

染症である。LVAS 装着中はポンプ内血栓の観察を数時間おきに行い、血栓が認められた場合には速やかに抗凝固療法を調節する。必要に応じてポンプ交換を考慮する。LVAS の送脱血管の刺入部は感染症を起こしやすく、発症すれば敗血症に移行し重症化する可能性が高い。また、一旦発症すると完全に治癒することは困難であり、LVAS から離脱する以外に方法がなくなる可能性が高い。また、自己心機能回復不良例において、全身状態が良好な 60 歳未満の症例において心臓移植の適応も考慮すべきであるが、心臓移植の適応とならない場合には、LVAS による補助を続けざるを得ない⁷⁾。

まとめ

心原性ショックを合併した急性心筋梗塞における循環動態維持を目的とした機械的補助循環は非常に有用な治療手段である。患者の血行動態、重症度を正確に評価し、各々の補助循環の特性を理解した上で最適の補助循環を選択し、時期を逸することなく使用することが重要である。

文 献

- 1) Steven MH, Clifford JK, Joseph EP : Cardiogenic shock review. *Ann Internal Med* 131 : 47-59, 1999
- 2) Cardiogenic Shock Complicating Acute Myocardial Infarction : Results of the SHOCK Trial Registry. *J Am Coll Cardiol* 36 (3 SuppleA) , 2000
- 3) Mueller H, Ayres SM, Giannelli S, et al : Effect of isoproterenol, l-norepinephrine, and intra-aortic counterpulsation on hemodynamics and myocardial metabolism in shock following acute myocardial infarction. *Circulation* 46 : 335-351, 1972
- 4) Asaumi Y, Yasuda S, Morii I, et al : Favourable clinical outcome in patients with cardiogenic shock due to fulminant myocarditis supported by percutaneous extracorporeal membrane oxygenation. *European Heart J* 26 : 2185-2192, 2005
- 5) 中谷武嗣 : 補助循環・人工心臓, 杉本恒明, 矢崎義雄編, 内科学 (第9版), 朝倉書店, p205-209, 2007
- 6) Nakatani T, Takano H, Beppu S, et al : Practical assessment of natural heart function using echocardiography in mechanically assisted patients. *ASAIO Trans* 37 : M420-421, 1991
- 7) 中谷武嗣, 加藤倫子, 眞野暁子, 他 : 移植医療—機械的循環補助も含めて—, *循環器科* 62 : 67-73, 2007

体外設置型補助人工心臓 — 東洋紡補助人工心臓 —

体外設置型補助人工心臓(VAS)は、緊急例への対応も可能で、両心補助も行うことができ、比較的体格の小さな症例へも適応可能である。さらに、東洋紡 VAS では4年におよぶ補助例もあり、長期補助が可能である。小型駆動装置も開発され QOL の改善が図られている。植込型 VAS の現状からは、当面体外設置型東洋紡 VAS を有効に用いていくことが必要である。

国立循環器病センター

中谷 武嗣

NAKATANI, Takeshi

● Key Word

補助人工心臓 東洋紡 左心補助 右心補助
両心補助 体外設置 制御駆動装置

1. はじめに

重症心不全に対する補助循環手段として、心臓ポンプ機能を100%代行し、長期補助が可能で補助人工心臓(VAS)の開発が進められた。わが国では、1970年代に東京大学や国立循環器病センター(国循)などで急性心不全に対し自己心機能が回復するまでの補助(BTR)が可能で装着も行きやすい体外設置型の開発が行われ、1980年には東大型、1982年には国循型が開心術後重症心不全例に対し臨床応用された。1986年からは日本ゼオン・アイシン精機製東大型および東洋紡製国循型 VAS の治験が行われ、1990年には製造承認を受け、1994年に施設限定で急性心不全への適応が健康保険に採用された^{1), 2)}。1992年からは心筋症による重症心不全にも用いられるようになった。2007年度の日本臨床補助人工心臓研究会レジストリーによれば、これまでにゼオン VAS が160例に、東洋紡 VAS が575例に用いられている³⁾。2005年に日本ゼオンが販売を終了したため、2006年では東洋紡 VAS がわが国での VAS 例

の70%強に用いられた。本稿においては、東洋紡 VAS について概説する。

2. 東洋紡 VAS における血液ポンプおよび制御駆動装置

1) 血液ポンプ(図1a)

血液ポンプは、セグメント化ポリウレタンを用いた空気圧駆動ダイヤフラム型で良好な機械的耐久性が得られ、さらに良好な抗血栓性を得るため血液接触面をTM-3でコーティングしている。成人用(一回拍出量70 ml, 最大拍出量7 l/min)および小児用の一回拍出量40 mlと20 mlの血液ポンプが開発されたが、現在は成人用のみが販売されている。流入および流出弁は、当初 Bjork-Shiley Mono-strut 弁(#23 mm)が用いられ、同弁の製造販売中止後はSORIN Biomedica Carbocast 弁(#23 mm)に変更された。脱血管の生体側内径は9 mmで、

BTR: bridge to recovery

BTF: bridge to transplant

IABP: intraaortic balloon pumping

PCPS: percutaneous cardio-pulmonary support

PT-INR: prothrombin-international normalized ratio

QOL: quality of life

VAS: ventricular assist system

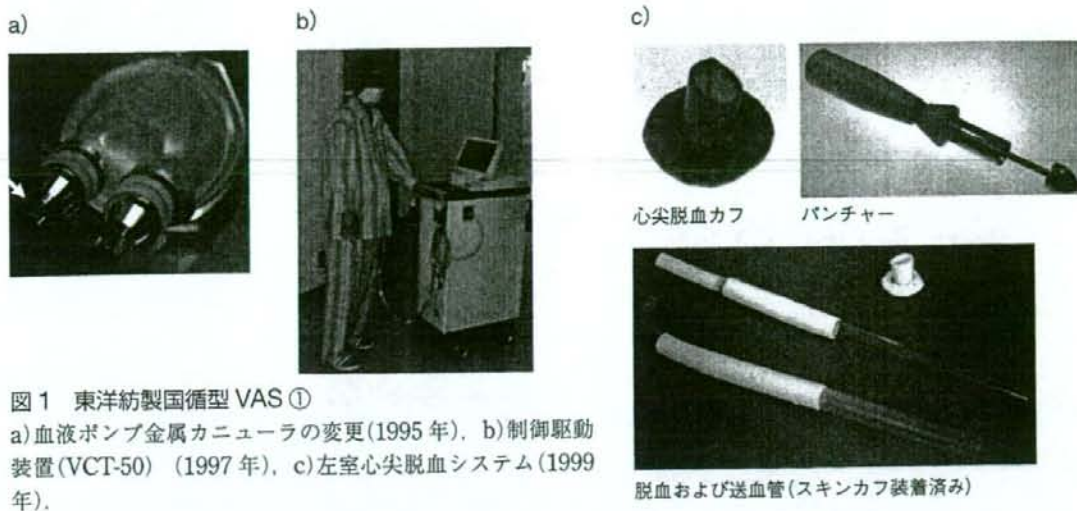


図1 東洋紡製国循環型 VAS ①

a) 血液ポンプ金属カニューラの変更(1995年), b) 制御駆動装置(VCT-50) (1997年), c) 左室心尖脱血システム(1999年).

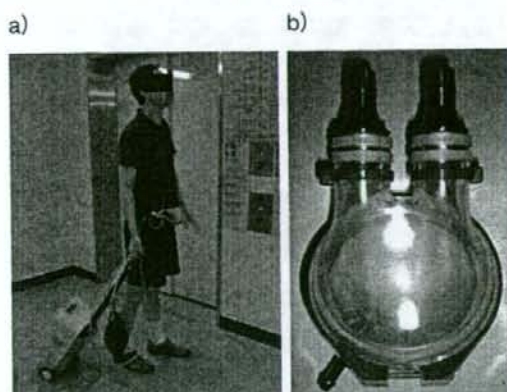


図2 東洋紡製国循環型 VAS ②

a) 制御駆動装置(Mobart-NCVC), b) ヘパリンコーティング(TNC)血液ポンプ.

