

図5. 移植した自己幹細胞をMRIにより追跡するための高分子化MRI造影剤システム

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ピエント（移植を受けた患者）が反応することで治癒したパラクライン効果によるものかは不明である。その最大の原因は、移植した細胞を見分けられないからである。特に、自家細胞移植では免疫染色でも区別が困難である。1つの手法として、GFP (+) の細胞を GFP (-) マウスに移植して *in vivo* 蛍光イメージング装置で追跡すれば、非浸襲的かつ経時的に追跡することも可能だが、蛍光の特性により、ラット程度の小動物が限界である。このような現状では、細胞移植治療自体の具体的な効果を証明できず、臨床への大きな障害となっている。

そこで我々は、移植した細胞をMRIで経時的に追跡することが、細胞移植治療の評価に大きく貢献すると考え、新規な細胞標識用MRI造影剤の開発を開始した。この目的を達成するには、磁性を有する分子（ガドリニウム錯体など）を移植細胞の細胞質内に長期間安定に滞留させる技術が必須となる。さら

に、細胞の増殖や機能発現を妨げることなく、細胞が死滅したときには、この造影剤が速やかに体外へ排泄されることが必要である。

図5に、本システムの概要を示した。ガドリニウム錯体分子（青丸）の細胞膜透過性を抑制し、かつ、細胞に対する毒性を軽減させるために、高分子キャリアーを用いた。この高分子化により、細胞滞留性は向上する反面、細胞内へ送達することも容易ではない。そこで、細胞に微弱な電気的ショックを加える手法により、細胞内に高分子化造影剤を送達した。このような物理的・機械的手法を選択することで、細胞の種類を問わず同一条件で、本造影剤を送達することが可能となった²⁰⁾。NIH3T3細胞、およびラット間葉系幹細胞を本造影剤にて標識したところ、10日間にわたって、細胞からの造影剤の有意な漏出は認められなかった。このことより、1年程度は、移植細胞をMRIにより追跡できる性能を有していると考えられる。図6は、標識したNIH3T3細胞を皮下に埋入したマウスの、MRI断層写真である。移植細胞がはっきり

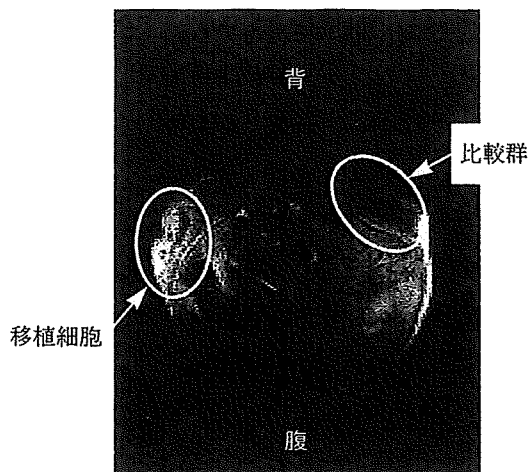


図6. 高分子化MRI造影剤を封入した細胞を皮下に移植したマウスのMRI断層写真

と確認できる。細胞内に存在する極微量の水を介して撮像可能なコントラストが得られていることは、キャリアーとして選択したPVA分子がGd周囲環境の水を確保しているためかもしれない。本造影剤により、大動物を用いた前臨床研究における細胞移植療法治療効果のメカニズム解明が可能になるのみでなく、移植細胞数を最低限に抑えることにより、最低限のリスクで、最大の治療効果を発揮させるための定量的指標を得ることが可能になると期待される。

おわりに

ヒト細胞を利用した再生医療は魅力的であるが、その安全性確保、レギュレーション、倫理的問題の解決にはまだ時間がかかりそうである。実際のデバイス開発はもちろんのこと、その安全性と確実性を担保して、高い治療効果を現実のものとするためにも、新たな工学的戦略の創成が必須である。

謝 辞

本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助

金事業の医療機器開発推進研究事業(ナノメディシン研究)、および文部科学省京都地区知的クラスター創成事業京都ナノテク事業創成クラスターからのご援助を頂いた。ここに心から謝意を表すものである。

§ 文 献

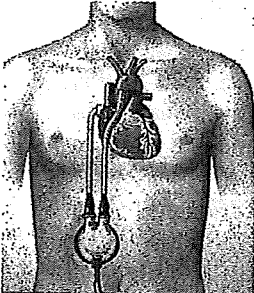
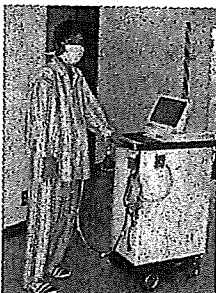
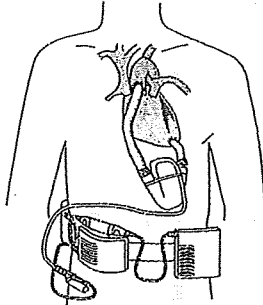
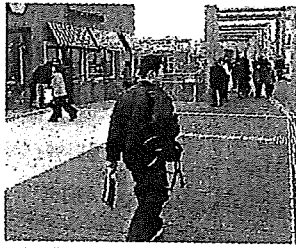
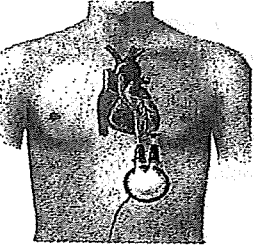

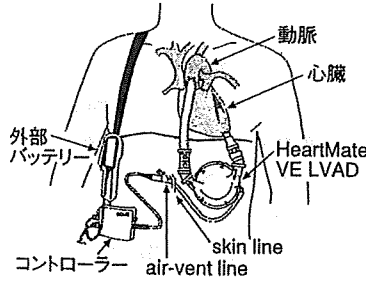


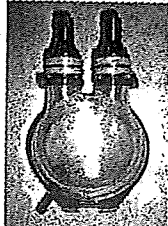

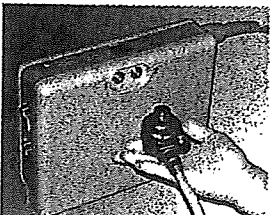
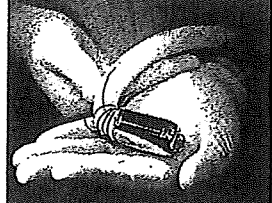
- 1) 筏義人: 再生医工学. 東京, 化学同人, 2001.
- 2) H Green, O Kehinde, J Thomas : Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. Proc Natl Acad Sci USA 1979;76:5665.
- 3) E Bell, HP Ehrlich, DJ Buttle, et al : Living tissue formed *in vitro* and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. Science 1981;211:1052.
- 4) R Langer, JP Vacanti : Tissue engineering. Science 1993;260:920.
- 5) JA Thomson, J Itskovitz-Eldor, SS Shapiro, et al : Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998;282:1145.
- 6) 石原一彦, 畑中研一, 山岡哲二, 他 : バイオマテリアルサイエンス. 東京, 化学同人, 2003.
- 7) RL Carrier, M Papadaki, M Rupnick, et al : Tissue Engineering: Cell Seeding, Cultivation Parameters, and Tissue Construct Characterization. Biotechnol Bioeng 1999;64:580.
- 8) G Vunjak-Novakovic, I Martin, B Obradovic, et al : Bioreactor cultivation conditions modulate the composition and mechanical properties of tissue engineered cartilage. Journal of Orthopaedic Research 1999;17:130.
- 9) T Kitagawa, T Yamaoka, R Iwase, et al : Three-dimensional cell seeding and growth in radial-flow perfusion bioreactor for *in vitro* tissue reconstruction. Biotechnology and Bioengineering 2006;93: 947.
- 10) L Soletti, A Nieponice, J Guan, et al : A seeding device for tissue engineered tubular structures. Biomaterials 2006;27:4863.
- 11) S Nyman, J Lindhe, T Karring, et al : New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. J Clin Periodontol 1982;9:290.
- 12) M Chauat, C Le Visage, A Autissier, et al : The evaluation of a small-diameter polysaccharidebased arterial graft in rats. Letourneur Biomaterials 2006;27:5546.

