

性脳虚血後に生じる神経細胞の脱落は、脳梗塞患者における神経組織壊死と病態的に大きく解離しているため、脳梗塞治療効果の検定には適当でない場合が多く、過去に一過性脳虚血モデルで有効とされた薬剤の臨床試験では、ほとんどのものが無効あるいは有害であった。そのため当研究班ではまず、再現性および生存率の高いげっ歯類脳梗塞モデルの確立に向けた検討を行った。様々な手法と種々のマウスおよびラットのstrainの検討を行った結果、SCID (Sever Combined Immunodeficiency) マウスの中大脳動脈のM1 distal部位を直視下で結紮することにより、中大脳動脈灌流領域の皮質部位に常に一定の脳梗塞を生じる非常に再現性の高い脳梗塞動物モデルの作成に成功した¹⁾。この脳梗塞モデルにおいては形態学および組織学的にも常に同一の脳梗塞が作成されるだけでなく、神経学的にも均一な症状を呈することより、今後の新しい脳卒中治療法の開発に非常に有用な実験モデルとして、広く使用可能であると考えている。

2. 血管血球系幹細胞投与による脳血管再生, 神経再生の誘導: 松山, 明神, 田口

我々が新しく開発した非常に再現性の高い脳梗塞モデルを用いて、脳梗塞後の骨髄系単核球細胞投与の治療効果およびその機序に関する検討を行った。

左中大脳動脈閉塞48時間後の脳梗塞マウスを用いて、骨髄系単核球細胞の分画であるCD34陽性細胞を尾静脈より単回投与し、骨髄系単核球細胞投与による①血管再生の促進効果、②内因性の神経再生促進効果、③脳組織再生効果および④神経機能再生効果に関して検討を行った。その結果、①脳梗塞後の骨髄系単核球細胞投与は梗塞周囲における主に内因性の血管再生を促進し、血流の再建を誘導する、②脳梗塞後の血管再生は内因性の神経再生を誘導するだけでなく、その生着に必須である、③骨髄系単核球細胞投与による脳梗塞後の血管再生は、脳神経組織の再生を誘導する、④脳梗塞後の血管再生による脳組織再生は脳機能の再生をもたらす、ことを世界に先駆けて明らかにしてきた¹⁾。

また骨髄単核球の末梢血中への動員を目的としてG-CSFの投与を行ったが、治療効果とは逆にG-CSFの投与により脳萎縮の進行が観察された。さらに、細胞処理過程の簡略化を目的として、骨髄細胞の投与実験を行ったが、G-CSFと同様に脳萎縮の進行が観察された。これらの結果は、①G-CSFで動員される顆粒球には負の作用が有ること、および②骨髄細胞中の骨髄

単核球細胞分画を精製する必要があること、を示唆しており、これまでの報告における顆粒球細胞の脳梗塞巣に対する障害作用²⁾とも合致すると考えている。

一方、脳梗塞後の血管構築に関する詳細な検討のため、放射光X線を用いた研究を行った。正常血管解剖としては脳表に分布する動脈から大脳灰白質を栄養する直径10 μ m程度のPerforating Arteryが明瞭に描出されたが³⁾、脳梗塞後の未治療群では脳梗塞大脳半球は対側の大脳半球と比較して脳実質の萎縮が目立ち、梗塞巣周囲では脳表動脈は描出されるもののPerforatorは消失していた。骨髄単核球投与群では脳実質の萎縮はあまり認められず、対側と比較してやや拡張や蛇行があるもののPerforatorが撮像されており、機能血管が残存していた。また、梗塞巣周囲における正常ではあまり血管が存在しない分水嶺や脳室周囲深部白質においてPerforatorよりもさらに微細な血管の増生が観察されたが、これらは移植により誘導された再生血管であり、これら再生血管が梗塞巣への側副路となり、梗塞巣へ血液を供給していると考えている。

3. 霊長類脳梗塞モデルにおける自己骨髄単核球投与: 林, 明神, 田口

ヒト⁴⁾やマウス⁵⁾と同様にサルにおいても神経幹細胞が存在すること⁶⁾、さらには脳梗塞後に神経幹細胞などによる修復過程⁷⁾が存在することが知られているが、本検討では霊長類における脳梗塞後の骨髄採取およびその静脈内投与に関する安全性の検討を行った。

我々の予定している臨床試験では、対象疾患を心原性脳塞栓症患者としているため、当動物実験モデルにおいてもヒト病態に近い自己血栓によるカニクイザル塞栓モデルの作成を行った。全身麻酔下において血管撮像装置を使用し、超選択的カテーテル法により自己血栓を中大脳動脈M1遠位部より投与することにより、中大脳動脈領域の脳梗塞を作成し、脳梗塞の確認はMRIを用いて行った。脳梗塞作成後7日後に腸骨骨髄より骨髄液の採取(10ml)を採取し、静脈より自己骨髄由来単核球細胞の投与を行った。安全性の検査項目として①検血、②神経症状の悪化、③MRIによる出血および再梗塞の評価を行い、最長脳梗塞12カ月以降まで経過観察を行ったが、脳梗塞後の骨髄採取およびその静脈内投与によると考えられる有害事象は認められなかった。

4. 脳梗塞患者における再生機転の病理的検討: 植田

以上のような脳梗塞動物モデルで得られた知見が、

幹細胞を慢性脳虚血患者に投与する前臨床試験には、本モデルでの検討は必須であると考えている。

総 括

我々は末梢動脈閉塞症患者に自己骨髄由来の血管血球系幹細胞を移植することにより虚血症状の改善することを示してきたが¹⁰⁾、脳虚血動物モデルにおいても、血管血球系幹細胞の移植が、既存小血管の保護や微小血管網の再生、再構築を介して神経機能の改善をもたらすことを明らかにした。これらの知見は、急性期脳梗塞患者に対する血管血球系幹細胞移植の可能性を示唆するものであり、霊長類を用いた検討や脳梗塞患者における病理的所見を総合して、脳梗塞患者に対する新しい治療法の確立に向けたプロトコル作りを行っている。

また、脳梗塞予防に関する研究では末梢血中のCD34陽性細胞やCD133陽性細胞などの血管血球系幹細胞の減少が、脳梗塞の発症と強く関連しているだけでなく、Blood Brain Barrierを形成する血管内皮細胞の機能、神経組織の代謝およびその機能にまで影響を与えていることを我々は明らかにしており、血管血球系幹細胞の補充による新しい治療法の可能性を示唆していると考えている。

参考文献

- 1) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al: Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 114: 330—338, 2004
- 2) Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, et al: Correlation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat. *Effects of neutrophil depletion. Stroke* 25: 1469—1475, 1994
- 3) Myojin K, Taguchi A, Umetani K, et al: Visualization of intracerebral arteries by synchrotron radiation microangiography. *American Journal of Neuroradiology* In press
- 4) Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4: 1313—1317, 1998
- 5) Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al: Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 8: 963—970, 2002
- 6) Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, et al: Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 286: 548—552, 1999
- 7) Tonchev AB, Yamashima T, Zhao L, et al: Proliferation of neural and neuronal progenitors after global brain ischemia in young adult macaque monkeys. *Mol Cell Neurosci* 23: 292—301, 2003
- 8) Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, et al: Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest* 113: 1701—1710, 2004
- 9) Mimura T, Dezawa M, Kanno H, et al: Behavioral and histological evaluation of a focal cerebral infarction rat model transplanted with neurons induced from bone marrow stromal cells. *J Neuro-pathol Exp Neurol* 64: 1108—1117, 2005
- 10) Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, et al: Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* 109: 2972—2975, 2004
- 11) Taguchi A, Ohtani M, Soma T, et al: Therapeutic angiogenesis by autologous bone-marrow transplantation in a general hospital setting. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 25: 276—278, 2003

脳梗塞患者にても実際に起こっているかを検討するために、脳梗塞患者における病理標本を用いて脳梗塞後の血管新生及び神経再生に関する検討を行った。その結果、梗塞周囲領域における血管再生が観察されるとともに、Musashi-1 陽性の神経幹細胞と考えられる細胞群を同定した。これらの細胞群は脳梗塞発症後比較的早期から発現しているものの、30 日ごろにはかなり減少し、90 日にはほとんど見られなくなった。これらの所見は脳梗塞後の内因性の組織修復機構を用いた治療法の開発には、脳梗塞発症後 30 日以内をターゲットにすべきであることを示唆していると考えている。