送血管には内径 12 mm の人工血管(Cooley graft)が組み込まれている。なお、この人工血管はプレクローティングを行っても出血コントロールに難渋することが多く、我々は1999年から同部をシールドグラフトである Intergard Woven #14 mm に置換して用いている。

血液ポンプの送血部および脱血部と送血および脱血管を接続する金属コネクタの管を装着する部分は、ストレートで 10 mm であった。しかし、VAS 装着患者でのリハビリが積極的に行われるようになったため、送・脱血管の固定を安定して行えるように接続部を長く(17 mm)かつ先端より 10 mm の部分に段差をつ

けた。

また、抗凝固能の向上を目指しヘパリンコーティング法の開発が進められ、2006年からヘパリンコーティング(TNC)VAS(図2b)として従来型とともに販売されている⁴⁾。

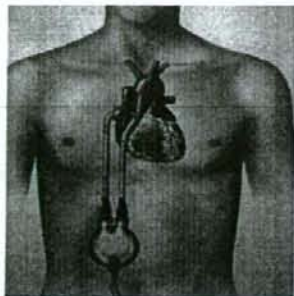
2) 制御駆動装置(CDU)

空気駆動方式である東洋紡 VAS の CDU は、陽・陰圧発生装置を内蔵し、外部から空圧が得られないときや移動時に作動する。通常は病院での中央配管による外部からの陽・陰圧を用い、電磁弁による陽・陰圧切り替えて駆動を行うようになっているため、駆動時の音は静かである。

ベッドサイドでの使用を想定し移動を考慮しない片心用 VCT-20 および両心用 VCT-100 が臨床応用され、1991年には IABP 駆動も行える VCT-30 および VCT-200 が販売された。補助量の測定は、当初電磁流量計を人工血管部に装着して行っていたが、長期補助が行われるようになって安定性や感染が懸念されるようになり、インピーダンス法などが検討され、超音波流量計が用いられることもある。しかし、長期補助を行う装着患者の可動性も考慮し、現在では流量計を装着しないことが多い。駆動法としては、心電図同期駆動および固定レートがある。

長期施行例が増加するにつれて病院内での移動を考慮した CDU が望まれるようになり、

a)



b)

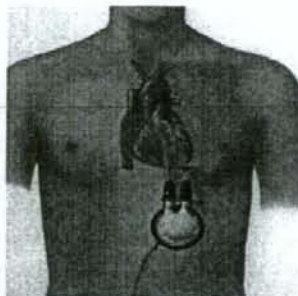


図3 東洋紡 LVAS 装着法

a)左房脱血方式, b)左室心尖脱血方式.

1997年に内蔵バッテリーによる30分間の駆動が可能なVCT-50(重量100kg)(図1b)が導入され、2007年には、小型化するためにIABP駆動部を除きVAS駆動部のみとしたVCT-50 \times (20%サイズ減少)が開発された。なお、両心補助時はVCT-200が用いられたが、最近ではVCT-50を2台接続して行われる。

また、患者の移動を考慮したCDUが開発され、2006年にMobart-NCVC(本体重量13kg、1時間駆動可能バッテリー(0.8kg)2個搭載、マニュアルモードとオートモード装備)の臨床応用が開始された(図2a)⁴⁾。

3. 東洋紡 VAS の装着法

1)左心補助

当初図3aに示す左房脱血方式が用いられた。これは右側左房に心房カフを縫着し、このカフを介して脱血管を挿入し、血液ポンプを右上腹部に固定する。

この左房脱血方式では、左室の直接減負荷ができず、姿勢などによる流量変動があり、左室内血栓形成に伴う血栓塞栓症がしばしば経験された。そこで、左室心尖部にカフを縫着し、このカフを介して脱血カニューラを左室に挿入し、血液ポンプは左腹部に固定する左室心尖脱血方式が開発され⁵⁾、1999年から臨床応用された(図1c、図3b)。

2)右心補助

右心房に心房カフを介して脱血カニューラを挿入し、送血カニューラを肺動脈に縫着し、血液ポンプを右上腹部に固定する。

4. 東洋紡 VAS における管理

1)VAS 駆動条件の設定

トリガモードでは、心電図同期は不整脈を伴うことが多く、さらに体動などにより安定した心電図を得ることが困難で駆動が不安定となるため、通常固有レートが設定される。装着早期あるいは自己心機能が低下した状態では最大のポンプ拍出量が得られるように調整するため、駆動回数は100～120bpmを選択する。その後自己心機能に応じて80～90bpm前後に設定し、自己心機能が良好であれば60bpmまで減少する。

駆動陽・陰圧の設定は、血圧、脱血状況、駆動チューブ長などを考慮する。駆動陽圧は、通常、自己最高血圧より100mmHg程度以上を維持する。装着初期は血圧変動があるため250mmHg前後に設定し、循環動態が安定した段階では200mmHg前後とする。駆動陰圧は通常40～50mmHg前後に設定する。なお、駆動陰圧を上げて補助流量は大きく変化しない場合が多い。

%-systole(収縮時間)は、ポンプ内血液充填の程度をみながら、完全充填・完全駆出を行えるように設定する。なお、完全充填をすべての駆動時にみられるようにすると、急激に左心系への血液流入が増加する場合に対応できないため、数拍に1拍ないし2拍みられるように適宜調節する。

2)抗凝固療法および抗血小板療法

VAS装着後、外科的出血がコントロールさ

表1 心筋症に対する補助人工心臓の適応：使用ポンプ別成績(1992～2007年9月)(中谷ほか⁷⁾より一部改変引用)

ポンプ	例数	施行期間(日)(平均)	median	移植数
東洋紡	255 [43]	2～1444 (317)	198	48
LV-LVAS	201 [42]	2～1444 (368)	297	46
ゼオン	16	1～178 (49)	30	-
Novacor	27 [3]	6～1157 (400)	608	8
HeartMate-IP	17	2～1232 (277)	188	2
HeartMate-VE	7	25～1056 (613)	653	3
EvaHeart	14 [12]	32～876 (345)	254	-
Jarvik2000	4 [3]	31～726 (422)	592	1
計	340 [61]	1～1444 (318)	198	62

[]: 施行中(BVS-5000症例を除く) (日本臨床補助人工心臓研究会)

れた段階で開始する。経口摂取ができない場合には、ヘパリンあるいは低分子ヘパリンが用いられる。経口摂取開始後は、ワーファリン(目標PT-INR:3～4)および抗血小板剤を併用する。抗血小板剤としては、アスピリン単独や他剤との併用が投与されるが、ずり応力下血小板血栓形成能検査などでモニタし調整する。

3) 血液ポンプの交換

東洋紡 VAS 血液ポンプは1カ月使用として開発され、30日で交換することとされている。しかし、単独ポンプにより数カ月以上の駆動が可能で、1年以上用いられる場合もある。血液ポンプ内血栓形成を認めた場合には、血栓の状態(大きさ、範囲、可動性の有無、形状の変化の程度など)を観察し、抗凝固および抗血小板療法が不十分な場合は、血栓の推移に注意しながら適正化を図る。大きなあるいは著明な可動性を認める血栓に対しては、ポンプ交換を考慮する。ポンプ交換は、手術室で覚醒下に行う。自己心機能が安定していればヘパリン(100単位/kg)投与後に駆動を停止しポンプを交換する。自己心機能低下例では、カテコラミン投与あるいはPCPS併用を考慮する。

4) 血液ポンプの固定

送血および脱血管部の感染を予防するためにも血液ポンプの固定は重要で、血液ポンプを保護する固定バッグを用いて固定する。

5. 東洋紡 VAS の臨床応用の現状

日本臨床補助人工心臓研究会レジストリーに

よると、2007年度までに575例使用された⁶⁾。また、脱血方式では左房および左室はほぼ同数で、近年90%前後が左室脱血であった。

心筋症以外の急性心不全320例に用いられ、多くは左心補助で、施行中を除き40%が離脱し、22%が生存した。適応理由別では約半数が体外循環離脱困難例であった。補助期間はmedian 10日で、最長は1122日であった。

心筋症へは1992年から臨床応用され、255例に用いられ、そのうち201例は左室心尖脱血であった(表1)⁷⁾。年齢は平均36歳であった。施行日数は2～1444(平均317)日で、左室脱血型のみ平均補助期間は368日で、わが国での現状での最長補助後のBTT例は東洋紡左室脱血による1444日例である。

