

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

再生医療的手法による、脳血管性痴呆症
および虚血性脳血管障害に対する早期診断
および予防法の確立に関する研究

平成17年度 総括研究報告書

平成18年3月

主任研究者 田口 明彦

国立循環器病センター研究所

厚生労働科学研究費補助金
痴呆・骨折臨床研究事業

再生医療的手法による、脳血管性痴呆症
および虚血性脳血管障害に対する早期診断
および予防法の確立に関する研究

平成17年度 総括研究報告書

平成 18 年 3 月

主任研究者 田口 明彦

国立循環器病センター研究所

目次

1	まえがき	1
2	研究組織	3
3	総括研究報告	5
4	分担研究報告	
4-1	虚血性脳疾患に対する再生医療を用いた治療法の開発に関する総合的 研究	18
4-2	末梢血中血管血球系幹細胞と認知症に関する研究	22
4-3	糖尿病患者における末梢血中 CD34 陽性細胞の減少と心機能障害	33
4-4	末梢血血管内皮前駆細胞と糖尿病性腎症の進展	40
4-5	CD34 陽性細胞数と動脈硬化性因子の関連の検討および血管内皮前駆細 胞分画の解析	43
4-6	末梢血 CD34 陽性細胞数と虚血性大脳白質病変との関連	50
4-7	ハイリスク患者における予後の解析	58
5	掲載論文	85
6	監修冊子	
	Buerger 病専門誌『バージャー病治療と看護総覧』より	90

まえがき

現在わが国においては、他の諸国においては類を見ないほどの急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う要介護者の急激な増加は日本の社会構造を根底から揺るがしかねない極めて深刻な社会問題である。脳血管障害に起因する痴呆症や脳梗塞後遺症はその主要な原因の一つであり、高齢者が健康で生きがいを持って生活し、かつ活力のある社会を保ち続けるための克服すべき緊急の課題である。これらの疾患を克服するため、様々な研究が積み重ねられてきたが、脳梗塞に対する有効な治療法は発症後 3 時間以内の血栓溶解療法以外になく、脳血管性痴呆に対しては全く有効な治療手段がないのが現状であり、従来の治療法とは全く異なった観点からの革新的な手法を用いた早期診断法や予防法および治療法の確立が切望されている。

従来の治療法では対処できなかった難治性の虚血性心疾患や末梢動脈閉塞症に対しては、まったく新しい手法である再生医療学的手法を用いた治療法の臨床応用が既に開始され、その十分な治療的効果も明らかにされており、脳血管障害や脳血管性痴呆症など他の難治性の虚血性疾患に対する適応の拡大も示唆されている。これらの知見を背景に我々は国立循環器病センター入院中の虚血性脳血管障害患者を対象にした小規模臨床研究において血管系幹細胞が属する細胞分画である CD34 陽性細胞や CD 133 陽性細胞の減少が脳循環動態の悪化や脳梗塞の増加と強く関連していることを明らかにしてきたが、これらの知見を普遍的な早期診断法や疾患予備軍のスクリーニング法として確立するためには、脳神経機能評価を加えた多施設共同研究による十分な症例数に基づく詳細な検討が必要不可欠である。また、末梢血中の血管血球系幹細胞を増加させる治療

法の開発に向け、臍帯血中幹細胞の移植、内因性幹細胞の動員、in vitro での幹細胞増殖培養等様々な研究が非常に多くの施設で行われており、近い将来に臨床応用されると考えられている。それらの医療技術を虚血性脳血管障害の分野に応用するためにも、本研究は非常に重要な基盤研究となると考えている。本研究はこれらの成果を通じて我が国の要介護者の大幅な減少をもたらすことが可能であり、高齢者が健康で自立して生活する、活力のある社会を保ち続けることに大きく貢献することができると考えている。

国立循環器病センター研究所

田口 明彦

研究組織

統括主任研究者

田口明彦 国立循環器病センター研究所 循環動態機能部 室長

分担研究者

成富博章	国立循環器病センター	内科脳血管部門	部長
長束一行	国立循環器病センター	内科脳血管部門	医長
福永隆三	星ヶ丘厚生年金病院	脳卒中内科	副院長
松山知弘	兵庫医科大学医学部	先端医科学研究所	教授
相馬俊裕	国立病院機構大阪南医療センター	臨床検査科	部長
岡本昌也	国立病院機構大阪南医療センター	循環器科	医長
北川 一夫	大阪大学大学院医学研究科	循環器内科	講師
丸山 彰一	名古屋大学大学院医学研究科	循環器内科	講師