5. 成体由来の神経幹細胞の確立：出澤

血管再生を基盤とした内因性の神経再生誘導に関する治療法を、より効果的な治療法として発展させるために、神経幹細胞の樹立及びその投与による治療法の開発を行っている。本研究では骨髄間質細胞からの神経細胞への誘導を試み、最終分裂を終えた機能的な神経細胞を非常に高い効率で、しかも選択的に誘導する方法を開発した³⁾。最初に、ヒトおよびラットの骨髄間質細胞において Notch 遺伝子を導入することによって神経幹細胞様に分化転換することを見いだしたが、これらの細胞は神経幹細胞に特異的なマーカー (GLAST, 3-PGDH, nestin) を発現し promoter 解析においてもそれらの因子の活性の有意な上昇が観察された。神経幹細胞様に分化転換した細胞にサイトカイン刺激 (bFGF, Forskolin, CNTF) を与えると非常に効率の高い選択的な神経誘導が引き起こされ、またこの最終産物にはグリア細胞が一切含まれておらず、神経細胞だけで最終産物が構成されていることを明らかにした。誘導された神経細胞はパッチクランプ実験において機能的な神経細胞であることが確認された。誘導された神経細胞にさらに GDNF を投与するとドーパミン作動性ニューロンが 40% 近くに増加し、これらの細胞をパーキンソンモデルラットの線状体に移植したところ、apomorphin 誘導の回転運動や paw reaching test, adjusting step test において顕著な症状改善を認めた。また、骨髄間質細胞由来の神経幹細胞の脳梗塞巣への移植を行った結果、量的には少ないものの移植神経幹細胞の生着、および神経機能の向上が観察された³⁾。骨髄間質細胞由来神経幹細胞は移植治療において多くの利点を有し、血管再生などと組み合わせることにより生着率の向上を図ることにより、患者への適応の可能性が期待されると考えている。

B. 脳梗塞予防を目的とした脳血管再生による治療法の確立に向けた研究

1. 末梢血中幹細胞の低下と脳神経機能の低下および虚血性疾患の発症に関する検討：田口、松山、林
血管内皮前駆細胞系の幹細胞を多く含む CD34, CD133 抗原陽性細胞数の減少が、脳梗塞巣の増加と有意に関連している一方、血管内皮前駆細胞と関連の薄い CD117 抗原および CD135 抗原細胞数との有意な関連は見られなかった¹⁰⁾。さらに、脳主幹動脈閉塞あるいは高度狭窄のある患者の PET を使った検討では CD34, CD133 抗原陽性細胞数の減少が、慢性虚血部位の脳血流量の低下に有意に関連しており、側副血行路の形成低下や血管反応性の低下など、血流血管維持機構の低下と関連していると考えられた。CD34 抗原陽性細胞数減少患者においては、慢性虚血部位における酸素摂取率の反応性の上昇は認められず、その結果酸素代謝量の低下が認められた。さらに、脳梗塞患者において末梢血中の CD34 陽性細胞が減少している群においては、MMSE で評価される認知機能および CDR で評価される認知症の重症度が高いことを明らかにした。また、虚血性疾患のリスクが非常に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、末梢血中血管血球系幹細胞の低下が血管内皮機能の低下と共に神経機能の低下にも関連していることを示しており“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。

2. 血管血球系幹細胞の生体外増殖：西村

ヒト臍帯血より CD133 陽性細胞を単離後、VEGF, SCF, TPO 等の最適化された growth factor を加えることにより、7 日間の無血清培養により 50~80 倍程度に増殖させることに成功した。これらの増殖細胞は血管内皮系コロニー形成能が保たれているとともに、虚血性心疾患モデルにおいても、心機能回復能を確認した。これらの手法は、患者由来の末梢血/骨髄由来血管血球系幹細胞でも可能であると考えており、臨床応用に向けた、展開が大きく開けたと考えている。

3. 霊長類における慢性期脳虚血モデルの作成：飯田、林

げっ歯類においても慢性脳虚血モデルは存在しなかったが、飯田、林らは霊長類において慢性脳虚血モデルの作成に成功した。生体外増殖された血管血球系

動脈疾患 閉塞性動脈硬化症

竹下 聡*
たけした さとし

- 閉塞性動脈硬化症は quality of life への影響は大きい、生命予後に対する影響は小さい。
- 閉塞性動脈硬化症患者の生命予後は、合併する動脈硬化性疾患によって規定される。
- 閉塞性動脈硬化症の早期発見によって、動脈硬化の危険因子コントロールを早期に開始し、虚血性心疾患や脳血管疾患の予防へと結びつけることが肝要である。

Key Words ABPI, Fontaine 分類, 血管超音波検査, 近赤外線分光法

はじめに

人は血管とともに老いると言われるように、動脈硬化は加齢とともに進行する。この進行に影響を与えるのが、糖尿病、高脂血症、高血圧、喫煙などの動脈硬化性危険因子である。これらの危険因子を治療することによって、狭心症や心筋梗塞などの動脈硬化性疾患の進行を阻止することが可能である。これは閉塞性動脈硬化症においても同様で、より早期に発見し危険因子のコントロールを開始することが患者予後の改善において肝要である。

□ 閉塞性動脈硬化症とは

従来、閉塞性動脈硬化症はわが国では少なく、同じ末梢動脈閉塞疾患である Buerger 病が多数を占めるとされていた。しかしながら、食生活の欧米化とともに閉塞性動脈硬化症が増加し、Buerger 病の占める割合は次第に減少してきた。

わが国における閉塞性動脈硬化症の発生頻度については、大規模な疫学データが存在しないため詳細は不明であるが、欧米における罹患率は人口の数パーセント程度とされている¹⁾。

閉塞性動脈硬化症では、末梢動脈の粥状動脈硬化によって血管内腔の狭窄が進行し、下肢虚血が生じる。これにともない、しびれ、冷感、間歇性跛行、疼痛、潰瘍、壊疽などのさまざまな症状が出現する。自覚症状による病期分類としては Fontaine 分類が代表的である (表 1)。Fontaine

表 1 Fontaine 分類

グレード	症 状
I	無症状
II	間歇性跛行
III	安静時疼痛
IV	皮膚潰瘍、壊疽

I 度の軽症 (無症状) 患者に対しては、禁煙指導を行ったり、糖尿病・高血圧など動脈硬化の危険因子コントロールを行いながら経過を観察する。病状が進行してくると、Fontaine II 度に見られるような間歇性跛行が出現する。間歇性跛行とは、一定距離の歩行後に下肢の疼痛が出現するが、休息により痛みは一時的に消失し、再び歩行することによって再出現するといった特徴的な症状をいう。閉塞性動脈硬化症でもっとも多い症状は、この間歇性跛行である。間歇性跛行が軽度の場合、運動療法や抗血小板剤などによる薬物療法を行うが、重症例では狭窄した血管をカテーテルによって拡張する経皮的血管形成術 (percutaneous transluminal angioplasty : PTA) や外科手術 (バイパス手術) による血行再建が必要となる。Fontaine III~IV 度を重症下肢虚血 (critical limb ischemia : CLI) と呼ぶ。このような状態にまで進行すると、安静時にも下肢疼痛が出現し、皮膚潰瘍や壊疽も見られるようになる。重症下肢虚血を呈する患者では、痛みや壊疽のために運動療法を施行するのは困難で、薬物治療に対する反応性も

* 国立循環器病センター 心臓血管内科

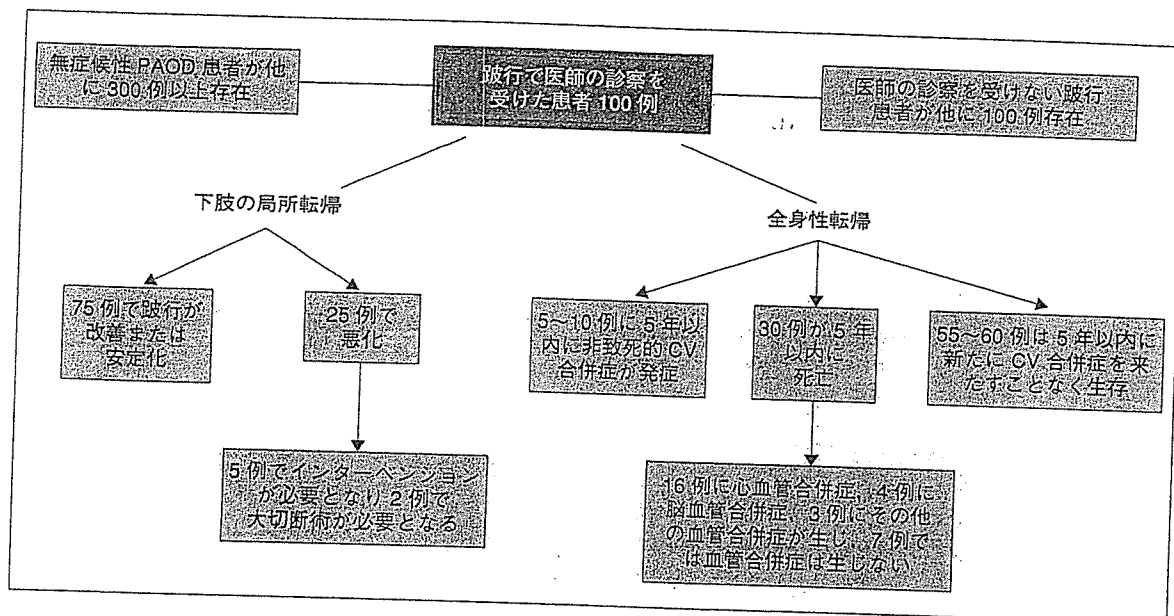


図1 跛行患者の5年間の経過

(文献 | 日本語訳：日本脈管学会編：下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針 日本語版，p.21，2000より引用)