適応決定と待機中の管理

心臓移植の適応決定には、各施設内適応検討会と日本循環器学会心臓移植適応検討小委員会の2段階審査を経なければならない^{3,4)}。心臓移植適応と判定されれば、各移植施設でインフォームドコンセントが本人および家族へ行われ、諸手続きを行って日本臓器移植ネットワークの心臓移植待機リストへ登録し移植待機となる。

ドナー情報はいつくるか予測できないため、移植待機中は、いつでも移植できる状態に維持するように治療を続ける。また、心機能改善例や他臓器障害などのため適応外となることがあるため、6ヵ月ごとに再検討を行う。心不全が進行し多臓器不全を引き起こすようであれば、心臓移植へのつなぎとして補助人工心臓 (ventricular assist system : VAS) の適応を考慮する。これまで種々のシステム (図1) が用いられてきたが、現時点では左室脱血体外設置型VASの東洋紡製国循環器病センター型 (国循型) が用いられ、また、遠心ポンプを用いた植込み型LVASのEvaHeartの治験が行われている⁵⁾。

図1 ▶ わが国で用いられる補助人工心臓

<p>拍動流体外設置型LVAS</p>		<p>拍動流体内設置携帯型LVAS</p>	
<p>東洋紡製国循型 左房脱血方式 (1982-)</p>		<p>Novacor LVAS</p>	
			
<p>制御駆動装置 VCT-50</p>			
<p>左室脱血方式 (1999-)</p>		<p>HeartMate VE LVAS/IP</p>	
			
<p>制御駆動装置 Mobart-NCVC (2006-)</p>		<p>無拍動流体内設置携帯型</p>	
		<p>サンメディカル社 EVAHEART (遠心ポンプ)</p>	
<p>ヘパリン化ポンプ (2006-)</p>			
		<p>Jarvik2000 (軸流ポンプ)</p>	
			

ドナー心の評価とレシピエント候補の決定

臓器移植のドナーとしての適否の検討とともに、ドナー心の評価が行われ、心疾患、心臓外傷、開心術の既往があれば適さない。心臓移植のドナーとして現状では60歳以下が対象で、心電図や心エコー図などで評価するが、男性45歳、女性50歳以上では冠状動脈硬化性病変に配慮する。また、大量のカテコラミン剤(ドバミン $10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 相当以上)が用いられている場合は慎重に検討する。最終判定は、ドナー手術における開胸下の触診および視診により行う。

ドナーに対するレシピエント候補の選定においては、まず適合条件として、血液型の一致あるいは適合、サイズの適合(体重差 $-20\sim+30\%$ が望ましい)、前感作抗体がないこと(リンパ球・クロスマッチを実施)が検討される。複数の適合候補がいる場合は、虚血許容時間(4時間以内に血流再開ができること)、医学的緊急度(表2)、ABO式血液型および待機期間により優先され、同一条件の患者が複数いる場合は待機期間の長い者から優先される。

心臓移植手術および術後管理⁶⁻¹¹⁾

移植術式としては、心房位吻合を行うLower-Shumway法(図2)と、上・下大静脈で吻合するbicaval法(図3)があり、当センターではレシピエントの右房後壁の一部を温存して上・下大静脈で吻合するmodified bicaval法(図4)を用いている⁷⁾。

心臓移植後の予後に影響する重要な因子として、移植心不全、急性拒絶反応、感染症、移植心冠動脈病変、悪性腫瘍がある。移植心不全には、摘出時のドナー心の状況、心保存法などが関係する。強心薬が使用されている場合や経過中に心停止がある場合は、心電図や心エコーによりドナー心機能の評価を慎重に行う。心保存液としては、ドナー病院で使いやすいものであることも重要で、筆者らはCelsior液を用いている。また、小型ジェット機やヘリコプターを積極的に用い短時間での搬送が行えるようにする。

移植後の管理においては急性拒絶反応への対応が重要である。診断法として心内膜心筋生検法が確立し、新たな免疫抑制薬としてシクロスポリンが開発された1980年初頭から心臓移植の成績が向上し、治療手段として受け入れられるようになった。なお、急性拒絶反応があっても臨床的に無症状である場合が多く、定期的に心内膜心筋生検を行う¹⁰⁾。免疫抑制療法として、一般的にシクロスポリン(ネオ

Status 1: 次の(ア)から(エ)までの状態のいずれかに該当すること

(ア) 補助人工心臓を必要とする状態

(イ) 大動脈内バルーンパンピング(IABP)を必要とする状態

(ウ) 人工呼吸を必要とする状態

(エ) ICU, CCUなどの重症室に収容され、かつ、カテコラミンなどの強心薬の持続的な点滴投与が必要な状態

Status 2: 待機中の患者で、上記以外の状態

Status 3: Status 1, Status 2で待機中、除外条件(感染症など)を有する状態のため一時的に待機リストから削除された状態

表2 ▶ わが国における心臓移植希望者(レシピエント)選択基準—医学的緊急度

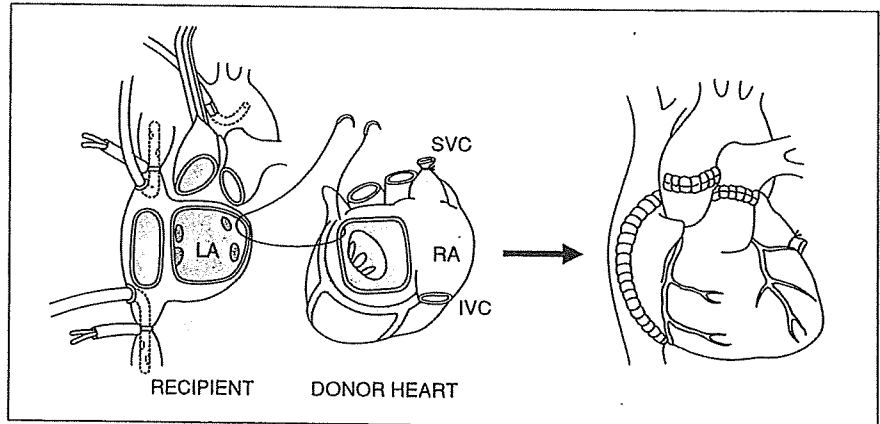
ール®)あるいはタクロリムス(プロGRAF®), ミコフェノール酸モフェチル(セルセプト®)とステロイド(プレドニン®)の3者併用療法が用いられる¹¹⁾。国際心臓肺移植学会の基準2あるいは3A以上の所見がある場合には治療が必要で、まずステロイドパルス療法を行う。パルス療法に抵抗性の場合には抗胸腺抗体(ATGやOKT3)による治療が必要となる。

免疫抑制療法を行う場合には感染症への対応が重要となる。術後1ヵ月以内は細菌感染症が多いが、その後はサイトメガロウイルス(CMV)や単純ヘルペスウイルスなどの日和見感染が増加する。特にCMV感染は、移植後冠動脈病変の危険因子の1つとされており、早期発見および治療が予後に大きく影響する。

移植後冠動脈病変は、移植心冠動脈にびまん性の求心性内膜肥厚が進行するもので、心移植患者の長期予後に関与する。なお、移植心は除神経されているため、虚血病変に対し胸痛を自覚せず、心原性ショックを突然発症したり、不整脈による突然死を引き起こすことがある。定期的な冠動脈造影と血管内超音波検査(IVUS)による検討が必要である。また、移植後冠動脈病変はびまん性で血行再建術の適応とならない場合が多く、重症例では再移植が必要となる。最近移植後冠動脈病変発現を抑制する新しい免疫抑制薬として、シロリムス(ラパマイシン)やエベロリムス(RAD, サーティカン)が開発され、近々わが国へ導入される予定である。

