

まな血管新生療法が開発されてきた。各々の治療法の有効性が臨床試験により明らかにされつつある中、その対象疾患も、末梢動脈疾患から虚血性心疾患や虚血性脳疾患などへと拡大されてきている。

Ⅲ 血管新生療法の臨床応用まで

血管新生療法のコンセプトは決して新しいものではない。1980年代後半には、ネコの虚血肢モデルに対して大網の脂肪分画を投与し、虚血を改善させる試みが行われている。大網や脂肪細胞の再生医療への応用は最近のトピックであり、このような研究がすでに20年以上前に存在したことは興味に値する。これらの血管新生療法とIsnerらが行ったそれとの違いは、後者がVEGFという血管内皮細胞に特異的な増殖因子を用いた点にある。1990年代初頭、Isnerらは家兎の虚血肢モデルにVEGF蛋白を投与することにより下肢の側副血行発達を促進できないか検討を行った(図1)¹⁾。VEGF蛋白の動脈投与、静脈投与、繰り返し静脈投与、ヘパリン併用などのさまざまな投与法が検討されたが、投与法の如何にかかわらず、側副血行の促進には100~1,000 μ gのVEGF蛋白が必要なことが明らかとなった。しかしながら、大量のVEGF蛋白を投与すると、投与した蛋白が全身を循環し、非目的部位へと到達するのは避け難い。血管増殖因子の全身への拡散は、糖尿病患者においては網膜症を悪化させ、癌患者では腫瘍血管の発達を促進させ得る。また、一部の血管増殖因子は一酸化窒素(NO)を介した血管拡張作用を有しており、遷延性低血圧を惹起させ得る。事実、VEGF蛋白を用いた血管新生療法の臨床試験では、低血圧を避けるためにその投与量が制限された。

大量の蛋白投与に伴う副作用を回避するために行き着いた結論が、遺伝子を用いたローカルドラッグデリバリーであった。Isnerらはカテーテルを用いてVEGF遺伝子を経皮的に血管細胞へと導入し、それらの細胞からVEGF蛋白を分泌させることに成功した。ここでは、表面が親水性ゲルでコーティングされた冠動脈形成術用バルーンカテーテル(ハイドロゲル・バルーンカテーテル)を用いて下肢血管への遺伝子導入が行われた。ハイドロゲルは、狭窄部位におけるバルーンの通過性を改善するために施されたコーティングであるが、IsnerらはこのゲルにプラスミドDNAの水溶液をしみ込ませ、遺伝子キャリアとして使用したのである。通常のPTAテクニックを用いてバルーンを目的部位へと進め、4~8気圧で1分間バルーンを拡張させることで遺伝子を血管壁へと導入する。その遺伝子導入効率はリポゾームによる遺伝子導入に比し100倍以上の高効率ではあったが、 β ガラクトシダーゼ遺伝子を用いた組織所見の検討では、導入部位のわずか0.1%以下の細胞にしか遺伝子発現が認められなかった⁴⁾。このわずかな細胞によって血管新生を促進することが可能なのか疑問なわけだが、遺伝子の導入効率(transfection efficiency)と治療効率(therapeutic efficiency)とは同義ではない。遺伝子産物である増殖因子が細胞外へと分泌されれば、たとえ導入効率は低くとも、バラクリン効果が期待できる⁵⁾。この仮説は動物実験によって検証された。すなわち、ハイドロゲル・バルーンカテーテルを用いて家兎虚血肢モデル

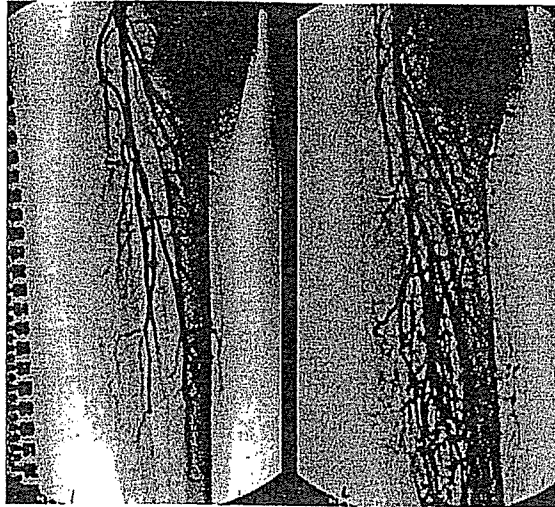


図2 遺伝子治療前後におけるDSA (digital subtraction angiography) 所見
左：遺伝子治療前、右：遺伝子治療1ヵ月後
VEGFによる遺伝子治療の1ヵ月後、下肢側副血行の著明な発達を認める。

(文献2より引用)

にVEGF遺伝子の導入を行うと、約3週間にわたりその発現が認められ、VEGF蛋白の動脈内投与と同等以上の側副路発達効果が得られたのである。一方、末梢血中のVEGF蛋白の濃度はELISAによる測定限界付近にあり極めて低値であった。つまり、遺伝子の導入効率も、局所では治療効果を得るに十分な組織濃度が維持され、逆に血中濃度は希釈効果によって低く抑えられるわけである。ここで忘れてならないのは、本法がプラスミドDNA以外には何のベクターも用いない遺伝子導入法であった点である (naked DNAアプローチ)。この研究によって、臨床応用における本法の高い安全性が裏づけられた。

Ⅳ VEGFを用いた血管新生療法の臨床応用

1994年、Isnerらは血管新生療法の臨床試験を開始した²⁾。前述のように、この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が無効な重症末梢動脈疾患患者を対象に行われた。遺伝子治療から1～2ヵ月で、血管造影上、新生血管の出現が認められ、これに伴い下肢疼痛や難治性潰瘍が消失した (図2)。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だけであった。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、動脈硬化が高度でカテーテルの標的血管へのアクセスが困難な例、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。Baumgartnerらは、VEGFプラスミドの虚血下肢への筋注を行い、7～8割の症例において血管造影上の側副路発達や臨床症状改善を得ることに成功した⁶⁾。筋注

法の導入は、遺伝子治療の手技を単純化させるだけでなく、それまでカテーテルのアクセスが困難であった症例さえも治療可能とし、その適応症例を大きく拡大させることにつながった。また、筋注法は、心筋への遺伝子導入にも応用可能であり、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もなった。

V 血管新生療法の問題点

末梢動脈疾患に対する血管新生療法は、今から約10年前、VEGFを用いた遺伝子治療として幕を開けた。重症下肢虚血に対する本法の治療成績は良好である。安静時疼痛や難治性潰瘍を有する患者の少なくとも6～7割において、臨床所見の改善が期待可能である。しかしながら、本法のメカニズムに関しては不明な点が少なくない。臨床症状の改善にもかかわらず血管造影での改善が明らかでないことも多く、はたして血管新生療法によって血管新生が本当に促進されるのか、その治療メカニズムの基本的な部分でさえ、解明されていないのが実情である。また、遺伝子のパテント問題、遺伝子を用いることの倫理的問題など、一般臨床の場に普及するに至るまでに解決されるべき問題も決して少なくない。

●文 献

- 1) Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, et al : Therapeutic angiogenesis ; a single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. J Clin Invest 93 : 662-670, 1994
- 2) Isner JM, Pieczek A, Schainfeld R, et al : Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patients with ischemic limb. Lancet 348 : 370-374, 1996
- 3) Ferrara N, Henzel WJ : Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 161 : 851-855, 1989
- 4) Takeshita S, Weir L, Chèn D, et al : Therapeutic angiogenesis following arterial gene transfer of vascular endothelial growth factor in a rabbit model of hindlimb ischemia. Biochem Biophys Res Commun 227 : 628-635, 1996
- 5) Takeshita S, Losordo DW, Kearney M, et al : Time course of recombinant protein secretion after liposome-mediated gene transfer in a rabbit arterial organ culture model. Lab Invest 71 : 387-391, 1994
- 6) Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, et al : Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. Circulation 97 : 1114-1123, 1998

●参考：海外の研究施設

- ・ St. Elizabeth's Medical Center
<http://www.semcm.com>

3. 遺伝子-細胞ハイブリット治療-

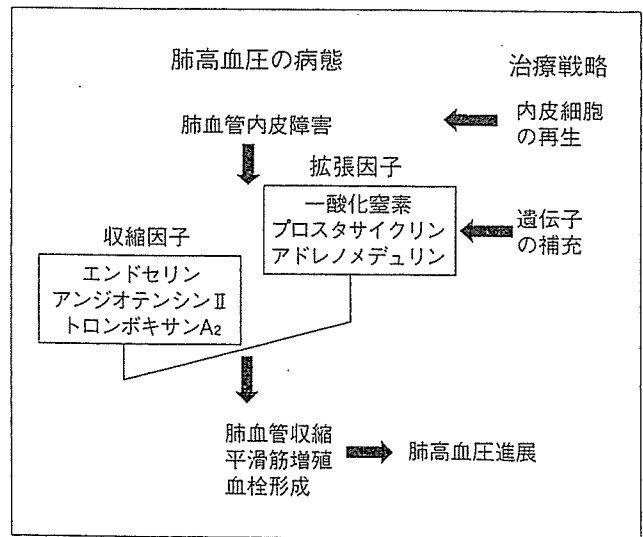
永谷 憲歳・片岡 雅晴

肺高血圧症，特に原発性肺高血圧症（PPH）発症の原因の1つとして肺血管内皮の機能障害が報告されている。正常の肺血管内皮細胞は様々な血管拡張因子を分泌して肺血管の低圧系を維持しているが，肺高血圧症では肺血管内皮機能障害により血管作動物質のバランスが破綻（収縮因子>拡張因子）している。すなわちエンドセリン（ET-1），トロンボキサンA₂などの収縮因子が増加し，内因性血管拡張因子であるプロスタサイクリンや一酸化窒素の産生が相対的に低下している。このような病態に着目した治療として，①肺血管内皮細胞で産生される拡張因子の補充と収縮因子の抑制，②正常な肺血管内皮細胞の再生促進という治療法が考えられる。肺血管内皮由来の拡張因子の補充という観点からプロスタサイクリン合成酵素（PGIS）や一酸化窒素合成酵素（eNOS）遺伝子治療の効果が動物実験で証明され，また血管内皮前駆細胞（EPCs）を用いた肺血管内皮の再生治療が報告された。本稿では肺高血圧症に対する遺伝子治療，再生医療の可能性に関して最近の基礎的研究を中心に概説する。