当センターでは、東洋紡 VAS を128例に用い、そのうち78例が心筋症で、42例が1年以上の補助例であった。この1年以上補助例では、体重32～70(平均51)kg、体表面積1.23～1.88(1.54)m²と体格の小さい症例が多かった。東洋紡 VAS(左室脱血)装着例での補助期間と生存率をみると、図4に示すように最長補助期間は1444日であるが、5～7年で50.2%と良好であった。

6. おわりに

体外設置型東洋紡 VAS は4半世紀用いられてきたが、長期使用を考慮した金属カニューーラの変更、制御駆動装置CDUの改良、左室脱血方式の導入が行われ、BTRに加えBTTとして

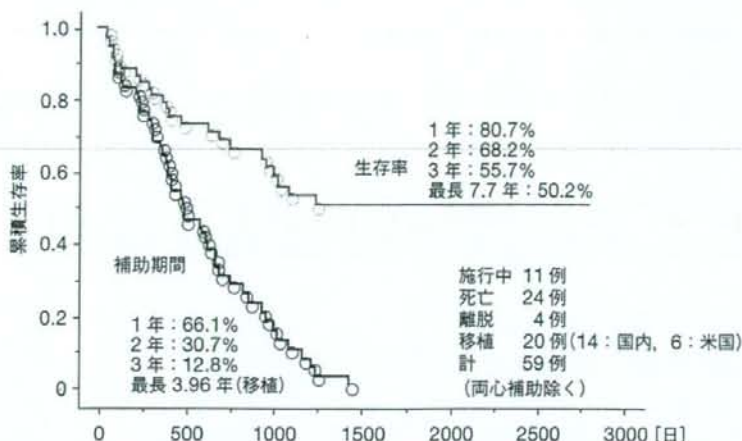


図4 国立循環器病センターにおける東洋紡 VAS(左室脱血方式)による慢性心不全急性増悪例への適応例の補助期間と生存率

用いられ、最長では1444日の補助後に心移植がなされた症例も経験されている。体外設置型であるため、現状では病院内での管理が必要であるが、その生命予後からは選択すべき治療手段の1つといえる。さらに小型駆動装置、ポンプのヘパリン化が行われ、通常の空路を用いた患者の搬送も可能となり、病院間の連携も行えるようになった。

装着患者のQOLからは植込型VASが望ましく、わが国においても治療が開始されている。

しかし、当面その適応数は限られており、東洋紡VASで対応せざるを得ない。

また、体格の小さな症例や、両心補助を必要とする症例、あるいは急激に全身状態が悪化する症例に対しても体外設置型で対応せざるを得ないとする。

■著者連絡先メールアドレス
tnakatan@hsp.ncvc.go.jp

■文献

- 1) Takano H, Kyo S, Taenaka Y, Nakatani T, et al: CLINICAL EVALUATION OF TOYOBO-NATIONAL CARDIOVASCULAR CENTER VENTRICULAR ASSIST SYSTEM, Jpn J Artif Organs 19: 1432-1443, 1990
- 2) Takano H, Nakatani T: Ventricular assist systems: experience in Japan with Toyobo pump and Zeon pump, Ann Thorac Surg 61(1): 317-322, 1996
- 3) Takano H, Taenaka Y, Nakatani T, et al: Development and evaluation of ventricular assist blood pump to salvage patients with profound heart failure, Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi 37(10): 2072-2081, 1989
- 4) 西中知博ほか: 血液適応化医用材料表面処理技術と軽量小型駆動装置の開発による国立循環器病センター型補助人工心臓システムの改良, Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 50: 210, 2002
- 5) Nakatani T, Anai H, Eya K, et al: Development and in vivo evaluation of an implantable left ventricular assist system with an impedance based monitoring and control system, ASAIO J 41(3): M324-327, 1995
- 6) 中谷武嗣ほか: 東洋紡製補助人工心臓の臨床応用の状況と将来展望, 人工臓器 36: 239-243, 2007
- 7) 中谷武嗣, 北村惣一郎: 日本臨床補助人工心臓研究会レジストリー, 人工臓器, 投稿中

心不全の機械的補助最前線

中谷武嗣*

abstract

高度心筋障害を伴う心不全症例に対しては心臓ポンプ機能の機械的補助が必要であり、長期代행을要する症例では、人工心臓や心臓移植が必要となる。心臓移植は世界では7万例以上、わが国で58例に行われているが、その施行数は限られている。これに対し、補助人工心臓は、いつでも適応可能な高度心筋障害例に対する治療選択として期待されている。また、欧米では心臓移植適応外の末期心不全患者に対し埋め込み型左心補助人工心臓 (left ventricular assist system: LVAS) による destination therapy が認められるようになっており、わが国においてもLVASによる長期在宅治療が期待されるようになってきた。現在、わが国で開発された無拍動流血液ポンプを用いた埋め込み型LVASの導入が進められており、わが国においても心臓移植と補助人工心臓が状況に応じて選択できるようになることが望まれる。

I はじめに

高度心筋障害を伴う心不全症例に対しては心臓ポンプ機能の機械的補助が必要であり、一時的補助手段として大動脈バルーンパンピング (intraaortic balloon pumping: IABP) や経皮的な心肺補助法 (percutaneous cardiopulmonary support: PCPS) が用いられる。しかし、慢性心不全の急性増悪例など長期代행을要する症例においては、人工心臓や心臓移植が必要となる。

心臓移植は世界では7万例以上に施行され、わが国では1997年10月に「臓器の移植に関する法律」が施行されてから、2008年9月1日現在、58例に行われているが、その施行数は限られている。これに対し、人工心臓には自己心を切除する全置換型人工心臓 (total artificial heart: TAH) と、自己心臓を温存しその近傍に血液ポンプを設置する補助人工心臓

(ventricular assist system: VAS) があり、わが国ではVASの臨床応用が積極的になされてきた。さらに、人工心臓はその性能が向上すれば心臓移植の代替手段になることが期待されている。特に、心臓移植適応外の末期心不全患者を対象とした体内埋め込み型左心補助人工心臓 (left ventricular assist system: LVAS) と最大の内科的治療の成績を比較する二重盲検試験 (REMATCH study) の結果、LVAS装着患者の成績が良好であることが報告された²⁾。その結果、欧米では心臓移植適応外の末期心不全患者に対し埋め込み型LVASによる destination therapy が認められるようになっており、わが国においてもLVASによる長期在宅治療が期待されるようになってきた。

II わが国で用いられるVAS

わが国では1960年代から人工心臓の開発研究が行

* 国立循環器病センター臓器移植部長

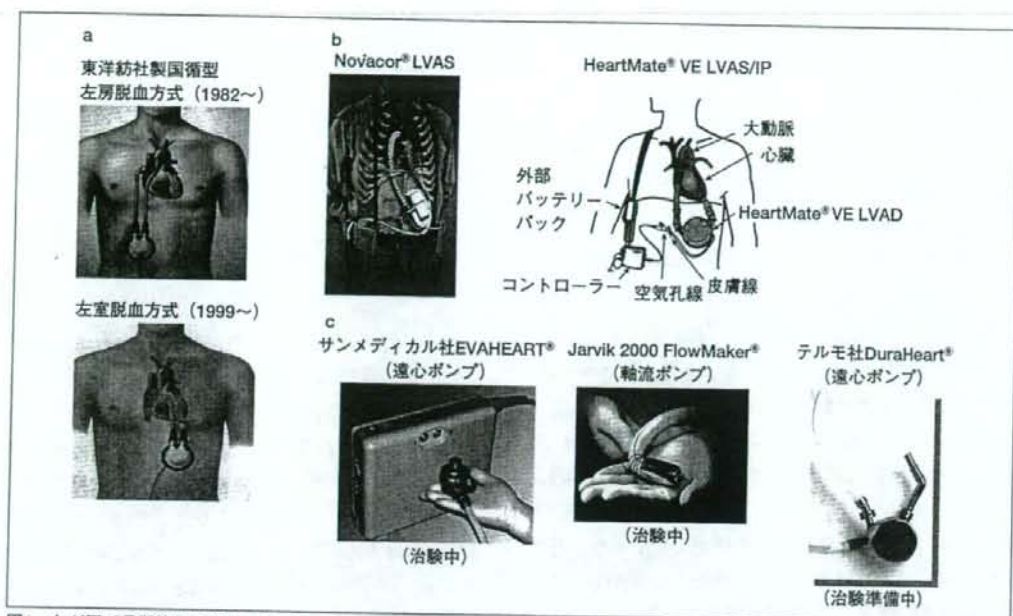


図1 わが国で長期使用を目的として用いられている各種補助人工心臓
 a: 拍動流体外設置型LVAS, b: 拍動流体内設置携帯型LVAS, c: 無拍動流体内設置携帯型LVAS