低い。また、重症下肢虚血をきたすような血管は動脈硬化が高度で、血管形成術やバイパス手術の適応にならないことも少なくない。このような重症例に対しては血管新生療法 (therapeutic angiogenesis²⁾) が考慮されることになる。

□ 閉塞性動脈硬化症の早期発見

動脈硬化を原因とする疾患として、閉塞性動脈硬化症以外に心筋梗塞などの冠動脈疾患、脳梗塞などの脳血管疾患などさまざまな循環器疾患があげられる。心筋梗塞や脳梗塞が生命に関わるような重篤な疾患であるのに対し、閉塞性動脈硬化症は主に quality of life へ関与するため、その早期発見に対する医療従事者の関心は、冠動脈疾患などのそれに比べて低い。

閉塞性動脈硬化症の大部分は、Fontaine II度の間歇性跛行患者で占められる。Fontaine II度の閉塞性動脈硬化症が進行し、下肢血管に対する血行再建術や下肢切断術が必要となってくる確率は5年間で10%以下である。一方、これらの患者が、冠動脈疾患や脳血管疾患で死亡する確率は20%以上と比べて高い (図1)¹⁾。すなわち、閉塞性動脈硬化症患者の早期発見は、閉塞性動脈硬化症の進展阻止よりも、むしろ他の心血管合併症を阻止す

る意味において重要である。また、Fontaine I度の無症状患者は、間歇性跛行例の3倍以上存在し (図1)¹⁾、潜在する無症候症患者をいかに見つけるか大きな課題といえる。

□ Vascular Lab

バスキュラーラボ (vascular lab：血管検査室) は、血管疾患の診断を行うためのさまざまな無侵襲検査装置を集約した検査室である。診断装置には四肢血圧脈波測定装置、末梢血管診断装置 (バソガード)、超音波診断装置、近赤外分光法、トレッドミルなどがある。DSAやCT-angiographyなどの診断法との大きな違いは、血管疾患の画像診断だけでなく、血管の機能評価も行える点にある。

1. 上腕・足関節血圧比 (ABPI)

上腕・足関節血圧比 (ankle-brachial pressure index：ABPI) は、上肢と下肢の収縮期血圧の比から末梢動脈病変の有無を推定する基本指標である。四肢血圧脈波測定装置、末梢血管診断装置 (バソガード)、ドプラ血流計などを用いて測定する。上肢収縮期血圧は上腕動脈または橈骨動脈で、下肢収縮期血圧は足背動脈または後頸骨動脈で求め、下肢血圧の上肢血圧に対する比を算出する。

0.9未満を異常値とするが、ABPIの低下は早期より認められるため、無症状例の早期発見に有用である。閉塞性動脈硬化症に対するABPIの診断感度と特異度はともに90%を超えるとされているが、慢性透析症例などでは血管が高度に石灰化しているためABPIが低下しない(下肢血圧が高値となる)ので、その評価には注意を要する。

2. 血管超音波検査

血管超音波検査は末梢動脈疾患の早期診断にもっとも有用な検査の1つである。無侵襲なので繰り返し施行することが可能である。血管の断層像、血流速度、血流波形などから病変の有無や重症度を判断する。最近の機器では、カラードプラ法を用いることによって、きわめて良好に血流を描出可能であり、病変の検出率向上につながっている。本法の欠点は、その診断精度が術者の技量に大きく依存する点にある。術者の育成に加え、学会などによる検査法の標準化が急務といえる。

3. 近赤外線分光法

近赤外線分光法 (near infrared spectroscopy: NIRS) は、酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの相対変化を測定することで虚血の有無を判定する検査法である。下肢の任意の部位における虚血判定が可能であること、トレッドミルによる歩行負荷時の虚血判定や、負荷後における虚血からの回復過程を経時的に観察可能なことなどが特徴である。たとえば、前述したABPIは閉塞性動脈硬化症に対して優れた診断感度と特異度を有する。しかしながら、安静時に下肢の血圧低下を呈さないような軽度狭窄病変例や、石灰化の高度な慢性透析例などでの診断には無効なことがある。NIRSは、歩行負荷などを加えることによって軽症例の診断に有用であり、また、マンシユットを必要としないため、高度石灰化例に対する診断にも有用である。

□ 微小血管造影法の早期発見への応用

新エネルギー産業技術総合開発機構 (NEDO) の支援のもと、浜松ホトニクス (株) を中心に、

NHK エンジニアリングサービス、国立循環器病センター研究所、東海大学医学部などが協力して、病院設置型の微小血管造影装置を開発した。通常の血管造影装置は直径200 μ m程度の血管までしか描出できないが、本造影装置は高出力のX線源と高感度のハイビジョン撮像系との組み合わせにより50 μ m程度の微小血管までの描出を可能としている。

本装置は2004年に国立循環器病センターに移設され、血管新生療法の施行患者を対象にすでに臨床応用されている³⁾。また、糖尿病性微小循環障害の診断に対する臨床応用も始まった。本装置は近い将来、微小血管レベルにおける動脈硬化の新しい画像診断法として用いられる可能性を秘めている。微小血管レベルにおける動脈硬化の進行が、閉塞性動脈硬化症の早期診断においてどのような意味を持つのかは、今後の検討課題である。

おわりに

閉塞性動脈硬化症は quality of life への影響は大きいものの、生命予後に対する影響は小さい。その生命予後は、合併する動脈硬化性疾患によって規定されていると言ってよい。閉塞性動脈硬化症の早期発見によって、動脈硬化の危険因子コントロールを早期に行い、虚血性心疾患や脳血管疾患の予防へと結びつけることが肝要である。

文献

- 1) Dormandy JA, Rutherford RB: Management of peripheral artery disease (PAD). TASC Workig Group. J Vasc Surg 31: S1, 2000
- 2) 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
- 3) 知久正明, ed: 微小血管の描出, メディカ出版, 大阪, 2005. 松尾 汎, ed: Vascular Lab 増刊 血管検査マニュアル

特集
循環器疾患の
画像診断
up to date

モダリティの進歩と話題の検査法

微小血管造影 —新生血管描出への応用—

国立循環器病センター心臓血管内科医長

竹下 聡
Takeshita, Satoshi

日本大学医学部附属板橋病院循環器内科

知久 正明
Chiku, Masuaki

Microangiography-visualization of collateral development-

KEY WORDS

微小血管造影/血管新生

はじめに

従来型の血管造影装置の解像度は200~300 μ mにしかすぎず、これを用いて血管新生療法後の新生血管を描出するのは困難である。なぜなら、血管新生療法により新生する血管は直径100 μ m以下の微小血管が主体であると考えられるからである^{1)~3)}。放射光を用いた微小血管造影により、直径20~50 μ m前後の微小血管を描出可能であるが、放射光を発生させるには巨大な放射光施設が必要である。たとえば、播磨科学公園都市(兵庫県)にあるSPring 8の周長は1,436mであり、放

射光を用いた微小血管造影装置を病院に設置することは現実問題として不可能なのである⁴⁾。

そこで、われわれは病院設置型微小血管造影装置を開発した。本稿では、この新しい造影法について概説する。

微小血管造影装置の概要

従来、血管新生療法後の微細な血管網の発達を評価するには、digital subtraction angiography (DSA)が用いられてきたが⁵⁾、その解像度は200 μ m程度とされており、100 μ m以下の微小血管を描出することは困難である。

血管新生療法後の微細な血管網の変

主な略語

DSA :
digital subtraction angiography

CARDIAC PRACTICE
VOL.17 NO.4

CARDIAC PRACTICE 63 (387)

従来は血管造影では直径100 μ m以下の微小血管の描出は困難である。

化を描出するには、微小血管に含まれるわずかな造影剤を検出する必要があり、X線が高輝度で、平行かつ単色であること、また、検出系は高感度・高解像度であることが必須条件となる。血管造影によって描出される血管像とは、血管壁と造影剤との吸収係数の差が写真用フィルム面に投影されたものである。しかし、X線の一部は人体組織に吸収・減衰されるため、検出系前面における単位面積あたりのX線光子量が減少すると撮像像が劣化する。十分にコントラストのある画像を得るには高輝度のX線が必要となる。放射光施設のX線は一般撮影のX線発生装置の100倍以上の高輝度で、一部が被写体に吸収されても検出系には十分な光子数を残すことが可能である。しかしながら、このエネルギー量をもつX線を作ることは一般施設では不可能である。そこでわれわれは、病院設置型微小血管造影装置のX線源として、大容量・大出力を有するCT用X線管を改変して用いることとした。

血管造影にはヨード含有造影剤が使用されるのが一般的であるが、ヨードは33.3 KeVのエネルギーレベルでK吸収端と呼ばれる質量吸収係数が不連続に上昇する性質がある。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付近に単色化すると、ヨードと周囲組織との質量吸収係数の差が最大となるので、コントラストの高い画像を得ることができる。実際には金属