はじめに

原発性肺高血圧症（PPH）に対する治療としてプロスタサイクリン療法やエンドセリン（ET）受容体拮抗薬などが開発され，その有効性が報告されている。しかしなお治療抵抗性の症例が存在し，肺移植の適応とされながらもドナー不足により十分な治療が受けられないのが現状である。図①に示すよう PPH 患者では肺血管内皮細胞から産生させる血管作動物質のバランスが破綻している（収縮因子>拡張因子）。従って，血管拡張因子の遺伝子導入，さらには血管新生因子や血管内皮前駆細胞を用いて正常な肺血管内皮細胞を再生させることが肺高血圧軽減につながる可能性がある。

図① 肺高血圧症における血管作動物質のバランス破綻と病態に基づいた治療戦略



I. 肺高血圧症の遺伝子治療

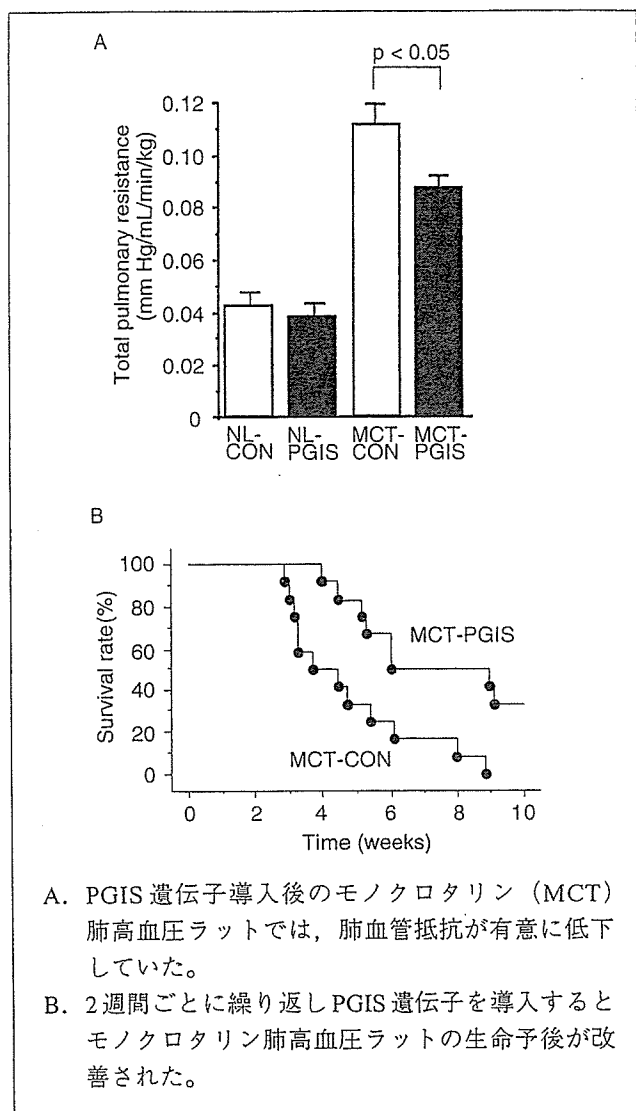
遺伝子導入により肺血管拡張因子である一酸化

窒素（NO）やプロスタサイクリンが肺血管で持続的に過剰産生されれば，肺高血圧が軽減できる可

key words

肺高血圧，遺伝子治療，再生医療，血管内皮前駆細胞，アドレノメデュリン

図2 プロスタサイクリン合成酵素 (PGIS) 遺伝子導入による肺高血圧軽減効果 (文献2より)



能性がある。これまでに報告された肺循環への遺伝子導入法にはカテーテルによる肺動脈内直接投与、経気道的投与、遺伝子導入した細胞の移植などがある。経気道的遺伝子導入法は肺血管への直接の導入効率は低い、細気管支への遺伝子導入が可能であり、並走する肺抵抗血管に作用することができる。また、*ex vivo*で遺伝子導入された細胞を静脈内投与すると、細胞を介して肺血管床に遺伝子導入が可能である。

われわれは、PPH患者の肺組織ではプロスタサイクリン合成酵素 (PGIS) の産生が低下している²⁾ことに注目し、経気道的PGIS遺伝子治療を開発した³⁾。PGISはプロスタグランジン H₂からプロスタ

サイクリンを生成するのに必要な酵素である。PGIS遺伝子導入により肺でのプロスタサイクリンの合成を促し、その濃度を保つことができれば、点滴による持続投与の必要もなくなり、患者負担の少ない新しい治療法となる可能性がある。実際、われわれは、HVJリボソームをベクターとしてPGIS遺伝子を経気道的にモノクロタリン肺高血圧ラットに導入することに成功した。その結果、肺組織でのプロスタサイクリンの産生が増大し、肺高血圧の軽減、生存率の改善が得られた (図2)。

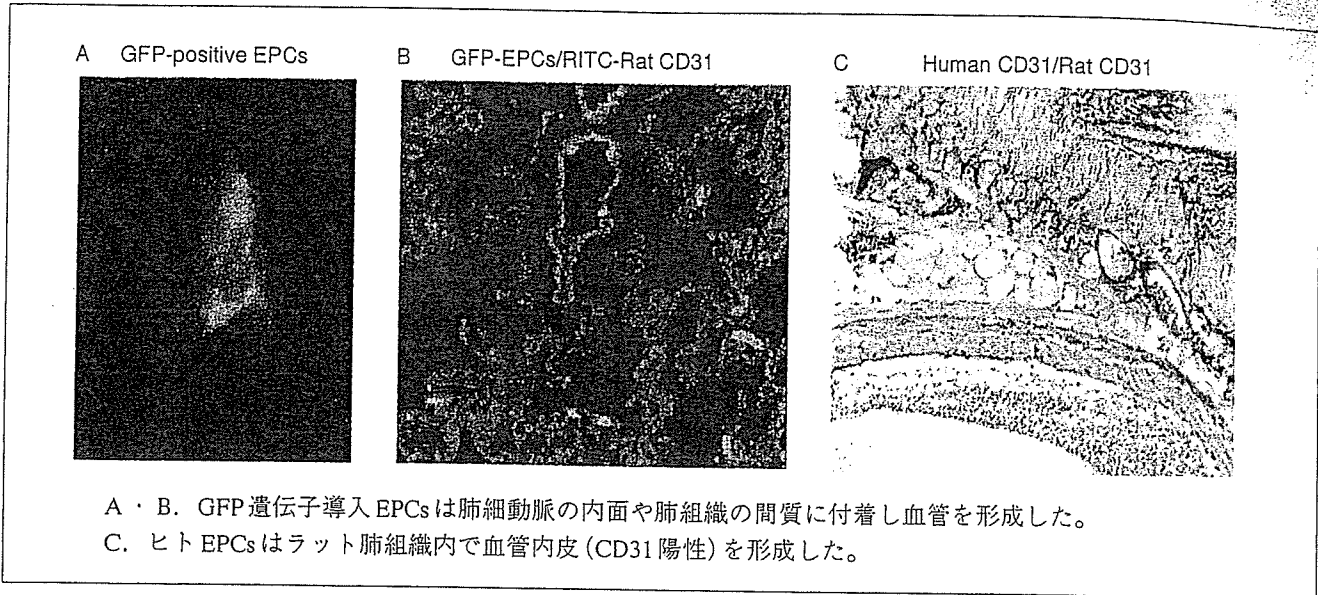
その他、一酸化窒素合成酵素 (eNOS) の経気道的遺伝子導入⁴⁾や強力な肺血管拡張因子であるCGRP遺伝子導入による肺高血圧軽減効果⁵⁾が報告されており、今後の展開が期待される。

II. 肺高血圧症に対する再生医療

従来、成人個体における血管新生は既存の血管内皮細胞の発芽的増殖と遊走によるものと理解されていたが、1997年、Asaharaらは成人の末梢血中には内皮細胞に分化しうる血管内皮前駆細胞 (EPCs) が存在することを明らかにした⁶⁾。血管形成は、辺縁部に位置するEPCsが血管内皮細胞となり血管壁を形成し、中心部に位置する造血幹細胞が血球系に分化して血液を形成することが明らかとなった。EPCsは血管障害部位への遊走能、血管再生能を持ち、生体内で虚血や血管内皮障害が起こったときに骨髄から強制動員され、血中を流れてその障害部位へ付着して血管内皮細胞に分化して血管を形成する。この細胞の能力を利用して急性心筋梗塞ラットに静脈からEPCsを投与すると、血管新生さらには梗塞サイズが縮小され、心機能が改善することが報告された⁷⁾。臨床においてもEPCsの移植は虚血性心疾患、閉塞性動脈硬化症の治療に有効であることが報告されている⁸⁾。EPCsの治療効果は、①EPCs自身が血管内皮細胞に分化して血管形成に参加するため、②EPCsがVEGFらの血管新生因子を放出して局所の血管新生を促すためと考えられる。

PPH患者の病態として、血管新生を伴わない血管内皮細胞の増殖が指摘されている。われわれはEPCsによって正常な肺血管内皮細胞を再生させる

図③ 移植したEPCsの肺組織への定着と肺血管の形成 (文献9より)



ことで肺高血圧が軽減すると仮説を立て、経静脈的EPCs投与による肺高血圧軽減効果を検討した⁹⁾。ヒト臍帯血から血管内皮マーカー陽性のEPCsを分離培養した。正常のラットに静脈からEPCsを投与しても肺組織への付着は認められなかったが、モノクローリンで肺血管内皮細胞や間質に障害を与えた後に投与すると、EPCsは肺細動脈と間質に付着し成熟した血管内皮細胞となった(図③)。また、EPCsの移植は肺組織の血管数を増加させた。平均肺動脈圧に有意な変化は認められなかったが、肺血管抵抗のわずかな改善が認められた。その後、自家のEPCsを移植すれば、モノクローリン誘発肺高血圧を有意に抑制することが他施設から報告された¹⁰⁾。しかし、EPCsの移植のみでは肺高血圧治療効果に限界があると思われた。

