであろう。このとき、これらの因子、成分を薬物と考え、これらの薬物を含んだ機能性キャリア足場がデザインされ、より効率のよい生体組織の再生誘導が可能となっていくであろう。¹²⁾

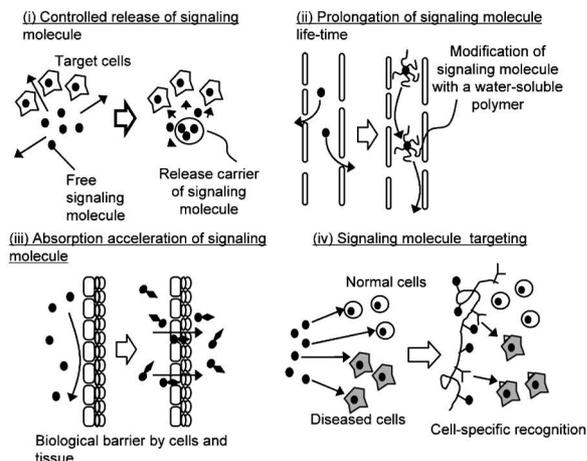
2番目の役割は、宿主側からのタンパク質や細胞の侵入を阻止するための隔離である。例えば、生体内の大きな欠損部は、応急的な生体本来の創傷治癒反応として、線維性組織で充填されることがほとんどである。一度、このようになってしまうと、その部位における望む生体組織の再生誘導は不可能となる。この組織充填を防止するために再生誘導の場を確保するための隔離膜が必要となる (Fig. 2(B))。

組織欠損部を生体吸収性膜で包み、線維芽細胞の侵入と線維性組織の形成を防ぎ、欠損部での再生誘導を促す。Figure 2(A)で示した足場材料がこの隔離能を兼ねている場合もある。ハイブリッド人工臓器で利用されている免疫隔離膜は、体内に移植された肝臓、膵臓、細胞を抗体、免疫細胞の攻撃から守る役割を果たし、再生誘導というよりも臓器機能の代替効果を高める目的である。

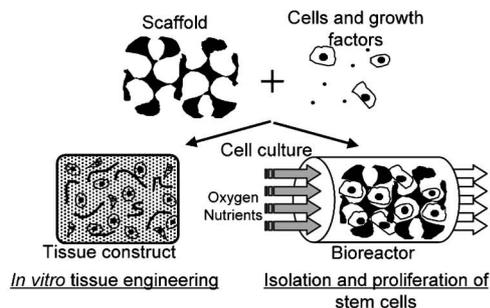
生体外での生体組織工学では、細胞を足場材料に播種し、細胞培養によって細胞を増殖・分化させ、生体組織様構造物を作る (Fig. 2(C))。これを生体組織の欠損部へ埋入して組織再生を行う (Fig. 2(A))。この目的のためにも、前述した生体シグナル因子を含んだ機能性薬物キャリア足場が必要となる。このキャリアシステムによって、より生体に近い組織様構造体を *in vitro* で作製することができるであろう。また、再生医療には、質のよい多数の幹細胞が必要となるため、細胞を単離、増殖させるための培養技術及び培養装置 (バイオリクター) の研究開発が必要である。例えば、単なる培養シャー



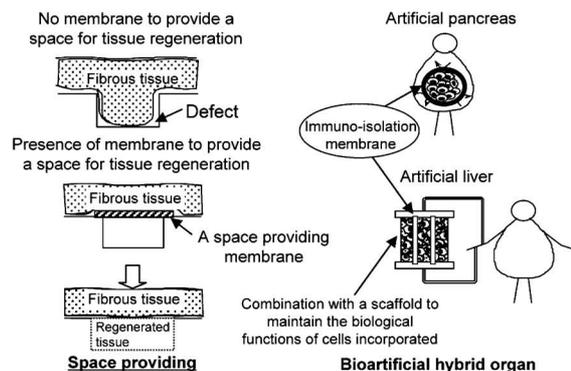
(A) Biomaterials and technology for cell scaffold to induce the in vivo regeneration of tissues and organs. The scaffold is combined to use with cells and/or growth factors depending on the site to be regenerated.



(B) Biomaterials and technology for DDS of biological signaling molecules (growth factors and the gene).



(C) Biomaterials and technology for cell culture to obtain cells clinically available.



(D) Biomaterials and technology to protect a space for in vivo regeneration induction of tissue and organs.

Fig. 2. Role of Biomaterials in Tissue Engineering

レではなく、生体内環境を模倣した機能性薬物キャリア足場材料があれば、幹細胞の分離・増殖効率は高まるであろう。

いかに優れた足場材料あるいは隔離膜があったとしても、再生部位に必要な細胞の数が少なかったり、細胞を増殖分化させる生体シグナル因子の濃度が低すぎたりすれば、望む生体組織の再生誘導は期待できない。そこで、次に用いるべきものが細胞あるいは細胞増殖因子である。前述のように、得られる細胞の質と数の問題が解決すれば、その細胞を利用することができる。生体シグナル因子を用いるためにも技術が必要である。一般に、細胞増殖因子の生体内寿命は短く不安定であり、必要な因子を、単に水に溶かして必要部位に投与するだけでは、期待する組織再生促進効果は得られない。そこで、再生の場において細胞増殖因子の濃度を必要な期間に渡って有効値に保たなければならない。これを可能にする技術が DDS である。例えば、細胞増殖因子を