フィルターを用いて疑似単色化することにより、33.3 KeV(ヨードのK吸収端)前後に10 KeVのバンド幅をもつ疑似単色X線を得ることが可能となる。

病院設置型微小血管造影装置の撮像系は高解像度・高感度の蛍光板(浜松ホトニクス製)と、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カメラ(NHK製)により成り立っている。蛍光板の役割は、X線透亮像を可視光線に変換しグリーン光を発生することにある。われわれが用いた蛍光板は蛍光体のみを堆積して作製してあるため、膜厚が薄く光の拡散が小さいという特徴を有する。これは一般の蛍光板に比べ、高解像度化が可能という利点につながる。また、不純物を含まない高密度と微細な柱状結晶構造は減光を大幅に削減し、高感度を保つことが可能となる^{3,4)}。撮像管の光伝導膜はアバランシェ効果により信号増倍を定常状態の600倍まで増倍可能であり、さらに、増倍に伴う雑音が付加されないという特徴も有している。

テストチャートを用いた解像度の検討では、既存の血管造影装置が250 μ mであったのに対し、微小血管造影装置では50 μ mと高解像度が実現できた。イヌの冠微小血管の描出に関する実験では、既存の血管造影装置を用いると血管端が不明瞭で、分岐に伴う血管径の減少を確認できなかったが、微小血管造影装置を用いると、心筋貫通枝の血管径が分岐のたびに減じていく様子

が詳細に観察可能であった。ウサギの下肢虚血モデルを用いた実験では、既存の血管造影装置では小血管の描出が不良であったのに対し、微小血管造影装置ではアデノシン投与後に100 μ m以下の微小血管が拡張する様子が鮮明に観察可能であった(図1)。

微小血管造影装置の安全性に関しては、管電圧70kV、管電流500mAで20秒照射した場合、吸収線量は0.547Sv(62.7R)、散乱X線量は0.0225mSv(2.58mR)であり、通常の造影装置と同等の被曝安全性が期待された。

微小血管造影装置の臨床応用

当施設における微小血管造影装置の臨床応用は、血管新生療法の施行症例に限定しており、これまでに計4名に対し合計8回の微小血管造影を施行した。

微小血管造影装置により、100 μ m以下の微小血管を鮮明に描出することが可能となり、通常のDSAと比較すると、少なくとも1~2分枝以上の末梢側血管が描出可能であった(図2)。1ヵ月~1年の間隔において施行したフォローアップ造影における微小血管の再現性は良好であった。なお、1回の検査における吸収線量は24mGyと臨床上問題のない線量であった。

以上のように、微小血管造影装置は従来の血管造影と同等の安全性を有し

● 病院設置型微小血管造影装置は直径50 μ mの微小血管の描出が可能である。

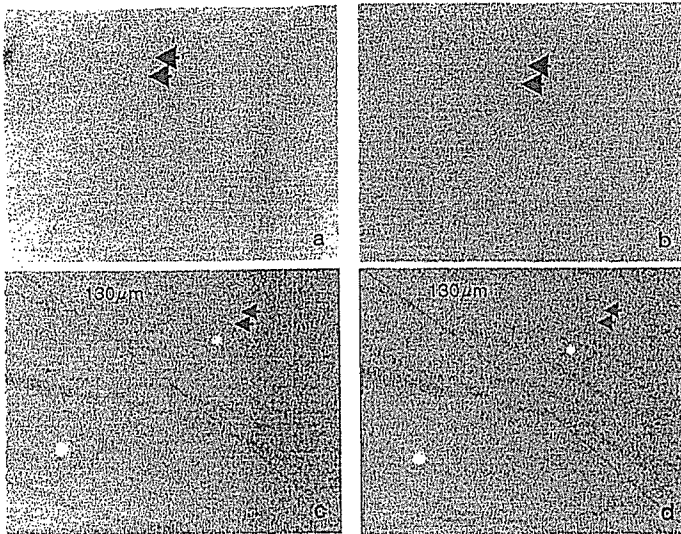


図1 従来の血管造影法と微小血管造影法による家兎の下肢側副血行路の比較

従来法では、アデノシン投与前(a)と投与後(b)のいずれでも側副路の描出は不可能である。しかし、微小血管造影法では側副路が明瞭に描出され、アデノシン投与後(d)では投与前(c)に比べ著明な拡張が認められる。

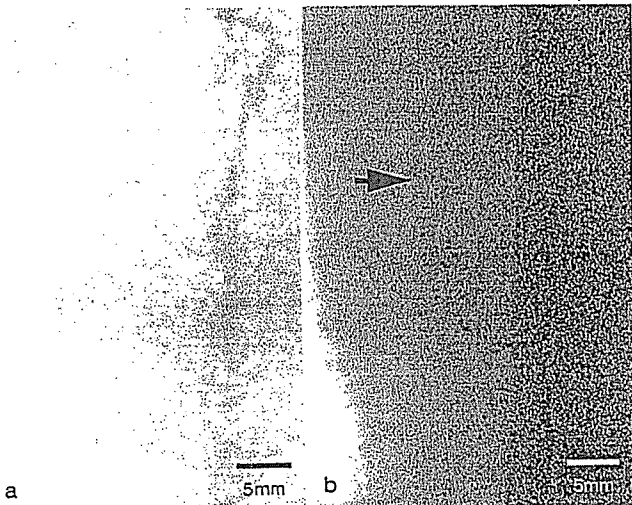


図2 バージャー病症例での微小血管造影

従来法によるDSAでは下肢血管はほとんど描出されないが(a)、微小血管造影法を用いると、そのような領域にも血管が存在することが確認可能である(b)。

ており、その血管描出能は通常装置に比し優れていることは明白である。造影検査を繰り返して施行し得た症例における微小血管の再現性も良好で、血管新生療法前後における新生血管の評価に関しても、本装置を用いることにより、既存の装置では得られない微小血管レベルでの評価が可能と思われる。

おわりに

病院設置型微小血管造影装置を用いることにより50 μ m前後の微小血管が観察可能であり、その安全性や再現性についても臨床上問題はなかった。末梢動脈閉塞症に対する血管新生療法により、微小側副血管がどのように発達促進するのか、その解明には今後の症例の積み重ねが必要である。

●文献

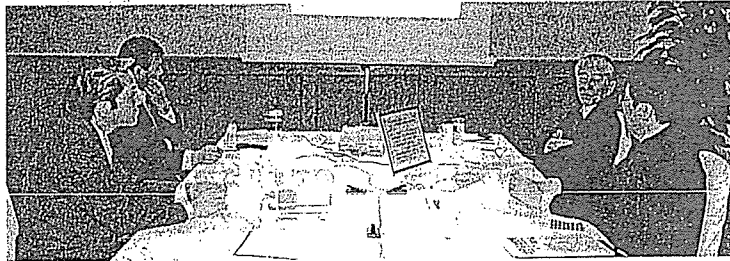
- 1) Mori H, Hyodo K, Tobita K, et al : Visualization of penetrating transmural arteries *in situ* by monochromatic synchrotron radiation. *Circulation* 89 : 863-871, 1994
- 2) Takeshita S, Isshiki T, Mori H, et al : Use of synchrotron radiation microangiography to assess development of small collateral arteries in a rat model of hindlimb ischemia. *Circulation* 95 : 805-808, 1997
- 3) Takeshita S, Isshiki T, Ochiai M, et al : Endothelium-dependent relaxation of collateral microvessels

特集 循環器疾患の
画像診断
up to date

- after intramuscular gene transfer of vascular endothelial growth factor in a rat model of hindlimb ischemia. *Circulation* 98 : 1261-1263, 1998
- 4) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators : Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells ; a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 360 : 427-435, 2002
- 5) Tanioka K : A highly sensitive camera tube using avalanche multiplication in an amorphous selenium photoconductive target. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 1656 : 1-12, 1992
- 6) Kubota M, Kato T, Suzuki S, et al : Ultrahigh-sensitivity new super HARP camera. *IEEE Trans Broadcasting* 42 : 251-258, 1996
- 7) Umetani K, Ueki H, Takeda T, et al : High-spatial-resolution and real-time medical imaging using a high-sensitivity HARPICON camera. *J Synchrotron Radiat* 5 : 1130-1132, 1998
- 8) Tanioka K, et al : Ultra-high-sensitivity New Super-HARP Pickup Tube. *IEEE Workshop on CCD and Advanced Image Sensors*, 2001

座談会

ナノメディシン・プロジェクト —厚生労働省指定型ナノメディシン・ プロジェクトを中心に—



【写真左より馬場嘉信先生，盛 英三先生，菅 弘之先生，杉町 勝先生】

出席者（発言順）

菅 弘之	国立循環器病センター研究所/司会
盛 英三	国立循環器病センター研究所心臓生理部
馬場 嘉信	名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻応用化学分野
杉町 勝	国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部

■ はじめに；厚生労働省指定型ナノメ ディシン・プロジェクトの概要説明

菅 本日は「ナノメディシン (nanomedicine)・プロジェクト」というテーマで厚生労働省指定型ナノメディシン・プロジェクトを中心に、このプロジェクトに深くかかわっていらっしゃる先生方にお集まりいただき、お話を伺いたいと思います。

まずはじめに、「ナノメディシン・プロジェクト」の概要について説明いたします。ナノメディシン・プロジェクトは、2002年（平成14）年から5年間の予定で、厚生労働科学研究萌芽の先端医療技術推進研究として開始されました。指定型研究と公募型研究からなり、指定型研

