

## **A Novel Micro-Angiography Detecting Angiogenesis, Application for Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells Transplantation in the Patients with Critical Limb Ischemia**

Kazuhiro Nishigami, Takeshi Nakatani, Masaaki Chiku, Hidezo Mori

National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka  
565-8565, Japan

**Summary.** Conventional Anigiographic Findings in Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells Transplantation for Critical Limb Ischemia: Bone marrow mononuclear cells have many of the characteristics of stem cells for mesenchymal tissues, and secrete many angiogenic cytokines. We performed autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells in six patients with critical limb ischemia due to Buerger disease, who were not candidates for catheter or surgical revascularization. Leg pains at rest and skin ulcers improved after bone marrow transplantation in all patients, although significant collateral developments after the therapy by conventional angiography could not be observed. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells including stem cells improved critical limb ischemia due to Buerger disease. Neovascularization after therapeutic angiogenesis might be quite small and could not be visualized by conventional angiography.

**Novel Micro-angiography:** We developed in-hospital micro-angiographic equipment which consisted of a high power X-ray source for computed tomography and an avalanche type detector characterized by a high spatial resolution (20 $\mu$ m) and high sensitivity (100 times of CCD camera). We visualized mid-zone collaterals after femoral arterial exfoliation with and without therapeutic angiogenesis in rabbit ischemic limbs and assessed the radio-absorptions in a clinical setting. The micro-angiography clearly demonstrated mid-zone collaterals after the treatment with a diameter of down to 50 $\mu$ m, but the conventional angiography did not. The sum of ra-

dio-absorptions for 10 seconds in clinical settings was 300 mSv. The newly developed in-house micro-angiography could illuminate micro-vessels with a diameter of down to 50 $\mu$ m in clinical settings safely and could be useful in the evaluation of therapeutic angiogenesis.

**Keywords.** Micro-angiography, Angiogenesis, Autologous bone marrow mononuclear cells transplantation, Critical limb ischemia, Buerger disease

## Introduction

Endothelial progenitor cells (EPCs) possess the ability to mature into cells that line the lumen of blood vessels(Asahara T, et al. 1997). Therapeutic angiogenesis could be induced by the transplantation of bone marrow mononuclear cells including EPCs. Several studies demonstrated that therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow mononuclear cells transplantation (BMT) was effective for ischemic vascular diseases although conventional angiography could not precisely detect developed collaterals after therapeutic angiogenesis(Iba O, et al. 2002, Inaba S, et al. 2002, Shintani S, et al. 2001, Tateishi-Yuyama E, et al. 2002). We developed an in-hospital micro-angiographic equipment which consisted of a high power X-ray source for computed tomography and an avalanche type detector characterized by a high spatial resolution (20 $\mu$ m) and high sensitivity (100 times of CCD camera).

The purpose of the present study was to evaluate the clinical effects and conventional angiographic findings on BMT for critical limb ischemia, and to validate the usefulness and safety of the novel micro-angiography technique for the evaluation of therapeutic angiogenesis.

## Methods

### *Patients*

Patients qualified for autologous BMT if they had chronic critical limb ischemia including rest pain and/or non-healing ischemic ulcers for a minimum of 4 weeks without evidence of improvement in response to

conventional therapies and were not optimal candidates for surgical or catheter revascularization. Buerger's disease was diagnosed by segmental occlusion of small- and medium-sized arteries, absence of atherosclerosis, and corkscrew collaterals circumventing the occlusion in angiogram and the exclusion of autoimmune diseases such as scleroderma or systemic lupus erythematosus, hypercoagulable states, diabetes, or acute arterial occlusion secondary to embolism. Patients with retinopathy and/or malignancy were excluded. Although 30 patients with atherosclerotic peripheral artery disease were candidates for BMT, they were excluded from the present study due to their systemic atherosclerotic complications. Six patients with Buerger's disease were recruited for the present study. All patients had leg pain at rest and five patients had foot ulcers. Written consent was obtained from all participants of this study. This clinical trial of autologous BMT for the treatment of patients with critical ischemia was approved by the Medical Ethics Committee of the National Cardiovascular Center.