平成17年度厚生労働科学研究費補助金

痴呆・骨折臨床研究事業

総括研究報告書

再生医療的手法による、脳血管性痴呆症および虚血性脳血管障害に対する早期診断および予防法の確立に関する研究

主任研究者

国立循環器病センター研究所

田口 明彦

研究要旨

末梢血中血管血球系幹細胞と患者予後に関する経時的コホート研究にむけて、認知症患者、脳血管障害患者および代謝異常など循環器系疾患ハイリスク患者を中心に、前年度と合わせて合計約1000名のエントリーを行った。また、脳梗塞患者における末梢血中血管系幹細胞と脳循環病態に関する断面的検討においては、前年度に我々が明らかにした、末梢血中血管血球系幹細胞の定量的評価と画像診断との関連だけではなく、末梢血中血管血球系幹細胞の減少が、① Barthel Index や modified Rankin Scale、NIHSS など脳梗塞による機能障害の程度とは相関を示さないものの、②MMSE により評価された認知機能の低下や、

③Clinical Dementia Rating による痴呆評価との相関を見出している。また、認知症患者群における末梢血中血管系幹細胞の解析では、脳血管性認知症における血管血球系幹細胞の量的な減少とは対照的に、アルツハイマー型認知症患者群では質的な低下を示唆する結果を得ており、アルツハイマー型認知症の病態解明に結びつく可能性の高い知見として探索的な検討を開始している。さらに、虚血性疾患の非常にリスクが高い患者においては、CD34 陽性細胞減少群においてその後の虚血性疾患の発症が高いことを明らかにした。これらの結果は、“血管血球系幹細胞の補充”により虚血性疾患が予防できる可能性を示唆していると考えている。

背景および目的

現在わが国においては、他の諸国においては類を見ないほどの急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う要介護者の急激な増加は日本の社会構造を根底から揺るがしかねない極めて深刻な社会問題である。脳血管障害に起因する痴呆症や脳梗塞後遺症はその主要な原因の一つであり、高齢者が健康で生きがいを持って生活し、かつ活力のある社会を保ち続けるための克服すべき緊急の課題である。これらの疾患を克服するため、様々な研究が積み重ねられてきたが、脳梗塞に対する有効な治療法は発症後 3 時間以内の血栓溶解療法以外に無く、脳血管性痴呆に対しては全く有効な治療手段がないのが現状であり、従来の治療法とは全く異なった観点からの革新的な手法を用いた早期診断法や予防法および治療法の確立が切望されている。

従来の治療法では対処できなかった難治性の虚血性心疾患や末梢動脈閉塞症に対しては、まったく新しい手法である再生医療学的手法を用いた治療法の臨床応用が既に開始され、その十分な治療的効果も明らかにされており、脳血管

障害や脳血管性痴呆症など他の難治性の虚血性疾患に対する適応の拡大も示唆されている。これらの知見を背景に我々は国立循環器病センター入院中の虚血性脳血管障害患者を対象にした小規模臨床研究において血管系幹細胞が属する細胞分画である CD34 陽性細胞や CD 133 陽性細胞の減少が脳循環動態の悪化や脳梗塞の増加と強く関連していることを明らかにしてきたが、これらの知見を普遍的な早期診断法や疾患予備軍のスクリーニング法として確立するためには、脳神経機能評価を加えた多施設共同研究による十分な症例数に基づく詳細な検討が必要不可欠である。また、末梢血中の血管血球系幹細胞を増加させる治療法の開発に向け、臍帯血中幹細胞の移植、内因性幹細胞の動員、in vitro での幹細胞増殖培養等様々な研究が非常に多くの施設で行われており、近い将来に臨床応用されると考えられている。それらの医療技術を虚血性脳血管障害の分野に応用するためにも、本研究は非常に重要な基盤研究となると考えている。本研究はこれらの成果を通じて我が国の要介護者の大幅な減少をもたらすことが可能であり、高齢者が健康で自立して生活する、活力のある社会を保ち続けることに大きく貢献することができると考えている。