Ⅲ. 遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療

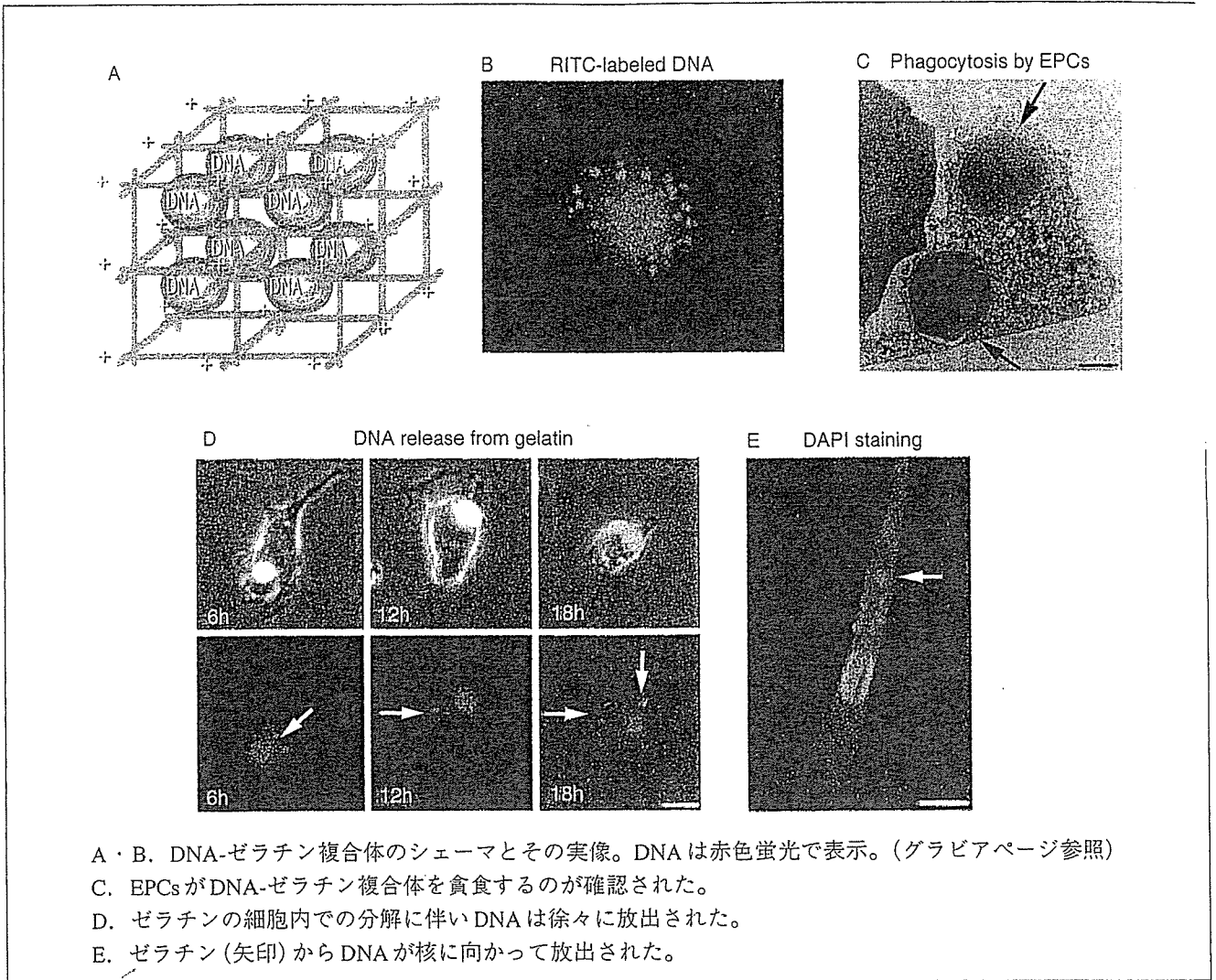
近年、移植細胞の機能強化のために遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療が報告された。Murasawaらは細胞寿命をつかさどるテロメラーゼをEPCsに導入することにより、EPCsの細胞寿命を延長してEPCsによる血管新生効果を増強させることに成功した¹¹⁾。われわれはEPCsの移植治療効果を高めるために、生体内で最も強力な血管拡張ペプチドと考えられているアドレノメデュリンの遺伝子をEPCsに導入した。アドレノメデュリンは血管平滑

筋細胞の受容体に直接作用してcAMPを増加させ、また血管内皮に働き一酸化窒素を介して血管拡張をきたす¹²⁾。また、われわれはアドレノメデュリン遺伝子導入によってEPCsのアポトーシスが抑制されることや増殖が促進されることを明らかにした。また、アドレノメデュリン遺伝子はEPCsをベクターとして肺組織まで運ばれることで(cell-based gene therapy)、アドレノメデュリンの発現による肺血管拡張作用が期待できる。こうして、細胞移植による治療効果と導入した遺伝子の発現による相乗効果で治療効果を増強させる、いわゆる遺伝子-細胞ハイブリッド治療法を生み出した。

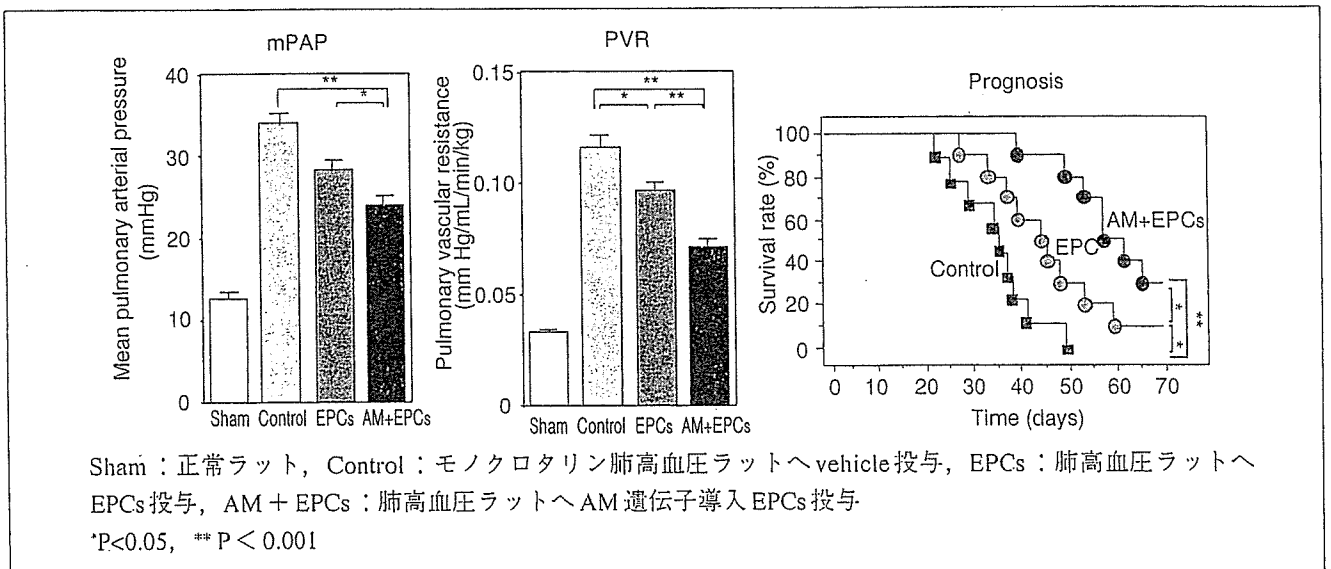
われわれは、マクロファージなどの従来の貪食細胞と同様に、EPCsがゼラチン/プラスミドDNA複合体を容易に貪食することを報告した⁹⁾。このEPCsの貪食能を利用したex vivo遺伝子導入は、ウイルスベクターを用いずにEPCs自身へ高率の遺伝子導入を可能にした。また、ゼラチンはその分解とともにプラスミドDNAを徐放でき、長時間の遺伝子発現を可能にした(図④)。実際にこの方法でアドレノメデュリン遺伝子をEPCsへ導入すると細胞質でのタンパクの強発現が確認でき、その発現は2週間以上の長期間持続することがわかった。

アドレノメデュリン遺伝子導入EPCsの移植は、コントロール群に比べて平均肺動脈圧を有意に低下させ、生存率を改善させた(図⑤)。これらの効

図④ ゼラチンを用いたEPCsへの遺伝子導入



図⑤ アドレノメデュリン (AM) 遺伝子導入EPCsの移植による平均肺動脈圧 (mPAP), 肺血管抵抗 (PVR), 肺高血圧ラットの予後改善効果



果はEPCsの単独投与より優っていた。既存の治療に抵抗性のPPH患者が少なからず存在することを考えると、この細胞移植-遺伝子ハイブリッド治療法は重症肺高血圧症に対する新たな治療法となる可能性がある。

おわりに

肺高血圧症では、肺血管内皮の機能異常によって血管作動物質のバランスが破綻している。われ

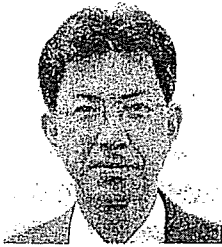
われは血管拡張因子であるアドレノメデュリン遺伝子を導入したEPCsを移植することで、肺高血圧が軽減できることを証明した。細胞移植と遺伝子治療を同時に行う遺伝子-細胞ハイブリッド治療法は、細胞による肺血管内皮の再生のみでなく、EPCsをベクターとして肺組織選択的に遺伝子導入を可能にし、新たな肺高血圧治療法として期待される。

- 1) Tuder RM, Cool CD, et al : Am J Respir Crit Care Med 159, 1925-1932, 1999.
- 2) Nagaya N, Yokoyama C, et al : Circulation 102, 2005-2010, 2000.
- 3) Champion HC, Bivalacqua TJ, et al : Circ Res 84, 1422-1432, 1999.
- 4) Champion HC, Bivalacqua TJ, et al : Circulation 101, 923-930, 2000.
- 5) Asahara T, Murohara T, et al : Science 275, 964-967, 1997.
- 6) Asahara T, Kawamoto A : Am J Physiol Cell Physiol 287, C572-C579, 2004.
- 7) Kawamoto A, Gwon HC, et al : Circulation 103, 634-637, 2001.
- 8) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, et al : Lancet 360, 427-435, 2002.
- 9) Nagaya N, Kangawa K, et al : Circulation 108, 889-895, 2003.
- 10) Zhao YD, Deng Y, et al : Circulation 108 (Suppl), 295 (abstract), 2003.
- 11) Murasawa S, Llevadot J, et al : Circulation 106, 1133-1139, 2002.
- 12) Nagaya N, Kyotani S, et al : Circulation 109, 351-356, 2004.