#### ***Autologous BMT***

Bone marrow fluid (700-800ml) was collected from the iliac bone under general anesthesia. The harvested bone marrow fluid was diluted with RPMI 1640 (Nikken Bio Medical Laboratory, Kyoto, Japan) containing heparin, then stored in a sterile pack from the Bone Marrow Collection Kit (Baxter, IL, USA). The mononuclear cell fraction was prepared with a Fresenius AS104 (AMCO, USA). The injection volume was 0.5ml and injections were spaced 2-3cm apart, using a 1ml syringe and a 27-gauge needle. Leg pains were measured by a visual analog pain scale and foot ulcers were evaluated by area and appearance.

#### ***Novel micro-angiography***

The in-hospital micro-angiographic equipment consisted of a high power X-ray source for computed tomography and an avalanche type detector characterized by a high spatial resolution (20 $\mu$ m) and high sensitivity (100 times of CCD camera) (Fig.1).

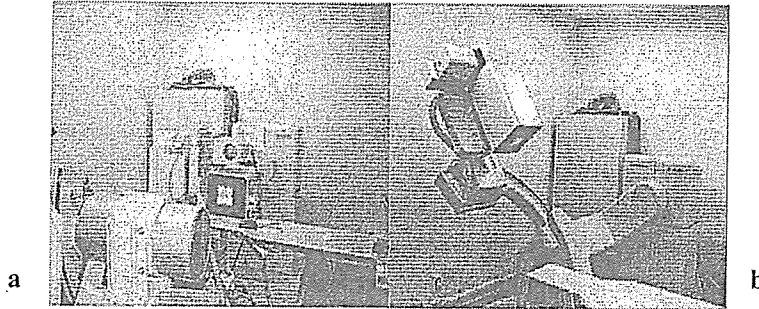


Fig. 1a, b. The micro-angiographic equipment that we developed. High-voltage power X-ray source a and a detecting system with a high spatial resolution (25 $\mu$ m) and high sensitivity (100 times of CCD camera) b.

Limb ischemia models in rabbits were made by ligating the femoral artery and treated by fibroblast growth factor 4 (FGF-4) genes incorporated to gelatin hydro gel (GHG). One month after the treatment, we evaluated collateral micro-vessels by using conventional and micro-angiographic systems. The approach was via the left femoral artery so that the catheter was located in the abdominal aorta. A 5ml bolus of Iodine contrast medium (300mg/ml) was injected at 3ml/sec using an auto-injection system. Imaging was recorded using a digital source in 1000 x 1000 pixels. The sum of radio-absorptions for 10 seconds in clinical settings was studied.

## Results

### *Autologous BMT for Critical Limb Ischemia*

The number of transplanted bone marrow mononuclear cells were one to five multiplied  $10^9$ . Rest pains decreased or disappeared in one month after BMT (Fig.2) and Skin ulcers improved in one to three months after BMT in all patients (Fig.3).

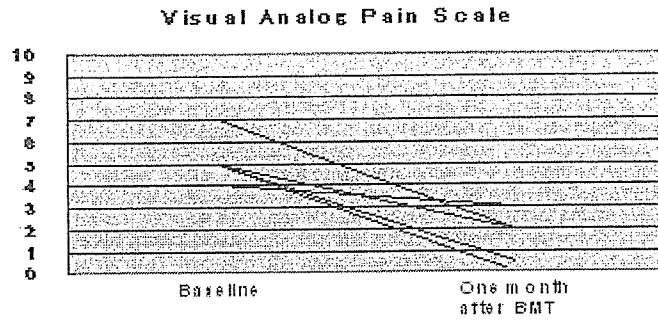


Fig. 2. The Visual analog pain scale in all patients.