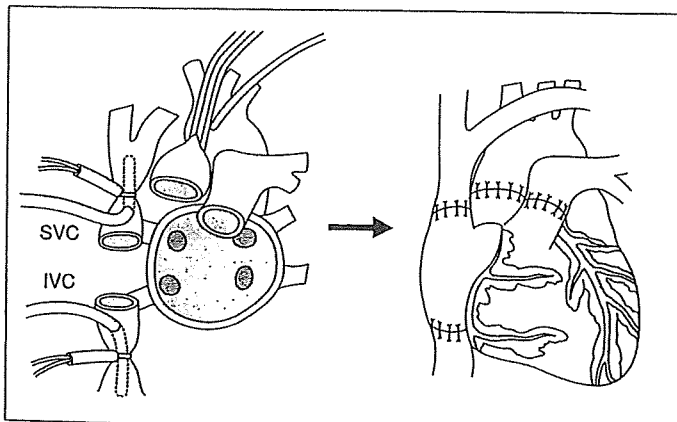
免疫抑制療法は心臓移植後一生継続する必要がある、移植後長期になるにつれて

図2 ▶ Lower-Shumway法



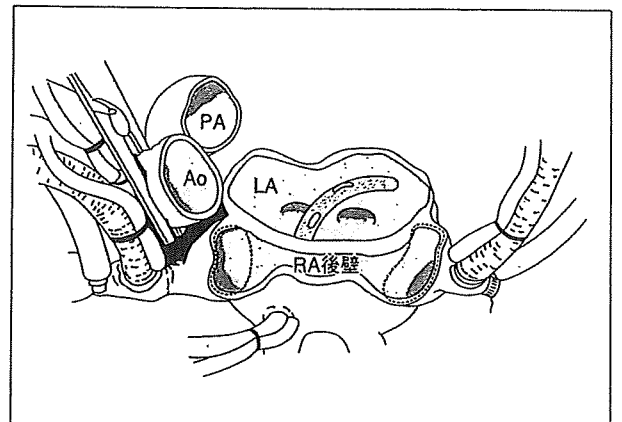
(文献8より改変引用)

図3 ▶ bicaval法



(文献8より改変引用)

図4 ▶ modified bicaval法



(文献6より改変引用)

悪性腫瘍発生の危険性も高まる。特に、悪性リンパ腫 (post transplant lymphoproliferative disorder : PTLD) や皮膚癌に注意する。

QOLの維持と良好な予後を得るために、免疫抑制薬による腎機能障害や糖尿病などの予防、移植後冠動脈病変の進展予防のための高血圧や高脂血症の予防および治療、感染症予防 (特にCMV感染、ヘルペス感染など)、悪性腫瘍の早期発見、ステロイド使用による骨粗鬆症の進展予防などへの配慮が重要である。

世界の成績¹⁾

国際心肺移植学会による2006年の統計では、1982年から2005年までに73,300例が行われ、1年生存率81.2%、10年生存率49.8%で、移植後1年生存した症例での50%生存期間は13年であった。また、1999年以降の症例では、1年生存率が84.9%と良好になってきている。主な免疫抑制療法は、シクロスポリン (あるいはタクロリムス)、ミコフェノール酸モフェチル、プレドニンの三者併用療法であるが、最近ラパマイシンが用いられるようになってきている。また、導入療法としてATGやOKT3に加え、IL2 receptor antagonistが用いられている。死亡原因は、急性期では移植心不全、急性拒絶反応が多く、1年以後の主なものは移植後冠動脈病変や悪性腫瘍である。また、移植後7年までの調査で、ほぼ90%の患者が活動制限なしの生活を送っている。

わが国における心臓移植の成績²⁾

日本臓器移植ネットワークへの登録は2006年8月現在250例で、36例 (14%) の心臓移植が実施されたが85名 (34%) が待機中に死亡した (表3)¹²⁾。

わが国での施行36例を表4に示すが、原疾患はDCM, dHCMなど非虚血性心筋症が大部分で、虚血性および非虚血性心筋症がほぼ同数の国際レジストリーと異なっている¹⁾。待機状態は全例Status 1で、28例 (78%) はLVAS装着例であった。移植待機日数は長期化し、Status 1として平均688日であり28例が1年以上の待機であった。このため、LVAS装着期間も長期化し、平均739日、22例 (61%) が1年以上であった。

移植後最長7年7ヵ月におよび、死亡は2例のみで、国際レジストリーに比べ良好な成績を示している (図5)。また、良好なQOLを示している。

今後の展望

末期心不全に対し、心臓移植は良好な成績を示しているが、ドナー心を必要とするため、施行数に限界があり、特にわが国での心臓移植施行例は少なく、待機期間も長期におよび、LVASによるブリッジ例が多数を占めている。今後、わが国での心臓移植プログラムの充実を図るとともに、QOLのよいLVASの臨床導入も必要である。

表3 ▶ 日本臓器移植ネットワークへの登録症例(2006年8月31日現在)

登録待機中	90例*
移植	36例
取消し	12例
死亡	85例
海外渡航移植	27例
登録者累計	250例

(* ; status 1 : 48例, 3年以上待機 : 29例)

(文献12より引用)

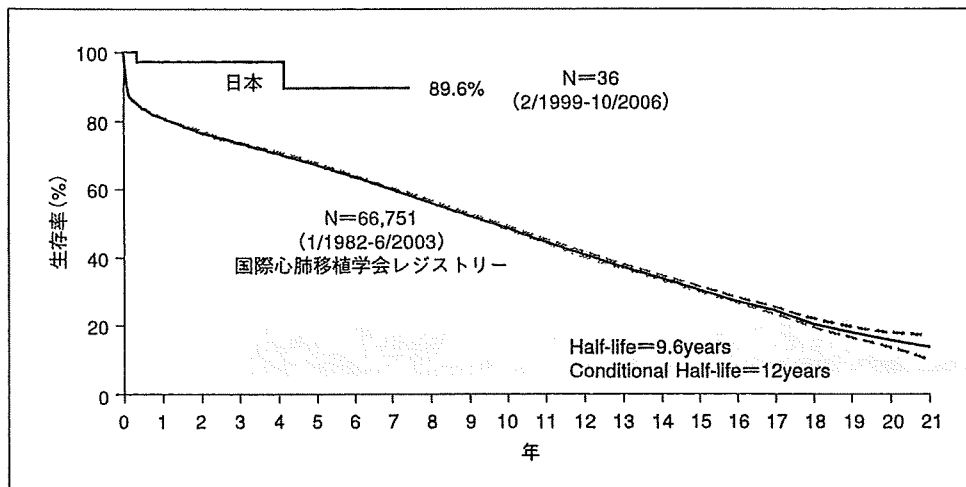
表4 ▶ わが国における心臓移植症例

症例数	36例
年齢	8~61 (平均37) 歳
性別	男性 : 26例, 女性 : 10例
原疾患	DCM : 26例, dHCM : 6例, 薬剤性CM : 1例, 心筋炎後CM : 1例, ICM : 1例, 先天性 : 1例
待機状況	Status1 : 全例 (LVAS装着 : 28例, 強心薬持続投与 : 8例)
待機期間 (status 1)	29~1,304日 (平均688日, 1年以上 : 28例)
LVAS補助期間	21~1,443日 (平均731日, 1年以上 : 22例)
東洋紡-左房型	2例 (39日, 964日)
東洋紡-左室型	20例 [99~1,443日 (1年以上 : 16例)]
Novacor	2例 (125日, 1,087日)
HeartMate-IP	2例 (518日, 590日)
HeartMate-VE	2例 (993日, 1,056日)

移植施設

国立循環器病センター : 18例, 大阪大学 : 9例, 東京女子医大 : 3例
九州大 : 2例, 埼玉医大 : 2例, 東北大 : 1例, 東京大 : 1例

図5 ▶ 心臓移植後の累積生存率



【文献】

- 1) The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation : Twentieth-second official adult heart transplant report-2006. J Heart Lung Transplant 25 : 869-911, 2006.
- 2) 中谷武嗣 : 心臓移植. 総合臨床 55 : 2053-2062, 2006.
- 3) 藤原久義, 西垣和彦 : なぜ内科医は移植医療にかかわらないか? -心臓移植の立場から- わが国は信じがたい心臓移植後進国-. 移植 41 : 2-9, 2006.
- 4) 日本循環器学会ホームページ : <http://www.j-circ.or.jp>
- 5) 中谷武嗣 : 治療の進歩 : 補助人工心臓. 日本内科学会雑誌 94 : 111-118, 2005.
- 6) 北村惣一郎 : 心臓移植. 『心臓血管外科手術書』(小柳 仁, 北村惣一郎, 安井久喬, 編). 先端医療技術研究所, 2002, p221-226.
- 7) Kitamura S, Nakatani T, Bando K, et al : Modification of bicaval anastomosis technique for orthotopic heart transplantation. Ann Thorac Surg 72 : 1405-1406, 2001.
- 8) McCarthy PM, Smith JA, Siegel LC, et al : Cardiac transplant admission, anesthesia, and operative procedures. in The Stanford Manual of Cardiopulmonary transplantation, Futura, New York, 1996,
- 9) 中谷武嗣, 花谷彰久 : 心臓移植療法のパラダイムシフト. 治療 86 : 2147-2155, 2004.
- 10) 植田初江, 由谷親夫, 中谷武嗣 : 臓器移植の病理 : 心臓移植. 移植 38 : 8-13, 2003.
- 11) 中谷武嗣, 花谷彰久, 北村惣一郎 : 胸部移植プロトコール集 (北村惣一郎, 黒澤博身, 松田 暉ほか編). メジカルビュー社, 東京, 2003, p15-36.
- 12) 日本臓器移植ネットワークホームページ : <http://www.jotnw.or.jp/>