永谷憲歳

- 1992年 千葉大学医学部卒業
- 千葉大学医学部附属病院第三内科研修医
- 1993年 国立習志野病院循環器内科研修医
- 1994年 国立循環器病センター内科心臓部門レジデント
- 1997年 国立循環器病センター研究所生化学部流動研究員
- 1998年 国立循環器病センター内科心臓部門医員
- 2003年 国立循環器病センター研究所再生医療部室長

編集者プロフィール



田畑泰彦 (たばた やすひこ)

京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門生体材料学分野 教授
大阪大学大学院医学研究科未来医療開発専攻 教授 (併任)
京都大学工学博士 / 京都大学医学博士 / 京都大学薬学博士

1959年2月生まれ、大阪府出身。1981年京都大学工学部高分子化学科卒業。同年同大学医用高分子研究センター助手。1990年京都大学生体医療工学研究センター助手。1991～1992年米国マサチューセッツ工科大学、ハーバード大学医学部外科客員研究員。1996年京都大学生体医療工学研究センター助教授。2000年より現職。

東京工業大学、岩手医科大学、新潟大学大学院歯学研究科の非常勤講師。名古屋大学工学研究科、京都府立医科大学、京都大学医療技術短期大学部、京都大学大学院薬学研究科、岡山大学工学部の客員講師。

<賞>

1990年 日本バイオマテリアル学会科学奨励賞授賞。2001年 第5回心臓血管病学カンファレンス若手研究奨励賞、武田計測知財団研究奨励賞優秀研究賞、2002年 日本バイオマテリアル学会学会賞授賞、第1回日本再生医療学会総会優秀演題賞、第11回日本泌尿器科学会会長賞 (基礎研究部門最優秀演題)。

<学会役員>

日本DDS学会評議員、日本炎症再生学会評議員、日本創傷治癒学会評議員、日本組織工学会理事、硬組織再生生物学会理事、日本バイオマテリアル学会理事、世界Tissue Engineering学会理事。

Advanced Drug Delivery Reviews, Tissue Engineering, J. Biomaterial Science, Polymer Eds. 編集委員。

現在の研究目的は、基礎生物医学研究あるいは医療 (予防、診断、治療) に応用可能な方法、手段、および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。生体組織工学、DDS、幹細胞工学、生殖工学を目指した生体吸収性あるいは非吸収性の生体材料 (体内あるいは生体成分と接触して使用する材料) の開発研究を行っている。研究の性格上、国内外の医歯学、獣医学、薬学の大学、研究機関あるいは企業との共同研究が多く、知的財産権および産業化に関しても関心を持っている。基礎研究が重要であることは、もちろん言うまでもないことであるが、「研究成果を世の中に還元すること」も大切であると、常々考えている。移植医療、再建外科医療、再生医療、薬物治療など、現在の医療には多くの医薬用材料が用いられているにもかかわらず、これらの材料の研究者は極めて少ない。材料科学のバックグラウンドを持ち、医歯学、生物学、薬学に flexibility のある材料科学研究者を育て、本当に患者さんのためになる材料の研究開発を行って行きたいと思っている。抱負は生命科学のわかる材料科学研究者の育成。

専門分野：生体材料、生体吸収性材料、生体組織工学、ドラッグデリバリーシステム (DDS)、幹細胞工学

遺伝子医学MOOK ① 再生医療への ブレイクスルー その革新技术と今後の方向性

定 価：5,250円 (本体 5,000円+税)
2004年11月10日 第1版第1刷発行

編 集 田畑泰彦

発行人 大上 均

発行所 株式会社 メディカル ドウ

〒550-0004 大阪市西区靱本町1-6-6 大阪華東ビル
TEL. 06-6441-2231・FAX. 06-6441-3227

E-mail: home@medicaldo.co.jp

URL: http://www.medicaldo.co.jp

振替口座 00990-2-104175

印 刷 報栄印刷株式会社

©MEDICAL DO CO., LTD. 2004 Printed in Japan

・本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権 (送信可能化権を含む) は株式会社メディカルドウが保有します。
・JCLIS <(株)日本著作出版権管理システム委託出版物>
本書の無断複製は著作権法上での例外を除き禁じられています。複製される場合は、そのつど事前に、(株)日本著作出版権管理システム (電話 03-3817-5670, FAX 03-3815-8199) の許諾を得てください。

ISBN4-944157-31-2

4. 画像解析-微小血管造影-

知久 正明・西上 和宏・内藤 博昭・盛 英三・佐藤 英一

狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患や閉塞性動脈硬化症に対する新しい治療戦略として血管再生治療^{用解1)}が期待されている。実際の臨床では、血管造影を含めた臨床検査で臨床症状の効果を十分には反映していない。これは、既存の血管造影装置の解像度は約200～300 μm であり、再生される新生血管は約100 μm 以下の微小血管であるからである。微小血管造影の先駆けとなったシンクロトロンによる微小血管造影法^{用解2)}は200～500 μm 以下の微小血管の定量と50～200 μm 以下の微小血管の可視化が可能である。さらに、臨床の場で簡便に使用できる微小血管造影装置も開発された。本稿では、再生治療後の微小血管の評価方法について概説する。

はじめに

血管再生には、一般に既存の血管から血管内皮細胞が増殖，リモデリングし，新しい血管枝が形成される狭義の血管新生 (angiogenesis) と，血管内皮前駆細胞である血管芽細胞が集合・分化して血管が形成される血管発生 (vasculogenesis) の2つが考えられている。血管発生は，主に胎生期に行われると考えられていたが，成人末梢血中のCD34陽性単核球の分画から血管内皮細胞へと分化しうる血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell : EPC) があることが報告され，成人においても血管発生による血管再生が起こりうることを示された¹⁾。特に単核球分画中で血管内皮細胞に分化しうる単核球は，主に骨髄に存在するため，動物実験の虚血モデルに骨髄単核球細胞移植をすることにより，血管新生や側副血行路が発達し，下肢血流量増加作用や心機能が改善することが確認された。これに基づき，重症下肢虚血患者に対し自己

骨髄細胞移植や末梢血幹細胞移植が臨床導入され，良好な成績が報告されている²⁾。しかし，既存の血管造影装置では空間解像度が200 μm 前後で，ミリメートルオーダーの血管を主たる観察対象としている。そのため，新生血管床の構築と機能の評価には極めて不十分といわざるを得ない。そこで，微小血管を観察できる微小血管造影法に期待がもたれている。

I. 微小血管造影法

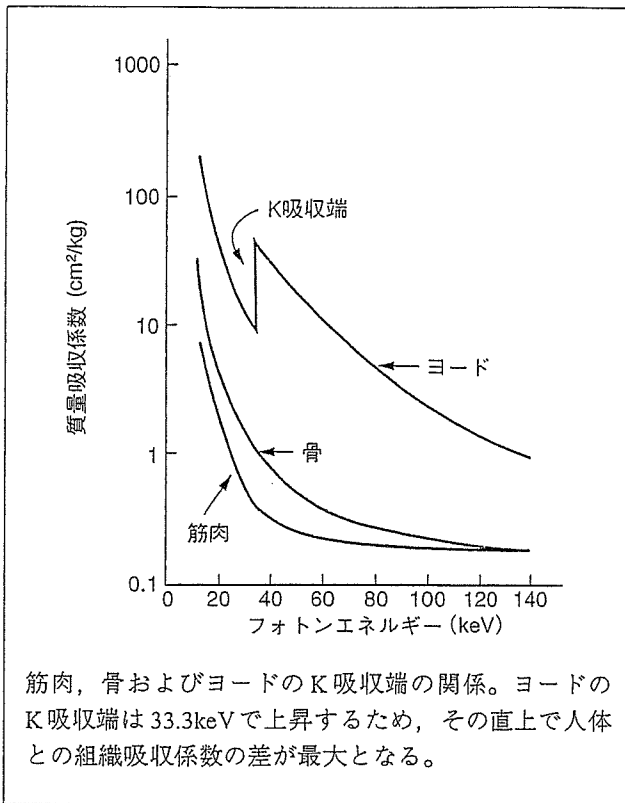
1. 放射光微小血管造影法

再生された微小血管を血管造影検査で評価するためには，微量の造影剤を検出できる装置が必要となる。その要素としてはX線の性質が高輝度で，平行性，単色性であり，なおかつ検出系が高感度，高解像度であることが重要である。これらの要素をすべて取り揃えているのが放射光施設内の微小血管造影装置である³⁾。放射光とは広域のスペクトルを持つ白色光であり，太陽光のように限りなく

key words

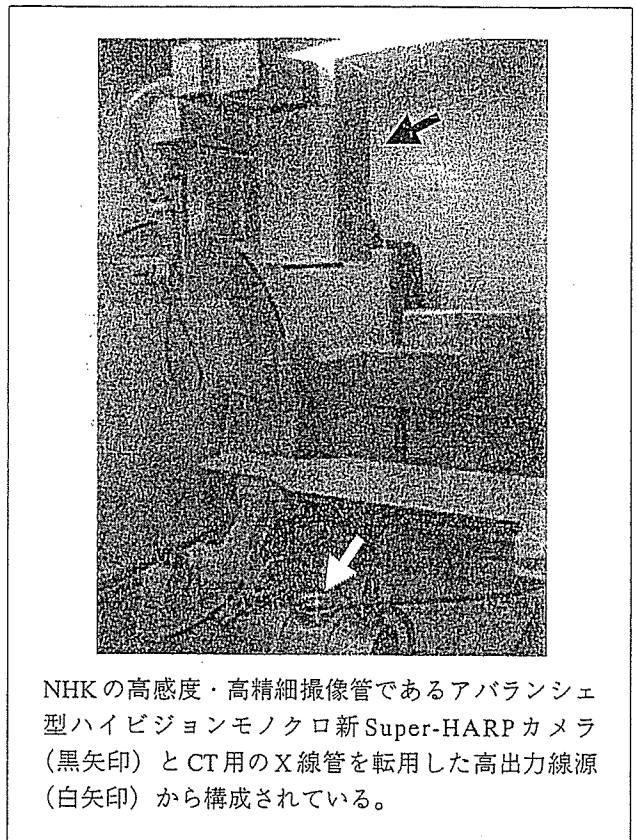
微小血管造影，血管再生治療，新生血管，単色X線，放射光微小血管造影法，病院設置型微小血管造影法，プラズマX線微小血管造影法，angiogenesis，vasculogenesis，endothelial progenitor cell