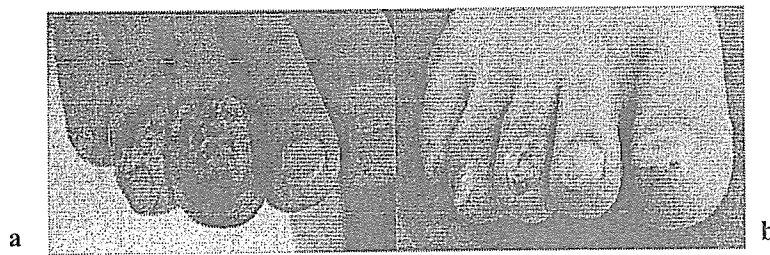


Fig. 3a, b. The skin ulcers in a patient before a and one month after autologous bone marrow transplantation b.

Conventional angiography was performed before and one month after BMT, but there was no significant changes in any of the patients (Fig.4).

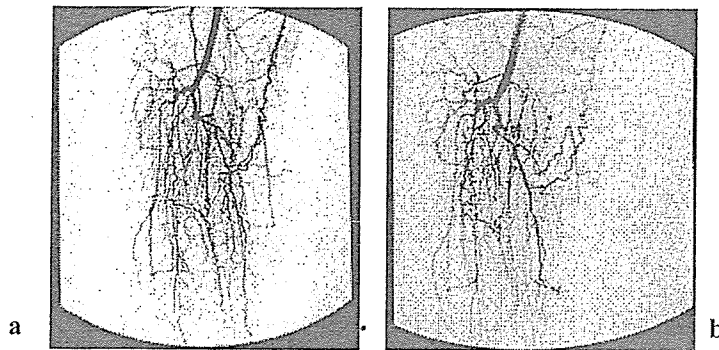


Fig. 4a, b. The conventional angiographic findings in the patient before a and one month after autologous bone marrow transplantation b.

### *Novel micro-angiography*

The novel micro-angiography can detect to within a limit 50 of  $\mu\text{m}$ , although a detection limit of a conventional angiography is 250 $\mu\text{m}$  (Fig.5).

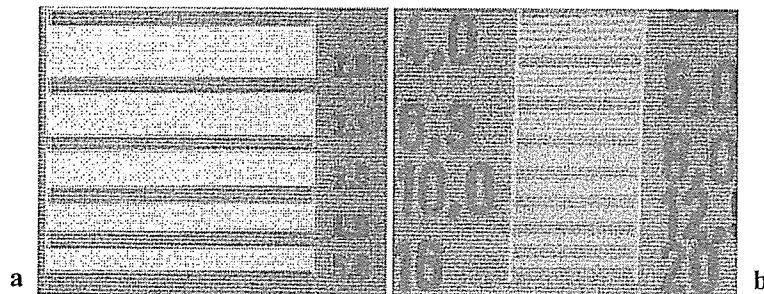
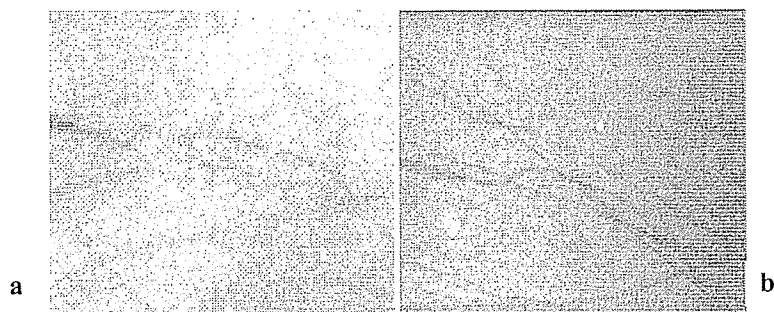


Fig. 5a, b. The detection limits on a conventional angiography a and the novel micro-angiography b using a line chart

Collateral micro-vessels, which were 100-500 $\mu\text{m}$  or less in diameter, were demonstrated more clearly in micro-angiography than conventional angiography (Fig.6).