再生の場で持続的に放出（徐放）させることができれば、細胞の増殖分化が高まり、自己組織の再生が促される。生体吸収性の生体材料はこの徐放キャリアの役割を果たす (Fig. 2(D)).^{3,10,13} 徐放化システムは単独あるいは細胞とともに足場材料と組み合わせて生体組織の再生誘導に用いられる (Fig. 2(A)). 前述したように、体内の細胞外マトリクスを模倣するような徐放化能を持つ足場としての機能性薬物キャリアのデザインと作製が強く望まれている。

4. 再生誘導治療における DDS の重要性

基礎生物医学の進歩によって、優れた細胞増殖因子、遺伝子がみつけられ、利用できるようになったとしても、それらの生物効果を生体内で発揮させることができなければ、再生誘導治療は実現できない。これを可能とさせるための投与剤形の工夫、すなわち DDS が必要となる。薬物を必要な部位のみに必要な量だけ必要なときに送り込むための技術方

法論である DDS の目的には、薬物の徐放化、薬物の生体内寿命の延長、薬物の吸収促進、あるいは薬物のターゲティングなどがある (Fig. 2(D)). DDS は、これまでの研究開発の経緯から、薬物治療のイメージが強く、再生医療とは無関係であると考えられてきたが、生体内で不安定で、しかも作用部位の特異性もない細胞増殖因子、遺伝子などを利用する限り、DDS 技術は不可欠である。¹⁴⁾ DDS のいずれの目的も再生医療のためには有用である。生体シグナル因子の安定化を向上、体内寿命を延長させたり、その作用部位へのターゲティングが可能となれば、因子の生物作用を介した生体組織の再生誘導は大いに期待できる。また、分子量の大きな因子の作用発現には吸収促進技術は不可欠である。ここでは最も実用化に近い薬物の徐放化を利用した再生誘導治療についての話を中心に進める。

再生誘導治療で用いる薬物は細胞増殖因子及びその遺伝子である。既に、生体組織の再生を目指した細胞増殖因子の利用が試みられ、その徐放化が必要不可欠であることが強調されている。¹⁵⁾ タンパク質の徐放化における最大の問題は生物活性の低下であり、単に細胞増殖因子と徐放キャリア材料とを混ぜるだけでは、この問題点を解決することは極めて難しい。例えば、グリコール酸・乳酸系高分子を用いてタンパク質薬物を徐放しようという試みが行われているが、水不溶性の徐放担体高分子と水溶性の薬物とを均一に混合するための種々のプロセスが必要となる。このプロセスによって、多くの場合にはタンパク質を変性、その生物活性を低下してしまう。タンパク質の変性を抑制する 1 つの方法として、タンパク質と同じ水溶性で、しかも生体吸収性の高分子からハイドロゲルを作製し、それを徐放キャリアとして利用することが考えられている。これまでも、高分子ハイドロゲルを用いたタンパク質の徐放化の研究は行われている。¹⁶⁾ しかしながら、これらの徐放システムでは、ハイドロゲル内の水相中でのタンパク質の拡散速度によってその徐放速度を制御している。そのため、ハイドロゲルの架橋密度をいかに高めても、タンパク質の拡散を抑制できる期間に限界があり、この方法論では 3, 4 日間以上のタンパク質の徐放化は不可能である。ましてや体積当たりの表面積の大きな粒子状ハイドロゲルからのタンパク質の徐放化は、事実上、不可能となる。さら

に、タンパク質が徐放したのちにもハイドロゲルが残存するため、このハイドロゲルキャリアの残存が生体組織再生を物理的に邪魔することになり、再生誘導治療のための機能性薬物キャリアとしては利用できない。そこで、別の徐放メカニズムを持つ薬物キャリアを創製する必要がある。そこで、われわれは、徐放キャリアの分解に伴う薬物の徐放システムを考案した。¹⁷⁾ 例えば、徐放したい細胞増殖因子と相互作用する性質を持つ生体吸収性高分子からハイドロゲルを作製する。つまり、細胞増殖因子をハイドロゲル高分子と物理化学的に相互作用させることによって、因子をハイドロゲル内に物理的に固定化する。この相互作用力は十分に強く、酵素などによりハイドロゲル高分子鎖が分解、水可溶化されなければ、固定化された細胞増殖因子はハイドロゲルからは放出されない。つまり、この徐放システムでは、徐放キャリアであるハイドロゲルの分解に伴うハイドロゲル高分子の水可溶化によってのみ細胞増殖因子は徐放化される。生体内における細胞増殖因子の生物活性の発現メカニズムは次の 2 つが知られている。1 つ目は、細胞から分泌された細胞増殖因子が直接に自分あるいはほかの細胞に作用し、その生物活性を発揮する。もう 1 つは、細胞から分泌された因子は細胞外マトリクスに物理化学的相互作用力によって固定化、保存されている。この固定化細胞増殖因子は、細胞から分泌される酵素によるマトリクスの分解、水可溶化に伴い、必要に応じてマトリクスから徐放される。徐放キャリアの分解に伴うタンパク質の徐放ハイドロゲルシステムは、この後者の天然の徐放システムを模倣したものである (Fig. 3).^{3,13)}

一般に、細胞増殖因子は塩基性タンパク質が多く、その分子表面に正電荷に富む領域が存在している。¹⁸⁾ そこで、タンパク質と徐放化キャリア高分子との間の静電的相互作用力を利用した徐放システムが考えられる。キャリア高分子としては、電荷を持ち、生体吸収性で、なおかつ生体安全性のものであることが望ましく、この目的に利用できるのはタンパク質あるいは多糖などである。われわれはキャリア高分子として、化学修飾が容易であり、また、これまで医学、薬学、食品分野で長く使用され、その生体安全性は保障されたゼラチンを利用することを考えた。さらに、コラーゲンからの処理抽出法によ