図④ X線エネルギーと質量吸収係数



平行に近い性質がある。単色光の利点として, ヨードは33.3keVのエネルギーレベルでK吸収端を持つ。これは質量吸収係数が不連続に上昇し, X線のエネルギーをヨードのK吸収端の直上のエネルギーに変換すると, ヨードと周囲組織との質量吸収係数の差が最大となる(図④)。組織とヨードとのコントラストが最良となるため, 微量のヨードを検出できやすくする効果がある。放射光のX線は, 既存のX線装置より約108倍以上も輝度が高く, シリコン結晶を用いてヨード吸収端の直上に設定することにより, 単色化しても十分な光子量を維持することが可能である。検出系は高解像度・高感度蛍光板で作製した蛍光像を, 超高感度・高精細撮像管であるアバランシェ型ハイビジョンモノクロ新Super-HARPカメラで撮影する。これらの検出器系から高解像度微小血管造影像(50 μ m)が得られる^{5),6)}。既存の撮影装置のようにイメージンスフィアとCCDカメラを用いた検出器では, 感度と解像度が低いため, 高精細画像として微小血管を描出するには限界がある。

図⑤ 病院設置型微小血管造影装置

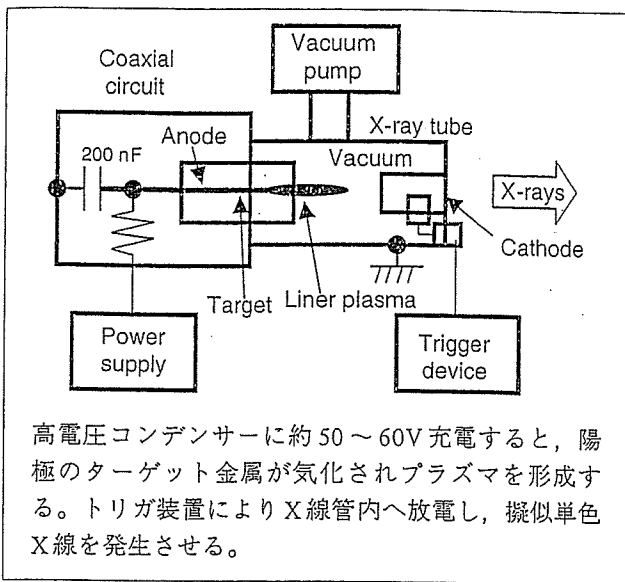


2. 病院設置型微小血管造影法

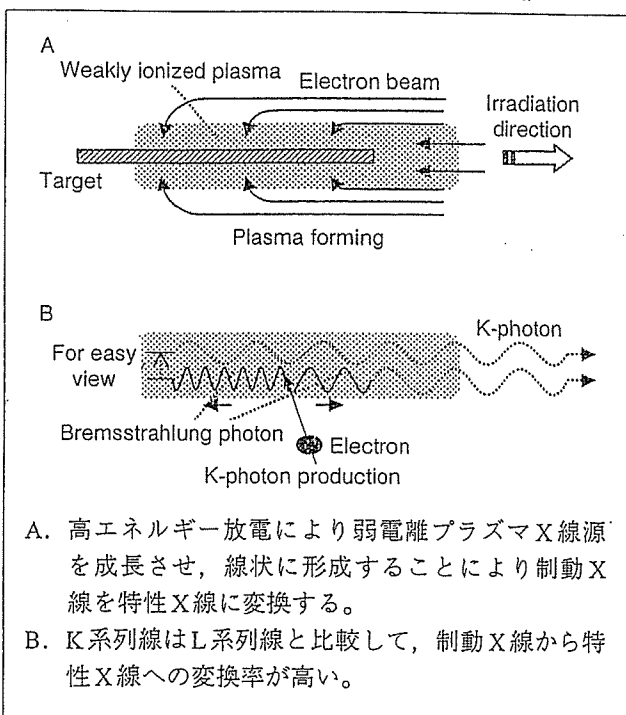
放射光施設は多額のコストと広大な敷地を必要とし, 臨床導入するには時間的・空間的にも問題がある。そこで微小血管造影法が臨床応用できるように, 新エネルギー・産業技術開発機構(NEDO)の支援により, 病院設置型の微小血管造影装置を浜松ホトニクス・NHKエンジニアリングの協力を得て共同開発した。X線管は最大陽極熱容量が5MHUと世界最大級の大きさであるCT用管球を転用した(図⑤)。X線高電圧装置も大出力化し, 市販の装置では不可能な70kVp・800mAで高輝度のX線を連続20秒間まで撮影できる。疑似単色化はランタノイド系の金属を複合したフィルターで, ヨードのK吸収端である33keV付近に頂点を有し, 約20keVのバンド状の照射X線スペクトルに変換した。検出系は, 放射光微小血管造影法と同じ, NHKの高感度・高精細撮像管であるアバランシェ型ハイビジョンモノクロ新Super-HARPカメラを用いている。

安全性の検討として, 照射X線量と散乱X線量

図③ プラズマX線微小血管造影装置 (文献9より改変)



図④ プラズマX線の発生原理 (文献9より改変)



を計測した。X線発生装置から1mに検出器を設置し、管電圧70kV、管電流500mAで20秒照射した場合、0.547Sv (62.7R)であった。検査の撮影条件としては最低でも1検査あたり100R以下 (3R/sec) を目標としており、妥当な線量と考えられる。また、X線発生装置から1mの距離にファントムを置き、50cm側方で散乱X線を検出した場合の散乱X線量は0.0225mSv (2.58mR)であった。放射線医

療従事者の年間被曝量の限度は50mSvであり、許容範囲内と考えられる。本装置は、2004年3月に国立循環器病センターに設置され、医師主導のもと、臨床応用が開始される。

3. プラズマX線微小血管造影法

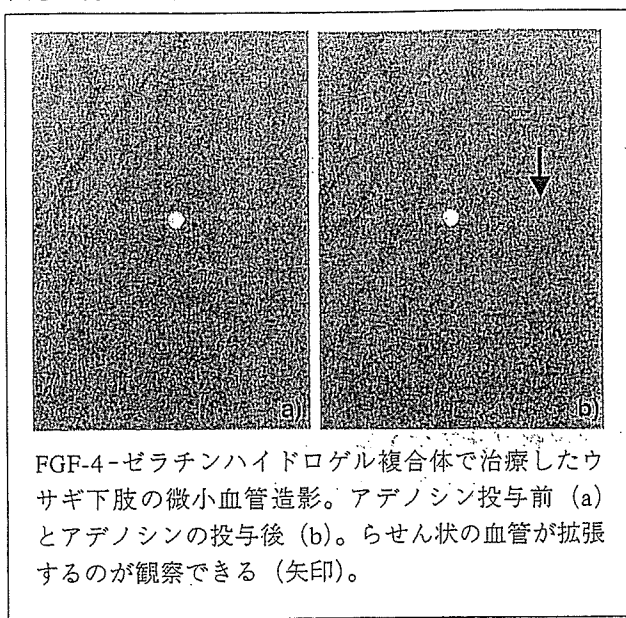
装置は高電圧電源、高電圧コンデンサー、プラズマX線管からなり、高電圧コンデンサーの容量を増すことによりX線の高輝度化が可能となる(図③)。プラズマX線はシャープなK系列特性X線であり、その発生原理は高エネルギー放電により弱電離プラズマX線源を成長させ、線状に形成することにより制動X線を特性X線に変換する。特性X線はプラズマを容易に通過するので、高線量の疑似単色X線が発生する(図④A)。さらに、K系列特性線は蛍光吸収率が高いので、L系列線と比較して制動X線から特性X線への変換率が高い(図④B)。プラズマX線は金属ターゲットの種類により、特性X線のエネルギーを任意に選択することができる。例えば、セリウムを陽極に用いると約34keVの特性X線を得られ、ヨードのK吸収端である33keV直上のエネルギーを持つ疑似単色X線での撮影が可能となる。

II. 微小血管の画像による評価

1. 正常血管と再生血管の比較

Takeshitaらは、放射光微小血管造影装置を用い、ラットの大腿動脈を結紮した後の再生血管と結紮処置をしていないコントロールの血管性状を比較した¹⁰⁾。結紮してから4週後に血管撮影をした結果、線状とらせん状の2種類の血管が存在したが、コントロールでは線状の血管のみであり、らせん状の血管は観察されなかった。このことから、再生される血管には線状とらせん状の2種類の構造を持つ血管があるが、線状の血管は既存の血管であった可能性もあると示唆した。しかし、らせん状の血管はコントロールでは観察されないため、少なくとも虚血により再生した結果で生じた血管であるとしている。また、血管内皮依存性の血管拡張薬であるアセチルコリンを投与した場合、線状の血管は拡張するものの、らせん状の血管は拡張しなかった。さらに、血管内皮増殖因子である