われ、当初、空気圧駆動体外設置型の開発が進められた。その臨床応用は1980年に東京大学型が、1982年には国立循環器病センター型が各々心臓手術後の重症心不全例に対して行われた。さらに1986年からそれぞれ日本ゼオン/アイシン精機社製および東洋紡社製による治験が開始され、1990年に世界に先駆けて製造承認を受け、1994年には急性心不全 (acute heart failure: AHF) に対する適応が施設限定で健康保険に採用された。1992年からは心筋症例に対してもVASが用いられるようになり、数種のシステムが導入されている。現在わが国で長期使用を目的として用いられるVAS (導入が予定されているものを含む) を示す (図1)。

東洋紡社製の血液ポンプは、1回拍出量70mLのセグメント化ポリウレタン製空気圧駆動ダイヤフラム型で、体重30kg前後までの患者に適応可能である (図1-a)。制御駆動装置は、固有レートと心電図同期での駆動が可能で、内蔵するバッテリーと空圧ポンプで病院内の移動が行える。LVASの装着は、脱血管は左房 (LA-LVAS) あるいは左室心尖部 (LV-LVAS) に挿入し、送血管は人工血管を上行

大動脈に縫着する。送・脱血管は上腹部で体外へ出し血液ポンプに接続する。上腹部に設置した血液ポンプは駆動チューブで制御駆動装置に接続する。補助期間は左室脱血方式により著明に延長した。右心補助 (RVAS) は、脱血管を右房に挿入し、送血管を主肺動脈に装着する。最近、抗血栓性の向上を期待したヘパリンコーティング血液ポンプおよび移動を考慮した小型駆動装置Movart-NCVCが臨床導入された。また、2006年からは心臓移植へのブリッジ使用も健康保険で認められるようになった。

埋め込み型LVASには、米国で開発された拍動流型であるWorldHeart社製Novacor® LVASおよびThoratec社製HeartMate® VE (Vented Electric) LVADがある (図1-b)。前者は電磁力駆動プッシュプレート型で耐久性に優れている。後者はモーター駆動プッシュプレート型で粗面構造の血液接触面を有し抗血栓性に優れ、空気圧駆動 (Implantable pneumatic type: IP) 方式もある。血液ポンプは左腹壁あるいは腹腔内に収納され、皮膚を貫通する制御およびエネルギー供給用のチューブにより体側に設置した小型の制御装置およびバッテリーに接続す

使用ポンプ	例数	施行期間(日)(平均)	median	移植数
東洋紡	255[43]	2-1,444(317)	198	48
LV-LVAS	201[42]	2-1,444(368)	297	46
日本ゼオン	18	1-178(49)	30	—
Novacor®	27[3]	6-1,157(400)	608	8
HeartMate® IP	17	2-1,232(277)	188	2
HeartMate® VE	7	25-1,056(613)	653	3
EVAHEART®	14[12]	32-876(345)	254	—
Jarvik 2000 FlowMaker®	4[3]	31-726(422)	592	1
計	340[61]	1-1,444(318)	198	62

表
わが国における心筋症に対する
補助人工心臓の適応(1992~
2007/9)
□:施行中
(BVS-5000症例を除く)
(日本臨床補助人工心臓研究会)
(参考文献7)より一部改変

ることで良好な活動性が得られ、在宅管理を行える。しかし、両者とも血液ポンプが大きく、小さな体格(体表面積1.5m²未満)の人への適応は困難である。Novacor®は、2006年4月から心臓移植へのブリッジとして心臓移植施設での使用が健康保険で認められたが、バッテリーシステムが第一世代のため供給を続けられなくなり、現在新規使用ができなくなった。HeartMate® VEは試験を終了したが、現在改良型のHeartMate® XVEで薬事審査中である。

人工心臓の開発は、自然心臓と同様の拍動流をつくり出す拍動流ポンプで行われてきたが、流入および流出弁を必要とし、容積が大きくなる。これに対し、流入・流出弁を必要としない無拍動流(連続流)血液ポンプが、小型化が容易として注目されるようになった。欧米ではこの無拍動流血液ポンプを用いた埋め込み型LVASとして、軸流ポンプによるMicroMed DeBakey VAD®, Jarvik 2000 FlowMaker®, HeartMate® II, Incor社製などの臨床試験が行われ、Jarvik 2000 FlowMaker®はわが国でも用いられるようになった(図1-c)。また、長期使用に有利とされる遠心ポンプを用いたCorAidやVentrAssist™などの臨床試験も行われている。わが国でも2種の遠心ポンプを用いたシステムが開発され(図1-c)、テルモ社製DuraHeart®は、ヨーロッパで臨床試験後に認可され、現在わが国での臨床試験を準備中である³⁾。また、サンメディカル社製EVAHEART®は、2006年よりわが国で臨床試験が行われている⁴⁾。

III わが国における人工心臓の臨床応用

2007年度の日本臨床補助人工心臓研究会レジスト

リーでは、わが国でこれまでに939例のVAS適応があり、体外設置型の東洋紡社製が60%以上に、また拍動流携帯埋め込み型(Novacor®, HeartMate®)が6%に用いられた⁵⁾⁻⁷⁾。1992年より心筋症へも用いられているが、最近では年40例程度となっている。

心筋症以外のAHFに対する適応では、補助期間はmedian 1週間で、離脱41.1、生存22.2%であった。心筋症への適応は表に示すように340例に達し、東洋紡社製左室脱血型が201例と最も多く、埋め込み型は拍動流および無拍動流ともに用いられるようになっている。施行日数は平均318(最長1,444)日で、東洋紡社製左室脱血型では平均368(最長1,444)日であった。また、移植(ブリッジ)例は62(国内34, 渡航28)例あり、心機能の改善を認め46例が離脱した。

わが国での心臓移植は2008年9月1日までに58例施行されたが、80%以上がLVAS装着例であった。長期LVAS補助例が多数を占めているが移植後の成績は安定しており、最近の2例を除く56例での累積生存率を図2¹⁾に示すが、最長9年を超え死亡は2例で、9年での生存率は93%と、国際レジストリーより良好である。

IV 今後の展望

わが国は世界に先駆けて体外設置型VASの認可および健康保険での採用が行われた。また、わが国での心臓移植実施例は58例で、VASによるブリッジ例が80%以上を占めているが、その成績は国際レジストリーよりも良好である⁸⁾。また、LVAS適応後、自己心機能の改善をみて離脱した症例も10%以上報告されている⁹⁾。しかし用いられているシステムが主に体外設置型の東洋紡社製であり、最近小型

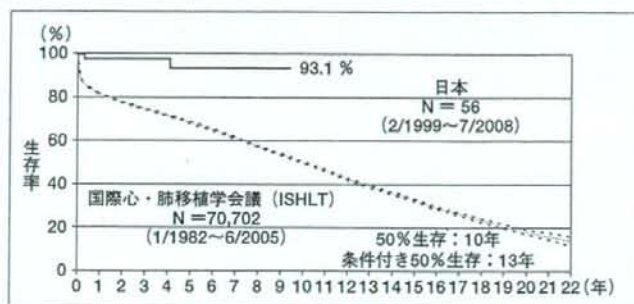


図2 世界および日本における心臓移植の累積生存率
47例 (84%)；ブリッジ例
最長：東洋紡製LV-LVAS；1,444日
〔参考文献〕より改変

駆動装置が用いられるようになり、QOLの改善が図られてはいるものの、病院内での管理を余儀なくされ、活動範囲も制限されている。

このため、在宅管理が可能な埋め込み携帯型LVASとして、拍動流型のNovacor® LVASやHeartMate® VE LVASがわが国でも導入されたが、治験開始から保険認可まで前者では8年を要し、後者も審査中である。また、両者ともシステムが大きい小さな体格の患者へ適応できない。このため、小型化可能なLVASとして各種の無拍動血液ポンプを用いたLVASが開発され、わが国で開発された2種を含め臨床治験が積極的に行われている。しかし、これまでわが国では新しい医療機器の導入に時間を要したため、新たに設置された「医療ニーズの高い医療機器等の早期導入に関する検討会」において埋め込み型VASが取り上げられ、図1に示すHeartMate® VE LVAS、Jarvik 2000およびわが国で開発された2種の遠心ポンプを用いたシステム(EVAHEART®, DuraHeart®)の早期承認に向けた活動がなされている。このなかで、厚生労働省および経済産業省の協力で開発審査を円滑に進めるためのガイドラインづくりや、埋め込み型LVASの適応基準、施設基準や在宅療法のありかたなどの検討も行われた。また、VASにおける臨床応用上の問題点を明らかにし、さらに新たなLVAS開発へつなげるためのレジストリーとして、米国で活動を開始したINTERMACSを参考として、独立行政法人医薬品医療機器総合機構を中心に学会、病院、製造業者により「日本における長期使用型補助人工心臓適応患者のレジストリー (仮称)」の構築に向けて作