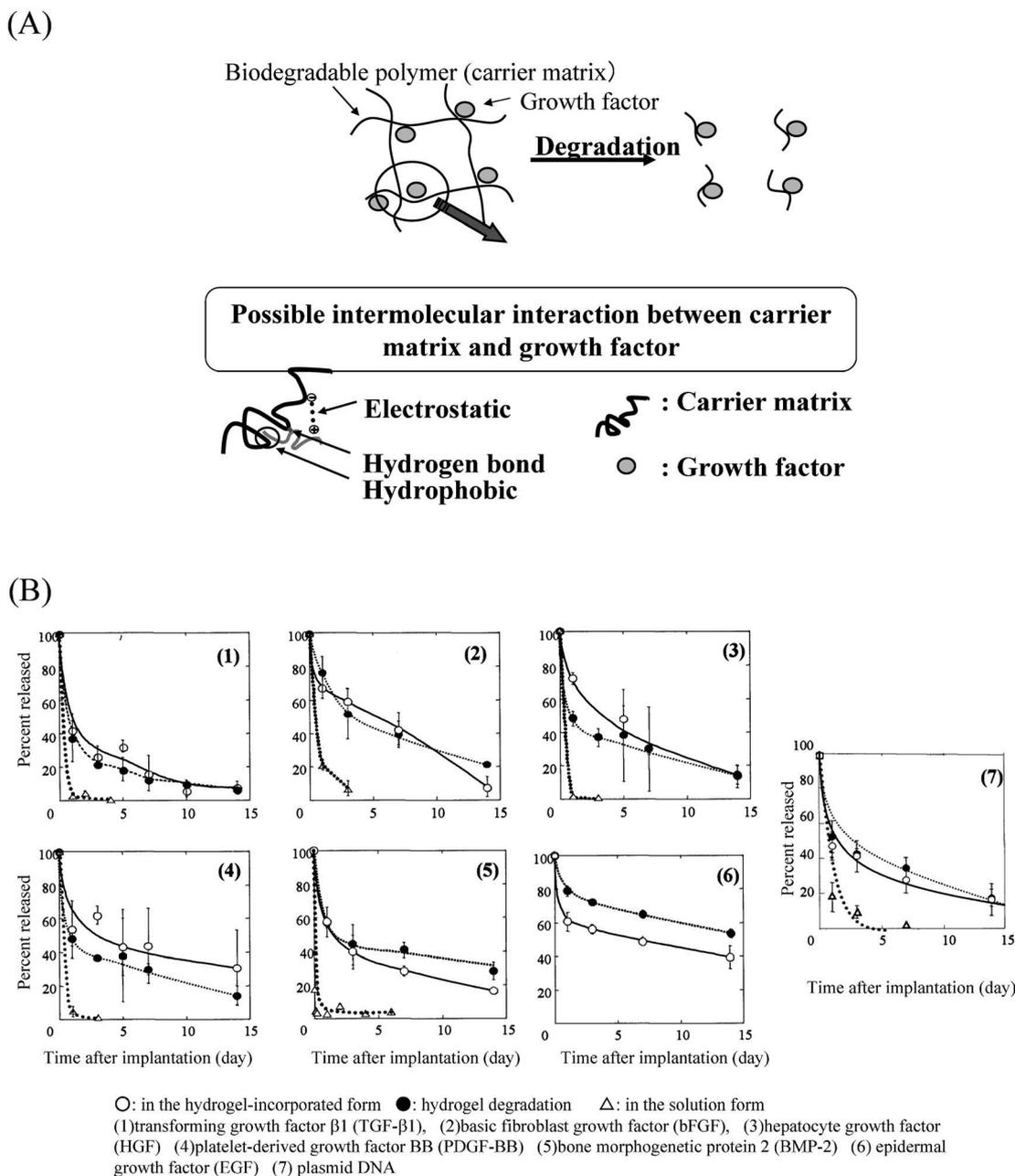


Fig. 3. (A) Mechanism on the Controlled Release of Growth Factor with Biodegradable Hydrogel and (B) *In vivo* Release Profiles of Growth Factors and Plasmid DNA from Biodegradable Hydrogel of Various Gelatins

り、その物理化学的性質が変わり、性質の異なる材料の入手が可能であるなどの特徴を持つ。例えば、アルカリ処理によって、グルタミン、アスパラギンなどの側鎖の酸アミドが加水分解され、カルボキシル基となり、等電点が5.0である“酸性”タイプのゼラチンが得られる。この酸性ゼラチンは塩基性タンパク質である塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) と、予想通り、主として静電的に相互作用すること、また、この相互作用力を利用して、bFGFを酸

性ゼラチンハイドロゲル内に固定化できること、さらに、ハイドロゲルの分解によって徐放化できることが分かった。¹⁹⁻²¹⁾ このシステムでは、ハイドロゲル作製時におけるグルタルアルデヒド濃度を変化させることで、ゼラチンの化学架橋の程度を変えることができ、異なる生体吸収性を持つハイドロゲルの作製ができる。例えば、¹²⁵Iでラベルしたゼラチンハイドロゲルをマウス背部皮下に埋入したところ、残存放射活性は時間とともに減少した。架橋反