図⑤ 再生血管のアデノシン投与による反応

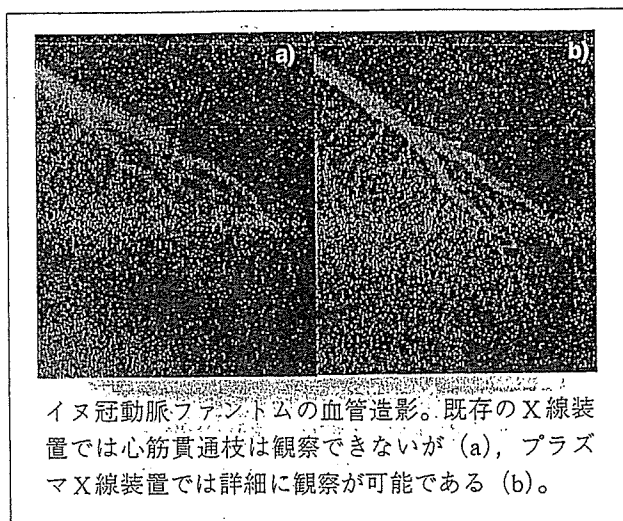


vascular endothelial growth factor (VEGF) で治療したラットで観察されたらせん状の血管も拡張せず¹⁰⁾，以上のことから虚血により生じた再生血管や VEGF により再生したらせん状の再生血管は，内皮機能が備わっていない不完全な再生血管であると考えられた。一方，fibroblast growth factor 4 (FGF-4)-ゼラチンハイドロゲル複合体にて血管再生治療後のウサギの下肢虚血モデルを撮影した。観察されている血管は再生血管と考えられ，アデノシンの投与によりらせん状の血管が拡張したと報告されている¹²⁾。病院設置型の微小血管造影装置でも同様に，FGF-4-ゼラチンハイドロゲル複合体で治療した場合，アデノシンの投与によりらせん状の血管が拡張した (図⑤)。これにより，FGF-4-ゼラチンハイドロゲル複合体で治療した場合には，より成熟した血管が再生したと考えられる。

2. 病院設置型とプラズマX線微小血管造影装置

病院設置型の微小血管造影装置のX線源では，その単色X線光子数の限界から，現在は体厚が8cmの下肢の微小血管造影に対象が限られている。

図⑥ 既存のX線装置とプラズマX線装置の比較



体厚が8cm程度の被写体では微小血管を描出できるが，10cmを超えると血管像をほとんど得ることができない。一方，プラズマX線装置は，コンデンサーの容量を増加させることで，高輝度化することが可能であるため，人体を通過する疑似単色X線が得られる可能性があると考えられている。マイクロスフィアを充填したイヌ冠動脈ファントムをプラズマX線装置と既存の血管造影装置とで比較した場合，プラズマX線で撮影した場合は心筋貫通枝レベルのミクロンオーダーの微小血管が詳細に観察できたが，既存の血管造影装置では観察できなかった (図⑥)。

おわりに

微小血管造影法にて観察されている血管は，必ずしも新生血管とは限らず，側副血行路の血流の増加やあらかじめ存在していた微小血管の拡張であるかもしれないということを忘れてはならない。しかし，微小血管造影法による画像評価は，血管の種類や反応性の評価まで可能となる。今後の臨床導入により，さらに詳細に検討されることを期待している。

1. 血管再生治療：虚血性疾患において、血行再建や薬剤治療に抵抗する症例に対し、新生血管を形成させ、血流を改善させる治療である。現在は、自己骨髄やサイトカインなどを用いて臨床応用されている。
2. 微小血管造影法：既存の血管造影装置の空間解像度は $200 \sim 300 \mu\text{m}$ であるが、 $100 \mu\text{m}$ 以下の解像度を持つ撮影装置にて微小血管の造影が可能となっている。血管再生治療で再生された血管の評価に期待されている。

- 1) Asahara T, Murohara T, et al : Science 275, 964-966, 1997.
- 2) Shintani S, Murohara T, et al : Circulation 103, 897-903, 2001.
- 3) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, et al : Lancet 360, 427-435, 2002.
- 4) Mori H, Hyodo K, et al : Circulation 89, 863-871, 1994.
- 5) Tanioka K : Proc SPIE Int Soc Opt Eng 1656, 1-12, 1992.
- 6) Kubota M, Kato T, et al : IEEE Trans Broadcasting 42, 251-258, 1996.
- 7) Umetani K, Ueki H, et al : J Synchrotron Rad 5, 1130-1132, 1998.
- 8) Tanioka K, Ohkawa Y, et al : IEEE Workshop on CCD and Advanced Image Sensors, 2001.
- 9) Sato E, Hayasi E, et al : SPIE 4682, 538-548, 2002.
- 10) Takeshita S, Isshiki T, et al : Circulation 95, 805-808, 1997.
- 11) Takeshita S, Isshiki T, et al : Circulation 98, 1261-1263, 1998.
- 12) Kasahara H, Tanaka E, et al : J Am Coll Cardiol 41, 1056-1062, 2003.

*機能・代謝画像診断法と分子画像, 西村恒彦 編, 南山堂, 2003.

*INNERVISION 17(8), 疑似X線レーザーを用いた普及型微小血管造影装置の開発, 知久正明, 西上和宏 他, インナービジョン, 2003.

- ・大型放射光施設 SPring-8
<http://www.spring8.or.jp/j/>
- ・高エネルギー加速器研究機構
<http://www.kek.jp/ja/index.html>

知久正明

1994年 日本大学医学部卒業後、日本大学第二内科入局

1996年 日本大学医学部大学院入学

2000年 大学院卒業後、国立甲府病院循環器科に勤務

2003年 国立循環器病センター修練医

現在は、大血管疾患から末梢血管疾患の非侵襲的診断法および血管再生治療における微小血管造影法の研究を行っている。

3. PPH 治療の今後の展望

③ 再生医療

永谷 憲歳

国立循環器病センター研究所再生医療部長

Nagaya, Noritoshi

論文のポイント

1. はじめに：

肺高血圧症では肺血管内皮障害により血管作動性物質のバランスが破綻(収縮因子>拡張因子)しており、正常な肺血管内皮細胞を再生させることが肺高血圧を軽減させる可能性がある。

2. 血管新生因子による肺高血圧治療：

基礎的研究では血管新生因子を肺血管へ導入すると、肺血管内皮細胞が再生され、また血管内皮細胞のアポトーシスが抑制させて肺高血圧が軽減する。

3. 細胞移植による肺高血圧治療：

血管内皮前駆細胞はモノクローリン誘発肺高血圧ラットの肺細動脈と間質に付着し、血管内皮細胞となり肺高血圧をわずかに改善させた。

4. 遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療：

細胞移植と遺伝子治療を同時に行う遺伝子-細胞ハイブリッド治療法は、細胞による肺血管内皮の再生のみでなく、血管内皮前駆細胞をベクターとして肺組織選択的に遺伝子導入を可能にした。

5. 血管内皮前駆細胞への新たな遺伝子導入法の開発：

血管内皮前駆細胞の貪食能を利用した細胞自身への非ウイルス性遺伝子導入に成功した。

6. アドレノメデュリン遺伝子と血管内皮前駆細胞を用いた肺高血圧治療：

アドレノメデュリン遺伝子を導入した血管内皮前駆細胞の移植は、モノクローリン誘発肺高血圧を有意に改善させた。

キーワード

肺高血圧／血管内皮前駆細胞／再生医療／アドレノメデュリン／血管新生因子

はじめに

原発性肺高血圧症 (PPH) に対する治療としてプロスタサイクリン療法やエンドセリン (ET) 受容体拮抗薬らが開発され、その有効性が報告され

ている。しかしなお治療抵抗性の症例が存在し、肺移植の適応とされながらもドナー不足により十分な治療が受けられないのが現状である。

PPH 発症の原因の1つとして、肺血管内皮の機能障害が報告されている¹⁾。正常の肺血管内皮

細胞は様々な血管拡張因子を分泌して肺血管の低圧系を維持している。一方、肺高血圧症では肺血管内皮機能が障害されており、血管作動物質のバランスが破綻(収縮因子>拡張因子)している。すなわち ET-1, アンジオテンシン II, トロンボキサン A₂, セロトニンらの収縮因子が増加し、内因性血管拡張因子であるプロスタサイクリンや一酸化窒素の産生が相対的に低下している^{1)~5)}(図1)。

肺血管内皮機能障害の病態に着目した治療として、① 肺血管内皮細胞で産生される拡張因子の補充と収縮因子の抑制、② 正常な肺血管内皮細胞の再生促進という治療法が考えられる。後者の肺血管内皮再生のためには① 血管新生因子の蛋白投与または遺伝子導入、② 血管内皮前駆細胞、幹細胞を用いた細胞移植治療、③ 血管新生因子と細胞移植の併用療法の3つの治療戦略が考えられる。本稿では肺血管の再生が肺高血圧の軽減に結びついた最近の基礎的研究を紹介する。

血管新生因子による肺高血圧治療

血管新生は様々な液性・細胞性因子によって密接にコントロールされており、血管内皮細胞増殖に対するプラスとマイナスの因子群のバランスに

よって恒常性が保たれている。現在、心血管領域では末梢動脈閉塞症や狭心症患者に対して血管新生因子(VEGF, FGF, HGF, アンジオポエチン-1)の蛋白や遺伝子を用いた血管新生療法の基礎的・臨床的研究が行われている^{6)~8)}。これらの血管新生因子は PI 3 K-Akt 経路を活性化し血管内皮細胞の生存、遊走、増殖、血管新生に関与し、血管新生を促すことが明らかとなった⁹⁾。

PPH 患者の肺組織では、VEGF などの血管新生因子の産生が亢進している¹⁰⁾。この現象が肺高血圧の原因か結果かは明らかでないが、PPH の病態に関与している可能性がある。基礎的研究においては、VEGF, FGF, HGF, アンジオポエチン-1 の肺血管または肺実質への遺伝子導入で肺血管内皮細胞の再生・血管新生を促し、また血管内皮細胞のアポトーシスを抑制することで肺高血圧が軽減されることが示された^{11)~13)}。肺高血圧実験モデルと実際の PPH では、肺高血圧の発症機序が異なるが、血管新生因子の投与による肺血管再生治療が新たな肺高血圧治療となる可能性がある。