心筋症

編集

松森 昭

京都大学大学院医学研究科循環器内科学助教授
国際心筋症・心不全学会理事長

新目でみる循環器病シリーズ 15
心筋症

2007年3月20日 第1版第1刷発行

■企画 木全心一 きまたしんいち

■編集 松森 昭 まつもりあきら

■発行者 浅原実郎

■発行所 株式会社メジカルビュー社

〒162-0845 東京都新宿区市谷本村町2-30

電話 03(5228)2050(代表)

ホームページ <http://www.medicalview.co.jp/>

営業部 FAX 03(5228)2059

E-mail eigyo@medicalview.co.jp

編集部 FAX 03(5228)2062

E-mail ed@medicalview.co.jp

■印刷所 株式会社シナノ

ISBN978-4-7583-0137-4 C3347

©MEDICAL VIEW, 2007. Printed in Japan

-
- ・本書に掲載された著作物の複写・複製・転載・翻訳・データベースへの取り込みおよび送信(送信可能化権を含む)・上映・譲渡に関する許諾権は、(株)メジカルビュー社が保有しています。
 - ・**JCLS** (株)日本著作出版権管理システム委託出版物
本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。複写される場合は、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。

再生医療工学の技術

監修 ◆ 笹 義人

Technology
Generative
Medicine

再生医療工学の技術

再生医療工学の技術

監修 ◆ 笹 義人



9784882319375



1923047038005

ISBN978-4-88231-937-5
C3047 ¥3800E

定価(本体3,800円十税) (B0830)

OMO

通常は60歳以上の高齢者への適用とされる。また、BSE問題をきっかけに、ウシ心臓の使用は控えられれる傾向にある。

欧米では1985年頃から、我が国でも、近年、凍結保存による細胞バンクが整備されたことにより、死体から提供された凍結保存同種移植が臨床で使用されつつある。これは、機械弁に比べて抗血栓性で、異種生体弁に比べて耐久性で、そして飼育者に対して抗感染性で優れているとされる。しかしながら、提供数が絶対的に不足しているのが大きな問題である。また、若年者では比較的早期に機能不全をきたす症例も報告されており、免疫反応の関与が強く示唆されている。若年者に有効とされる Ross 手術では、自己肺動脈弁を大動脈弁位に置換移植し、欠損した肺動脈弁を凍結保存同種移植によって再建するが、大動脈弁位に移植された自己肺動脈弁は患者の成長とともに増大するという特徴がある。これに対して、機械弁や異種生体弁はもとより、凍結保存同種移植でも成長性を有しないため、小児患者の場合では再移植となる場合が少なくない。以上のように、再生医療心臓弁に求められる特性として、抗凝固性、耐久性、成長性などが挙げられよう。

4.3 再生医療心臓弁の世界動向

マサチューセッツ工科大学の Langer や Vacanti らによって提唱された組織工学の手法は、すでに米国で細胞を組み込んだ人工皮膚として製品化されている。同様の手法を用いた再生医療人工弁が、1995年以降、彼らのグループから報告されている³⁾。新聞にはヒトジを用いた実験で、末梢血管網の細切によって血管内皮細胞、平滑筋細胞、および線維芽細胞を分離した後に8-10週間培養し、ポリグリコール酸製のシート状メッシュ上にまず線維芽細胞と平滑筋細胞を、続けて1週間後に血管内皮細胞を播種することによって、再生医療心臓弁葉を作成した。ヒトジの肺動脈弁の一葉を再生医療心臓弁葉で置換したところ、6週後には正常組織と同様の組織が再生し、9週以降は力学特性も正常組織と同等であったと報告している⁴⁾。最近、彼らは弁葉だけでなく、三葉を有するバルサルバル弁付きの心臓弁組織 scaffold を開発し、細胞を播種することで *in vitro* で弁全体を組織工学的に作成し、臨床応用を開始する計画である。このような生体吸収性 scaffold を用いた再生医療心臓弁は、韓国ソウル大学などからも報告されている⁵⁾。

一方、米国の CryoLife 社は1992年から米国政府の補助を受けて動物組織から細胞を除去した異種組織移植法の研究開発に取り組み、詳細を明らかにしていないが、SynerGraft と称する細胞除去方法を発表している。同社は1999年から脱細胞化ブタ大動脈弁の臨床使用を開始し、2001年には世界初の再生医療心臓弁と称して欧州で市販を開始した。移植後数ヶ月間で自己細胞が組織内に浸潤し、自己組織化すると報告している⁶⁾。

ドイツ・ハノーバー-医科大学の Haverich らのグループは、1998年から CryoLife 社と同様に異種生体弁から動物由来細胞を除去し、さらにレシビエントの自己血管内皮細胞を播種している。

4 心臓弁

藤里俊哉¹⁾、北村忍一郎²⁾

4.1 はじめに

日本人工臓学会の調査によると、我が国で心臓弁疾患によって置換術を受けた患者は大動脈弁と僧帽弁あわせて1999年において年間8千人以上のほり、80%が機械弁、残り20%が異種生体弁である。また、米国胸外科学会の調査によると、大動脈弁置換術は1997年において年間約9千人であり、判明しているものうち約50%が機械弁、45%が異種生体弁、3%が同種弁、残りが自己弁である。術前診断や術中の体外循環技術の向上などもあり、大動脈弁置換術における死亡率は1998年において約4%とされている。このように、最も臨床的に使用される人工臓弁の一つとして確立した感のある心臓弁置換術ではあるが、現在、どのような問題があるか、これを解決するために再生医療心臓弁にはどのような特性が要求されるのであろうか。まず、心臓弁置換術の現状について述べた後、現在、開発されつつある再生医療心臓弁の動向、そしてその将来展望について述べる。

4.2 心臓弁置換術の現状

現在用いられている機械弁は、主にバイロフワイトカーボン製の2枚の半月瓣弁葉をもった二葉弁である。従来、弁葉部分の構造上の問題から弁閉後の圧較差が無視できない大きさで、心臓弁や手術に影響を与えたとされてきたが、最近、弁葉部分の改良によって有効弁口面積を広くしたものが開発され、弁閉が狭小の症例においても通常の弁置換術で対応可能である。また、閉時の弁葉作動音を減少させたものも開発されている。機械弁はすでに十分な耐久性と血行動態を得ているが、依然として抗血栓性の問題は解決されていない。抗凝固のため、術後は生涯にわたり抗重なワーファリン服用のコントロールが必要であり、機械弁に血栓が付着した場合には急速な弁機能不全を招くとともに、脳塞栓症をきたす頻度も高くなる。また、ワーファリンが肺血栓形成を有することから、妊娠を希望する若年女性には使用できないという問題もある。

異種生体弁は、ブタ心臓弁あるいはウシ心臓を免疫原性の低下のためにグルタルアルデヒドで固定化したものである。従来、ステントへの固定のために有効弁口面積が減少するとともに、固定に伴うストレスが弁葉の石灰化や変成を促進するとされてきたが、近年、後述の同種移植の成功をきっかけにステントを用いないステントレス異種生体弁が導入され、耐久性の向上が期待されている。異種生体弁は抗凝固性に優れているが、若年者では5-10年程度の耐久性しななく、

* 1 Toshia Fujisato 国立循環器病センター研究所 再生医療部 研究員

* 2 Soichiro Kitamura 国立循環器病センター 総長

彼らは界面活性剤である Triton X-100 やタンパク分解酵素であるトリプシン溶液を細胞除去に用いている。一方、英国リーズ大学の Ingham らのグループは種々の薬液で細胞除去効果を検討し、SDS が最も細胞除去に適していると報告している⁹⁾。また、ドイツ・フンボルト大学の Komatz らのグループはヒツジを用いた6ヶ月間の動物実験で、脱細胞化ブタ肺動脈弁に自己内皮細胞を播種すると、弁の変形も石灰化も見られなかったと報告しており、臨床応用を開始している。