The sum of radio-absorptions at the point of 1m distance from the X-ray source in clinical settings was 300 mSv. for 10 seconds.



**Fig. 6a, b.** In 2.5x2.5cm view size, Collateral micro-vessels after therapeutic angiogenesis in the rabbit limb ischemia model. Vessel sizes in the range of 100-500 $\mu$ m or less, were demonstrated in the novel micro-angiography **b** more clearly than in a conventional angiography **a**. The diameter of the line in the micro-angiography is 130 $\mu$ m.

## Discussion

Autologous BMT improved chronic severe limb ischemia due to Buerger's disease. Conventional angiography could not disclose developed collateral vessels after BMT. A novel micro-angiography technique could illuminate promoted collateral vessels after therapeutic angiogenesis in rabbit models although a conventional angiography did not. The sum of radio-absorptions in the novel angiography could be accepted in clinical settings.

### *Autologous BMT and Buerger's disease*

Bone marrow harvests need an amount of more than 500ml bone marrow fluid and general anesthesia in therapeutic angiogenesis using BMT. Such factors have practical limitations to select candidates with peripheral artery disease complicated with systemic atherosclerosis and aging for BMT. Buerger's disease is a segmental vasculitis that affects the distal arteries of the upper and lower extremities. It typically occurs in young people. The majority of patients with Buerger's disease have pain at rest and digital

ulcerations and are hard to treat by revascularizations, including catheter angioplasty and surgical bypass grafting, because of peripheral artery lesions. Patients with Buerger's disease, however, tend to have less systemic atherosclerotic lesions and normal cardiac function. These suggest that patients with Buerger's disease are the ideal candidates for therapeutic angiogenesis using autologous BMT.

#### ***Discrepancy between clinical improvements and conventional angiographic findings after BMT***

BMT improved critical limb ischemia clinically. Promoted collateral vessels after the treatment were not, however, visualized well by conventional angiography. These vessels are quite small and the detection limit of small vessels by conventional angiography is about 200 $\mu$ m in diameter.

#### ***Novel micro-angiography***

Recently, synchrotron radiation system characterized by high brightness, monochromatic and collimated nature bypass, revealed micro-vessels in situ. However the high cost of a synchrotron system strictly limits its clinical application (100 million dollars or more). We developed an in-house micro-angiographic system with a relatively low cost of approximately 1million dollars, which consisted of a high-voltage power X-ray source and a detecting system with a high spatial resolution (25 $\mu$ m) and high sensitivity (100 times of CCD camera). We evaluated collateral micro-vessels one month after therapeutic angiogenesis by using the conventional and micro-angiographic system. The in-house micro-vessel angiographic system could detect the micro-vessels more precisely than conventional angiographic system. We thought that the present micro-angiography should be useful for evaluating efficacy of therapeutic angiogenesis in clinical settings.

#### **Conclusions**

Conventional angiography failed to disclose the promoted collateral vessels after BMT although BMT improved the critical limb ischemia clini-



cally. The in-house micro-angiographic system could detect the micro-vessels more precisely than conventional angiographic system and the sum of the radio-absorption in the equipment could be acceptable in clinical settings. The novel in-house micro-angiographic system can be useful in the evaluation of therapeutic angiogenesis clinically.

## References

- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al.(1997) Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science* 275:964-966
- Iba O, Matsubara H, Nozawa Y, et al.(2002) Angiogenesis by Implantation of Peripheral Blood Mononuclear Cells and Platelets into Ischemic Limbs. *Circulation* 106:2019-2025
- Inaba S, Egashira K, Komori K (2002) Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic angiogenesis? *Lancet* 360:2083.
- Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al.(2001) Augmentation of Postnatal Neovascularization with Autologous Bone Marrow Transplantation. *Circulation* 103: 897-903
- Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al.(2002) Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells:a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*,360:427-35