業が進められている。

V おわりに

VASは、いつでも適応可能な高度心筋障害例に対する治療選択として期待されている。今後、わが国においても心臓移植とVASが状況に応じて選択できるようになることが望まれる。

参考文献

- 1) Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, et al: Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant* 26: 769-781, 2007
- 2) Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al: Randomized Evaluation of Mechanical Assistance for the Treatment of Congestive Heart Failure (REMATCH) Study Group: Long-term mechanical left ventricular assistance for end-stage heart failure. *N Engl J Med* 345: 1435-1443, 2001
- 3) Nojiri C, Kijima T, Maekawa J, et al: Terumo implantable left ventricular assist system: results of long-term animal study. *ASAIO J* 46: 117-122, 2000
- 4) Yamazaki K, Kihara S, Akimoto T, et al: EVAHEART: an implantable centrifugal blood pump for long-term circulatory support. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 50: 461-465, 2002
- 5) 中谷武嗣, 松津俊宏, 加藤倫子ほか: 東洋紡製補助人工心臓の臨床応用の状況と将来展望. *人工臓器* 36: 239-243, 2007
- 6) 許 俊鋭: NovacorとHeartMateの臨床成績. 先端医療シリーズ37. *人工臓器・再生医療の最先端* (許 俊鋭, 斎藤 明, 赤池敏宏編) 413p, p58-63. 先端医療技術研究所 東京, 2005
- 7) 中谷武嗣, 北村悠一郎: 2007年度補助人工心臓レジストリー. *人工臓器* 37: 8-13, 2008
- 8) 中谷武嗣, 加藤倫子, 真野暎子ほか: 移植医療, 機械的補助循環も含めて. *循環器* 62: 67-73, 2007
- 9) Mano A, Nakatani T, Oda N, et al: Which factors predict the recovery of natural heart function after insertion of a left ventricular assist systems? *J Heart Lung Transplant* 27: 869-874, 2008

特集「移植における臓器保存」

心臓移植における保存法

中谷武嗣

国立循環器病センター臓器移植部

■ ■ はじめに

2008年度国際心肺移植学会報告によると、2006年6月までに74,267例、年間3,000例以上の心臓移植が施行されている¹⁾。心臓移植におけるドナー心に対する保存法として、これまで簡便さもあり単純浸漬法が主に用いられてきた。しかし、長時間の保存法として冠灌流保存法の検討も行われ、近年新しい機器も開発され臨床応用も開始されている。わが国では1999年に臓器移植法下の心臓移植が開始されてからこれまでに59例が施行されたが、死亡例は感染に基づく2例のみと良好な心機能が得られている。本稿では、現状における心保存法について概説する。

■ ■ 単純浸漬法

単純浸漬法は通常低温の心保存液を注入し、すみやかに心停止を得るとともに冠血管床を洗い出し、その後摘出したドナー心を保存液に浸漬し、4度前後の低温に保存する。この低温の心保存液の注入(初期灌流)により、細胞浮腫を予防し、細胞内アシドーシスを防止し、さらに細胞膜機能を維持するのに十分な細胞内ATPレベルを維持することが重要である²⁾。さらに、長時間保存においてドナー心機能を良好に維持するために、低温保存中に低下するATPの産生を促進する前駆物質、再灌流時に発生するフリーラジカルによる細胞障害を抑制する抗酸化薬、Ca²⁺過負荷による障害を抑制する物質などを加えた保存液が開発されている。

細胞浮腫の予防として細胞膜を通過しにくい物質を

適量含むことや血漿より高い浸透圧を有することが必要で、細胞膜不透性の陰イオンである lactobionate、浸透圧を上げる mannitol、glucose、raffinose あるいは pentafraction などが添加される。フリーラジカルによる障害を抑制するために、再灌流時のフリーラジカルスカベンジャーである reduced glutathione や allopurinol の添加が行われる。ATPの産生を促進する前駆物質としては、adenosine や glutamate が用いられる。Ca²⁺過負荷を防ぐためには、初期灌流液および再灌流液に含まれるCa²⁺の含有量を低くすることが重要で、さらに高Mg濃度とすることや lactobionate のようなカルシウムキレート剤の添加によりCa²⁺流入を抑えることも有用である。表1に各種心保存液の組成を示す。

通常的心臓手術において用いられる cardioplegic solution は、細胞外液組成に類似した細胞外液型が用いられてきた。このため、心移植が開始された初期においては、この細胞外液型 cardioplegic solution である GIK 液による初期灌流で心停止を得た後、低温の生理食塩水に浸漬されていた。その後、心臓手術において長時間の心保存が行える cardioplegia として開発された St. Thomas 液が心保存液としても用いられるようになった³⁾。さらに、1994年には心臓移植に用いる心保存液として細胞外液型の Celsior 液が開発された⁴⁾。

この心臓保存液の状況に対し、腎臓や肝臓など腹腔内臓器の移植における臓器保存においては、1960年代初め細胞外液組成に類似した電解質液などが用いられた。しかし、低温状態ではNa⁺-K⁺ATPaseの活動が停止しNaポンプが機能せず、Na⁺と水分が細胞内に取り込まれ細胞内浮腫を来し、良好な臓器保存が行

表1 各種心保存液の組成

タイプ		Celsior	St-T	UW	HTK	EC	Collins
		細胞外液	細胞外液	細胞内液	細胞内液	細胞内液	細胞内液
電解質							
Sodium	mmol/l	100	120	30	15	15	10
Potassium	mmol/l	15	16	125	9	115	115
Chloride	mmol/l	41.5	160		32.03	15	15
Calcium	mmol/l	0.25	1.2		0.015		
Magnesium	mmol/l	13	16	5	4		30
SO ₄ ²⁻	mmol/l			5			30
HPO ₄ ²⁻	mmol/l					42	42.5
H ₂ PO ₄ ²⁻	mmol/l			25		15	15
HCO ₃ ⁻	mmol/l		10			15	10
Metabolic agents							
Glucose	g/dl					194	140
Glutamate	mmol/l	20					
α-Ketoglutarate	mmol/l				1		
Tryptophan	mmol/l				2		
Insulin	units			40			
Dexamethasone	mg			16			
Adenosine	mmol/l			5			
Impermeants							
Lactobionate	mmol/l	80		100			
Mannitol	mmol/l	60			30		
D+raffinose	mmol/l			35.36			
Pentafraction	g			50			
Antioxidants							
Allopurinol	mmol/l			1			
Reduced glutathione	mmol/l	3		3			
Buffers							
Histidine	mmol/l	30			180		
Histidine-HCl	mmol/l				18		

St-T : St. Thomas 液, UW : University of Wisconsin 液, HTK : Bretschneider histidine-tryptophan-ketoglutarate 液, EC : Euro-Collins 液

(文献 11 より改変して引用)

えなかった。そこで、高 K⁺、高 Mg²⁺、低 Na⁺の細胞内液型の保存液の開発が行われ、Collins 液や Euro-Collins 液、さらに University of Wisconsin (UW) 液が開発され、これら細胞内液型の保存液も心保存での有

効性が示されるようになった²⁴⁾。また、心臓手術における cardioplegic solution として Bretschneider らにより histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) 液が開発され、ヨーロッパでは多くの心臓手術においても用いら

れている^{9,10)}。

各種の心保存液について報告がなされている¹¹⁾が、現在用いられる代表的な保存液である細胞内液型の UW 液と、細胞外液型である Celsior 液について述べる。