細胞移植による肺高血圧治療

従来成人個体における血管新生は既存の血管内

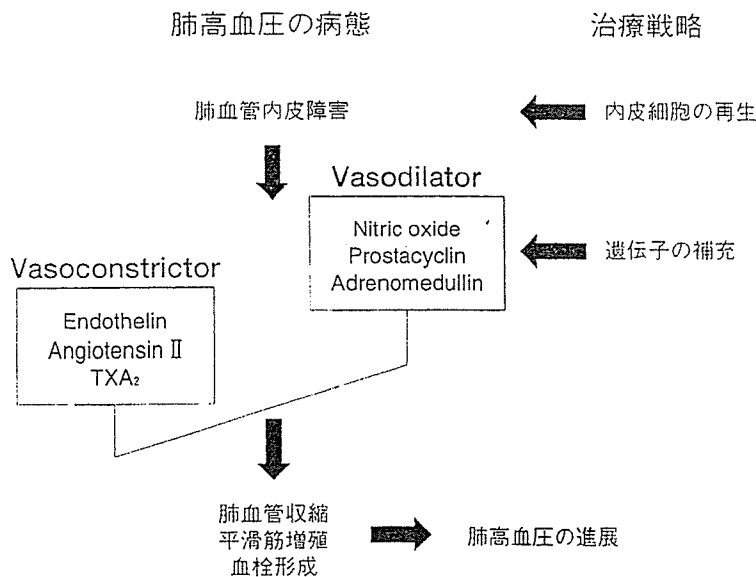


図1 肺高血圧症における血管作動物質のバランス破綻と病態に基づいた治療戦略

肺高血圧症では、肺血管内皮細胞から産生させる血管作動物質のバランスが破綻している(収縮因子>拡張因子)。したがって血管拡張因子を補充すること、さらには血管新生因子や血管内皮前駆細胞を用いて正常な肺血管内皮細胞を再生させることが肺高血圧軽減につながる可能性がある。

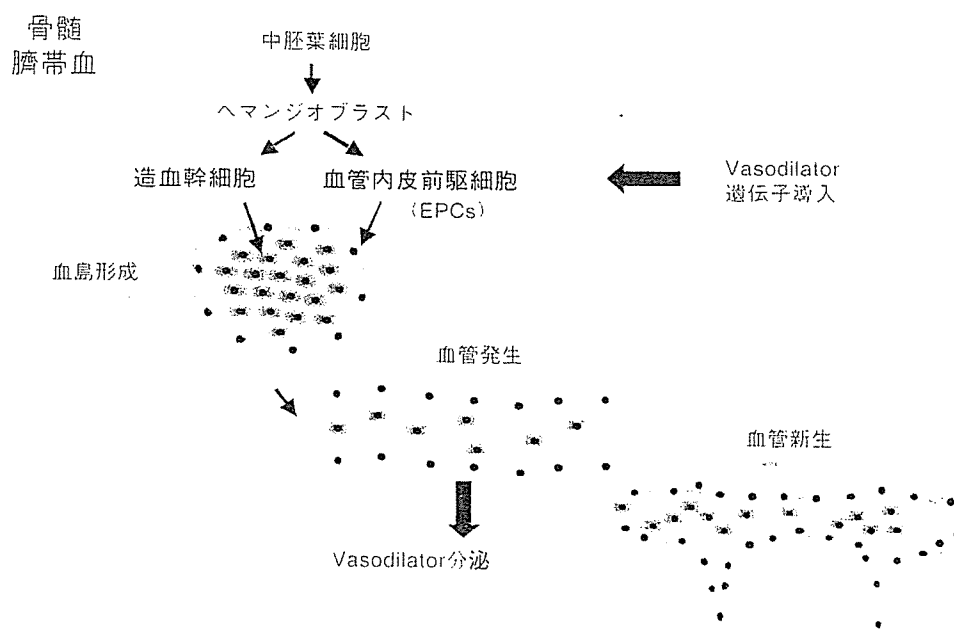


図2 血管の発生と遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療

ヘマンジオブラスト由来の造血幹細胞と血管内皮前駆細胞(EPCs)は血島を形成し、血管の発生に関与する。血管拡張因子の遺伝子を導入したEPCsを移植することで、細胞による血管再生と血管拡張因子による肺血管拡張が同時に可能となる(遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療)。

皮細胞の発芽的増殖と遊走によるものと理解されていたが、1997年、Asaharaらは成人の末梢血中には内皮細胞に分化しうる血管内皮前駆細胞が存在することを明らかにした¹⁴⁾。胎生初期の血管形成は、造血幹細胞が中心部に位置し血管内皮前駆細胞が辺縁部に位置する細胞群としていわゆる血島(blood island)から始まる(図2)。血島はその後互いに融合し合い、辺縁部に位置する血管内皮前駆細胞が血管内皮細胞となり血管壁を形成し、中心部に位置する造血幹細胞が血球系に分化して血液を形成する。CD 34は造血幹細胞のマーカーとして知られているが、血管内皮前駆細胞もまたCD 34陽性細胞の分画から得られる。これらの解剖学的または発生学的類似性から、造血幹細胞と血管内皮前駆細胞は共通の先祖細胞であるヘマンジオブラストから分化してくるものと考えられている。

血管内皮前駆細胞は血管障害部位への遊走能、血管再生能を持ち、生体内で虚血や血管内皮障害が起こったときに骨髓から強制動員され、血中を

流れてその障害部位へ付着して血管内皮細胞に分化して血管を形成する¹⁴⁾。この細胞の能力を利用して、急性心筋梗塞ラットに静脈から血管内皮前駆細胞を投与すると、血管新生さらには梗塞サイズが縮小され、心機能が改善することが報告された¹⁵⁾。臨床の場合においても血管内皮前駆細胞の移植は虚血性心疾患、閉塞性動脈硬化症の治療に有効であることが報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。血管内皮前駆細胞の治療効果は①血管内皮前駆細胞自身が血管内皮細胞に分化して血管形成に参加するため、②血管内皮前駆細胞がVEGFらの血管新生因子を放出して局所の血管新生を促すためと考えられる。

われわれは血管内皮前駆細胞の移植による肺高血圧治療効果を動物実験で検討した¹⁸⁾。ヒト臍帯血から単核球を分離し、VEGF下で培養することで血管内皮前駆細胞を得た。これらの細胞は内皮細胞に比較的特徴的な抗原(CD 31, VE-cadherin, KDR)を有していた。正常のラットに静脈から血管内皮前駆細胞を投与しても肺組織への付着は認

められなかったが、モノクローリンで肺血管内皮細胞や間質に障害を与えた後に投与すると、血管内皮前駆細胞は肺細動脈と間質に付着し成熟した血管内皮細胞となった。また、血管内皮前駆細胞の移植は肺組織の血管数を増加させた。平均肺動脈圧に有意な変化は認められなかったが、肺血管抵抗のわずかな改善が認められた。その後、自家の血管内皮前駆細胞を移植すれば、モノクローリン誘発肺高血圧を有意に抑制することが他施設から報告された¹⁹⁾。しかし、血管内皮前駆細胞の移植のみでは肺高血圧治療効果に限界があると思われた。

遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療

われわれは血管内皮前駆細胞の移植治療効果を高めるために遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療を開発した。血管内皮細胞より産生される生体内で、最も強力な血管拡張ペプチドであるアドレノメデュリン²⁰⁾の遺伝子を用いた。アドレノメデュリンの特異的受容体は体血管よりむしろ肺血管に多数存在し²¹⁾、血管平滑筋細胞の受容体に直接作用してcAMPを増加させまた血管内皮に働き一酸化窒素を介して血管拡張を来す²²⁾²³⁾。われわれは、実際にアドレノメデュリンの経静脈的または経気道からの投与がPPH患者の肺血管抵抗を著明に低下させることを証明してきた²⁴⁾²⁵⁾。近年、アドレノメデュリンはPI 3 K-Akt経路を活性化することで血管内皮細胞の生存、遊走、増殖、血管新生に関与することが明らかとなった。われわれは、血管内皮前駆細胞とアドレノメデュリンの相互作用に関する研究を行っており、アドレノメデュリン遺伝子導入によって血管内皮前駆細胞のアポトーシスが抑制されることや増殖が促進されることを明らかにした。またアドレノメデュリン遺伝子は血管内皮前駆細胞をベクターとして肺組織まで運ばれることで(Cell-based gene therapy)、アドレノメデュリンの発現による肺血管拡張作用が期待できる。こうして、細胞移植による治療効果と導入した遺伝子の発現による相乗効果で治療効果を増強させる、いわゆる遺伝子-細胞ハイブ

リッド治療法を生み出した。

血管内皮前駆細胞への新たな遺伝子導入法の開発

ブタの皮膚から得たゼラチンをグルタルアルデヒドの架橋反応により格子構造としエチレンジアミンを加えると正帯電ゼラチンが完成する²⁶⁾。この正帯電ゼラチンは蛋白のみでなく、一般に負に帯電したDNAと数時間接触することにより容易に電気的複合体を形成する(図3A, B)。このゼラチンは生体内で徐々に吸収されるため、ゼラチンに結合した蛋白やDNAの徐放、すなわち長時間の発現が可能である。われわれは、マクロファージなどの従来 of 貪食細胞と同様に、血管内皮前駆細胞がゼラチン/プラスミドDNA複合体を容易に貪食することを報告した(図3C)²⁶⁾。この血管内皮前駆細胞の貪食能を利用した*ex vivo*遺伝子導入は、ウイルスベクターを用いずに血管内皮前駆細胞自身への50~70%の高率の遺伝子導入を可能にした。またゼラチンはその分解とともにプラスミドDNAを徐放でき、長時間の遺伝子発現を可能にした。図4は、蛍光色素でラベルしたDNAが細胞内に貪食されたゼラチンから徐々に放出され核へ向かっている様子を可視化したものである。実際にこの方法でアドレノメデュリン遺伝子を血管内皮前駆細胞へ導入すると細胞質での蛋白の強発現が確認でき、その発現は2週間以上の長期間持続することがわかった(図5)。この遺伝子導入法は方法も比較的簡便であることから、画期的な遺伝子導入法として期待される。

われわれが考案したこのゼラチンを用いた遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療法は①非ウイルス的に遺伝子導入を行うため安全性が高い、②血管内皮前駆細胞が持つ虚血部・血管内皮障害部位へのhomingを利用して、静脈内投与による組織選択的治療が可能となる、③機能遺伝子導入によって血管内皮前駆細胞の増殖を高め、一方アポトーシスを抑制することで、血管内皮前駆細胞自身の機能強化が可能である、④遺伝子導入によって血管内皮前駆細胞から蛋白が過剰分泌され、パ

