

## 虚血性心筋症に対する再生医療の臨床応用への展望

仁科 健, 米田 正始

Nishina T, Komeda M: **Take a view of myocardial regeneration for ischemic cardiomyopathy.** J Jpn Coron Assoc 2006; 12: 89-92

### I. はじめに

虚血性心疾患は、冠動脈の心筋への血流が途絶することによって引き起こされる障害で、高齢化とともに発症頻度は増加の一途をたどっている。虚血性心疾患により心筋のリモデリングを生じ心不全に陥った虚血性心筋症 (ischemic cardiomyopathy; ICM) に対して、内科的・外科的に様々な治療法が考案され効果がみられてきている。しかし、未だ完全なものではなく、治療法の確立が期待されてきている。1980 年後半にアメリカにおいて、再生医工学という工学と生物学の観点から新たな概念が提唱され、臨床に応用されるようになった<sup>1)</sup>。1990 年代には日本においても再生医療の研究は急速に進んでおり、将来に期待される治療法となりつつある。

### II. 虚血性心筋症と治療戦略

心筋梗塞が発症すると、責任血管領域の心筋虚血により心筋の壁運動が著しく低下し、梗塞部のみならず非梗塞部までもが拡張するようになり、壁の非薄化を伴った心室の拡大を呈した状態を ICM という。すなわち、心筋虚血が発症すると左室のリモデリングと呼ばれる経時的な左室の拡大を呈するが、これは冠動脈の虚血が生じている部位と虚血のない心筋の間に動きのひずみが生じ、拡大促進因子が分泌されるのみならず、ラプラスの法則による壁張力が増加し特発性拡張型心筋症と同様の病態を呈するものである。さらに、左室が拡大することにより左室形は楕円形から球形へと変化してくる。これに伴い乳頭筋は外側へ偏位し僧帽弁の腱索が牽引される結果となり、僧帽弁弁輪の拡大も加わり coaptation zone は減少し僧帽弁逆流を併発する。この僧帽弁逆流は左室に容量負荷を増加させることになり、さらなる左室の拡大が進行し、心筋自体の収縮力の低下をきたし、うっ血性心不全へと進行する。ゆえに ICM は心筋自体の疾患であるといっても過言ではない。現在このような心不全症例に対して、β遮断薬や ACE (angiotensin-converting-enzyme) 阻害薬等の薬剤治療はリモデリ

ング防止療法として確立された方法となっており、両心室同期療法などの内科的治療も注目されてきているが、難治性で内科的治療に奏効しなくなった終末期の心不全症例に対しては心臓移植が最も有効な治療方法であることは現在でも変りはない。しかしわが国においては、ドナーの数が少ないことや社会的適応の制限から、その数には限りがあることも事実である。現在、これらに代る外科療法として Batista 手術、Dor 手術、septal-anterior ventricular exclusion (SAVE) 手術等の左室縮小形成術が注目され<sup>2,3)</sup>、現在までわれわれの施設では左室形成術によるジオメトリの改善、僧帽弁輪縫縮による僧帽弁逆流防止と左室縫縮効果、冠動脈の血行再建を治療戦略として行ってきた<sup>4)</sup>。術前平均駆出率 30%、平均 NYHA 3.2 度の症例群でも待機手術例では 10% 未満の病院死亡率で、術後の平均駆出率 38%、平均 NYHA 1.6 度まで回復し、術式の改善で長期成績も改善がみられる。近日様々な施設で左室形成術が行われるようになってきたが、各施設間での手術適応や手術法・術後管理に関しては差がみられ、安定した成績や一定した方針はみられていない。しかも左室形成術は術後の心臓再拡張というデメリットがあることが、われわれの実験データからもわかってきた<sup>5)</sup>。前述のように ICM は心筋自体の病気であるため、病態を十分に把握するとともに、“左室全体の収縮力をいかに改善させるか”の工夫が必要であり、再生治療に期待がもたれるところである。

### III. 再生療法の実際

近年、分子生物学の進歩に伴い遺伝子導入を用いた再生療法の研究が盛んに行われるようになると同時に、様々な増殖因子の報告がみられており、基礎・臨床でのめざましい発展が認められている。虚血性心疾患に対する再生療法には 2 つのアプローチがある。1) 虚血の心筋自体に新たな血管を新生させ、血流の供給を充実させることで心筋の動きを改善させようとする方法、2) パワースourceとして細胞を心筋に移植して、心室の収縮力を増強させようとする方法、である。