4. 4 我々の最新成果の紹介

我々は2000年から、Haverich らの方法を対照として、脱細胞化した猪冠生体弁を用いた再生医療研究を開始した。我々が生体組織を選んだのは、以前から水結晶/生体弁の臨床使用に取り組んできたことと、心臓弁のような複雑な形状を吸収性人工材料で造形することが容易でないこと、およびポリ乳酸などの生体吸収性人工材料は生体よりも硬いため生体と同等の力学特性をもたせるのが難しいと考えたためである。ミニブタあるいは食川ブタ肺動脈弁を採取し、Triton X-100溶液に浸漬して脱細胞化処理した。脱細胞化処理による生体力学特性への影響は力学試験で測定した。ミニブタの大肺動脈から酵素処理によって採取した自己内皮細胞を2週間培養増殖後に播種し、2日後に右心バイパス下にて肺動脈弁置換術を施行した。心エコーと圧測定による血行動態測定後に移植弁組織を摘出し、免疫染色などによって組織学的所見を検出した。

24時間の無細胞化処理によって表面から1mm以内の組織内細胞を除去できた(図1)。組織表面の血管内皮細胞は破壊されていたが、完全に脱落することはなく、他の物理的方法の併用が必要であった(図2)。また、Triton X-100は細胞毒性を示すため、組織から除去して細胞を播種するためには2週間以上の洗浄を要した。脱細胞化処理によって強度、弾性率ともに増加した。コラーゲン繊維および弾性繊維の腐内含り量と配列状態はほとんど変化なく、弁葉の厚さに

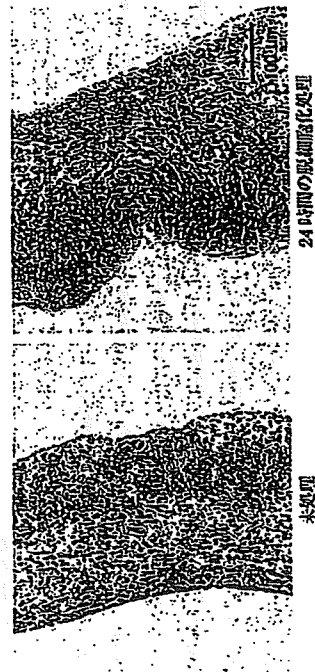


図1 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の組織断面

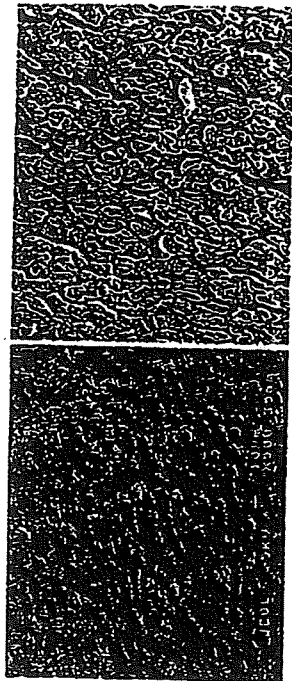


図2 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の断面

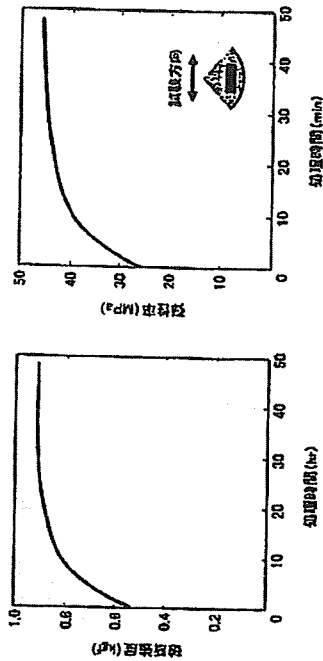


図3 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の生体力学特性



図4 ミニブタに1ヶ月間移植された再生医療心臓弁

も変化は見られなかったため、置換術への影響はないと考えている(図3)。ミニブタ血管内皮細胞は分規も容易で、内皮細胞用培地で平易に増殖させることができ、静置下での培養で弁葉表面に内皮細胞を播種できた。ミニブタへの移植実験では術後1ヶ月においても良好な弁機能を示しており、自己内皮細胞を播種した再生医療弁では表面が完全に血管内皮細胞で覆われるとともに、組織内部への細胞浸潤も見られたのに対し、細胞を播種しないものでは、血管内皮細胞では覆われたものの、組織内への細胞浸潤はわずかであった(図4)。

4.5 問題点と将来展望

以上のように、現在、再生医療心臓弁の scaffold には生体吸収性材料と膨細胞化生体組織とが研究されているが、現時点ではどちらが優れているかを見極めることは困難である。新潟らの再生医療心臓弁および CryoLife 社の SynerGraft とともに、随動脈弁では良好な結果が得られているが、大動脈弁では力学強度の問題などから満足な結果が得られていないと報告されている。大動脈弁での血圧に耐えうる scaffold を得るために、吸収性材料の材質および造形方法の改良、あるいは細胞除去方法の改良などが必要であろう。また、膨細胞化処理については組織深部の細胞除去、動物組織からのウイルス除去などが課題であるが、我々はまったく新規な方法を開発しており、有望な結果を得つつある。一方、細胞の組み込み方法については、いくつかのグループは平滑筋細胞と線維芽細胞を先に播種し、後に血管内皮細胞を(播種)することで線維細胞の細胞を組み込んでいく。バイオリアクター装置を用いた細胞播種法の報告が参考となるが⁹⁾、弁葉部、弁葉基部、血管壁部のそれぞれに正常組織と同様に線維細胞の細胞を組み込むことは容易でないと恐られる。細胞ソースをどこに求めるのかも検討すべき課題であるが、患者の負担をできるだけ軽減するためには、骨髄細胞あるいは末梢血幹細胞などの利用が有効であろう。さらに臨床応用に際しては、GMP 基準に適合した細胞プロセッシング設備の設置も必要となる。

すでにいくつかの研究グループは臨床応用を始めており、再生医療心臓弁が機械弁や異種生体弁に取って代わる日も近いと信ずる。

謝 辞

我々の研究の一部は、厚生労働省再生医学研究費ヒトゲノム・再生医療等研究事業(H12-再生-005)並びに循環器病研究委託事業(13公一1)の補助を受けて行われた。

文 献

- 1) Stock UA, Nagashima M, Khalil PN, Nollert GD, Herden T, Sperling JS, Moran A, Lion J, Martin DP, Schoen FJ, Vacanti JP, Mayer JE Jr. Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000 Apr; 119 (4 Pt 1): 732-40.
- 2) Shinooka T, Ma FX, Shum-Tim D, Breuer CK, Cusick RA, Zund G, Langer R, Vacanti JP, Mayer JE Jr. Tissue-engineered heart valves: Autologous valve leaflet replacement study in a lamb model. *Circulation* 1996 Nov 1; 94 (9 Suppl): II164-8.
- 3) Kim WG, Cho SK, Kang MC, Lee TY, Park JK. Tissue-engineered heart valve leaflets: an animal study. *Int J Artif Organs* 2001 Sep; 24 (9): 642-8.
- 4) Elkins RC, Goldstein S, Hewitt CW, Walsh SP, Dawson PE, Ollerenshaw JD, Black KS, Clarke DR, O'Brien MF. Recellularization of heart valve grafts by a process of adaptive remodeling. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001 Oct; 13 (4 Suppl 1): 87-92.
- 5) Steinhoff G, Stock U, Karim N, Mertsching H, Timke A, Maliss RR, Pothig K, Haverich A, Bader A. Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits: in vivo restoration of valve tissue. *Circulation*. 2000 Nov 7; 102 (19 Suppl 3): II150-5.
- 6) Koresis SA, Fisher J, Ingham E. Cardiac valve replacement: a bioengineering approach. *Biomed Mater Eng* 2000; 10 (2): 83-124.
- 7) Dohmen PM, Ozaki S, Yporman J, Flaming W, Konertz W. Lack of calcification of tissue engineered heart valves in juvenile sheep. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001 Oct; 13 (4 Suppl 1): 93-8.
- 8) Zelinger J, Landeen LK, Alexander HG, Kidd ID, Sibanda B. Development and characterization of tissue-engineered aortic valves. *Tissue Eng* 2001 Feb; 7 (1): 9-22.

