

る。ここで忘れてならないのは、本法がプラスミド DNA 以外には何らベクターを用いない遺伝子導入法 (naked DNA アプローチ) である点で、臨床応用における高い安全性が期待された。

末梢動脈閉塞症に対する VEGF を用いた血管新生療法

1994 年, Isner らは血管新生療法の臨床試験を開始した²⁾。この臨床試験は、循環器領域における初の遺伝子治療としても知られており、内科治療や外科治療不応性の重症末梢動脈閉塞症患者を対象として行われた。遺伝子治療から 1~2 ヶ月で、血管造影上の新生血管出現が得られ、下肢疼痛や難治性潰瘍が消失した。副作用は下腿浮腫や良性血管腫など、一過性の軽微なものであった。しかしながら、バルーンカテーテルを用いた遺伝子導入は、動脈穿刺が不可能な例、下肢の動脈硬化が高度でカテーテルによるアプローチが困難な例、遺伝子導入に際し解離などの血管損傷リスクが高い例などには施行できない。そこで考案されたのが、虚血筋への遺伝子導入である⁶⁾。Baumgartner らは、VEGF プラスミドの筋注により、7~8 割の症例で血管造影上の側副路発達や臨床症状の改善を得ることに成功した⁷⁾。この遺伝子導入法の単純化により、カテーテルでは治療困難であった症例にも血管新生療法が可能となり、その適応は大きく拡大することとなる。また、本法は心筋へも応用可能であり、虚血性心疾患に対する血管新生療法の臨床応用への契機となった。

虚血性心疾患に対する VEGF を用いた血管新生療法

90 年代後半, Losordo らは胸部小切開法により重症狭心症患者の左室に VEGF プラスミドを筋注し、狭心症状の著明な改善と心筋シンチによる虚血所見の改善を得ることに成功した⁸⁾。さらに Losordo らは、NOGA と呼ばれる心筋マッピングのシステムを用いて、心内膜側から経皮的に VEGF 遺伝子の導入を行い、良好な治療効果を得た⁹⁾。現在、この NOGA システムを用いた経皮的遺伝子治療は、二重盲検試験によって検証中である。最近、類似のプロトコルを用いた臨床試験の結果が Kastrup らにより報告されたが、VEGF 治療群において左室壁運動の改善は認められたものの、自覚症状や心筋シンチ所見の改善は得られていない¹⁰⁾。本法の有効性については、

さらなる検討が必要である。

血管内皮前駆細胞の発見と細胞治療

遺伝子を用いた血管新生療法の臨床応用が進むなか、1997 年, Asahara らはヒト末梢血中の CD34 陽性細胞の分画中に成熟内皮細胞へと分化しうる血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell : EPC) が存在することを明らかにした¹¹⁾。これを契機として、遺伝子や蛋白を中心とした血管新生療法に、細胞移植を用いた血管新生療法の新しい流れが加わった。

EPC は血球血管芽細胞 (ヘマンジオブラスト) と呼ばれる幹細胞より分化するが、成人では通常骨髄中にあり、末梢血中にはきわめてわずしか存在しない。Kalka らはヒト末梢血単核球から EPC を分離培養し、マウスの虚血肢モデルに投与することで下肢虚血の改善を得た¹²⁾。一方、Shintani らは自己骨髄由来単核球移植によって家兔虚血肢の血管新生が増強することを報告した¹³⁾。移植された自己骨髄単核球が虚血組織における血管形成に参加、もしくは血管増殖因子を放出することで局所の血管新生を刺激したものと思われ、自己骨髄単核球細胞移植による血管新生療法の臨床応用への契機となった。