# 細胞増殖因子と

GROWTH FACTOR & REGENERATIVE MEDICINE

# 再生医療

細胞増殖因子と再生医療



編集

松本 邦夫  
田畑 泰彦

メディカルレビュー社

編集

松本 邦夫

大阪大学大学院医学系研究科分子再生医学 助教授

田畑 泰彦

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

メディカルレビュー社

## 8. VEGF/VEGF-E

## 末梢動脈疾患

竹下 聡 TAKESHITA Satoshi  
 国立循環器病センター 心臓血管内科

### Ⅰ 末梢動脈疾患とは

末梢動脈疾患 (peripheral artery disease : PAD) とは、末梢動脈の狭窄や閉塞によって、四肢をはじめとする末梢組織に虚血をきたすような疾患を指す。末梢動脈疾患には、閉塞性動脈硬化症、閉塞性血栓性血管炎 (Buerger病)、膠原病に伴う血管炎などが含まれるが、その中でも最も多いのは閉塞性動脈硬化症である。閉塞性動脈硬化症では、末梢動脈の粥状動脈硬化により血管内腔の狭窄が進行し下肢に虚血が生じる。これに伴い、しびれ、冷感、間歇性跛行 (後述)、疼痛、潰瘍、壊疽などのさまざまな症状が出現する。欧米における罹患率は人口の数%程度とされているが、わが国における確立された疫学データは残念ながら存在しない。自覚症状による病期分類としてFontaine分類が代表的である (表)。Fontaine I度の軽症患者に対しては、禁煙指導や糖尿病・高血圧など動脈硬化の危険因子をコントロールしながら経過観察するのが通常である。病状が進行してくると、Fontaine II度のみ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、休息により痛みは消失し、再び歩行可能

表 Fontaine分類

グレード	症状
I	なし (しびれ, 冷感)
II	間歇性跛行
III	安静時疼痛
IV	皮膚潰瘍, 壊疽

となるような状態を指す。末梢動脈疾患の症状で最も多いのは、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）が必要となる。Fontaine Ⅲ～Ⅳ度を重症下肢虚血（critical limb ischemia：CLI）と呼ぶが、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、皮膚の潰瘍や壊疽もみられるようになる。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、薬物治療も無効のことが少なくない。また、重症下肢虚血をきたすような血管は動脈硬化性変化が強く、血管形成術やバイパス手術もしばしば困難である。このような重症例に対する治療法として考えられたのが血管新生療法（therapeutic angiogenesis）<sup>1)</sup>である。

## II 血管新生療法とは

血管新生療法は、血管増殖因子やその遺伝子あるいは骨髄や末梢血細胞を用いて血管新生を促進させ、組織虚血の改善を図る治療法で、1994年、米国のIsnerらにより初めて臨床応用された<sup>2)</sup>。Isnerらが行ったのは、vascular endothelial growth factor（VEGF）<sup>3)</sup> 遺伝子を用いた血管新生療法であり、循環器領域における初の遺伝子治療としても知られている。以後、今日までに10年以上が経過し、遺伝子以外にも増殖因子蛋白、骨髄細胞、末梢血細胞などを用いたさまざま