トランスレーショナルリサーチを支援する

遺伝子医学 MOOK 9
Gene & Medicine

ますます広がる 分子イメージング技術

生物医学研究から創薬,先端医療までを支える
分子イメージング技術・DDSとの技術融合

別 刷

株式会社 メディカルドゥ

1. PET・SPECTによる分子イメージング

4) SPECTイメージング

銭谷 勉・渡部浩司・飯田秀博

PETやSPECTなどの核医学的診断法は、トレーサー標識技術（リガンド、ナノ粒子、ペプチド、タンパクの放射性同位元素による標識）と解析技術の融合により、病態生理学や病態生化学的な変化を非侵襲・高感度かつ高精度で観察することができ、実験小動物から臨床まで応用可能な分子イメージング手法である。本稿で紹介するSPECT装置はPET装置に比べ感度の点で劣るが、標識薬剤の供給が商業ベースで整備されており、安価で手軽に検査が実施できるため臨床の場で広く普及している。本稿では、標準的なSPECT装置の構成を概説したうえで、それぞれの用途に特化した様々なSPECT装置を紹介する。さらに、当研究グループが開発したSPECTでの定量的機能画像の解析技術について述べる。

はじめに

近年、生体内分子動態を臓器の多細胞構築を有した状態で把握したり、遺伝子発現や制御を発生・分化・再生の各段階で追跡するニーズが高まってきている。そのための新しい方法論として提案されたのが「生体内分子の挙動を画像化する技術」、すなわち分子イメージングである。ただし、分子イメージング自身の起源は、陽電子断層撮像法（positron emission tomography : PET）や単一光子断層撮像法（single photon emission computed tomography : SPECT）などに代表される核医学からきており、それ自体は非常に歴史が古い。近年、小動物用PET, SPECTの進歩, magnetic resonance imaging (MRI), 光学イメージングの急速な発展, 新しいプローブの開発などが相まって、それらの複合技術的な観念として分子イメージングという分野が

発展してきた。

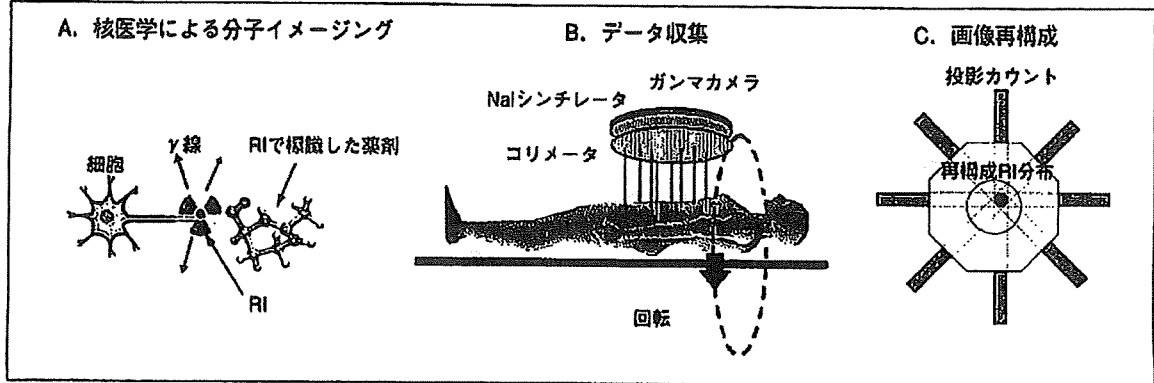
放射性同位元素（radioisotope : RI）を用いるPET, SPECTなどの核医学的手法は、非侵襲的な生体内のトレーサー追跡技術の中でも高い感度を有し、かつトレーサーの集積量に比例した信号強度を提示するため、定量的な評価が可能である。また、トレーサーの設計に依存して、組織や細胞レベルの生理機能から、遺伝子発現やペプチド、タンパクの動態および受容体分布などの分子機能までを「同一の手段」で可視化・評価できることから、分子イメージング技術として注目されている（図1A）。

本稿で紹介するSPECTはPETに比べ定量性や感度の点で劣るが、使用する放射性薬剤の半減期が長いこと、薬剤供給が商業ベースで整備されており、PETのようにサイクロトロンや合成装置などの大掛かりな設備を必要としないので、安価で手

key words

核医学, 放射性同位元素, トレーサー, SPECT, コリメータ, 2核種同時収集, 画像再構成, 半導体検出器, 心臓専用SPECT装置, モバイル型ガンマカメラ, SPECT-CT, SPECT/PET, 定量的SPECT画像再構成, 血流量定量

図① SPECTの概念図



軽に検査が実施できる。また近年、高血圧や高脂血症などの循環器疾患に関与する遺伝子が明らかになってきており、疾患発現に先行する病態生理の把握が重要になる。このとき、安静時のみの組織血流量や基質代謝量に加えて、種々の生理的・薬理的な賦活に対する反応性、例えば血管反応性や代謝自動調節能などが指標になると考えられている。これらの診断にはSPECTが利用でき、すでに定性的なイメージング評価法が多くの臨床診断および臨床研究などに利用されている。

PETとともに分子イメージング技術の主流となりつつあるSPECTであるが、小動物用SPECTに関する説明は別稿の「動物用PET/SPECT (82～87頁参照)」に譲るとして、本稿では主に臨床の場で発展してきたSPECTの技術的な側面について概説する。

I. SPECT装置

SPECT装置は、患者用ベッド、ガンマカメラおよびこれを患者の周りを回転させるためのガントリーから構成される。SPECTは1個の γ 線を放出して壊変する単一光子放出核種をRIとして用い、これで標識した放射性薬剤を体内に投与し、目的の臓器や組織に集まったRIから放出される γ 線を体外のガンマカメラが体の周りを回転しながら捉える(図①B)。収集した多方向からの投影データを画像再構成して、放射能濃度の三次元分布が得られる(図①C)。