究では、国立高度専門医療センター（循環器病，がん，精神神経，成育医療，国際医療），国立医薬品食品衛生研究所，財団法人医療機器センターなどの厚生労働省関係機関や大学，民間企業などの研究者が積極的に産学官連携をし，研究をおこなっています。そして，そのプロジェクトリーダーを私が務めさせていただいております。

プロジェクトは，本日まで参加いただいている盛英三先生が中心となっておこなっている超微細画像（ナノイメージング），杉町勝先生が中心となっておこなっている微小医療機器・操作技術開発（ナノデバイス），そして国立国際医療センターの山本健二先生が中心となっておこなっている薬物搬送システム（drug delivery system：DDS），馬場嘉信先生が研究協力者としてご参加されて



国立循環器病センター研究所長/
厚生労働省指定型ナノメディ
ン・プロジェクトリーダー

すが・ひろゆき
1941年、岡山県生まれ。
1960年、岡山朝日高等学校卒業。
1966年、岡山大学医学部医学科
卒業、医学士。
1970年、東京大学大学院医学系
研究科博士課程修了、医学博士。
東京医科歯科大学医用
機材研究所生体計測講座助手。
1971～1973年、米国留学 Johns
Hopkins 大学医学部生体工学教
室 Postdoctoral Fellow。
1975～1978年、米国留学 Johns
Hopkins 大学医学部生体工学教
室 Assistant Professor。

1978～1982年、国立循環器病センター研究所心臓生理学室長。
1982～1991年、同研究所循環動態機能部長。
1991～2000年、岡山大学医学部生理学第二講座教授。
2000年より現職。
専門：循環生理学、とくに心臓生理学および医用工学。なお、ナノメ
ディン関連では、拍動心臓内のクロスブリッジ動態のX線回折研究。
研究テーマ：心臓力学および心臓エネルギー学の統合的分析。
趣味：旅行、ドライブ、電気電子工作。
好きな言葉：初志貫徹、余人をもって代え難し、など。
E-mail : hsuga@ri.ncvc.go.jp
Emax & PVA Club HP : <http://www.eonet.ne.jp/~emaxpva/>

おり、医療機器センターの長谷川慧重先生が中心とな
っておこなっている基盤データベース研究・技術評価の4
本の柱からなっています。スタート時より府省連携、省
庁横断、医工連携、産学官連携などの方針に沿って進め
ております。

プロジェクトは現在5年目です。2006年度いっぱい
で、この指定型研究はひとまず終わりを告げますが、2006
年度から第3期科学技術基本計画にも沿ってプロジェク

トを進めております。

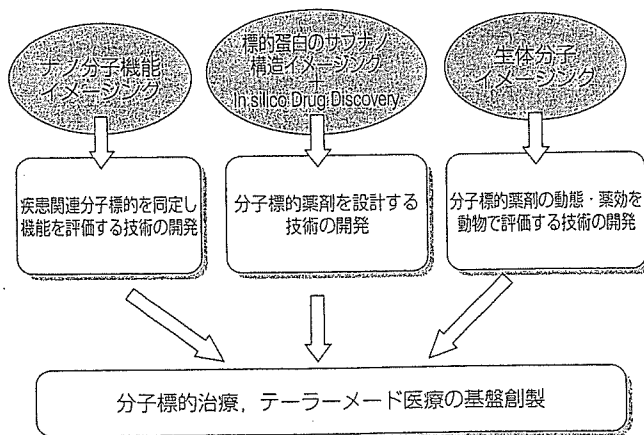
■ ナノイメージングの目的、進捗状況、 具体的成果

1) 分子標的治療の基盤としてのナノレベルイメー ジング

菅 先生では、まず、盛先生から「ナノレベルイメー
ジングによる分子の機能および構造解析」についてご説
明ください。

盛 先生われわれの研究テーマは「ナノレベルイメー
ジング」というものです。ナノレベルイメージングをいい
かえますと「蛋白分子の超微細画像技術」となります。
この蛋白分子の超微細画像技術、これは機能と構造の両
面をもっておりますが、これを中核として、将来求めら
れている分子標的医療の基盤技術を創製しようというも
のです。このなかに含まれるものは、蛋白分子の構造イ
メージング、蛋白分子の機能イメージング、そして、大
動物を用いた分子イメージングが包含されています。

図①に示すように、個別にみていきますと、1番左のナ
ノ分子機能イメージングでは、分子の機能を可視化する
ことによって疾患関連分子を治療の標的として同定する
ことを目的とします。そして、標的蛋白のサブナノ構造
イメージングと、*in silico* のドラッグディスカバリーを
組み合わせますと、分子標的薬剤を設計する基盤技術が
できます。このようにしてつくられてきた分子標的薬剤



図① 分子標的治療、テーラーメイド医療の基盤創製
(盛英三先生よりご供与)

を大動物レベルで検証する技術が生体分子イメージングです。これらの3つの基盤技術を融合させることで、分子標的治療、あるいはテーラーメイド医療の基盤をつくらうと考えています。

本日は、分子構造イメージングを中心に説明させていただきます。分子標的薬剤の例として挙げますのは、ノバルティスファーマ株式会社が開発した、慢性白血病の治療薬グリベック®です。慢性白血病では、白血球において、ATPのリン酸基が特定のチロシン残基をリン酸化することによって基質の活性化がおこなわれます。このシグナルが下流に伝達されていくことによって、白血球の白血病化が起こります。

グリベック®は、チロシンキナーゼのATP結合部位に構造特異的に設計されており、選択的に白血病発症にかかわるチロシンキナーゼに結合します。これによってATPが結合による基質のリン酸化が起らなくなり、白血球の白血病化が阻止されることとなります。このような構造特異的にデザインされた薬剤は標的蛋白に特異的に結合しますので、副作用が少なく、効率のよい治療効果をもつことが知られています。

2) 薬剤設計の基盤となる分子構造イメージング

盛 醫われわれは、基本疾患関連の標的となる蛋白の構造をまず解析し、その活性中心の構造に適合する薬剤を設計するという通じて、分子標的治療薬の開発に資するようにしたいと考えています。その1例として、心筋の収縮の調節をしているトロポニンの構造と、その構造から導かれる創薬の可能性について説明します。

本誌特集の私の稿にある図(p.18 図⑥)は、われわれの分担研究者である武田壮一研究員が3年ほど前に“Nature”誌に発表したトロポニンのコアドメインの構造です。トロポニンCは3つのドメインからなっています。図の赤い部分が収縮全体を調節しているトロポニンCと呼ばれる部分、黄色い部分がトロポミオシンに結合するトロポニンT、そして青い部分がトロポミオシンをアクチンフィラメントに結び付けているトロポニンIというドメインです。

この図は、カルシウム(Ca²⁺)が結合していわゆる興奮状態にあるトロポニンのコアドメインの構造です。ト



もり ひでぞう

国立循環器病センター研究所心臓生理部長/厚生労働省指定型ナノメディシン・プロジェクト ナノイメージング主任研究者

もり・ひでぞう
慶應義塾大学医学部卒業。
慶應義塾大学大学院医学研究科修了。
慶應義塾大学医学部・助手、国立埼玉病院循環器科医長、東海大学医学部講師・助教授を経て、国立循環器病センター研究所心臓生理部長(2000年10月)、大阪大学大学院医学系研究科招聘教授、東海大学医学部非常勤教授を兼務(2004年4月)。
研究テーマ：微小循環、再生医療、ナノメディシン。

ロポニンIの一部がトロポニンCに結合しています。この状態では、このトロポニンIのアクチンフィラメントに対する抑制作用がとれていますので、アクチンフィラメントとミオシンの滑り運動が始まっている状態の構造を示しています。Ca²⁺センシタイザー(calcium sensitizer)と呼ばれているいくつかの薬剤が知られています。これらの薬剤がトロポニンに結合すると、心筋ファイバーのCa²⁺—張力関係が左側にシフトします。すなわち、Ca²⁺感受性の亢進が起こることが知られています。

この複合体の構造を詳細にみてみます。トロポニンCにCa²⁺センシタイザーが結合するとトロポニンCが開いた構造をとり、トロポニンIが結合しやすくなります。すなわち、トロポニンIによるアクチンフィラメントの滑り運動の抑制機構が外れやすくなるということになります。

このようなメカニズムでCa²⁺感受性の亢進が起こるわけですが、このように原子レベルでの複合体の構造がわかってくると、Ca²⁺センシタイザーがトロポニンCのどのアミノ酸残基と相互作用を起こしているのかを調べることがもできます。従来のCa²⁺センシタイザーの問題点は、トロポニンCに選択的に結合するだけではないということです。フォスフォジエステラーゼやカルモジュリンなど、ほかの蛋白ともこれらの薬剤が結合してしまうということでした。これは、見方を変えれば、作用が特異化されていない、すなわち副作用を起こしやすいという原因になっているわけです。蛋白構造に基づいて薬剤設計をすれば、トロポニンCだけに選択的に結合する薬剤の設計ができる可能性があります。すなわち、低Ca²⁺