応条件によってハイドロゲルの生体内吸収性をコントロールできた (Fig. 4(A)). 同じゼラチンハイドロゲルに ^{125}I ラベルした bFGF を含浸させ、同様にマウス皮下での残存放射活性をみたところ、bFGF の残存量も時間とともに減少し (Fig. 4(B)), 生体内でのハイドロゲルと bFGF の残存性の間には高い相関性が認められた (Fig. 4(C)). この結果は、Fig. 3(A) に示したように、徐放キャリアであるハイドロゲルの分解とともに bFGF が徐放化していることを示している。このハイドロゲルシステムでは、bFGF の徐放はハイドロゲルキャリアの分解挙動にのみ依存することから、徐放キャリアの形状に影響されない。その結果、前述したように、従来までの技術では不可能であった粒子状キャリアからの

bFGF の徐放化が可能となった.³⁾ 加えて、ゼラチンとの相互作用による bFGF の酵素消化に対する抵抗性も向上することが分かっている。¹⁹⁾ この生体吸収性ハイドロゲルを用いることで、bFGF 以外の細胞増殖因子あるいはプラスミド DNA をハイドロゲルキャリアの分解とともに徐放化することができることが分かっている (Fig. 3(B)). 加えて、この徐放システムを利用した small interference RNA (siRNA) 生物効果を増強させ、その治療効果を高めることも可能になっている。²²⁾

5. DDS 技術を用いた再生誘導治療の実際

前述した生体吸収性ハイドロゲルキャリアを用いて、生物活性を持つ細胞増殖因子を再生の場で持続的に放出 (徐放) させることにより、種々の生体組

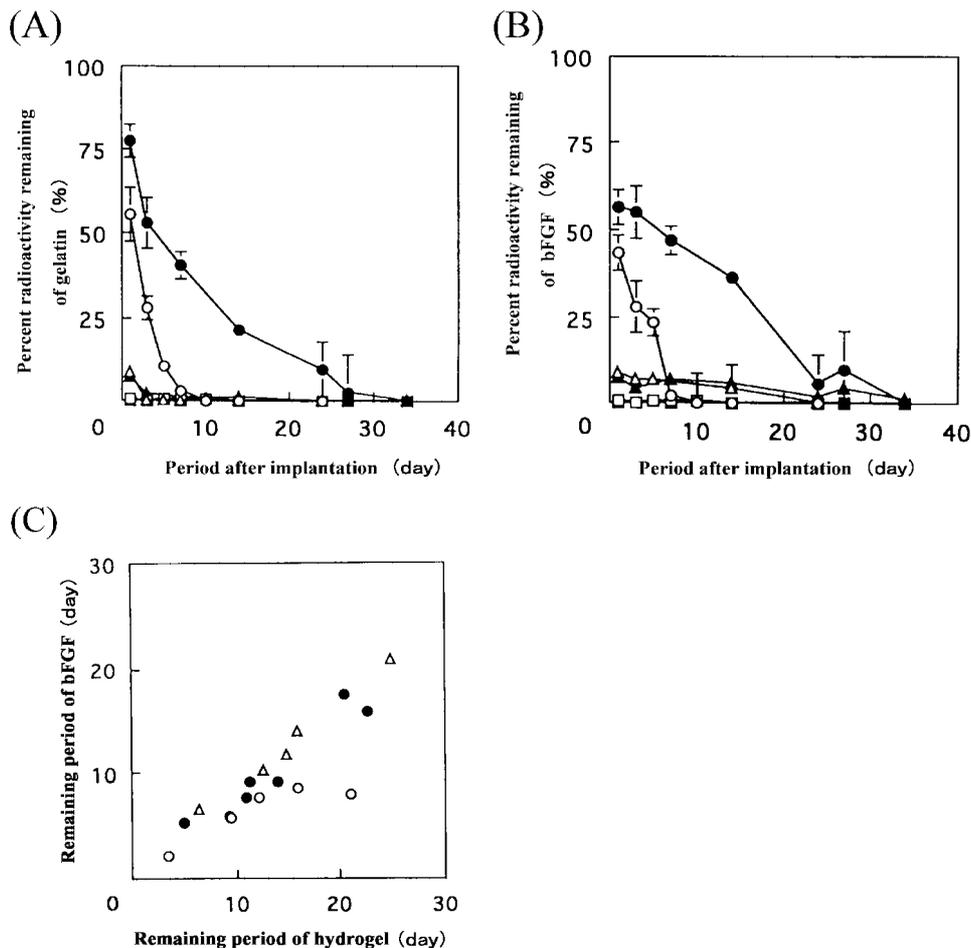


Fig. 4. (A) The Time Course of the Radioactivity Remaining of ^{125}I -labeled Gelatin Hydrogels with Water Contents of 98.8 (open maker) and 96.9% (closed marker) after Implantation into the Back Subcutis of Mice, (B) The Time Course of the Radioactivity Remaining of ^{125}I -labeled bFGF-incorporating Gelatin Hydrogels with Water Contents of 98.8 (open maker) and 96.9% (closed marker) after Implantation into the Back Subcutis of Mice, and (C) Relationship of the Radioactivity Remaining between the Gelatin Hydrogel Incorporating ^{125}I -labeled bFGF and ^{125}I -labeled Hydrogel

○, ●: in hydrogels, △, ▲: around hydrogels, □, ■: in the blood. Percent remaining of gelatin hydrogel or bFGF is (○) 80, (●) 50, (△) 20%.