自己骨髄単核球細胞移植による血管新生療法

末梢動脈閉塞症に対する自己骨髄細胞移植の有用性は、2000 年、国内 3 施設 (久留米大学、関西医科大学、自治医科大学) による Therapeutic Angiogenesis Using Cell Transplantation (TACT) trial において示された¹⁴⁾。全身麻酔下で採取した数百 cc の骨髄液から単核球を分離後、虚血肢に移植することで、ABI (上肢・下肢血流比) は 0.97 ポイント増え、トレッドミル歩行距離は 2.6 倍に改善した。また、下肢疼痛は 9 割、皮膚潰瘍は 8 割の症例で改善した。同様のプロトコルを用いた多施設臨床試験がすでに実施されており、少なくとも本法の短期成績に関しては確立された治療法といっても過言ではない。

末梢血細胞を用いた血管新生療法の臨床応用に関しては、顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony stimulating factor : G-CSF) を用いて末梢血中の単核球から CD34 陽性細胞を分離したり、末梢血単核球細胞移植にアドレノメデュリンの局所投与を併用するなどさまざまな試みがなされている。その有効性に関してはまだ不明な点が多いものの、侵襲性の低さや細胞採取の容易さなど末梢血細胞移植の

メリットは大きく、今後の発展が期待される。

一方、虚血性心疾患に対する細胞治療に関しても、骨髄細胞の冠動脈内注入やNOGAシステムを用いた心筋内移植など、さまざまな臨床試験が進行中である。急性心筋梗塞患者の冠動脈内に骨髄単核球細胞を投与した初期の臨床試験では、梗塞サイズの減少や左室機能の改善、心筋バイアビリティーの改善が報告されているが、その治療効果については否定的な報告も少なくない。また、左室機能改善などの治療効果が血管新生によって得られたものなのか、あるいは心筋細胞の再生によるものなのか、その機序についても不明な点が多い。虚血下肢に対する細胞移植ほど確立された治療にはまだ至っていないというのが現状である。

おわりに

血管新生療法は血管増殖因子を用いた遺伝子治療として幕を開けた。しかしながら、遺伝子のパテント問題や倫理的ハードルの高さから、現在では細胞移植による血管新生療法が主流となりつつある。

虚血下肢に対する細胞移植の治療成績は良好であるが、臨床症状の改善にもかかわらず血管造影での改善を認めないことも少なくない。果たして細胞移植により血管新生が本当に促進されたのか？単に潰瘍の創傷治癒機転が促進されただけではないのか？その治療機序に関してはいまだ不明な点が少なくはなく、今後の研究成果が期待される。

文献

- 1) Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LO, Bunting S, et al. *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 662-70.
- 2) Isner JM, Pieczek A, Schainfeld R, Blair R, Haley L, Asahara T, et al. *Lancet* 1996 ; 348 : 370-4.
- 3) Takeshita S, Weir L, Chen D, Zheng LP, Riessen R, Bauters C, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1996 ; 227 : 628-35.
- 4) Takeshita S, Tsurumi Y, Couffinahl T, Asahara T, Bauters C, Symes J, et al. *Lab Invest* 1996 ; 75 : 487-501.
- 5) Takeshita S, Losordo DW, Kearney M, Rossow ST, Isner JM. *Lab Invest* 1994 ; 71 : 387-91.
- 6) Tsurumi Y, Takeshita S, Chen D, Kearney M, Rossow ST, Passeri J, et al. *Circulation* 1996 ; 94 : 3281-90.
- 7) Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, et al. *Circulation* 1998 ; 97 : 1114-23.
- 8) Losordo DW, Vale PR, Symes JF, Dunnington CH, Esakof DD, Maysky M, et al. *Circulation* 1998 ; 98 : 2800-4.
- 9) Vale PR, Losordo DW, Milliken CE, McDonald MC, Gravelin LM, Curry CM, et al. *Circulation* 2001 ; 103 : 2138-43.
- 10) Kastrop J, Jorgensen E, Ruck A, Tagil K, Glogar D, Ruzyllo W, et al. *J Am Coll Cardiol* 2005 ; 45 : 982-8.
- 11) Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. *Science* 1997 ; 275 : 964-7.
- 12) Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 3423-7.
- 13) Shintani S. *Circulation* 2001 ; 103 : 897-903.
- 14) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, et al. *Lancet* 2002 ; 360 : 427-35.