佐藤 賢二

名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻応用化学分野/厚生労働省指定型ナノメディスン・プロジェクト 基礎データベース作成研究協力者

ばば・よしのぶ
1958年、熊本県生まれ。
1977年、熊本県立人吉高等学校卒業。
1981年、九州大学理学部化学科卒業。
1986年、九州大学大学院理学研究科化学専攻博士課程修了。
日本学術振興会特別研究員。
大分大学教育学部助手。
1988年、大分大学教育学部講師。
1990年、神戸女子薬科大学薬学部講師。

1996年、神戸薬科大学薬学部助教。
1997年、徳島大学薬学部教授。
2002年、産業技術総合研究所単一分子生体ナノ計測研究ラボ長併任。
2004年、名古屋大学大学院工学研究科教授。
2005年、産業技術総合研究所健康工学研究センター副センター長(バイオナノ研究統括) 併任。
現在に至る。
専門：応用計測化学、マイクロ・ナノ科学。
研究テーマ：次世代バイオナノデバイスの創成、テーラード医療、1分子・1細胞操作。
ナノバイオテクノロジーが医学に貢献できるような研究分野に育っていくことを夢見ています。
研究室 HP : <http://www.apchem.nagoya-u.ac.jp/III-2/baba-ken/index.html>

で収縮を高めることができる理想的なCa²⁺センサライザーの設計に道を開く可能性があると考えています。

トロポニンの構造解析は肥大型心筋症(HCM)、拡張型心筋症(DCM)といわれる難治性の心筋の治療法開発につながる可能性があります。これらの疾患は患者さんをしばしば心臓移植に追い込むことで知られています。HCMでは、トロポニンに遺伝子異常が高頻度に認められるということも知られています。HCMの変異トロポニン蛋白をつくり、それを導入したスキンドファイバーでCa²⁺—張力関係を調べてみますと、Ca²⁺感受性の亢進、すなわち、Ca²⁺—張力関係の左方へのシフトが生じます。一方、収縮力の低下で知られるDCMのミュータントを導入しますと、右方シフト、すなわちCa²⁺感受性の低下を起こす方向に、このCa²⁺—張力関係が移動します。

これらのCa²⁺感受性の異常が心筋症の発症と密接にかかわっているものだとすると、これらの変異蛋白の構造を補正するような薬剤、変異蛋白に特異的な薬剤を設計すれば、HCMにおける異常な心筋肥大を正常な心筋の状態に戻すという夢のような治療の開発も夢ではない

のではないかと考えています。

次の例として、細胞膜にあり、ナトリウムイオンと水素イオンを交換しているイオン交換輸送体の制御因子の構造解析の結果について説明します。ソディウム・プロトン・エクスチェンジャー(sodium-proton exchanger/sodium-hydrogen exchanger : NHE)は細胞膜にあり、細胞中の水素イオンをくみ出すことにより、細胞内のイオン環境をアルカリ性に傾いた方向に保つ役割があります。NHEがはたらくためには、その細胞内ドメインにカルシニューリンBホモログス・プロテイン(calcineurin B homologous protein : CHP)が結合する必要があります。この物質が結合して初めて、このナトリウムとプロトンの交換機序がはたらきはじめるのです。

このCHPにはさまざまなアイソフォームが知られています。CHP1はさまざまな組織に存在しています。一方、CHP2は癌細胞に特異的に発現します。細胞内のイオン環境がアルカリ性に保たれると細胞増殖が誘導されます。ですから、このCHP2に特異的に結合するような薬剤を開発し、このNHEのはたらきを制御することで、癌の増殖を抑制できる可能性があると考えています。

本誌特集の私の稿にある図(p.16図④BC)は、われわれが構造解析したCHP2とNHEの細胞内ドメインの複合体の細胞とX線回折像です。NHEの細胞質ドメインの一部がCHP2にはまり込む構造を確認しました。この構造に特異的に結合する薬剤を開発することができれば、CHP2がNHEと結合できなくなることを通じて、NHEのイオン交換作用を癌細胞で特異的に制御することができます。すなわち、その癌細胞の増殖を抑える可能性がみえてくるわけです。

次に、ADAMファミリー蛋白と非常に相同性をもった蛇毒の構造解析の結果を紹介します。これらの構造解析から、血管内皮のアポトーシスのメカニズム、あるいは血栓形成のメカニズムについて大きな進展が得られる可能性があります。また、このほかにも6本のαヘリックスから構成されるBAR(Bin-Amphiphysin-Rvsp)ドメインという構造をもった蛋白質群を3つの構造を解析しています。

3) 分子機能イメージング

盛 分子機能イメージングの紹介に移ります。サイクリック AMP を介して血管内皮細胞の細胞間接着が増強されるメカニズムとして、従来はプロテインキナーゼ A を介した機構が知られているだけでした。国立循環器病センター研究所循環器形態部の望月直樹先生のグループは、FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) と呼ばれる、細胞内の分子を可視化する方法を用いてサイクリック AMP を介した新たな細胞間接着の増強メカニズムを示しました。

FRET 現象が陽性の部分、Rap1 と分子の活性化を可視化することに成功しました。細胞の接着部位で選択的に Rap1 が活性化されていることが、この FRET イメージングでわかりました。つまり、従来のプロテインキナーゼ A を介した経路のほかに、Rap1 を介して細胞間接着が増強されるというメカニズムを示すことができました。

これらの機能イメージングの総括から、Rap1 を標的とした細胞間接着の増強作用をめざした治療、たとえば、肺水腫に対する血管透過性の治療などを制御するような治療法が生まれてくる可能性があります。

生体分子イメージングにつきましては、PET (positron emission tomography) を用いて、開発された薬剤の動態を大動物で調べる、あるいは大動物レベルでその分子メカニズムを可視化するということによって、いわゆる前臨床研究の面で創薬に役立つイメージング研究ができるのではないかと考えています。

このように、分子機能イメージング、構造イメージング、生体分子イメージングの3つをあわせて推進することによって、分子標的治療、テーラーメード医療の基盤創製に資するものと考えます。

菅 ありがとうございます。何か、ご質問などありますでしょうか。

馬場 最初の構造イメージングのところですが、あれはやはりシンクロトロン放射光のような光でなければできないのでしょうか。

盛 蛋白質の結晶をつくり、シンクロトロン放射光を用いた X 線回折法によって構造解析をするというのが主流だと思います。

最近では、核磁気共鳴法を用いた構造解析法も可能になってきました。この方法の場合には、分子量が2万ですとか2万5千ぐらいのものが上限になります。大きな蛋白質の構造解析や、あるいは複合体の構造解析などでは、核磁気共鳴法は放射光を使った結晶構造解析法にまだ一歩劣るところがあるのではないかと考えています。

杉町 やはり複合体の結晶をみるというのが、かなり大事なのですね。

盛 創薬をするうえでは、複合体の結晶をみることが大事です。一部の蛋白質は非常に硬い構造をしていますので、複合体をつくってもつくらなくてもあまり形が変わらないというものがあります。ところが、先ほど紹介したような、Ca²⁺センシタイザーが結合するカルモジュリンなどの蛋白質は非常に柔らかい構造をしています。リガンドに対して自分自身の形を変えろという特性をもっています。このようなことを考えますと、やはり複合体の構造解析はどうしても必要になると思います。

菅 これは国際的な競争力という観点では、わが国は今どのくらいの位置にいるのでしょうか。

盛 米国では「蛋白 5000」、わが国では「蛋白 3000」という、網羅的に蛋白質の構造を解析しようというプロジェクトが動いています。これらは医療応用に特化していません。ヒト以外の蛋白質や疾患に関連していない蛋白質も対象となります。われわれのプロジェクトは、医療機関のなかで疾患に関連した蛋白質を標的にして構造解析を試みています。このような研究活動は国内にはほとんどないでしょうし、海外でもそれほど数があるとは思えません。医療に特化した構造解析、構造に基づく創薬という意味では、まだ十分闘う条件が残っているのではないかと思います。

菅 ありがとうございます。

■ ナノデバイス (バイオニック) の目的、進捗状況、具体的成果

菅 図では、次は「ナノデバイス (バイオニック) の目的、目標、進捗状況、具体的成果の説明」を杉町先生、ご解説いただけますでしょうか。



杉町 勝先生

国立循環器病センター研究所先進
 医工学センター循環動態機能部
 長/厚生労働省指定型ナノメディ
 シン・プロジェクト ナノデバイス
 主任研究者

すぎまち・まさる
 1959年、佐賀市生まれ。
 1984年、九州大学医学部卒業。
 1992年～、国立循環器病センター
 研究所・血行動態研究室長。
 2004年～、同循環動態機能部長。
 現在に至る。
 専門：循環器内科、生体医工学。
 研究テーマ：循環バイオニック医
 学。

1) ナノデバイス治療の必要性

杉町 図実は治療に使うようなデバイスというのは、形としてはナノにはなりようがありません。ですから、そのなかに使われている技術としてナノテクノロジーを使っていこうということがナノデバイスの1つの方向性です。