織の再生誘導が可能となっている (Table 1).^{2,3,14)} その具体例を Figs. 5, 6 and 7 に示す. その中の虚血性疾患に対する血管新生誘導治療及び胸骨と胸骨周辺軟組織の再生治癒促進治療については, 既に大型動物実験も終了し, 病院の倫理委員会の許可も得られている. 既に, 下肢虚血疾患に対する血管申請治療の臨床試験が始まり, よい治療成績が得られ, 前述したように, 再生誘導治療の概念は内科的治療にも活用されている.²³⁾ 例えば, bFGF 含浸ハイドロゲルをコーティングしたコイルを用いた脳動脈瘤のカテーテル内科治療も始まっている.²⁴⁾ bFGF を瘤内で徐放化することにより組織の器質化促進が得られ, 再生誘導カテーテル治療が可能になっている.²⁵⁾

近年, 遺伝子による生体組織の再生誘導も試みられている. アデノウイルスベクターを用いた難治性循環器疾患に対する遺伝子治療が行われているが, ウイルスに由来する抗原性, 毒性の問題を避けることができない. そこで, プラスミド DNA を用いた血管新生治療法の臨床試験, 骨再生の実験的試みが行われている. しかしながら, その遺伝子発現がウイルスベクターに比べて極めて低く, 発現レベルを高める工夫が必要となる. DDS 技術を用いた種々の非ウイルスキャリアの研究開発が進められている中で,²⁶⁾ プラスミド DNA の徐放化 (Fig. 3(B)) が DNA の発現効率を高められることが分かっている.²⁷⁾ 遺伝子治療に加えて, 今後は, 遺伝子により改変, 増強された幹細胞を用いた細胞移植再生治療も行われるであろう. ウイルスベクターを用いた遺伝子改変細胞は臨床応用へのバリアが高く, 遺伝子改変のための強力な非ウイルスベクターの開発が必要となる. 例えば, カチオン性ゼラチン微粒子を利用してプラスミド DNA を幹細胞内に取り込ませ, 細胞内で徐放化する. この技術によって, ウイルスベクターに匹敵する遺伝子発現が達成され, また, その遺伝子改変幹細胞は元の幹細胞に比較して, その細胞移植治療効果が有意に増強されることが分かっている.²⁸⁾ 加えて, プラスミド DNA のカチオン化多糖, 細胞接着因子をコーティングした基材上で細胞を培養, 遺伝子導入を行う (リバーストランスフェクション法) により, 細胞毒性の低い, かつ発現レベルの高い遺伝子導入が可能になっている.²⁹⁾

また, 生体内の欠損部に外科的に再生の場を作り再生を誘導する「外科的再生」のアプローチとは異なり, 難治性慢性疾患の治療を行うという「内科的再生誘導治療」の試みも始まっている. 「内科的再生」では, DDS の技術を活用した内科的薬物治療によって, 線維化組織を消化分解し, 周辺組織の再生誘導能力によって患者本来の組織を病的なものから再生可能な組織へと是正し, 組織再生修復を行う. 体本来の持つ再生誘導能力を活用する点において, 「外科的」と「内科的」との両者の治療概念は共通している. 例えば, 糖尿病性腎症モデルマウスの腎皮膜下で線維性コラーゲンを分解するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) のプラスミド DNA を徐放化したところ, 生化学的にも組織学的にも腎臓の線維化の改善が確認された.³⁰⁾ また, HGF を徐放することによる拡張型心筋症や肝硬変³¹⁾の進行の抑制も報告されている.

6. おわりに

「drug」という言葉の意味を英英辞典で調べてみると, 「Substance taken for the effects it produces」と記載されている. これからも分かるように, 「drug」とは, 特に, 薬物治療を目指した物質に限定されている訳ではない. つまり, DDS とは, 投与 (送達) 方法や形態を工夫し, drug の動きを精密にコントロールすることによって, その作用発現部位に望ましい濃度-時間パターンの基に drug を選択的に送り込み, 結果として, 最高の生物効果を得ることを目的とした drug の投与 (宅配) に関する概念であると広く理解することができる. つまり, これまでの基礎, 応用研究の発展の経緯から, 薬物治療のための技術, 方法論であると考えられてきた DDS が, 実は, 基礎生物学あるいはその関連応用分野, さらには薬物治療以外の治療, 予防, 診断の開発研究にも必要不可欠な基盤テクノロジーである. これまでの DDS=薬物治療という固定の既存概念に捉われず, 体外, 体内に関係なく, 不安定かつ作用部位の特異性もない drug (物質) になんらかの生物学効果を期待するためには, 使われる物質の動きと運命の制御が大切である. これを行うための技術・方法論が DDS であると考えれば, DDS が生物医学研究と医療の基盤テクノロジーであることが理解して頂けたであろう.