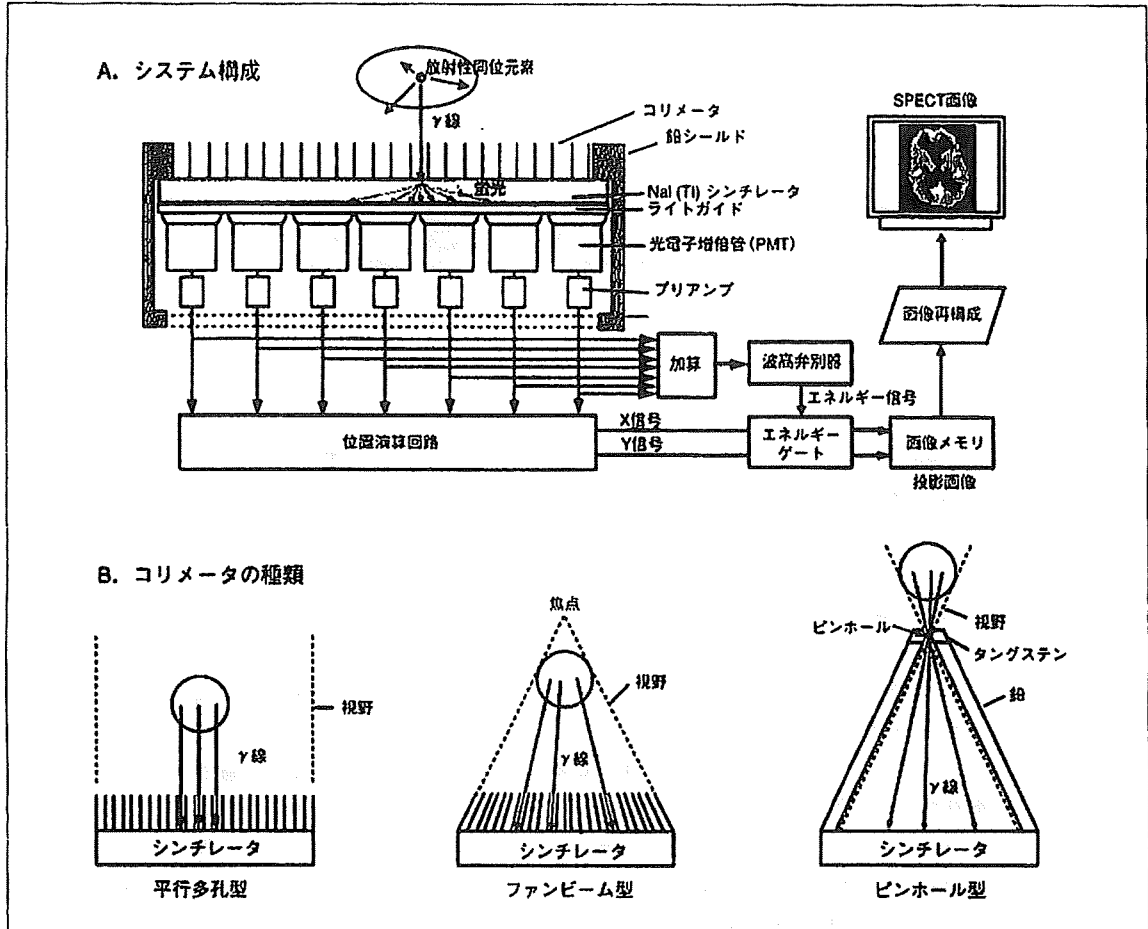
1. システム構成

SPECT装置の構成を図②Aに示す。SPECTでは、検出器の前に装着されたコリメータによって、 γ 線の飛来方向が特定される。シンチレータに入射した γ 線は、光電効果などの相互作用により吸収され、吸収エネルギーに比例した蛍光を発生する。蛍光は光電子増倍管群で検出され、出力信号強度は蛍光位置からの距離に依存し、後段の位置演算回路により蛍光発光位置が計算される。また、すべての光電子増倍管の出力を加算して作られたエネルギー信号は、波高弁別器で評価され、設定されたエネルギーウインドウ内であれば、 γ 線の位置に対応した画像のマトリクスのカウントを1だけ増加させる。設定した時間内に蓄積されたカウントが1枚の投影画像となる。

2. コリメータ形状と用途

コリメータ形状は用途に応じて、平行多孔型、ファンビーム型、ピンホール型などがある(図②B)。最も一般的な平行多孔型は、心筋などの体幹部のような広い有効視野を必要とする場合に使用される。解像度は10mm前後である。ファンビーム型は、比較的小さな臓器を拡大撮像するために使用され、頭部撮像などに有効である。ピンホール型は、被写体をピンホールに近づけることで拡大像が得られるため、1mm以下の超高解像度撮像が可能で、甲状腺などの体表に近い小さな臓器や、マウスやラットなどの小動物の撮像に効果的である¹⁾。小動物用SPECT装置はピンホール型を用いたものが主流である。

図2 SPECT装置



3. 画像再構成

収集された投影データは、画像再構成され SPECT 画像が得られる。現在の SPECT 画像再構成法は、解析的なフィルター補正逆投影法 (filtered back-projection: FBP) と統計学に基づく逐次近似手法の OSEM (ordered subset expectation maximization) 法に大別できる。OSEM 法²⁾はノイズ抑制効果があり、FBP 法で見られる線状アーチファクトが少ない。また、被写体内での吸収や散乱、解像度低下など画質を劣化させる物理現象や幾何学を画像再構成過程に容易に組み込むことができ、定量性に関わる補正が可能である。

4. 2核種同時収集

PET の場合、対象とする放射性薬剤はすべて 511keV の γ 線を放出するので、複数の薬剤の弁別

を行うのは困難である。一方、表 1 のように SPECT では使用する核種によって特定のエネルギーの γ 線をもつので、複数の核種を同時に投与して同時に複数の核種のデータ収集も可能である。例えば、²⁰¹Tl (70keV) と ^{99m}Tc (140keV)、²⁰¹Tl (70keV) と ^{113m}In (159keV) などの組み合わせが可能である。

II. 様々な SPECT 装置

前項では汎用的な SPECT 装置について述べたが、半導体検出器を利用したものや用途に特化した専用装置も開発されている。本項では、様々な SPECT 装置を紹介する。

1. 半導体検出器

半導体素子を用いた検出器は、エネルギー分解能、空間分解能、計数率特性に優れ、シンチレー

表① SPECT検査に使用される代表的な放射性核種

Isotope	Energy	Half life	Tracer	Application
^{99m} Tc	140 keV	6.01 hr	MDP/HMDP	bone scan
			MIBI	myocardial perfusion
			tetrofosmin	myocardial perfusion
			TRODAT	dopamine transporter
²⁰¹ Tl	70 keV	72.9 hr	TlCl	myocardial perfusion
¹²³ I	159 keV	13.3 hr	BMIPP	beta-oxidation
			MIBG	sympathetic
			β-CIT	dopamine transporter
			Iomazenil	benzodiazepine receptor
¹³¹ I	364 keV	8.04 day		thyroid
⁶⁷ Ga	93, 185, 300 keV	3.26 day	citrate	tumor

タの代替として研究されてきたが、均一な半導体結晶を大量に製造することが難しかったため歩留まりが悪く、しかも高価であったためなかなか普及しなかった。近年、製造技術が向上し、均一性および生産性が改善され、製品として普及しつつある。半導体の材料としては、CdZnTe (CZT) や CdTe が使用されている。光電子増倍管を使用しないことと、付属の電子回路の集積化により、小型・軽量化が可能である。現在ではポータブル用や小動物用 SPECT として半導体検出器を用いたものが製品化されている。

2. モバイル型ガンマカメラ

Digirad 社は、光電子増倍管の代わりに半導体センサーのフォトダイオードを使用することによって、周辺のデッドスペースをなくした有効視野 20×20cm の小型軽量ガンマカメラを開発した。乳房腫瘍のセンチネルリンパ節などの近接撮像に有効である。キャスターでの移動が可能で、手術室などで使用できる。また、心臓検査用の回転椅子を組み合わせて心臓 SPECT 画像を得ることもできる。

3. 心臓専用 SPECT 装置

心臓検査専用の小型検出器を用いた SPECT 装置が開発されている。患者はリクライニングシートに座って、リラックスした状態で検査が受けられる。D-SPECT は縦長の CZT 検出器 10 個が胸囲を半周囲うように固定配置されて、個々が心臓を向くように独立に制御される。解像度は一般の SPECT 装置の 2 倍で、高感度ゆえ、心筋 SPECT 画像が約 3

分で収集可能である。

4. ハイブリッド装置

SPECT-CT 装置は、1つのガントリー内にガンマカメラと X 線 CT ユニットが搭載されており、1回の検査で SPECT 画像と X 線 CT 画像を得ることができる。2つの利点があり、1つは X 線 CT 画像からの吸収マップを用いて SPECT 画像の吸収補正ができること、もう1つは X 線 CT からの解剖学的画像を SPECT 画像に重ね合わせることで RI 集積部位の同定が容易にできることである。