1. UW 液

細胞内液型の保存液で当初脾臓移植用として開発され、その後、肝臓、腎臓の腹部臓器に加え、胸腔内臓器である心臓や肺にも用いられるようになった^{12,13)}。リン酸を緩衝剤とし、細胞浮腫予防には細胞膜不透過性の lactobionate, raffinose, pentastarch を、再灌流時における高エネルギーリン酸の前駆物質として adenosine を、Ca²⁺流入を防ぎ、細胞膜の安定化を図るために magnesium を、さらに再灌流時のフリーラジカルスカベンジャーとしては reduced glutathione, allopurinol を含有している。6 時間程度の心保存が可能とされている。しかし、高 K 濃度と高粘稠度であることが、初期灌流における血管攣縮や血管内皮の損傷を引き起こすとの報告もある。また、ウサギ心を用いた実験より UW 液が Celsior 液より優れ、初期灌流に UW 液を用いても細胞外液型の cardioplegia を用いたときと差がないとする報告がなされている¹⁴⁾。

2. Celsior 液

心移植における心保存液として 1994 年に開発された⁴⁾。緩衝剤として histidine が用いられ、低粘稠度であることが特徴である。細胞浮腫予防に、mannitol, lactobionate を、高エネルギーリン酸基質として glutamate, 再灌流時のフリーラジカルスカベンジャーとして、reduced glutathione を含有し、UW 液と同様の添加物を有している。種々の心保存液との比較において初期の灌流および保存において安全で有用であると報告されている¹⁵⁾。

■ ■ 灌流保存

冠灌流を維持しながら保存することにより、栄養素の補給、代謝産物の除去が可能であり薬剤の持続投与を行うことができる。1980 年代後半には autoperfusion による心臓および心肺移植が行われたが、システムが複雑すぎ用いられなくなった。各種の薬剤を用いた低温持続灌流による長時間保存が可能であることが実験的に報告されている。しかし、装置の複雑さなどから

臨床的には用いられなかった^{16,17)}。

近年、酸素化したドナー血液を用いてドナー心の拍動を維持しながら搬送するシステムが開発され、臨床応用が開始されている。このシステムではドナー心の評価も行うことができ、ヨーロッパで用いられ、最近では米国でも用いられるようになった¹⁸⁾。

■ ■ 臨床例における虚血時間の影響

2008 年度の国際心肺移植学会レジストリーにおいて、各種の心保存液による単純浸漬法が用いられている状況で、虚血時間が延長するにつれて移植後 1 年の死亡率が高くなっている (図 1)。現在わが国ではドナー発生時におけるレシピエントの決定において、虚血許容時間として 4 時間以内に血流再開することを最優先しているが、現状では妥当と考えられる。

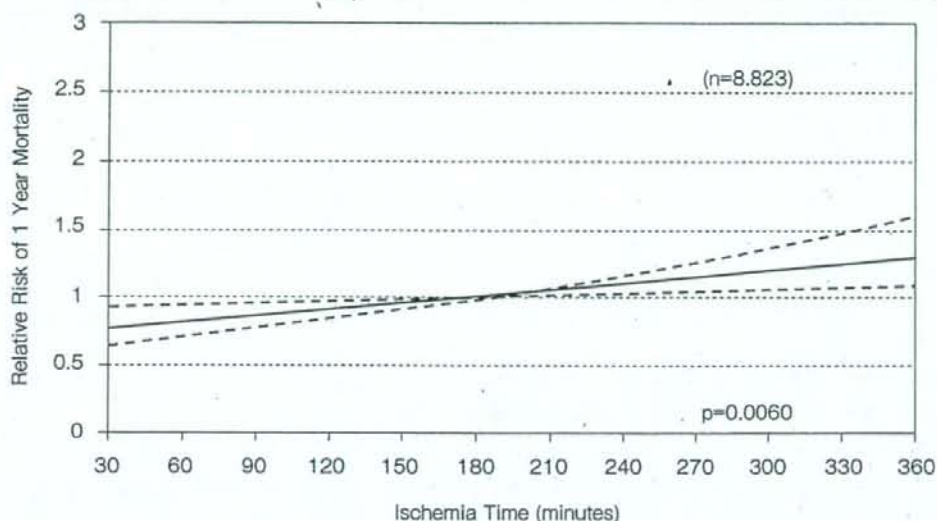
■ ■ わが国における心保存の状況

臓器移植法下での大阪大学で行われた第 1 例目においては、GIK 液による初期灌流を行った後、modified Collins 液を用いた心保存が行われた¹⁹⁾。再灌流においては、虚血時間が 3 時間を越えたことより terminal warm cardioplegia with leukocyte depleted blood (LDTC) により行われた²⁰⁾。当センターで第 2, 3 例目では、St. Thomas 液を用いて初期灌流および保存が行われた²¹⁾。再灌流においては、retrograde reperfusion with leukocyte-depleted blood が用いられた²²⁾。これらの症例における移植術後の心機能は良好であった。

その後、7 施設で 58 例の心臓移植が行われたが、これまでに用いられた保存液は図 2 に示すように細胞外液型の St. Thomas 液および Celsior 液、細胞内液型の modified Collins 液、Bretchneider HTK 液および UW 液で、この 1 年では 1 施設が UW 液を用いたが他の施設は Celsior 液を用いるようになった²³⁾。

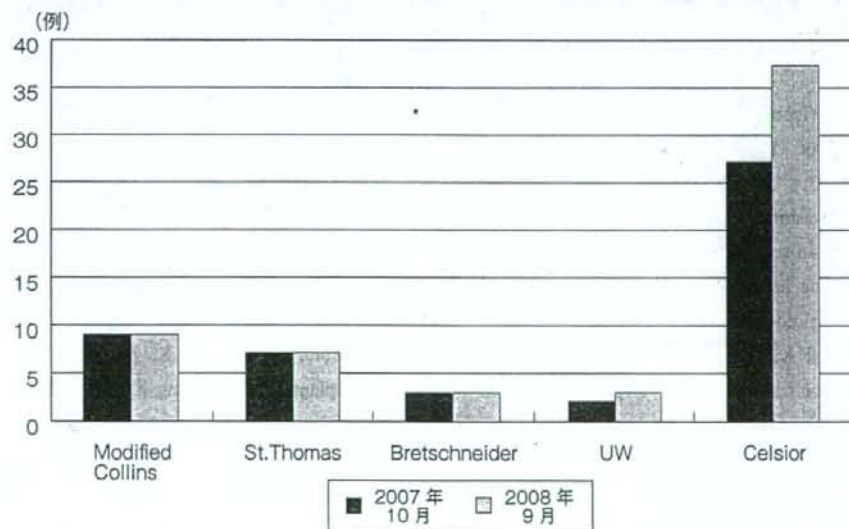
当センターでは、当初上記したように当初 St. Thomas 液を用いていたが、現場で最終的な準備が必要であった。そこで、第 7 例目からは心保存用に開発されており、1 バッグ 1ℓ 入りで、特に作業を行わずに用いることができる Celsior 液を用いている。通常初期灌流に 2ℓ 用い、摘出した心臓を Celsior 液に浸漬して、保冷库に入れて搬送している。レシピエント手術では局所冷却を追加し、大動脈の吻合終了後、再灌流を antegrade terminal blood warm blood cardioplegia で

図1 心臓移植後1年における虚血時間による危険率



(文献1より引用)

図2 日本における心臓移植例 (心筋保護液)



(文献23より引用)

行っている。これまでの24例での虚血時間は133～255 (平均208) 分であったが、心臓移植後に心保存による問題は特に認めていない。

■ おわりに

心臓移植術におけるドナー心の保存は、心保存用に開発された Celsior 液などを用いた単純浸漬法により

4時間を超えて安全に行えるようになってい
る。今後、さらに保存時間を延長するた
めに、また marginal donor 心や心
停止ドナー心への対応を行うための保
存液や保存法の開発²⁴⁾や、現在臨床
応用が行われるようになった持続灌流
法の検討などが必要である。