現在の医療は生物学だけではなく, 多くの研究

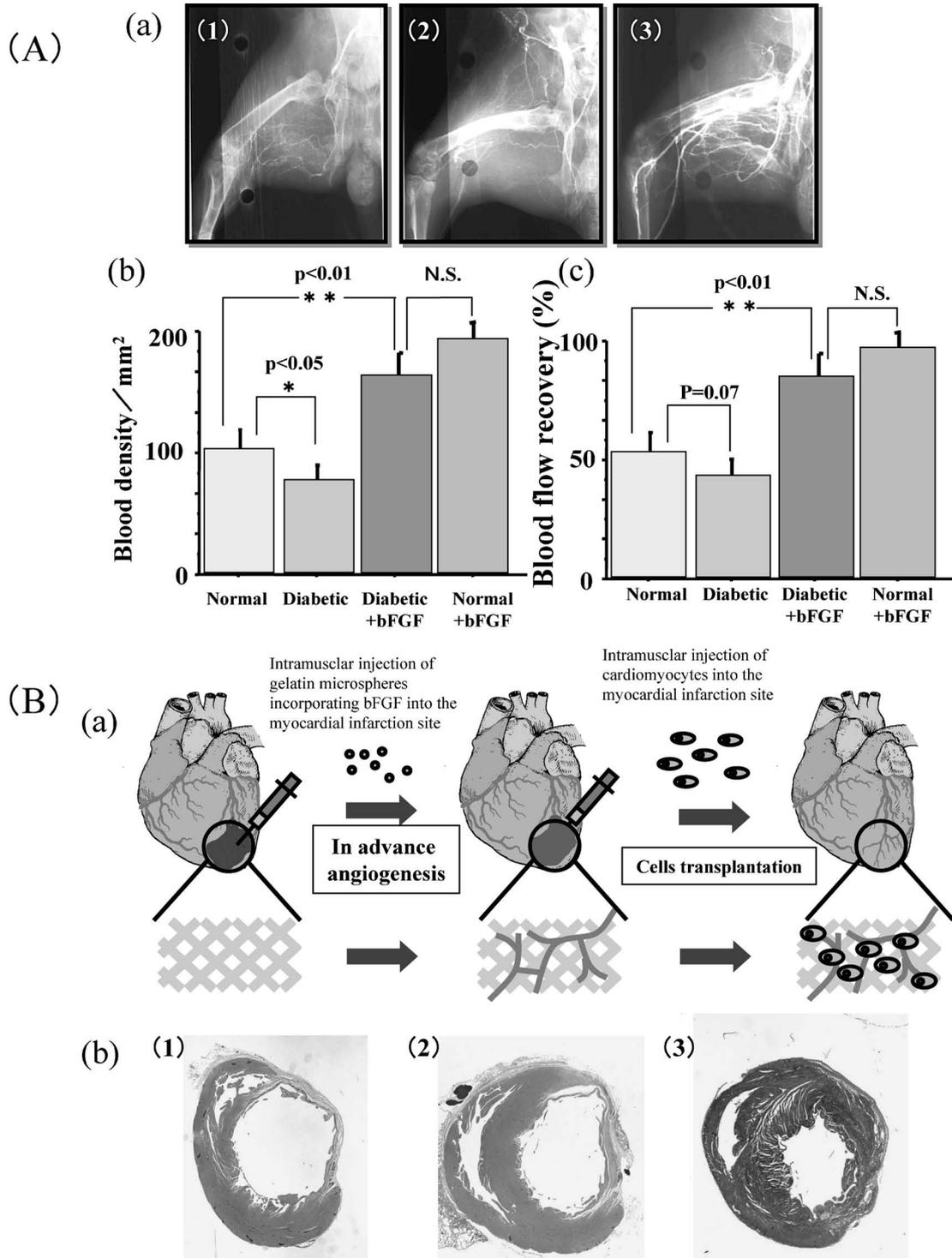


Fig. 5. Angiogenic and Cell Transplantation Therapies by the Controlled Release Technology of bFGF from Gelatin Hydrogels

(A) (a) Angiograms of ischemic area of rats hind-limb 4 weeks after ligation of the femoral artery and its branches of streptozotocin-induced diabetic rats. No treatment (1) or free basic fibroblast growth factor (bFGF) (2) and gelatin microspheres incorporating bFGF (3) were injected into the ischemic muscle 1 week after ligation. The density of blood vessels newly formed (b) and the percentage of laser doppler perfusion imaging (LDPI) index (blood flow) (c) of normal and diabetic rats before and after treatment with gelatin microspheres incorporating bFGF. The bFGF dose is $100 \mu\text{g}/\text{muscle}$. The hydrogel incorporating bFGF significantly enhanced efficacy in angiogenic therapy. (B) A therapeutic trial of chronic myocardial infarction by the combination of cardiomyocytes transplantation with in advance angiogenesis by the controlled release technology of bFGF from gelatin hydrogels. (a) Schematic diagrams of myocardial infarction therapy in advance angiogenesis by gelatin microspheres containing bFGF, followed by cardiomyocytes transplantation. (b) Cross-sections of ischemic dog hearts 4 weeks after application: (1) no treatment (2) cardiomyocytes transplantation, and (3) combination of cardiomyocytes transplantation with in advance bFGF-induced angiogenesis. The bFGF dose is $100 \mu\text{g}/\text{heart}$. The hydrogel incorporating bFGF significantly enhanced efficacy in cell therapy. (Hematoxylin and eosin staining, original magnification $1\times$).