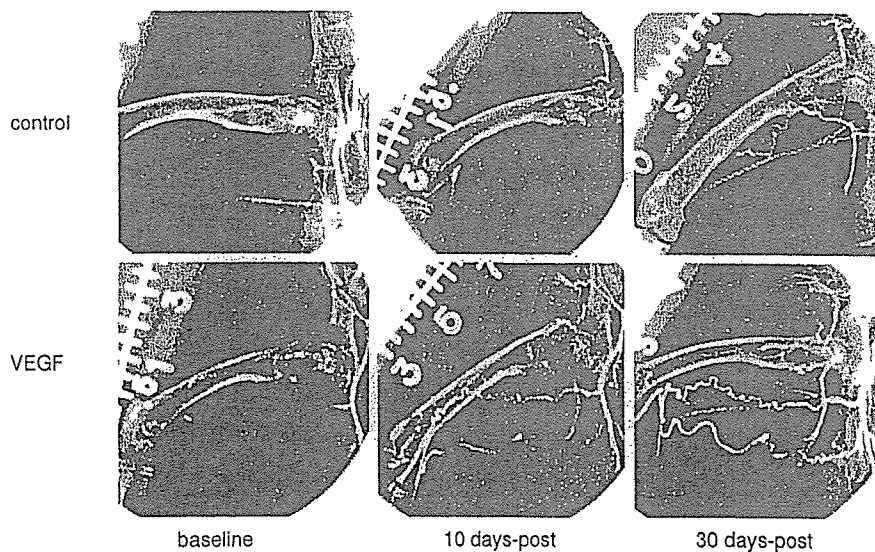


図1 VEGF蛋白投与後の血管造影所見

生理食塩水または組み換えVEGF蛋白を家兔虚血肢モデルの内腸骨動脈内へ選択的に投与し、側副路の発達を比較した。上段の対照群では、治療後30日間において側副血行路に大きな変化は認められない。これに対し、下段のVEGF治療群においては治療から10日間で側副路の著明な改善が認められる。

（文献1より引用）

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)<sup>1)</sup>。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方法が検討されたが、投与方法の如何にかかわらず、側副血行の促進には100~1,000 μgのVEGF蛋白が必要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ソ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<sup>4)</sup>。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<sup>5)</sup>。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

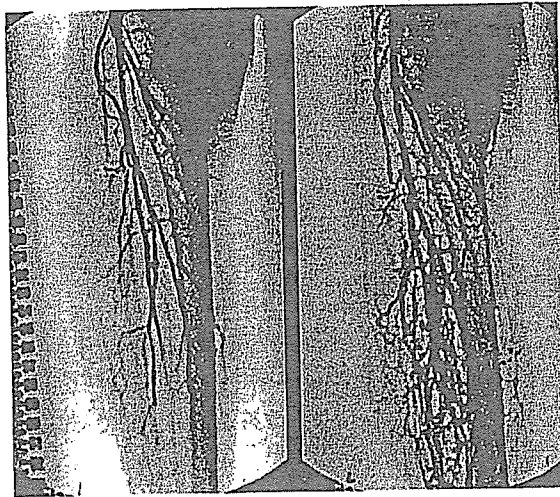


図2 遺伝子治療前後におけるDSA (digital subtraction angiography) 所見  
左：遺伝子治療前，右：遺伝子治療1ヵ月後  
VEGFによる遺伝子治療の1ヵ月後，下肢側副血行の著明な発達を認める。

(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，遺伝子の導入効率は低くとも，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<sup>2)</sup>。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<sup>6)</sup>。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 phVEGF<sub>165</sub> 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, Chen 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 phVEGF<sub>165</sub> after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. Circulation 97 : 1114-1123, 1998

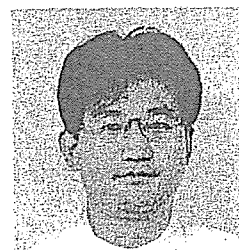
### ●参考：海外の研究施設

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



その他の新しい治療法

## 炭酸浴療法による血流改善



国立循環器病センター  
田口 明彦

### はじめに

本書で取り上げたように、バージャー病患者さんに対して、幹細胞移植や遺伝子治療など新しい治療法が、ここ数年の間に続々と臨床応用され効果を挙げつつあります。それと共に、最近炭酸浴療法による治療が進められており、難治性の潰瘍の治療等において効果を挙げていますので、本項では炭酸浴療法について詳しく説明します。

自己幹細胞移植による血管再生療法や遺伝子治療は、まさに世界の最先端を行く画期的な治療法ですが、炭酸浴療法による治療法はヨーロッパでは非常に古い歴史を持つ治療法であると言えます。炭酸泉とはお湯に炭酸ガスの溶け込んだ温泉のことを言います。日本にある温泉は炭酸ガスの濃度が低いいため、炭酸浴として用いることはほとんどできませんでしたが、ヨーロッパではローマ時代でも既に炭酸泉が健康に役立つことが知られており、療養目的の炭酸泉浴が行われていました。現在でもイタリアやドイツでは天然の炭酸泉を使った治療法が行われており、特にドイツでは国土全域に炭酸泉が湧き出しているため、国民の多くがレジャーや