文 献

- 1) Taylor DO, Edwards LB, Aurora P, *et al.* Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fifth official adult heart transplant report-2008. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27: 943-956.
- 2) Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676.
- 3) Choong YS, Gavin JB. Functional recovery of hearts after cardioplegia and storage in University of Wisconsin and in St. Thomas' Hospital solutions. *J Heart Lung Transplant* 1991; 10: 537-546.
- 4) Menasché P, Termignon JL, Pradier F, *et al.* Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994; 8: 207-213.
- 5) Collins GM, Wicomb WN. Present status of kidney preservation for transplantation. *Heart Transplant* 1983; 2: 94-103.
- 6) Sakata K, Kawashima Y, Ichikawa H, *et al.* University of Wisconsin solution versus modified collins solution for canine heart preservation: an experimental study. *Int J Angiology* 1997; 6: 176-179.
- 7) Kohno H, Shiki K, Ueno Y, *et al.* Cold storage of the rat heart for transplantation. Two types of solution required for optimal preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 86-94.
- 8) Dzielak DJ, Raju S, Woolley S. Enhanced myocardial viability with hypothermic storage in Euro-Collins solution. *Transplant Proc* 1989; 21: 1364-1365.
- 9) Hölscher M, Groenewoud AF. Current status of HTK solution of Bretschneider in organ preservation. *Transplant Proc* 1991; 23: 2334-2337.
- 10) Saitoh Y, Hashimoto M, Ku K, *et al.* Heart preservation in HTK solution: role of coronary vasculature in recovery of cardiac function. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 107-112.
- 11) Michel P, Vial R, Rodriguez C, *et al.* A comparative study of the most widely used solutions for cardiac graft preservation during hypothermia. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 1030-1039.
- 12) Stein DG, Drinkwater DC Jr, Laks H, *et al.* Cardiac preservation in patients undergoing transplantation: a clinical trial comparing University of Wisconsin solution and Stanford solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 657-665.
- 13) Jeevanandam V, Barr ML, Auteri JS, *et al.* University of Wisconsin solution versus crystalloid cardioplegia for human donor heart preservation: a randomized blinded prospective clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103: 194-199.
- 14) Boku N, Tanoue Y, Kajihara N, *et al.* A comparative study of cardiac preservation with Celsior or University of Wisconsin solution with or without prior administration of cardioplegia. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 219-225.
- 15) Vega JD, Oschner JL, Jeevanandam V, *et al.* A multicenter, randomized, controlled trial of Celsior for flush and hypothermic storage of cardiac allografts. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 1442-1447.
- 16) Shimada Y, Yamamoto F, Yamamoto H, *et al.* Temperature-dependent cardioprotection of exogenous substrates in long-term heart preservation with continuous perfusion: twenty-four-hour preservation of isolated rat heart with St. Thomas' Hospital solution containing glucose, insulin, and aspartate. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15: 485-495.
- 17) Tsutsumi H, Oshima K, Mohara J, *et al.* Cardiac transplantation following a 24-h preservation using a perfusion apparatus. *J Surg Res* 2001; 96: 260-267.
- 18) Tenderich G, El-Banayosy A, Rosengard B, *et al.* Prospective multi-center European trial to evaluate the safety and performance of the Organ Care System for heart transplants (PROTECT). *J Heart Lung Transplant* 2007; 26: S 64.
- 19) Matsuda H, Fukushima N, Sawa Y, *et al.* First brain dead donor heart transplantation under new legislation in Japan. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 47: 499-505.
- 20) Fukushima N, Shirakura R, Nakata S, *et al.* Study of

efficacies of leukocyte-depleted terminal blood cardioplegia in 24-hour preserved hearts. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 1651-1656.

- 21) Kitamura S, Nakatani T, Yagihara T, *et al.* Cardiac transplantation under new legislation for organ transplantation in Japan: report of two cases. *Jpn Circ J* 2000; 64: 333-339.
- 22) Carrier M, Leung TK, Solymoss BC, *et al.* Clinical trial of retrograde warm blood reperfusion versus standard cold topical irrigation of transplanted hearts. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1310-1315.
- 23) 日本心臓移植研究会. 本邦心臓移植登録報告. 移植 2008; 43 (印刷中).
- 24) Shirakura R, Matsuda H, Nakano S, *et al.* Cardiac function and myocardial performance of 24-hour-preserved asphyxiated canine hearts. *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 440-444.



展 TENBO 望

心臓疾患における幹細胞移植治療の 現状とその追跡法



橘 洋一
Tachibana Yoichi



山岡 哲二
Yamaoka Tetsuji

(国立循環器病センター研究所)

1 はじめに

アテローム（粥腫）性動脈硬化による心筋梗塞が引き起こす心筋の機能不全は、成人の死亡の大きな原因となっている。ダメージを受けた左心室はリモデリング状態（梗塞により心室の形態が変化する状態）へと移行し、筋細胞の減少と繊維化を伴いながら、心室の拡張が進む。これは、本来備わっている心筋の修復、再生のメカニズムを失っている状態である。心筋梗塞に対する治療法として、様々な細胞を梗塞部位に移植する研究が進められている。重度な心筋梗塞モデル動物を用いた実験において、骨髄細胞を注入することで、心室の機能の改善が観察されている。しかしながら、その効果が骨髄細胞中の造血系幹細胞によるのか、あるいは内皮細胞前駆細胞によるのか、全く明らかになっていない。そのような中、心筋梗塞に対して、骨髄から得られる間葉系幹細胞が治療に適しているとのことが知られるようになってきた。

2 間葉系幹細胞について

間葉系幹細胞は、骨髄における非造血性部位に存在しており、造血細胞群の増殖・分化への適切な造血微細環境を提供している。*In vitro* においては、接着性、コロニー形成能、非食性、繊維芽細胞様を有しており、自己再生や多分化能を持つ細胞として知られている。適切な実験条件において骨、軟骨、脂肪細胞への分化が可能である^{1,2)}。更に、神経細胞^{3,4)}、造血系細胞などへの分化も確認されている。また、間葉系幹細胞は、前記の分化能に加えて、免疫学的に未成熟であることも発見されている。間葉系幹細胞に対して、リンパ球増殖による免疫応答が見られないため、同種または異種の細胞移植を行っても、レシピエント（移植を受けた患者）の間葉系組織にドナーの間葉系幹細胞が生着しやすいと考えられている。しかしながら、今日においても、Stro1+、SH2+ (CD105+)、CD34-、CD45-、CD14-などの表面マーカーそれぞれ、もしくは組み合わせることによって

間葉系幹細胞を定義するしかなく、特異的なマーカーはいまだに間葉系幹細胞集合体から単離されていない現状である。純粋な間葉系幹細胞を得ることが可能になれば、細胞移植治療における再生効果・効率の向上及び安全性の確保に繋がるため、非常に重要なテーマである。現在、我々のグループにおいて、表面マーカー密度の差による純粋な間葉系幹細胞の分離方法に成功しつつある。

3 間葉系幹細胞の心筋組織への分化誘導

様々な研究により、物理的なもしくは非物理的な刺激によって、間葉系幹細胞は心筋細胞のような性質を示すことが知られてきた。特定の条件下で、間葉系幹細胞は筋管のような構造を持ち、時間の経過と共に振動を示す細胞へと分化した。この細胞は、心筋細胞に特有の構造（サルコメア、中心に位置した核や心房の顆粒など）が見られ、機能的特徴（ペプチドの産生や収縮性タンパクの発現など）を有するため、心筋細胞だと考えられる^{5,6)}。間葉系幹細胞への刺激だけでなく、メディアーターおよび細胞同士の相互作用による心筋細胞への分化誘導も研究されている。現在、間葉系幹細胞と心筋細胞を共培養することによって、ミオシン重鎖、ベータアクチン、トロポニンTのような心筋細胞に特有のフェノタイプ（表現型）を発現することが報告されている。しかし、間葉系幹細胞を心筋細胞用の培地のみで培養すると、ベータアクチンの発現しか観察されないため、間葉系幹細胞を心筋細胞へと分化誘導するためには、直接的な細胞同士の相互作用が必須と考えられる⁷⁾。また、間葉系幹細胞は、血管新生、血管の増大など血管形成に必要な血管平滑筋細胞や内皮細胞へ分化することも報告されている⁸⁾。

心筋梗塞モデルを用いた前臨床試験より、冠動脈投与あるいは心筋内投与後、移植された間葉系幹細胞が心筋内に滞在し、その環境に依存した影響を受けて分化する可能性が示されてい

る。移植された細胞は、新たに心筋細胞のマーカー（ミオシン重鎖、 α -actinin, トロポニンT, ホスホランパン）を発現していた^{9,10)}。これより、移植した間葉系幹細胞が心筋細胞へと分化し、機能の回復の一助となっている可能性もある。