また、痴呆症例の解析においてはアルツハイマー型痴呆などの神経変性型痴呆症例と脳血管性痴呆症例の末梢血中血管系幹細胞の対比検討を予定している。それによりアルツハイマー型痴呆症における血管因子の関与が明らかになると共に、脳血管性痴呆症とアルツハイマー型痴呆症の鑑別診断において末梢血中血管系幹細胞の定量的評価は有用な検査法になると考えている。

研究方法

本研究では、痴呆症に対する普遍的な早期診断法や疾患予備軍のスクリーニング法の確立に向けて国際的な Evidence Based Medicine の基盤となる規模の

前向き経時的コホート研究を行っている。

1. 対象患者群

- ①脳血管性痴呆症、混合型痴呆症およびアルツハイマー型痴呆症患者
- ②慢性期虚血性脳血管障害患者
- ③脳梗塞危険因子を有する患者

2. 血管血球系幹細胞解析方法

- ①十分なインフォームドコンセントのもとに各病院で末梢血解析用検体を採取。
- ②解析方法によるばらつきを抑えるため、サンプルを国立病院機構大阪南病院に集積。
- ③測定による変動や誤差を最小限とするために、我々が新しく開発した高い精度で微量の CD34 細胞絶対数を測定する。
- ④慢性期患者に関しては 1 回の解析、急性期患者群においては経時的変化の解析を行う。

3. 観察項目

① 脳障害による機能障害の評価

Barthel Index、modified Rankin Scale、NIHSS、MMSE、CDR、DSM-III-R による判定

② 経過中の脳血管障害（脳梗塞、TIA および脳出血等）の発症

経過中の脳血管障害以外の虚血性循環器疾患（心筋梗塞、狭心症および ASO 等）の発症および死亡（全ての原因を含む）

4. 評価項目

- ① 病態と末梢血中幹細胞の関連性の検討
- ② 脳血管障害再発と末梢血中幹細胞の関連性の検討
- ③ 脳血管障害以外の虚血性循環器疾患の発症、死亡と末梢血中幹細胞の関連性

の検討

- ④ Barthel Index、modified Rankin Scale、NIHSS、MMSE、CDR の経時的な低下と末梢血中幹細胞の関連性の検討

5. 症例登録期間

平成16年8月より平成18年3月までとし、さらに平成19年までの解析期間を設ける。

研究結果

1. 前向き経時的コホート研究

末梢血中血管血球系幹細胞と患者予後に関する経時的コホート研究にむけて、認知症患者、脳血管障害患者および代謝異常など循環器系疾患ハイリスク患者を中心に、合計約1000名のエントリーを行った。エントリー患者の神経機能や脳血管障害等の虚血性循環器疾患や認知症の発症および死亡について、現在追跡調査中である。

2. 末梢血中血管血球系幹細胞の定量的評価と神経機能評価との関連

① 脳梗塞患者における認知症発症と末梢血中血管血球系幹細胞の関連

DSM-III-Rにて認知症ありと判定された慢性期脳梗塞患者群においては、認知症なしの群に比べ著明な末梢血中血管血球系幹細胞の減少が認められた。末梢血中血管血球系幹細胞の減少による多発性の微小血管障害促進を示唆する所見であると考えている。

② 脳梗塞患者における日常生活動作と末梢血中血管血球系幹細胞の関連

脳梗塞患者において、Barthel Index(図1)やmodified Rankin Scale(図2)、NIHSS(図3)など脳梗塞による機能障害の程度と末梢血中血管血球系幹細胞数には有意な相関関係は観察されなかった。脳梗塞による日常生活動作の障

害の程度は、病巣のサイズや障害部位などにより大きく影響されるため、末梢血中血管血球系幹細胞との関連が十分ではないと考えている。

③ 脳梗塞患者における認知機能と末梢血中血管血球系幹細胞の関連

PET による画像評価において、末梢血中血管血球系幹細胞数の低下と神経代謝の低下との関連を我々は明らかにしてきたが、本検討では MMSE や Clinical Dementia Rating により評価された脳梗塞後の認知機能と末梢血中血管血球系幹細胞との関連の検討を行った。その結果、MMSE (図 4、5) および CDR (図 6) の両者において、年齢因子補正後も末梢血中血管血球系幹細胞数の低下が認知機能低下と関連していることを明らかにしている。これらの知見は、末梢血中血管血球系幹細胞が脳微小循環や Blood Brain Barrie のメンテナンスを介して、脳神経機能の維持に重要な機能を果たしていることを示唆するものであり、末梢血中血管血球系幹細胞減少を伴う認知機能患者に対する、新しい治療法の発展に繋がるものであると考えている。

