

機関番号：12102

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008~2010

課題番号：20591700

研究課題名 (和文) 糖鎖修飾シロリムスリポソームを用いた血管形成術後再狭窄予防の研究

研究課題名 (英文) Application of liposome decorated with sugar chains to prevent vascular stenosis after angioplasty

研究代表者

鶴嶋 英夫 (TSURUSHIMA HIDEO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号：50315470

研究成果の概要 (和文)：細胞増殖抑制薬剤を内包した糖鎖修飾リポソームを作製した。ラットの頸動脈に血管形成術を施行して血管狭窄モデルを作製した。静脈内投与された糖鎖修飾リポソームを血管形成部位に特異的に集積させる事に成功し、血管形成部位の血管に有為に高濃度の細胞増殖抑制薬剤を送り届ける事ができ、血管狭窄を予防することに成功した。従来の薬剤溶出ステントとは全く異なる機序による血管狭窄予防システムのコンセプトを証明した。

研究成果の概要 (英文)：Restenosis remains a serious complication that can occur after angioplasty. This study investigated the efficiency of an active targeting chemotherapy using liposomes, including doxorubicin, which surface was decorated with sialyl Lewis X (SLX), (Dox-Lipo-SLX), to prevent stenosis after angioplasty. Its delivery was controlled via the affinity between SLX and E-selectin proteins, which are expressed on injured arteries. *In vitro* experiments confirmed that doxorubicin accumulated owing to Dox-Lipo-SLX by adhering to E-selectin-positive cells. Rats with balloon-injured arteries were intravenously injected with Dox-Lipo-SLX. A significant doxorubicin accumulation was observed on the injured vessel walls in rats treated with Dox-Lipo-SLX. The efficiency of stenosis prevention was evaluated. The residual lumen area of the group treated with Dox-Lipo-SLX was significantly larger than all of the other groups. These results demonstrate that an active targeting drug delivery system with Dox-Lipo-SLX effectively prevents stenosis after angioplasty.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：DDS、Nano-medicine

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、脳神経外科学

キーワード：脳血管内外科学

### 1. 研究開始当初の背景：

頭蓋内狭窄血管に対して血管形成術が施行されるようになってきたが、血管形成術の問題は形成部位の血管再狭窄である。頭蓋内血管は心臓の冠動脈と異なり、細く、形も複雑でステント挿入による再狭窄予防が困難である。また再狭窄予防として循環器領域では薬剤溶出性ステントが用いられ、その再狭窄予防効果が実証されているが、ステント内血栓症など問題点もある。

近年ナノテクノロジーの発展に伴いナノ粒子を用いた薬剤デリバリーシステムが開発されている。我々も糖鎖とレクチン蛋白の親和性に基づいて病巣部に集積する標的指向性ナノ粒子を開発している。

### 2. 研究の目的

今回の研究では薬剤溶出性ステントを用いなくても標的指向性ナノ粒子を用いて血管狭窄予防薬を狭窄血管へデリバリーし、狭窄を予防する治療システムを構築する。

### 3. 研究の方法

ラット頸動脈を損傷し、血管狭窄モデルを作製する。血管狭窄部位に出現するレクチン蛋白を確認する。このレクチン蛋白に親和性を持つ糖鎖を同定する。この糖鎖で表面を修飾されたナノリポソームを作製し、リポソーム内部に血管狭窄予防薬を内包させる。この標的指向性ナノ粒子を用いて血管狭窄動物モデルを治療し、治療システムのコンセプトを証明する。

### 4. 研究成果

血管狭窄動物モデルを作製して、この狭窄血管に発現するレクチン蛋白としてE-selectinを確認した。E-selectinに親和性を持つ糖鎖として sialyl lewis X(SLX)を同定、SLXを表面に修飾し、内部に血管狭窄予防薬としてドキシソルピシンを内包したナノリポソームの作製に成功した。このナノリポソームを動物モデルの静脈内へ投与すると血管狭窄部位にナノリポソームが集積し、狭窄が予防されることを確認できた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Marushima A, Suzuki K, Nagasaki Y, Yoshitomi T, Toh K, Tsurushima H, Hirayama A, Matsumura A. Newly

synthesized radical-containing nanoparticles (RNP) enhance neuroprotection after cerebral ischemia-reperfusion injury.

Neurosurgery 2011 in press. 査読有

2. 鶴嶋英夫、黒田隆之助、Drug Delivery Systemと単色X線を用いた新規放射線療法、物理学会誌、80(2): 120-123, 2011. 査読有
3. Marushima A, Tsurushima H, Suzuki K, Nakai Y, Nemoto H, Matsumura A, Time-course analysis of brain perfusion single-photon emission computed tomography using a three-dimensional stereotactic region-of-interest template in patients with Moyamoya disease. World Neurosurg. 2011 in press. 査読有
4. Zhang W, Wang H, Oyane A, Tsurushima H, Chu PK, Osteoblast differentiation and disinfection induced by nitrogen plasma-treated surfaces. Biomed Mater Eng 2011 in press. 査読有
5. Yazaki Y, Oyane A, Sogo Y, Ito A, Yamazaki A, Tsurushima H, Control of gene transfer on a DNA-fibronectin-apatite composite layer by the incorporation of carbonate and fluoride ions. Biomaterials 2011 in press. 査読有
6. Oyane A, Murayama M, Yamazaki A, Sogo Y, Ito A, Tsurushima H, Fibronectin-DNA-apatite composite layer for highly efficient and area-specific gene transfer. J Biomed Mater Res A. 92(3): 1038-1047, 2010. 査読有