ナノを押し進めるにあたって、厚生労働省として何を目標に進めていくかは、やはり医療に結びついていくものだろうと思います。そういった意味で、われわれは、最終的には疾患の治療に使える、できる限り小さなデバイスをつくることだと思います。そして、そのなかにナノテクノロジーで開発した技術を入れていくことをめざしています。

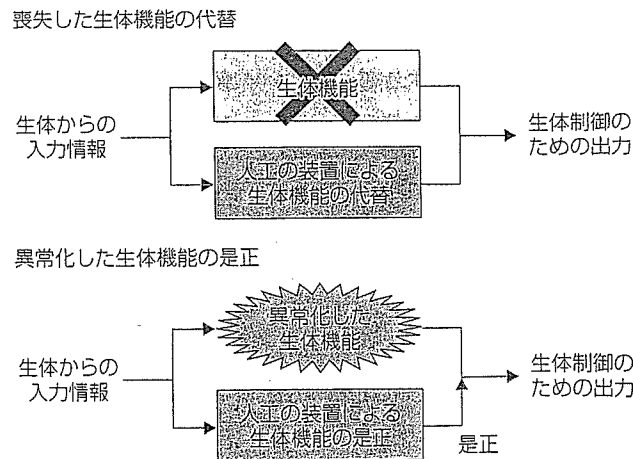
なぜデバイス治療が必要かといいますと、重症慢性疾患の治療には、薬に加えて、治療機器を植え込んで長期間持続的な治療をおこなうことが必要になるであろうということが、1つのポイントです。

2番目は、このような植え込み機器はできるだけナノデバイス化したほうが侵襲が少なくなるわけですが、その実現に必要な技術として、できる限り小さい回路で通信を効率的におこなうということ、また生体燃料電池などを用いた電源の小型化の問題があります。そして、わが国が得意とする半導体技術の応用として、回路のできる限りの微小化、省電力化もポイントとなってきます。さらにそれらに加えてどんな治療をおこなうかということもポイントになってきます。これは、植え込み治療機器を植え込んでしまうと勝手に作動するわけだから、ある程度、自動的あるいは自律的な治療の論理が必要であるということです。

2) バイオニック治療論理

杉町 図実は、この自律治療ということの論理をわれわれは以前から開発しており、「バイオニック治療論理」と名づけています。たとえば、起立性低血圧がひどい方で、起きるだけで血圧が下がってしまうという方の血圧安定化、あるいは慢性心不全の調節異常というものを是正する、などの治療ができるようになります。

現在は、ペースメーカーのようなかたちで心臓から



図② バイオニック医学
 (杉町勝先生よりご供与)

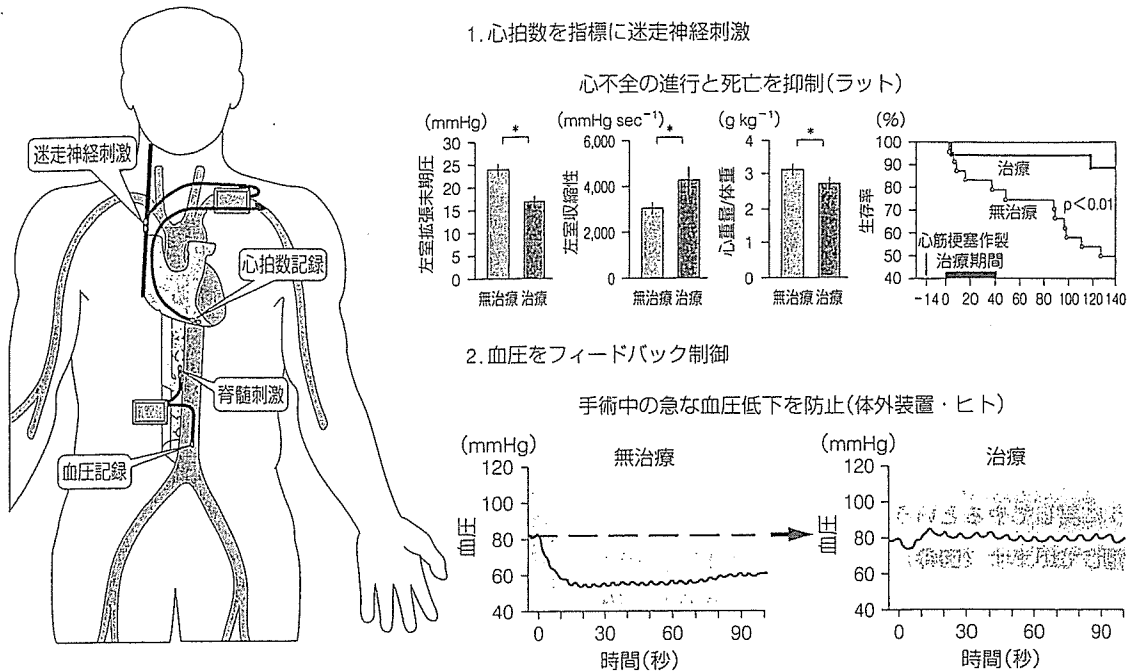


図3 ナノ化すべきデバイス；循環治療バイオニックデバイス (杉町勝先生よりご供与)

データを取り神経を刺激する、あるいは血圧を測定して脊髄を刺激するといったものをつくっている段階です。まず、迷走神経を刺激することによって慢性心不全の調節異常を改善するという方法では生存率の飛躍的な改善がみられておりますし、また、血圧を感知して脊髄を刺激するという方法では、たとえばヒトでも、手術中に血圧をピタリと安定させるということができています(図2)。

3) ナノデバイスの開発状況

杉町 図 これらに必要な技術として、われわれは東北大学大学院工学研究科の西澤松彦先生と共同で生体燃料電池を開発しておりますが、燃料電池でも、生体の材料だけを使うということをめざしています。そうしますと、基本的には酵素ですので、体温で動きます。これは容易に想像できることですが、グルコースを酸化して電力を得るということなのです。

ある程度の電力の確保の見通しが立ってきたので、現在、さらに改良を進めているのですが、問題は起電力がやや低いということ、また、やはり電極が小さいので、

非常に内部抵抗が大きく、電流が取れないということですから。当然、酵素の安定性などということも問題になってきます。ところが、こういったものは通常の電池の溶液を入れる部分がなくて良いので、実際のところ、非常に小型化はできるはずだと考えています。

次に、通信に関しましては、最近、携帯電話などで使われている周波数拡散通信というものをもっと高度にしたUWB(Ultra Wide Band)通信を今後使う予定にしています。これを使いますと、電力が少なくてすみ、隣りに同じような通信があっても干渉せず、そして情報がたくさん伝えられる、という3つの特徴があります。

生体内では電波を容易に吸収するという問題、あるいは、生体内のいろいろな境界領域で反射が起こるという問題がありましたが、検討した結果、5cm程の距離であれば通信できますので、たとえば心臓と神経の間といったように、ある程度の距離の通信は可能であろうという見通しが立っています。

また、回路自体をどのようにして小さくしていくかですが、先ほどの電池の技術と通信の技術ができれば、ペースメーカーなども回路自体はある程度小さくできるとい

う見通しが立っています。カスタムメイドでなく既存のものでも約7mm角ぐらいにはできると考えています。最近はやりの心臓再同期療法もこれで可能となり、好きなところにペースメーカーを置き、ペーシングができるということが、できるようになるだろうと思います。

治療論理に関しては、先ほどいいましたが、生体自体も自分自身から情報を得て、それに応じて調節をしているわけですが、たとえば、起立性低血圧の場合には、生体機能がはたらかないという点を人工の装置で代わりにおこなう装置、逆に、慢性心不全のような場合には、生体機能はありますが異常になっているので、ある程度正常のほうに戻してやるということを自動的におこなう装置を開発しています(図③)。

植え込み治療機器はできる限りナノデバイス化し、治療につなげていくことが求められています。現在、さまざまな必要な基盤技術を開発中です。そして、肝心の治療の論理も同時に開発中であり、これらを合体させていこうと考えています。

菅 ありがとうございます。ご質問はございますか。

盛 植え込み型のナノデバイスを使った場合に、患者さん自身が制御装置をオンにする、オフにする、といったような操作をしなければいけない事態が生じるのではないのでしょうか。血管外の組織のどこかにあるデバイスを制御する方法として、次のような方法が思い浮かびます。舌下錠のようなものを飲む、粘膜から吸収されて血管の中に入って組織へたどり着き、血管外のデバイスに何らかの作用をするという方法です。このような制御手段として、ナノ材料が必要となってくるのではないのでしょうか。

そのような「制御」という局面でのナノ材料が、杉町先生のこのナノデバイスの治療システムにおいては今後、大事な役割をしていくと考えますが、いかがでしょうか。

杉町 そうですね。ある意味、DDSとの融合という形になるのだろうと思います。指令をおこなうのに、現在、想定しているのは、確かに電波という物理的な方法だけですが、いろいろな方法がありうると思います。たとえば、化学的な指令を与えるという方法もあるでしょうし、