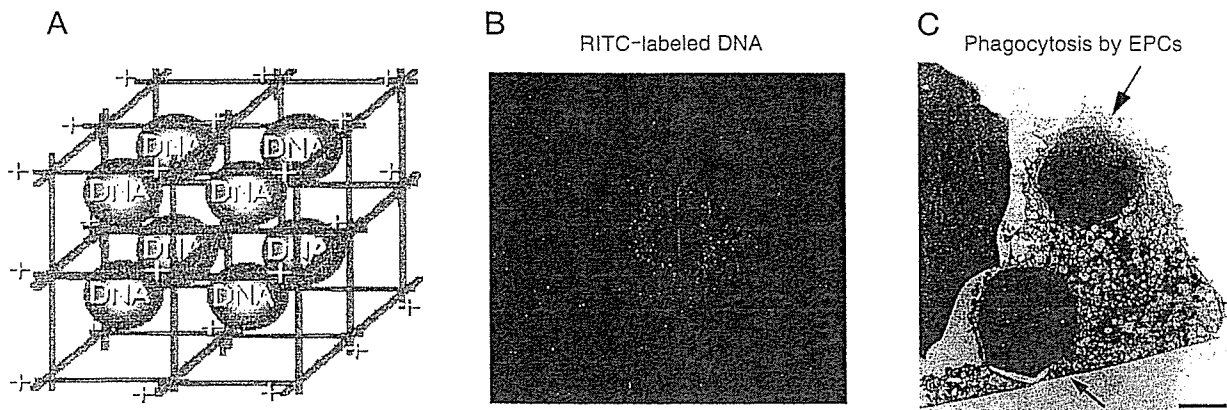


図3 DNA-ゼラチン複合体のシェーマ(A)とその実像(B)・電顕像(C)

DNAは赤色蛍光で表示(B)。Cの電顕像で血管内皮前駆細胞(EPCs)がDNA-ゼラチン複合体を貪食するのが確認された。

(文献13より改変、引用)

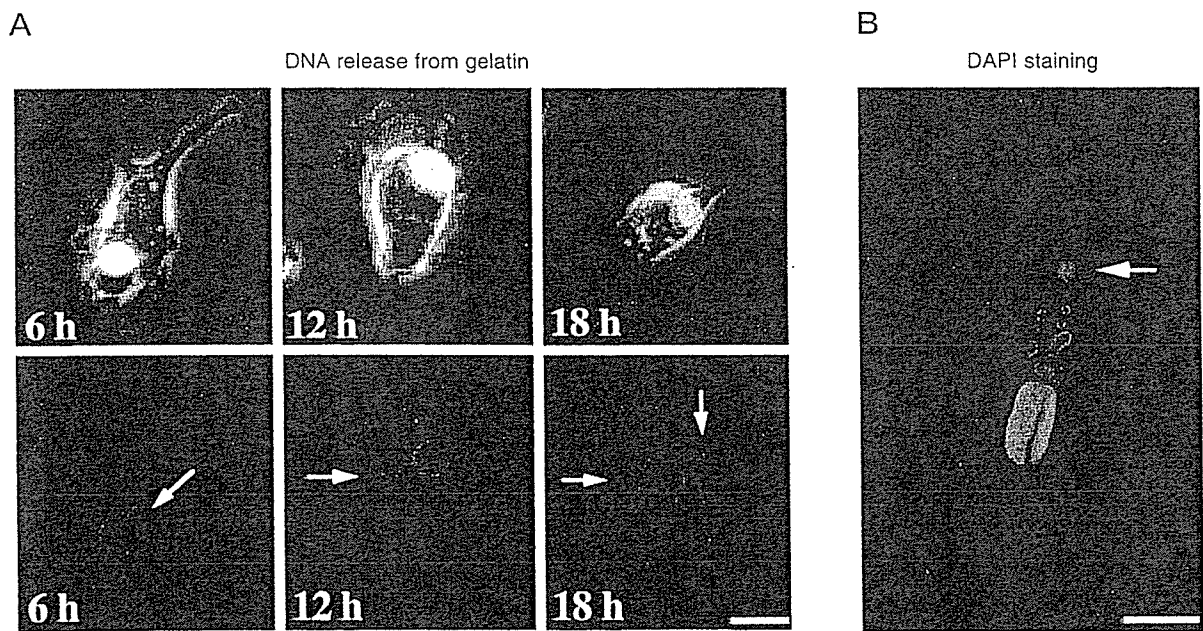


図4 血管内皮前駆細胞に貪食されたDNA-ゼラチン複合体からのDNA放出

A:ゼラチンの細胞内での分解に伴いDNAは徐々に放出された。(B):ゼラチン(矢印)からDNAが核に向かって放出される像を示す。

ラクライン的に生理機能を発揮するらの利点がある。

アドレノメデユリン遺伝子と血管内皮前駆細胞を用いた肺高血圧治療

モノクロータリン肺高血圧ラットに、アドレノメデユリン遺伝子を導入した血管内皮前駆細胞を静脈内投与して、3週間後の肺高血圧軽減効果を検

討した¹⁸⁾。血管内皮前駆細胞はゼラチン/DNA複合体を貪食し、血管内皮前駆細胞自身への高率の遺伝子導入が可能であった。アドレノメデユリン遺伝子導入血管内皮前駆細胞は血管内皮前駆細胞単独の10倍のアドレノメデユリンを分泌し、2週間以上発現が持続した(図5)。経静脈的に投与した血管内皮前駆細胞は、肺細動脈内面と間質に

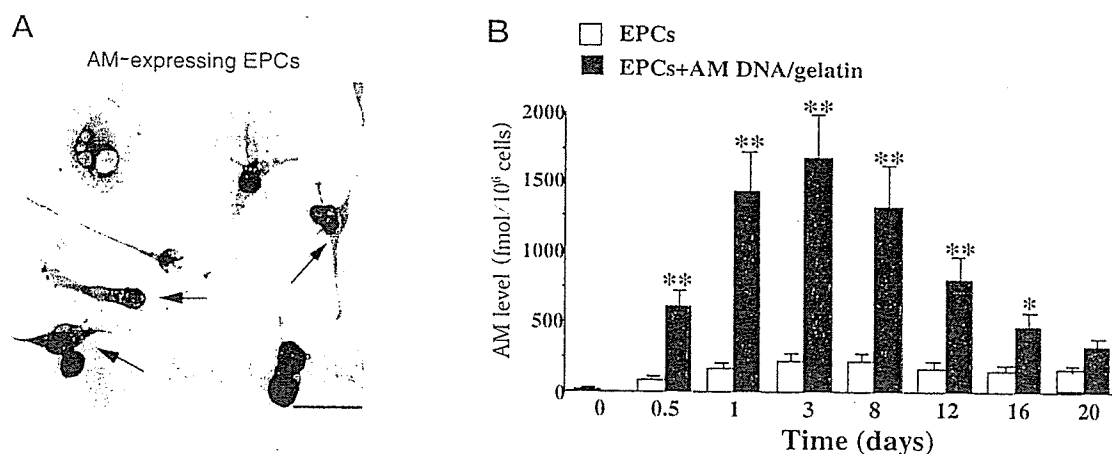


図5 ゼラチンによる遺伝子導入後の血管内皮前駆細胞(EPCs)でのアドレノメデュリン(AM)の発現
AMの免疫染色(A)と培養液中のAM濃度(B)

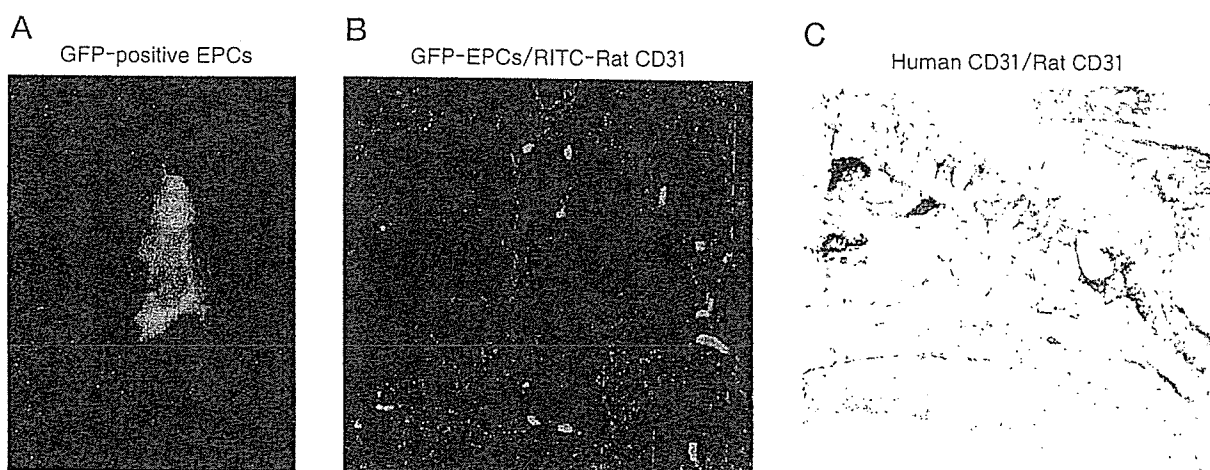


図6 遺伝子導入血管内皮前駆細胞(EPCs)による肺組織への付着と肺血管の形成
GFP遺伝子導入EPCsは肺細動脈の内面や肺組織の間質に付着し血管を形成した(A, B)。またヒトEPCsはラット肺組織内で血管内皮(α-CD31陽性)を形成した(C)。

付着して血管を形成した(図6)。アドレノメデュリン遺伝子導入血管内皮前駆細胞の移植は、コントロール群に比べて平均肺動脈圧を有意に低下させ(24 ± 2 vs 34 ± 1 mmHg)、生存率を改善させた(図7)。これらの効果は血管内皮前駆細胞の単独投与より優っていた。既存の治療に抵抗性のPPH患者が少なからず存在することを考えると、この遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療法は重症肺高血圧症に対する新たな治療法となる可能性がある。

■ おわりに

肺高血圧症では、肺血管内皮の機能異常によって血管作動物質のバランスが破綻している。われわれは、血管拡張因子であるアドレノメデュリン遺伝子を導入した血管内皮前駆細胞を移植することで肺高血圧が軽減できることを証明した。細胞移植と遺伝子治療を同時に行う遺伝子-細胞移植ハイブリッド治療法は、細胞による肺血管内皮の再生のみでなく、血管内皮前駆細胞をベクターと