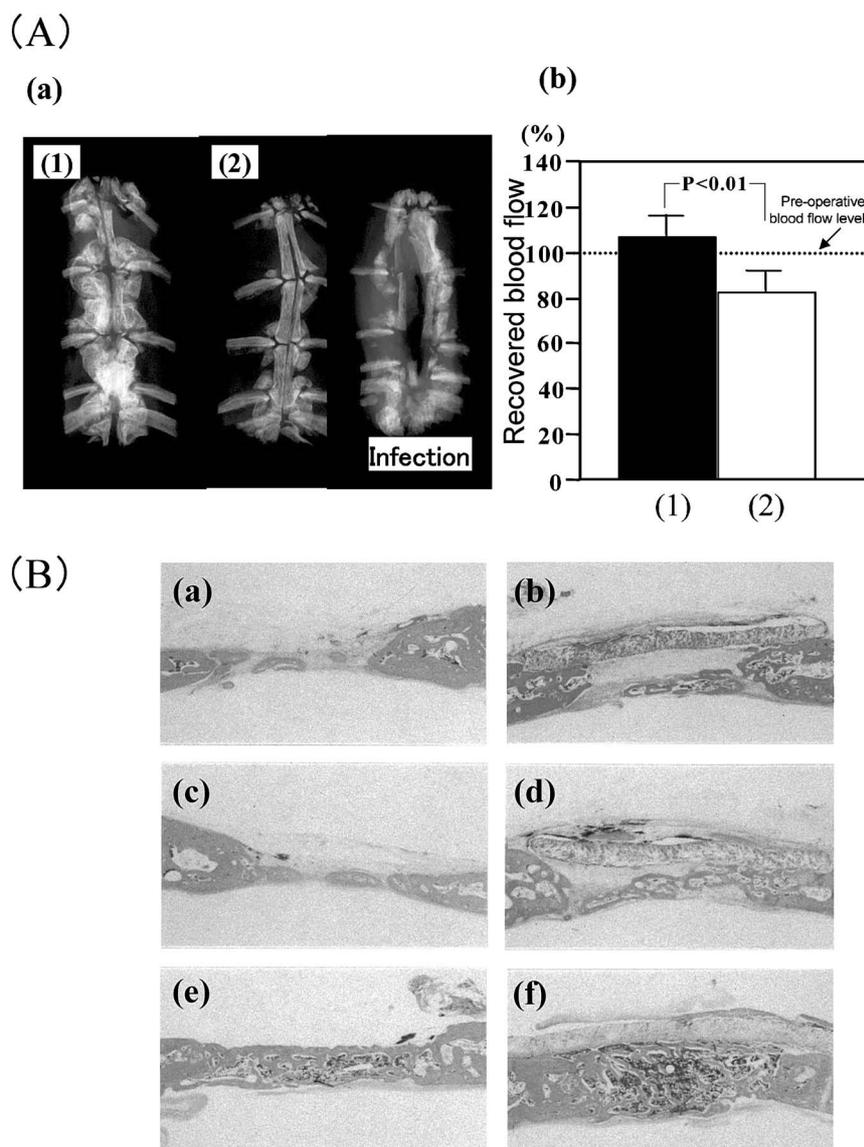


Fig. 6. Bone Regenerative Therapy by the Controlled Release Technology of Growth Factors from Gelatin Hydrogels with or without a Barrier Membrane to Make a Space for Tissue Regeneration

(A) (a) Sternum regeneration 4 weeks after application of gelatin hydrogels incorporating 100 μg of bFGF (1) and bFGF-free PBS (2) to the sternum defect of diabetic rats. (b) Recovery of blood flow at the soft connective tissue around the sternum 4 weeks after application of gelatin hydrogels incorporating 100 μg of bFGF (1) and bFGF-free PBS (2). The hydrogel incorporating bFGF significantly induced the bone regeneration at the resection area of sternum and angiogenesis at the soft connective tissue around the sternum, resulting in accelerated tissue regeneration and repairing. (B) Histological sections of rabbit skull defects 6 weeks after application with PBS (a, b), free TGF- β 1 (c, d), and gelatin microspheres incorporating 0.1 μg of TGF- β 1 (e, f). Each defect was covered with (b, d, f) or without (a, c, e) a barrier membrane. Bone regeneration was significantly induced by the combination of the hydrogels incorporating TGF- β 1 and the barrier membrane.

領域の研究成果の上になり立っていることは言うまでもない。治療学の1つである再生誘導治療 (=医療) も同じである。再生誘導治療の目的は、新しい治療法の確立であり、発生・分化の解明ではない。生物学としての発生・分化の解明も重要であるが、今日の疾病の治療は病因の解明をまっけて行われるのではなく、むしろそのような例はわずかである。本稿を読んでいただいた読者の皆様には、ごく少の

組織を除いては、その再生誘導に細胞だけではなくDDSを中心とした生体組織工学が必要不可欠であることが分かって頂けたと信じている。薬学分野の貢献が今後の生体組織工学の発展を左右するといっても過言ではなく、再生誘導治療への薬学的アプローチとDDSの新しい概念について今一度考えて頂きたい。

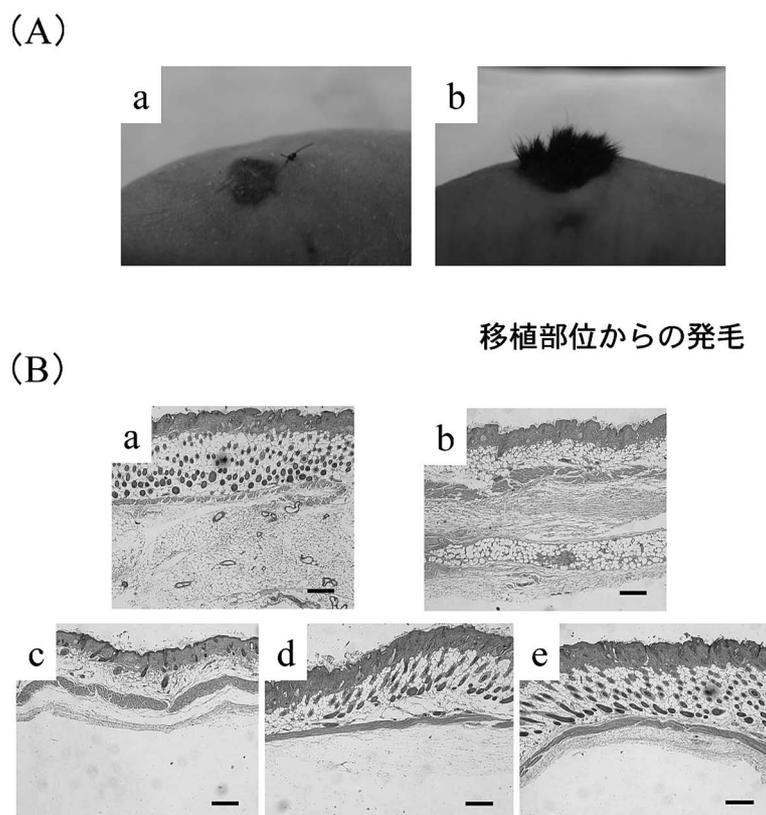


Fig. 7. Induction of Tissue Regeneration by the Combination of Cells, the Scaffold, and the Controlled Release Technology of bFGF from Gelatin Hydrogels