3. 認知症の病型分類と末梢血中血管血球系幹細胞との関連

脳血管性認知症およびアルツハイマー型認知症患者、混合型認知症群における末梢血中血管血球系幹細胞の定量的評価においては、脳血管性認知症群で著明な低下を認めるものの、アルツハイマー型認知症患者群においては明らかな低下は認めなかった (図 7)。また混合型認知症群においては、低値～高値群までの分布を示しており、混合型認知症群における血管性因子の多様性を示しているものと考えている。

考察

本研究において我々は、脳血管障害患者の末梢血中血管血球系幹細胞が脳微小循環や神経機能の維持に強く関与していることを明らかにした。現在わが国

においては、急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う認知症や脳血管障害など中枢神経障害による要介護者の急激な増加は極めて深刻な社会問題であるが、本研究を継続した経時的コホート研究により、末梢血中血管血球系幹細胞の減少と脳血管性認知症や脳血管障害の発症との関連をさらに明らかにすることにより、患者予備軍のスクリーニングや早期診断、予後の予測が可能になると考えている。

また本研究においては、脳血管性認知症における血管血球系幹細胞の量的な減少とは対照的に、アルツハイマー型認知症患者群では質的な低下を示唆する知見を得ている。Ca拮抗薬やHMG-CoA還元酵素阻害薬(スタチン)等は血管血球系幹細胞の機能を向上させるとともに、アルツハイマー型認知症の予防効果があることが既に大規模臨床試験により明らかにされているが、本研究を継続することにより、アルツハイマー型認知症における血管性因子に関する根本的な知見を獲得することができると考えている。

結論

本研究で得られた成果は、アルツハイマー型認知症に関する病態の究明や早期診断法の確立に寄与するとともに、循環器領域で急速な勢いで進められている血管血球系幹細胞に関する医療技術と総合することにより、認知症患者や脳血管障害患者に対する根治的な治療法としても発展することが期待されている。

健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

[シンポジウム・講演]

1. 田口 明彦

脳血管障害に対する普遍的な再生医療の確立 Brain & Heart Attack Forum

2005. 04. 16

2. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療の実現に向けて

第2回 血液細胞療法フォーラム

2005. 07. 17

3. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療の実現に向けて

厚生労働科学研究推進事業：一般向け講演会－ここまできた心臓と血管を蘇らせる再生医療－

2005. 09. 12

4. 田口 明彦

脳血管障害における CD34 陽性細胞測定の意義

第1回脳血管障害の病態・治療研究会

2005. 11. 09

5. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療の実現に向けて

第21回 日本脳神経血管内治療学会総会

2005. 11. 9

6. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療の実現に向けて

厚生労働科学研究推進事業：一般向け講演会－どうすれば脳・血管は若返るか－

2005. 11. 18

7. 田口 明彦

循環器領域における血管再生療法－Buerger 病から心臓、脳梗塞まで－

茨城県医療講演会

2005. 12. 03

8. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療の実現に向けて
北海道大学工学部第2回生物機能高分子セミナー
2005. 12. 20

9. 田口 明彦

脳血管障害に対する再生医療
日本循環器病学会
2006. 03. 25

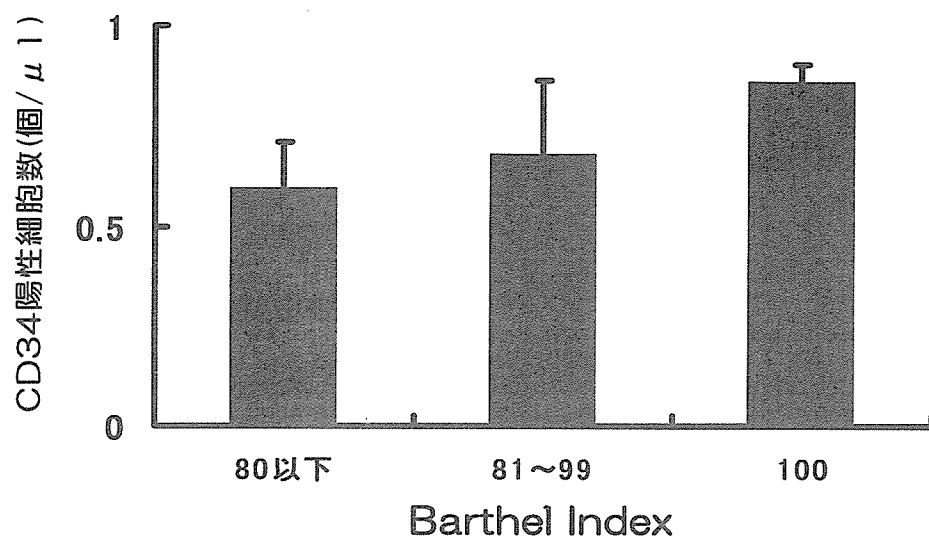
[著作]