治療に炭酸浴を利用しています。日本にも数ヶ所に天然炭酸泉があり、なかでも大分県の長湯温泉は高濃度の炭酸泉が利用できますが、一般的に炭酸ガスは高温のお湯には溶けにくいので日本のような湯温の高い温泉で高濃度に炭酸ガスが溶け込んでいるところは稀です。そのため、日本では近年まで、炭酸浴による治療は行われてきませんでした。最近高濃度の炭酸泉を人工的に作る技術が開発され、日本においても容易に炭酸泉を利用することが可能になりました。

### 1. 人工炭酸浴による足浴で血流が改善します

炭酸（入浴剤やサイダーなどにも含まれる、あの炭酸です）には血管を拡張し、血流を良くするという作用がよく知られています。炭酸浴ではこの生理的な作用を応用していますので、体に優しく自然に血流を増やすことができます。炭酸泉に手足をつけると炭酸泉に浸かっている皮膚に炭酸ガスの気泡がたくさん付着し、約5分から10分程度で、入浴した部分の皮膚が真っ赤に紅潮します。この紅潮は天然の炭酸泉と同様に炭酸ガスの作用により血のめぐりがよくなったために起こります。バージャー病の患者さんも炭酸浴により炭酸ガスが皮膚から吸収され

ると、皮膚の血管が開いて多くの血液が流れるようになりますので、特に皮膚の虚血性潰瘍に効果が高いようです。実際の治療では、炭酸ガス濃度が1000ppm以上という非常に高い濃度の炭酸水の温度を37度ぐらいに調節し、潰瘍のある手足を15分程度浸けておきます<図1>。するとその場所での血流が改善し、血液が良く流れることにより潰瘍等の皮膚の病変に効果があります。皮膚の紅潮は炭酸水からあがると5分程度で消えますが、この炭酸泉の効果は入浴中だけでなく、その後も1日程度は持続すると考えられています。

## 2. 人工炭酸浴の治療効果

手足の血流の改善を目的とした炭酸浴は、バージャー病の患者さんだけでなく、動脈硬化のために足の血管がつまる閉塞性動脈硬化症という病気の患者さんや血液透析中の患者さんなどに広く使われ始めています。炭酸は皮膚から吸収し皮膚血流を増やす働きが非常に強いため、特に皮膚に潰瘍がある患者さんには効果が高いのが特徴です。最近私たちの病院に入院されたバージャー病の患者さんも、足先の潰瘍が長期間治らずに一度は指の切断も考えておられましたが、炭酸浴を1日2回、2週間程度続けた事により潰瘍が治癒し無事退院されました。また、他の病院でも炭酸浴により血流が改善し、症状が良くなった症例が多数報告されています。

炭酸泉は末梢の血管を広げることに効果が高い治療法であり、通常は足（あるいは手）を炭酸泉に浸すだけです。治療自体は温泉に浸かるようにゆったりとした気分でうけることができ

図1 炭酸浴治療  
炭酸水の温度を37度ぐらいに調節し、潰瘍のある手足を15分程度浸けるだけです。



ますので、症状が軽いうちからでも気軽に治療が受けられます。また、非常に簡単な原理でヨーロッパでは古くから行われてきた治療法ですので、特に考えなければならぬ副作用もありません。目に見えるほどに皮膚の血流も増加しますので、皮膚の潰瘍などには良く効くことが多いのも特徴です。

この治療法の短所として挙げられる点は①毎日続けても効果が現れるまで1週間から1ヶ月程度かかること、②現在のところあまり多くの病院には普及していないこと、③大きな血管自体の血流はあまり増えないため、間歇性跛行（歩行時の足の痛み）等の症状には改善効果が弱い、等があります。