(A) Macroscopic appearance after subcutaneous implantation of a collagen sponge (a) and a collagen sponge reinforced with polyglycolic acid fibers (b) which was seeded with hair follicle cells. Significant cells-induced hair regeneration was observed by the fiber reinforcement of collagen sponge. (B) De novo formation of adipose tissue in the mouse subcutis 6 weeks after implantation of a collagen sponge including human preadipocytes and gelatin microspheres incorporating bFGF: (a) a collagen sponge including the mixture of preadipocytes and gelatin microspheres incorporating bFGF, (b) a collagen sponge including the mixture of preadipocytes and bFGF in the solution form, (c) a collagen sponge including preadipocytes, (d) a mixture of preadipocytes and gelatin microspheres incorporating bFGF, and (e) a collagen sponge including gelatin microspheres incorporating bFGF. (Hematoxylin and eosin staining) The bFGF dose was $1 \mu\text{g}/\text{site}$ and the hydrogel water content was 95.0 wt%. (Bar=300 μm)

REFERENCES

- 1) Taga T., Nakahata T., "Jikkennigaku Zoukangou," No. 24 Yodo-sha, Osaka, 2006.
- 2) Tabata Y., "Koko made Susunda Saiseiryu no Jissai," Yodo-sha, 2003.
- 3) Tabata Y., *Tissue Eng.*, **9**(Suppl 1), S5-15 (2003).
- 4) Tabata Y., "Idenshiigaku MOOK," No. 1, Medical Do, Osaka, 2004.
- 5) Tabata Y., *Drug Discov. Today*, **10**, 1639-1646 (2005).
- 6) Tabata Y., *Drug Deliv. Syst.*, **20**, 83-137 (2005).
- 7) Tabata Y., *Companion Anim. Pract. (CAP)*, **176**, 28-35 (2004).
- 8) Tabata Y., *Nihon shikaishikai zasshi*, **55**, 303-317 (2002).
- 9) Tabata Y., *Pharm. Med.*, **18**, 69-74 (2000).
- 10) Tabata Y., *Connect. Tissue*, **33**, 315-324 (2001).
- 11) Tabata Y., *THE BONE*, **17**, 29-34 (2003).
- 12) Tabata Y., *Rinnsho Ganka*, **59**, 229 (2005).
- 13) Tabata Y., "Tanpakushitu Kakusan Kouso," **45**, 2179-2187 (2000).
- 14) Tabata Y., "Doraggu Deribari-Sisutemu DDS Gijutu no Aratana Tenkai to sono Katsuyou Hou," Idenshiigaku bessatsu, 2003.
- 15) Tabata Y., *Pharm. Sci. Tech. Today*, **3**, 80-89 (2000).
- 16) Gombotz W. R., Pettit D. K., *Bioconjug. Chem.*, **6**, 332-351 (1995).
- 17) Ikada Y., Tabata Y., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **31**, 287-301 (1998).
- 18) Taipale J., Keski-Oja J., *FASEB J.*, **11**, 51-59 (1997).

- 19) Munniruzzaman M., "Protein Interaction with Gelatin Hydrogels for Tissue Engineering," Trans Tech Publication, Switzerland, 1997, p. 89.
- 20) Tabata Y., Nagano A., Muniruzzaman M., Ikada Y., *Biomaterials*, **19**, 1781–1789 (1998).
- 21) Tabata Y., Nagano A., Ikada Y., *Tissue Eng.*, **5**, 127–138 (1999).
- 22) Kushibiki T., Nagata-Nakajima N., Sugai M., Shimizu A., Tabata Y., *J. Control. Release*, **110**, 610–617 (2006).
- 23) Hirose K., Marui A., Tabata Y., Komeda M., *Pharm. Med.*, **23**, 41–45 (2005).
- 24) Hatano T., Miyamoto S., Kawakami O., Yamada K., Hashimoto N., Tabata Y., *Neurosurgery*, **53**, 393–400 (2003).
- 25) Kawakami O., Miyamoto S., Hatano T., Yamada K., Hashimoto N., Tabata Y., *Neurosurgery*, **58**, 355–364 (2006).
- 26) Harashima H., Tabata Y., "Idenshiigaku MOOK5," Medical Do, Osaka, 2005.
- 27) Kushibiki T., Tabata Y., *Curr. Drug Deliv.*, **1**, 153–163 (2004).
- 28) Nagaya N., Kangawa K., Kanda M., Uematsu M., Horio T., Fukuyama N., Hino J., Harada-Shiba M., Okumura H., Tabata Y., Mochizuki N., Chiba Y., Nishioka K., Miyatake K., Asahara T., Hara H., Mori H., *Circulation*, **108**, 889–895 (2003).
- 29) Okazaki A., Jo J. I., Tabata Y., *Tissue Eng.*, **13**, 245–251 (2007).
- 30) Aoyama T., Yamamoto S., Kanematsu A., Ogawa O., Tabata Y., *Tissue Eng.*, **9**, 1289–1299 (2003).
- 31) Oe S., Fukunaka Y., Hirose T., Yamaoka Y., Tabata Y., *J. Control. Release*, **88**, 193–200 (2003).