Burger 病専門誌(改訂版)
ーバージャー病治療と看護総覧ー
監修：田口 明彦

H. 知的財産の申請

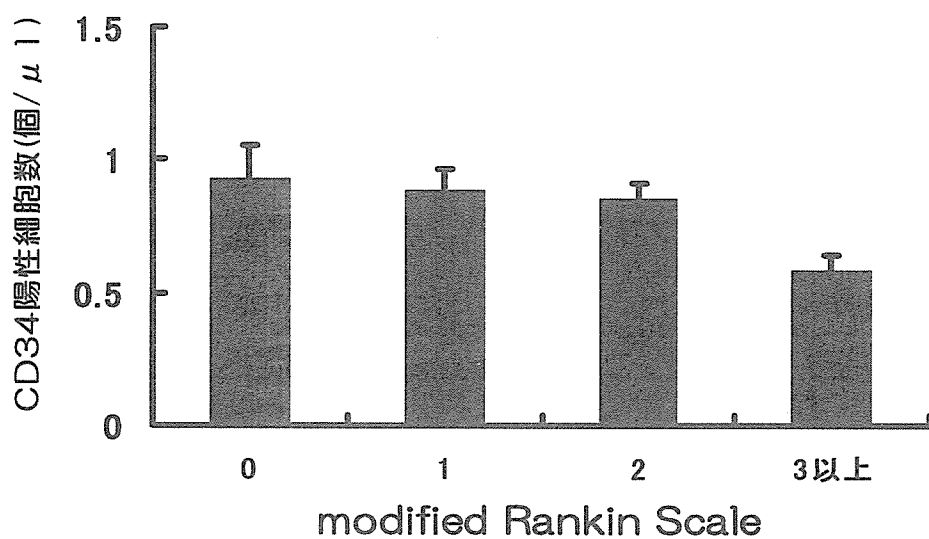
松山知弘、田口明彦、芳川浩男
神経幹細胞の調整法
国際出願番号：PCT/JP2006/302350

図 1



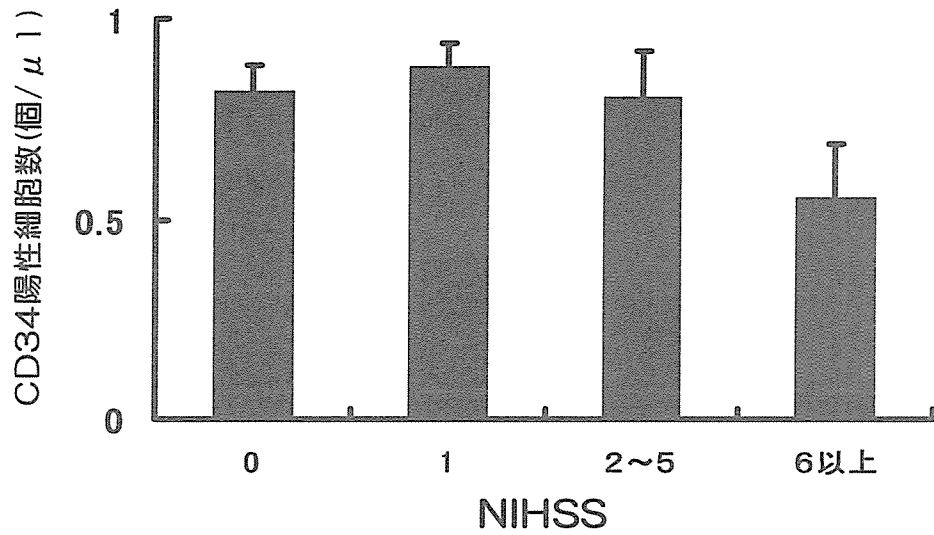
(有意な相関なし)