しかしながら、細胞移植療法メカニズムはいまだ不明な部分が多い。すなわち、組織再生や機能改善が、移植した細胞自身の増殖により機能が回復したためによるのか、あるいは、移植した細胞が産生する生理活性物質などに対してレシビエントが反応することで治療したパラクライン効果によるものかは全く不明である。その最大の原因は、特に大動物において、移植した細胞を見分けることが困難なためであり、*in vivo*において非侵襲的に、かつ、長期間に細胞をイメージングする技術の開発が求められてきた。

4 *In vivo*における幹細胞追跡法

非侵襲的に移植細胞をイメージングすることは、学術的な側面（メカニズムの解明）だけでなく、臨床的な側面（ターゲットとなる組織への到達、組織内での細胞の生存、細胞の機能性の評価）からも非常に重要なことである。この*in vivo*イメージングを達成するためには、移植細胞をレシビエントの細胞と区別する工夫が必要であり、かつ、イメージング機器が検出できる十分な量の細胞（トレーサー・造影剤）が必要となる。更に、幹細胞のイメージングに用いるトレーサー・造影剤として、生体適合性、高い安全性、非毒性などの条件を有していなくてはならない。また、遺伝子の変異を起こさないことも重要な要素となる。以下に、主に使用されている3つのイメージング方法について記した¹¹⁾（表1）。

4.1 光イメージング

幹細胞の光イメージングは、現在最も研究が進んでいる分野であり、主に2つの手法が存在

表1 移植細胞の *in vivo* 追跡法

モダリティ	Contrast agent	長所	欠点
光	ルシフェラーゼ基質 赤色蛍光	空間分解能 (表層) 感度 時間分解能	小動物に限定 細胞分裂による希釈
SPECT, PET	^{99m} Tc, ¹¹¹ In など ¹⁸ F, ¹²⁵ I など	感度 時間分解能 大動物でも可	放射活性物質の使用 細胞の遺伝子改変
MRI	ランタノイド金属(Gdなど) USPIO など	空間分解能 大動物でも可	細胞分裂による希釈

する。1つは発光を用い、もう1つは蛍光を用いる方法である。移植する細胞にルシフェラーゼ遺伝子を導入し、移植後、ルシフェリンを投与することで、細胞内の酸化反応による発光を *in vivo* 蛍光発光イメージング装置などで検出することができる¹²⁻¹⁶⁾。この手法により、高感度かつ容易に細胞を追跡することが可能である。しかしながら、ルシフェリン発光は約 560 nm 程度の可視光の放出によるため、組織での吸収と散乱が起こる。そのため、ラット以下の小動物や大動物においても表層での実験系に留まらざるを得ない。また、ヒトへの応用展開を考慮に入れた場合、ヒト以外の遺伝子、基質を用いることが問題となる。今後、組織に関係なく体内を通過できる赤外領域での発光の研究が望まれる。

蛍光イメージングにおいては、蛍光タンパクや Quantum dot などが細胞ラベリングに用いられている¹⁵⁻²²⁾。可視領域における光の吸収、散乱を防ぐために、赤外領域 (700~1,000 nm) の蛍光が選択されている。しかしながら、蛍光イメージングにおいても、発光と同じように組織表面からの検出深度に大きな問題がある。大動物での *in vivo* における使用は、手術中など、用途が限定されてしまう。

4.2 SPECT, PET イメージング

Single-photon Emission Computed Tomography (SPECT) や Positron Emission Tomography (PET) を用いた *in vivo* における細胞イメージングは、活発に研究されている。SPECT・PET は高い感度を有するため、細胞数などに関してより定量的な議論が可能である。

SPECT や PET を用いた幹細胞イメージングは、直接トレーサーを細胞内に導入する、または、レセプターを介し、細胞へ結合させるなどの手法が取られている²³⁻²⁶⁾。直接細胞内へ導入する方法では、長期間、放射線にさらされること及び幹細胞内のトレーサーが他の細胞内へ取り込まれてしまう問題点が考えられる。レセプター介在型細胞トラッキングでは、移植細胞がレセプターを発現しているかぎり半永久的に細胞の追跡ができ、細胞分裂によってもシグナルは希釈されない利点がある。一方、生体に存在しないレセプターを安定に発現させる必要があり、また撮像ごとに放射性リガンド基質を静注しなくてはならない。例えば、herpes simplex virus type-1 thymidine kinase (HSV1-TK) を発現させた幹細胞を移植した後に、HSV1-TK の基質である ¹⁸FHBG を注入することで、移植細胞のイメージングが可能である²⁷⁾。幹細胞の遺伝

子的操作や幹細胞、基質の被ばくなど、問題点はあるものの、数か月にわたって、高感度で幹細胞の追跡と定量化が可能な有用な手法である。投与される10~20 mCiはトレーサー分子として $3.5\sim 7\times 10^{12}$ 分子に相当する。バックグラウンドに対してシグナルとして検出するためには、 10^9 のトレーサー分子が必要とされるため、*in vivo*において細胞(細胞群)を検出するためには、静注した総量の約0.01%が移植細胞に集積しなければならない。これは、非常に困難であり、他の細胞によるトレーサー分子の取り込みとともに、標的細胞への集積効率向上の一層の工夫が必要とされる。

4.3 MRI イメージング

3D イメージングが可能であり、安全性の高い magnetic resonance imaging (MRI) は *in vivo* における細胞追跡に最も用いられているイメージング機器といえる。

MRI を用いた幹細胞のイメージングにおいて、T2/T2*による造影が最も用いられているといえる。エンドサイトーシスを利用して細胞内

のエンドソーム内に ultrasmall superparamagnetic iron oxide (USPIO) を取り込ませ、移植幹細胞の周囲に磁場を形成させる手法が一般的である^{15,21,28-32}。USPIOの有する磁場は非常に大きいため、高磁場において、細胞の検出に必要な細胞に取り込ませる造影剤の数は数千のオーダーでよい。このため、幹細胞のトラッキングのため、多くの研究がなされている。この研究においての問題点は、細胞分裂により細胞内における造影剤の量に希釈がかかること、アーチファクトの影響により定量性が出にくいこと、幹細胞の崩壊後、マクロファージなどによる他の細胞へ取り込まれてしまうことなどが挙げられる。また、造影剤が組織へ残存することから、長期間の細胞移植追跡には不向きであると考えられる。

また、MRIとしてT1短縮を利用した撮像法も存在する。この場合、Gd³⁺などのランタノイド系列の金属が造影剤として用いられる^{22,33,34}。現在、一般的に使用されている磁場強度において、幹細胞を検出するためには、50~500 μM

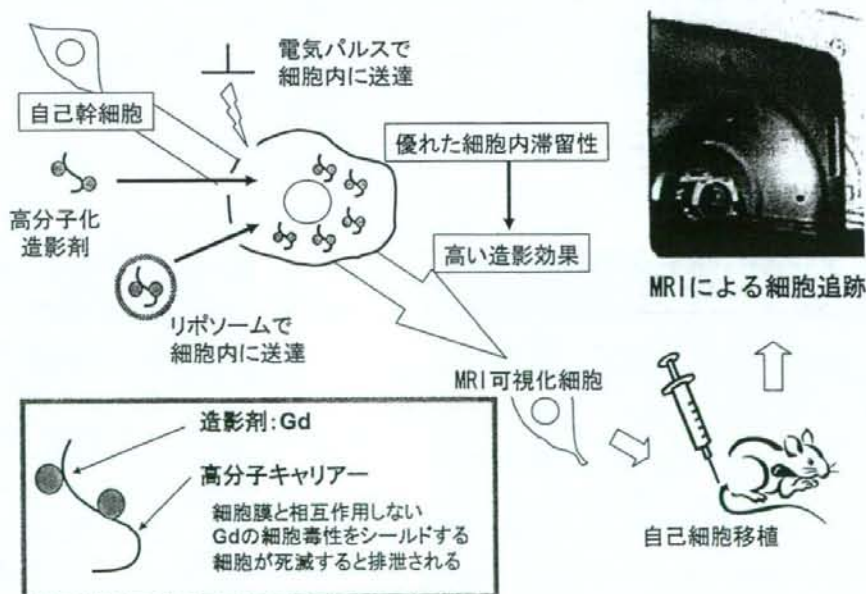


図1 移植した幹細胞のMRI追跡システム