## 3. どこで炭酸浴治療が受けられるか

はじめにも述べましたように日本には高濃度に炭酸ガスが溶け込んでいると天然温泉は稀です。そのため、病院などで治療を受けるのが一

般的で、徐々に一般の病院にも普及して来ています。また、この治療法は血液透析患者さんの皮膚潰瘍治療にも使われ、効果を挙げてきていますので、血液透析を行っている病院では積極的に導入するところが増えてきています。炭酸浴による治療を希望される方は大学病院などの大病院と共に血液透析を行っている病院や診療所に問い合わせてみると良いでしょう。

他の方法としては炭酸ガス入浴剤として市販されているものを使って炭酸泉を作ることできますが、入浴剤によってできた炭酸泉の炭酸ガスの濃度は理想的な濃度の10分の1程度にしかありませんので、効果はあまり強くないようです。家庭用に高濃度の人工炭酸泉を作る機械も市販されており、機械の取り扱いもごく簡単ですので、この“人工炭酸泉製造装置”を手に入れることができれば、毎日自宅で療養する事

も可能で、最近新しい製品も登場しているようです。(購入には40万円程度かかります)

#### 4. 人工炭酸泉製造装置に関する問い合わせ先は

日本では三菱レイヨンエンジニアリング株式会社が人工炭酸泉製造装置を製造、販売しています。この機械を使って炭酸浴を行っている病院を探するときや、購入やレンタルを考えているときは手助けをしてくださるようです。連絡先は以下の通りです。

三菱レイヨンエンジニアリング株式会社  
水環境事業部  
メディカルシステム部  
〒108-8506 東京都港区港南1-6-41  
品川クリスタルスクエア  
TEL: 03-5495-3287 FAX: 03-5495-3294  
ホームページ <http://www.co2spa.com>

# 自己幹細胞移植による 血管再生療法



国立循環器病センター  
田口 明彦

——難治性Buerger病に対する  
新しい治療法です——  
はじめに

Buerger 病の治療の第一ステップは禁煙することです。喫煙は病状の進行を促進し病気を悪化させます。禁煙と同時に薬の内服、あるいは点滴治療などの内科的治療が行われます。次にそのような内科的治療でも病気の進行を止めることができない患者さんに対しては血管バイパス手術、交感神経切除術等の外科的治療が行われます。しかし、これらの内科、外科治療でも病気が進行し、激しい痛みや皮膚の潰瘍、壊死などの重篤な症状で苦しむ症例もあり、指や手足の切断を余儀なくされる場合があります。そのような患者さんに対し痛みの軽減、手指、足の切断防止を目的とした“自己幹細胞移植による血管再生療法”が全国多数の施設で進められており、成果を上げています。

## 1. 幹細胞とは

血管は様々な種類の細胞により構成されていますが、古くなった細胞が取り除かれ、新しい

細胞にどんどん置き換わることにより維持されています。基本的に新しい細胞は、その付近の細胞が細胞分裂により増えることによって生み出されることが多いですが、それ以外にも“幹細胞”と呼ばれている、いろいろな細胞に分化することのできる細胞からも血管を構成する細胞を作ることが可能です。実際ヒトの体の中でもこの“幹細胞”が血管を構成する細胞に分化し、血管の維持に重要であることも判っています。これらの“幹細胞”は骨髄や血液中に多く存在することも判っており、この“幹細胞”を使った研究が進められ、ヒトでも自分の幹細胞を使って血管がうまく作れるようになってきました。

## 2. 骨髄の幹細胞とは

骨の中には骨髄といわれる部分がありここには様々な細胞があります。骨髄の細胞は主に赤血球、白血球、血小板等の血液細胞を作りますが、骨髄の細胞の中にはその他にもいろいろな能力を持った細胞があります。その中で

- ① 骨髄幹細胞と呼ばれる細胞は普通の骨髄細胞よりもより分化の程度が低いため、いろいろな細胞に変化できる性質を持っています。