図 2



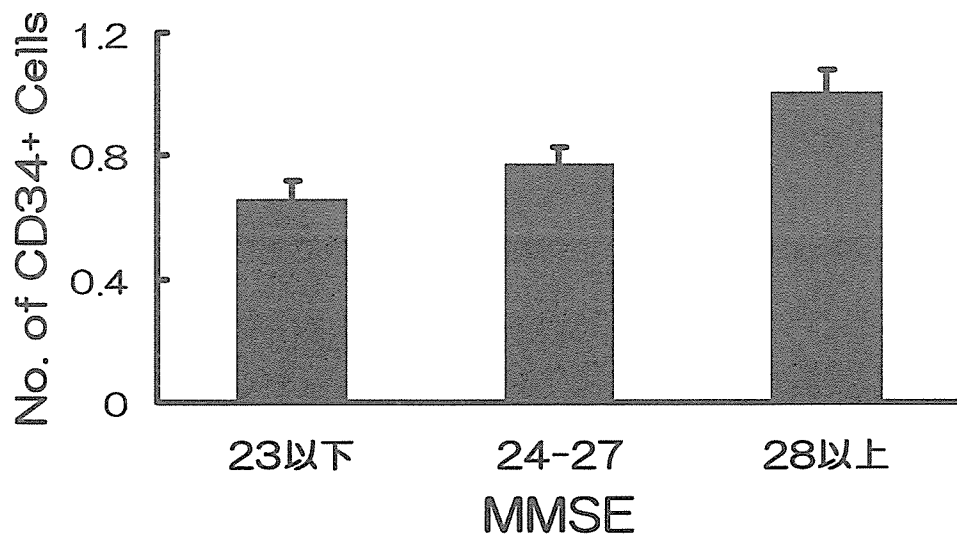
(有意な相関なし)

図 3



(有意な相関なし)

図 4



(MMSE28以上群とそれ以外の群での有意差あり)