7. Oyane A, Tsurushima H, Ito A, Highly efficient gene transfer system using a laminin-DNA-apatite composite layer. *J Gene Med.* 12(2): 194-206, 2010. 査読有
8. Tsurushima H, Marushima A, Suzuki K, Oyane A, Sogo Y, Nakamura K, Matsumura A, Ito A, Enhanced bone formation using hydroxyapatite ceramic coated with fibroblast growth factor-2. *Acta Biomater.* 6: 2751-2759, 2010. 査読有
9. 丸島愛樹、鈴木謙介、長崎幸夫、吉富徹、藤加珠子、鶴嶋英夫、平山暁、松村明、脳虚血再灌流における酸化ストレス障害と脳保護療法 pH応答性ラジカル含有ナノ粒子 (radical-containing nanoparticle: RNP) の可能性-、*脳卒中* 32(6): 552-558, 2010. 査読有
10. Tsuruta W, Tsurushima H, Yamamoto T, Suzuki K, Yamazaki N, Matsumura A, Application of liposome incorporating doxorubicin with sialyl Lewis X to prevent stenosis after rat carotid artery injury. *Biomaterials* 2009, 30: 118-125. 査読有
11. Lee BH, Oyane A, Tsurushima H, Shimizu Y, Sasaki T, Koshizaki N, A new approach for hydroxyapatite coating on polymeric materials using laser-induced precursor formation and subsequent aging. *ACS Appl Mater Interfaces* 2009, 1: 1520-1524. 査読有
12. Wang XP, Ito A, Sogo Y, Li X, Tsurushima H, Oyane A. Ascorbate-Apatite Composite and Ascorbate-FGF2-Apatite Composite Layers Formed on External Fixation Rods and Their Promoting Effects on Cell Proliferation and Differentiation in vitro. *Acta Biomater.* 5(7): 2647-2656, 2009. 査読有
- [学会発表] (計 17 件)
1. 滝川知司、鶴嶋英夫、中村和弘、鈴木謙介、鶴田和太郎、松村明、シロシタゾールによる頸動脈新生内膜肥厚抑制効果の検討 第 26 回日本脳神経血管内治療学会学術総会 2010, 11, 18 (ミニシポジウム) 北九州
  2. 中村和弘、鶴嶋英夫、急性期脳梗塞に対する血管内皮前駆細胞 (EPC; endothelialprogenitor cell) を用いた細胞療法に関する研究 第 69 回日本脳神経外科学会学術総会 2010, 10, 28 (シンポジウム) 福岡
  3. 鶴嶋英夫、Zhang Wei、大矢根綾子、十河友、伊藤敦夫、松村明、BMP-2 遺伝子とフィブロネクチン層を持つ医療材料の開発 -骨誘導機能性医療材料-第 69 回日本脳神経外科学会学術総会 2010, 10, 28.
  4. Tsurushima H, Oyane A, Ito A, Matsumura A, Highly efficient gene transfer system using a laminin-DNA-apatite composite layer. 第 16 回日本遺伝子治療学会 2010, 7, 1 宇都宮
  5. 矢崎侑振、大矢根綾子、十河友、伊藤敦夫、山崎淳司、鶴嶋英夫、リポソーム-アパタイト複合層を利用した遺伝子導入システム-リポソーム構成分子の検討- 日本セラミック協会年会 2010, 3, 24.
  6. 鶴嶋英夫、Drug Delivery Sstem と LCX-X 線を用いた新規組み合わせ治療の可能性 産業技術総合研究所計測フロンティア研究部門第 19 回公開セミナー、2009 年 12 月 16 日. つくば
  7. 矢崎侑振、鶴嶋英夫、大矢根綾子、十河友、山崎淳司、伊藤敦夫、DNA-抗体-アパタイト複合層を利用した遺伝子導入技術の開発 第31回日本バイオマテリアル学会 2009年11月16, 17日京都
  8. 鶴嶋英夫、鶴田和太郎、鈴木謙介、山本哲哉、山崎登、松村明、糖鎖修飾リポソームを用いた血管形成術後狭窄予防