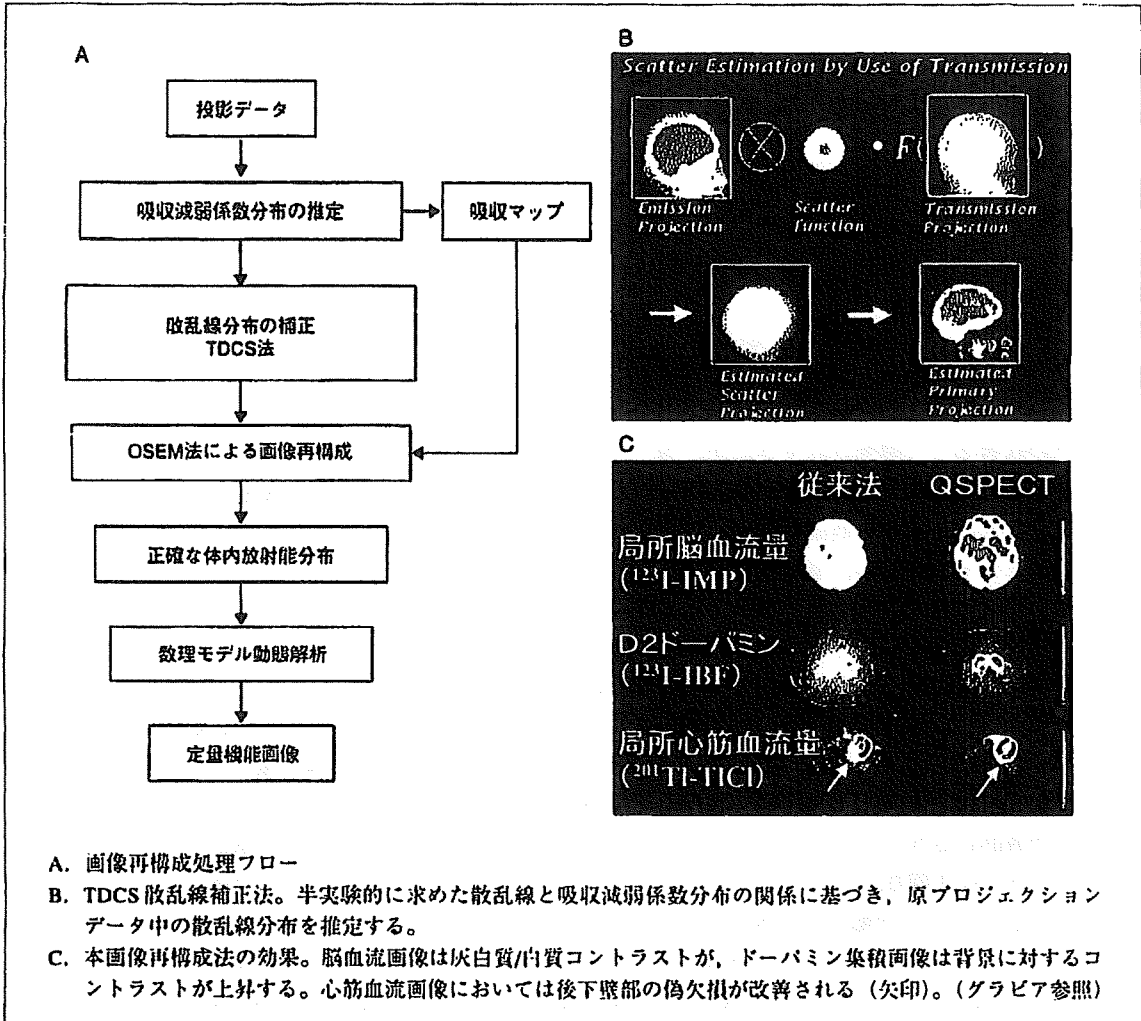
また、比較的半減期が長く (109 分)、輸送が可能な ¹⁸F-FDG による腫瘍イメージングの普及により、ポジトロン核種が撮像可能な SPECT/PET 兼用装置も開発されている。シンチレータは高エネルギー用に通常よりも厚いものが用いられている。^{99m}Tc (140keV) と FDG (511keV) などの同時検査が可能である。

Ⅲ. 定量的 SPECT 画像再構成および解析技術

SPECT は装置構成が単純であり、機器の個体差はほぼ画像再構成ソフトウェアに依存する。したがって、画像再構成ソフトウェアさえ標準化できれば臨床画像の標準化は比較的容易である。SPECT 装置はすでに多くの施設 (国内だけで 1000 施設、2600 台) で稼動しており、定量化・標準化が実現できれば大規模な臨床試験が可能となる。

当研究グループでは、従来は困難とされていた SPECT 画像診断において PET 同様に脳・心筋の機

図③ 定量的SPECT画像再構成



能画像の定量化に成功した。投影データの散乱線分布の補正を行い、これを吸収補正を組み込んだ OSEM 法で画像再構成することで、正確な体内放射能分布が得られる (図③A)。また、散乱線補正を図③B に示す transmission-dependent convolution subtraction (TDCS) 法を用いることにより、散乱線補正を行わない従来法の SPECT 画像再構成と比べて、画像の定量精度およびコントラストを顕著に改善することができる (図③C)。

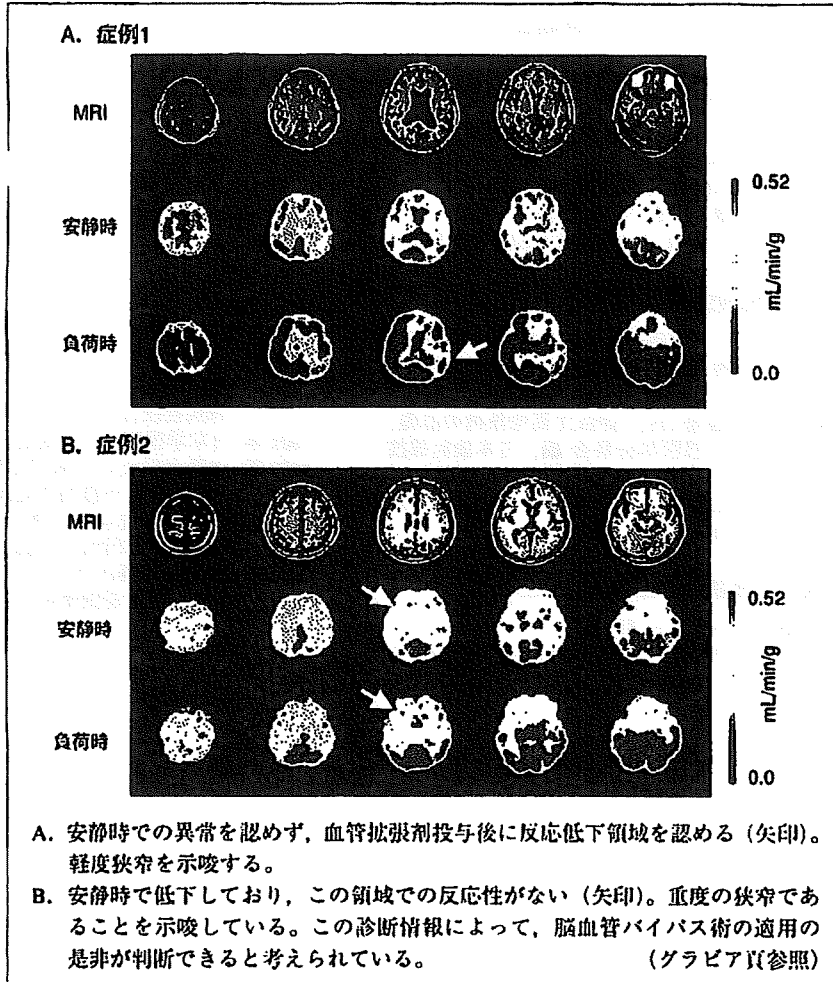
生理機能を定量的に評価するには、トレーサの挙動を数値モデル化して、その挙動を解析する必要がある。SPECT 製剤では、局所組織血流量、

脂肪酸代謝およびこれらの血管壁透過係数や種々の受容体結合能などの生理・生化学的パラメータが推定できる。

局所脳血流量定量では、 ^{133}Xe 、 ^{123}I -iodoamphetamine (IMP)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -bicisate (ECD) などがトレーサーとして使用される。なかでも、 ^{123}I -IMP を用いた ARG 法¹⁰⁾ (IMPARG 法) は脳からの緩やかな洗い出しをよく補正し、広い血流領域で定量が可能である⁶⁾。また、1点採血による簡便な検査が可能なることから多くの施設で利用されてきた。

脳血流や心筋血流だけでなく血管反応性は血管

図⑩ ^{123}I -IMPを使って得た安静時と血管拡張剤投与後の脳血流画像の例



病変の早期診断・早期治療につながる重要な指標であることから、このIMPARG法を利用した、1回の検査で安静時と血管拡張剤投与後の局所血流量および血管反応性を定量評価するDual Table ARG法が開発された。当研究グループが開発したQSPECTは、上記の定量的画像再構成法とDual Table ARG法を組み合わせたソフトウェアであり、施設や装置に依存しない絶対定量値が得られるため、施設を超えた多施設での新規治療法の臨床評価法として期待されている。図⑩は実施例である。

おわりに

本稿で紹介したSPECT技術は小動物イメージングにも同様に利用できる。実験小動物から臨床まで統一的な核医学手法によって、血流などの生理的機能から種々の受容体、遺伝子発現、ペプチド・タンパクなどの疾患関連物質の体内動態までを観察できる分子イメージングの創薬・再生医療への貢献は、今後さらに高まることが期待される。