図 5

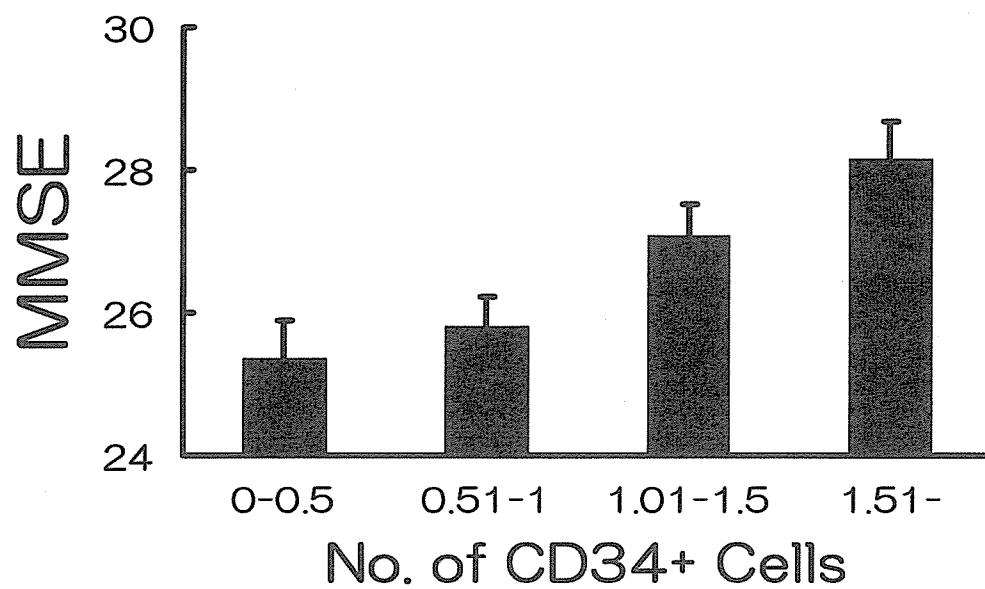


図 6

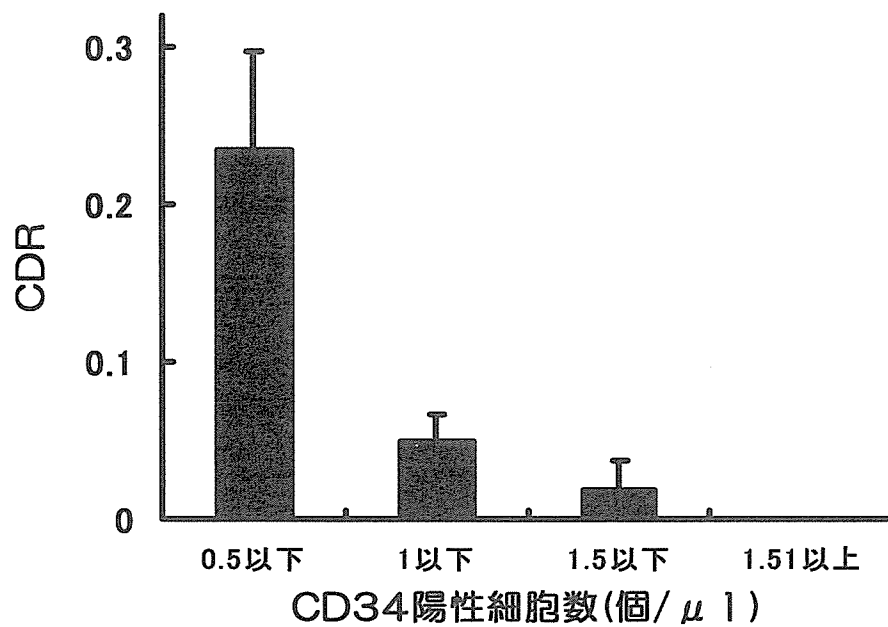
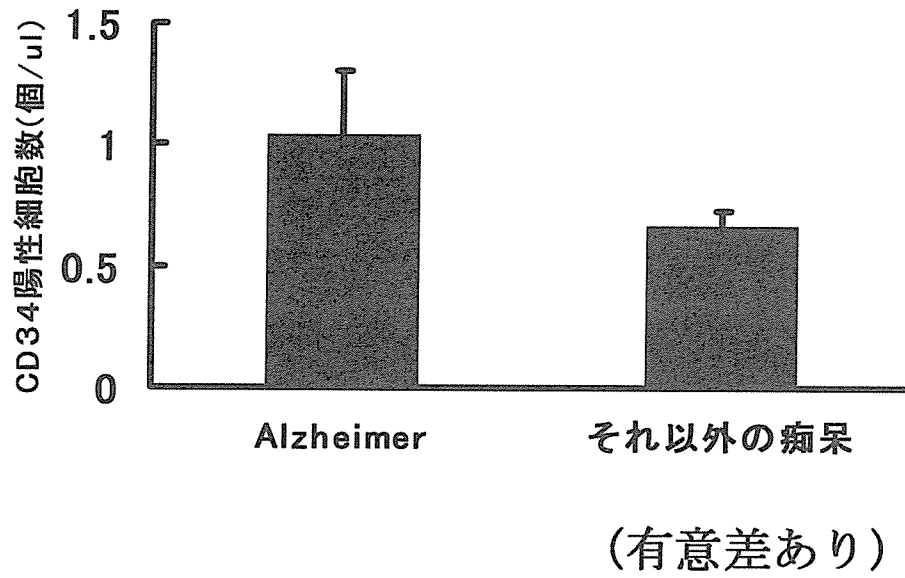


図 7



厚生労働科学研究費補助金（痴呆・骨折臨床研究事業） 分担研究報告書

分担研究課題

虚血性脳疾患に対する再生医療技術を用いた治療法の開発に関する総合的研究

分担研究者

田口明彦	国立循環器病センター研究所	循環動態機能部	室長
成富博章	国立循環器病センター	内科脳血管部門	部長

共同研究者

吉原智之	国立循環器病センター	内科脳血管部門	専門臨床研修者
清水葉子	国立循環器病センター	内科脳血管部門	専門臨床研修者

研究要旨

脳梗塞患者と CD34 陽性細胞数との関連に関する本臨床研究では、末梢血中 CD34 陽性細胞で代表されるような血管血球系幹細胞の減少が、認知機能の低下や循環器疾患の発症に関与していることが明らかにされつつあるが、この研究ではそれらの知見を新しい治療法として確立するための基礎的検討を行った。

目的及び背景

循環器領域における血管新生療法においては、骨髄や末梢血中に存在する血管血球系幹細胞等の比較的未分化な細胞を虚血臓器に直接移植することにより