- 第31回日本バイオマテリアル学会 2009年11月16, 17日 京都
9. Oyane A, Tsurushima H, Murayama M, Yamazaki A, Sogo Y, Ito A, Immobilization of cell adhesion protein in DNA-apatitic composite layer to improve gene transfer efficiency on its surface. The 22nd International Symposium on Ceramics in Medicine. *BIOCERAMICS 22*, Daegu (Korea) 2009, 10, 26-29.
  10. Yazaki Y, Oyane A, Tsurushima H, Sogo Y, Ito A, Yamazaki A, Control of efficiency of gene transfer on surface of DNA-Fibronectin-Apatite composite layer. The 22nd International Symposium on Ceramics in Medicine. *BIOCERAMICS 22*, Daegu (Korea) 2009, 10, 26-29.
  11. Zhang W, Oyane A, Tsurushima H, Ito A, Chu PK, Osteoblast differentiation induced by Nitrogen plasma-treated polymer surface. The 22nd International Symposium on Ceramics in Medicine. *BIOCERAMICS 22*, Daegu (Korea) 2009, 10, 26-29.
  12. 鶴嶋英夫, 鈴木謙介、大矢根綾子、伊藤敦夫、松村明、FGF-2担持アパタイトによる頭蓋骨形成術の開発応用 第68回日本脳神経外科学会学術総会 2009年10月14-16日. 東京
  13. Yoshitomi T, Toh K, Marushima A, Suzuki S, Tsurushima H, Hirayama A, Matsumura A, Nagasaki Y, Healing of Oxidative Stress in Brain on the Occasion of Cerebral Ischemia-Reperfusion. *Biomaterials: Biocompatibility/Tissue Engineering*, Gordon Research Conferences New Hampshire(USA), 2009, 7, 19-24.
  14. 藤加珠子、吉富徹、丸島愛樹、鈴木謙介、鶴嶋英夫、平山暁、松村明、長崎幸夫、ラジカル含有ナノ粒子を用いた脳虚血再灌流モデルラットにおける脳梗塞の抑制 第62回日本酸化ストレス学会学術集会、福岡、2009年6月11, 12日.
  15. 鶴田和太郎、鶴嶋英夫、山本哲哉、鈴木謙介、山寄登、松村明、Active targeting drug delivery system を用いた血管形成術後再狭窄予防 *Stroke2009* (第34回日本脳卒中学会総会、第38回日本脳卒中の外科学会、第25回スパズムシンポジウム)、島根 2009年3月20-22日.
  16. 丸島愛樹、鈴木謙介、吉富徹、藤加珠子、鶴嶋英夫、平山暁、長崎幸夫、松村明、高分子ミセル化環状ニトロキシラジカル化合物による脳梗塞抑制効果 *Stroke2009* (第34回日本脳卒中学会総会、第38回日本脳卒中の外科学会、第25回スパズムシンポジウム)、島根、2009年3月20-22日.
  17. 鶴嶋英夫、鶴田和太郎、鈴木謙介、山本哲哉、山寄登、松村明、糖鎖修飾リポソームを用いた血管形成術後狭窄予防 つくば医工連携フォーラム 2009、つくば、2009年1月14日.
- [図書] (計2件)
1. 大矢根綾子、鶴嶋英夫、伊藤敦夫、Surface-mediated transfection のためのバイオセラミックスの設計と展開、*バイオセラミックスの設計と展開、バイオセラミックス・ネットワーク 2010*、バイオマテリアル-生体材料- 2010, 28(2): p109-115
  2. 大矢根綾子、鶴嶋英夫、十河友、伊藤敦夫、六崎裕高、生体機能分子を利用した

アパタイト系生体材料の開発、New Glass、  
ニューガラスフォーラム、2009、24(3):  
p35-42

〔産業財産権〕

○出願状況（計3件）

①名称：「骨誘導性生体材料」

発明者：鶴嶋英夫、大矢根綾子、Zhang Wei、  
伊藤敦夫

権利者：産業技術総合研究所

種類：特願

番号：2010-00559

出願年月日：H22/04/27

国内外の別：国内

②名称：「組織再生用スキャッフールド  
及びその製造方法」

発明者：大矢根綾子、鶴嶋英夫、伊藤敦夫、  
十河友、山崎淳司、矢崎侑振

権利者：産業技術総合研究所

種類：特願

番号：2010-003079

出願年月日：H22/01/08

国内外の別：国内

③名称：「遺伝子及び溶解性制御因子を含む  
組織再生用スキャッフールド、及びその製  
造方法」

発明者：大矢根綾子、鶴嶋英夫、伊藤敦夫、  
十河友、山崎淳司、矢崎侑振、

権利者：産業技術総合研究所

種類：特願

番号：2009-1424

出願年月日：H21/01/07

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

取材報道

- 1) メディカルトリビューン紙 2009  
年5月7日 Vol.42 No.19 p16 「Stroke  
2009 臨床導入を目指した脳卒中に対する  
先端治療研究を報告：血管形成術後再狭窄  
予防 active targeting DDSに期待」にお  
いて研究内容が報道された。

- 2) 医学書院／週刊医学界新聞 第  
2828号 2009年4月27日「あらためて今  
「脳卒中」を知る Stroke 2009：最先端  
治療法の臨床応用」において研究内容が報  
道された。

- 3) メディカルトリビューン紙 2010年8  
月19日 VOL.43 NO.33 p36 「第26回日  
本DDS学会 ラジカル含有環境応答性  
ナノ粒子によるDDSを創製」にて研究内  
容が報道された。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鶴嶋 英夫 (TSURUSHIMA HIDEO)  
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・  
准教授  
研究者番号：50315470