あるいは、極端にいうと、遺伝子治療との組み合わせということになってくるのかもしれない。

盛 電波は遠くから飛ばせるという利点がありますが、反対に、悪意の人からの電波が飛んできたり、誤った電波が飛んでくると誤作動するという危険性があるため、やはり最後のところで、患者さん自身が自分の体調をみながら、システムを操作する安全弁がいるのではないかと思います。そのため、やはりナノ材料やナノDDSと先生のこのプロジェクトの融合という側面を促進する必要が出てくるのではないかと思います。

杉町 そうですね。大変貴重なご意見だと思います。

馬場 この研究を進めるにあたって、1番のネックとなっているのはどんなことでしょうか。

杉町 1番ネックとなっていることの1つは、企業との連携だと思います。ナノメディスン・プロジェクトでも、課題の1つとして挙げていますが、今後、世界を舞台に開発をおこなっていくなかで、企業との連携は不可欠になると思います。企業の側にも、どのような利益があるのかということを積極的に啓蒙していくことが必要だと思います。

馬場 3つ目のバイオニック治療論理は、私は部外者ですが、非常にわかりやすい論理だと思います。いかにナノテクノロジーをナノメディスン領域に使っていくかという意味では、非常にシンボリックな論理になるのではないかと思います。これは、血圧安定化以外のところでも、同様な論理がはたらくのではないかと思います。

■ 創薬関係などのナノメディスン国際情勢、シーズとニーズのマッチング

菅 図では、次は馬場先生に、外部からの研究協力者という立場として、また創薬関係など国際情勢にも非常に詳しいので、そのあたりを踏まえて、シーズ・ニーズ・マッチングを含めてお話しただけですでしょうか。

馬場 ナノテクノロジーの研究はここ数年間でかなり進展しています。この図④はもう先生方には釈迦に説法で恐縮ですが、最近はこのナノサイズの領域のなかでも、図に挙げておりますように、いくつかのかなり特徴的な現象が発見され、かつ、それを理論的にも説明するよう



- 100~800 nm 溶液物理化学で説明できない現象
- 200~500 nm 可視光の波長の2分の1~4分の1, フォトニック結晶
- 1~100 nm 分子集合体・生体分子, パリティの非保存
- 1~10 nm 電子波と同程度か小さい構造, 量子ドット

量子ビーム, 量子もつれ, 量子テレポーテーション

図4 ナノテクノロジーの今後の方向
(馬場嘉信先生よりご供与)

になってきております。さらには、ナノメディシンのような領域に展開可能だとする論文が、ここ1~2年の間に“Nature”誌, “Science”誌等のかなり重要なジャーナルに発表されています。このあたりのことについて、まず少し簡単にご説明いたします。

まず、ナノデバイスのような非常に小さい空間をつくる場合、これまでのナノテクノロジーでは、半導体で構造をつくり、その中を、半導体ですから電子を動かすわけです。しかし、これを医療、ナノメディシンの分野で使おうとしますと、当然、ヒトの生体の中は全部、溶液の反応で進んでいますので、溶液を入れることになるわけです。1μm以上の構造中の溶液反応は、19~20世紀初頭に確立された物理化学でかなり説明できるのですが、800nm以下になってまいりますと、通常の、19世紀に確立された、われわれが大学で最初のうちに習うような物理化学で説明できない現象がかなり出てきます。

通常は、800nmというのは、溶液の主要な成分である水に対してはきわめて大きい構造ですので、当初はこのサイズでそのような現象は起きないだろうと考えていたのですが、われわれも含めていくつかの実験データで、800nmを切ってくると、今までの物理化学ではどうも説明できない現象が現れています。もしうまくこのことが説明できるようになりますと、細胞の中や、さらには核の中で起こっている現象をより正確に知るといような、そういう技術につながるのではないかと考えています。

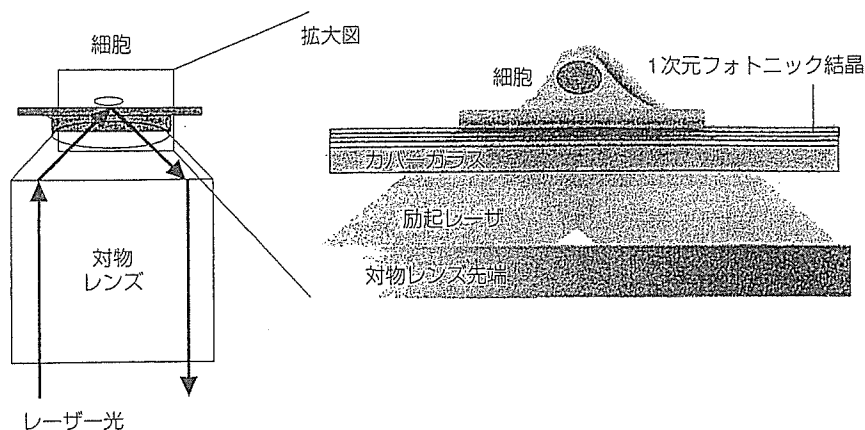
つい最近も、ハーバード大学のグループが、単一細胞

の中の蛋白質の発現状況で、これまでの方法では調べられなかったこと調べることに成功したという論文を“Nature”誌¹⁾で発表しているなど、かなり大きな展開をみせています。

そして、もう少し小さな200~500nmのサイズは、先ほどの盛先生のイメージングでも使われているような可視光程度、ヒトの目にみえる光の波長の大体2分の1から4分の1程度のサイズです。実は、このぐらいの構造では光そのものを自由に操ることができます。

図5はフォトニック結晶という材料ですが、たとえば、一番簡単なフォトニック結晶は、屈折率の違う材料を光の波長の半分ぐらいの厚みで積層し、その積層した先に、ある光が届かないギャップをつくります。ギャップによって光の強度は最大100倍ぐらいに上がります。これはまだナノメディシンの分野に使われていませんが、実は、この研究は日本は非常に盛んで、“Nature”誌²⁾、“Science”誌³⁾にてよく発表されている領域です。今後、非常に大事になってくると思います。

光ファイバーが1番わかりやすい例なのですが、もともとは光通信に光を自由に曲げたり反射させたりということは今まで難しかったのですが、光ファイバーでかなりできるようになりました。さらにこのフォトニック結晶で光の波長の2分の1程度の小さい構造をつくりますと、光子1個を操作したり、光を90°に曲げるなど、いろいろな角度で曲げたり、それから、光をうまく制御するということに使えるようになります。ここ数年で、この分野もかなり進歩してきており、近い将来ナノメ



図⑥ 1次元フォトリック結晶—エバネセント顕微鏡の原理
(馬場嘉信先生よりご供与)

ディシンの分野でも利用されることになると思います。

さらに小さいものでは、蛋白質やDNA、分子集合体、生体分子など1~100 nmのサイズになります。

これに関連して、図④にあるパリティの非保存を説明しますと、まず、パリティの保存とは、左右対称のことで、たとえば、蛋白質やDNAでアミノ酸を合成したときに、D体とL体が1対1でできることです。このことは、1950年頃までは「常識」でしたが、実は、1950年代の末に「パリティの非保存」が実証されました(1957年ノーベル物理学賞)。原子あるいは素粒子のレベルでは、現代ではその素粒子の「パリティの非保存」が物理学者の常識となっていますが、最近、分子のレベルでも同じらしいということがわかってきました。

パリティの非保存とは、要するに、アミノ酸を合成したときに、D体とL体が通常1対1でできるものが、その比が崩れるという状態です。どちらかが多くできるということになるのですが、そのエネルギー差はきわめて小さく、実際、現在のわれわれの技術ではほとんど検出できません。

パリティの非保存は、理論的にはこの数年間でかなり実証されてきているようですが、まだ実験が非常に困難です。ただ、分子集合体や生体分子といったものを使うと、実験ができそうだということが最近わかりつつあります。今後、薬の合成などに使える技術になるかもしれません⁴⁾。

さらに小さくなってきますと、1~10 nmサイズの量子

ドットになります。電子そのものが波の性質をもっていますが、それと同程度か小さい構造です。当初は、量子ドットの材料は、半導体用に考えられていました。そういう意味では、ナノメディシンへの応用はあまり考えられておらず、カドミウムのようなかなり毒性の強いものが大半でした。近年、この量子ドットの理論的なことが少しわかってまいりまして、毒性のない材料でもちゃんと光るという結果が出てきました。それも、とくに1~10 nmの領域での理論的な研究が出てきており、かなり進展しつつあると思います。

先ほど、盛先生のところでもFRETの話が出てまいりましたが、最近、量子ドットの領域ではやはりBRETというもので、これは「バイオルミネッセランス・リゾナンス・エナジー・トランスファー (bioluminescence resonance energy transfer)」の略なのですが、量子ドットにバイオ発光するような酵素をつけてやりますと、量子ドットは、普通、例えば紫外線を当てると光ることなのですが、そうではなくて、そのバイオルミネッセランスを起こす物質が細胞の中にあると、それが反応して発光して、その光で量子ドットが光ります。外から光を当てなくていいのです。

しかも、その光を赤外線領域、あるいは近赤外線領域にしてやりますと、皮膚のかなり下のほうの細胞でも—かなりといいましても、真ん中は見えないと思うのですが、表面ではなくても、ある程度、中のところでも光が透過して見えるというようなものも、これもつい最近、