#### 1. 虚血心筋への血管新生療法

血管新生療法は、内皮細胞の前駆細胞からの脈管形成 (vasculogenesis) と、内皮細胞増殖による血管枝の増殖

京都大学大学院医学研究科器官外科学心臓血管外科 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54)

(angiogenesis) との2つの経路が関与して、虚血部位での血管新生が起こることが認められている。すなわち、虚血性心疾患に対する血管新生療法は、新しい栄養血管を増生させる方法であり、血管新生促進因子として血管内皮細胞増殖因子、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子が報告されている。

(1) 血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF)

VEGF は虚血による低酸素によって刺激され、直接血管内皮細胞に作用して内皮細胞の増殖を促進するが、平滑筋細胞には作用しない因子で、虚血肢に対しての血流改善効果が報告されている<sup>6)</sup>。さらには、心筋虚血領域への使用により側副血行の増生が血管造影上認められ、運動耐容能の改善が認められている<sup>7)</sup>。しかし、VEGF は新生血管の透過性が亢進し、局所的な浮腫をきたすことが重要な副作用として問題となっている。

(2) 肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor; HGF)

HGF は肝細胞増殖因子として発見されたが、内皮細胞の増殖作用や血管新生作用、再灌流障害の防止、線維化抑制作用等が認められた。内皮増殖作用に関しては VEGF と同様に内皮細胞に対して特異的に作用するため、動脈硬化性病変に対する血管新生効果として期待されている。現在、下肢虚血に対しての臨床効果が検討されており、その結果が期待される場所である。

(3) 線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor; bFGF)

bFGF は人体に広く分布する血管および骨の優れた新生因子であり、虚血によってその効果を発現するとされている。その有用性や、安全性にも優れていることから、既に褥創治療薬として臨床使用されてきている。しかし、bFGF はオートクライン・パラクライン的に働く生理活性物質であるため生物学的活性が非常に短く、生理食塩水に溶解した局所注入では十分な組織再生効果が得られない。田畑らは、生体吸収材料であるゼラチンハイドロゲルに bFGF を徐放してシート化することにより数週間持続して効果を発現させることに成功した<sup>8)</sup>。

われわれはラット心筋梗塞モデルで、梗塞部と周辺部位に bFGF 含有ゼラチン粒子を投与したところ、梗塞周辺部の血管新生と心収縮力の改善が認められた<sup>9)</sup>。同様の実験を大動物にて施行したところ、冠動脈造影にて冠動脈結紮後の末梢側が側副血行路を介して造影されており、細動脈レベルでの血管新生であることを証明した<sup>10)</sup>。

この drug delivery system の開発により、bFGF を用いた血管新生療法の臨床応用が飛躍的に発展を遂げたといっても過言ではないであろう。現在われわれの施設においては、虚血心筋に対する血管新生のみならず、下肢虚血に対する血管新生療法でも臨床的に有効性が認められてきている。さらに、内胸動脈採取後の胸骨周囲虚血部位への胸骨再生の促進効果を促すことも実験的に証明され、臨床試験

が既にスタートしている。

2. 虚血心筋への心筋細胞移植療法

心筋細胞移植療法は、体外で再生培養した細胞を不全心筋に移植し、細胞を生着させた領域の収縮力を機能的・組織的に改善させようとするものである。現在までに試みられてきたものは、胎児心筋細胞・ES 細胞・骨格筋芽細胞・骨髄細胞・心筋 stem cell である。

(1) 胎児心筋細胞

歴史的に最初に試みられた方法<sup>11)</sup>、本来増殖しない心筋細胞を胎児の心筋細胞を用いることで、ある程度増殖や生着させることが実現した。ギャップジャンクションをドナー心筋細胞との間に形成するため、自然で不整脈も起こりにくく有用であると考えられた。ところが増殖能が少なく効果もあまり高くないこと、さらには胎児という倫理的な問題があるために臨床では用いられていない<sup>12)</sup>。ただし、ES 細胞から胎児心筋細胞レベルの細胞を誘導できるようになれば実現しうる可能性はある。

(2) ES 細胞

胎児心筋細胞では倫理面や拒絶反応など、臨床での使用には問題があることから、ES 細胞に期待が寄せられている。ES 細胞の特性は胎生期の心筋細胞分化を再現して、分化の段階から心房筋や心室筋などの様々な種類の心筋細胞を得ることができるが、種によって分化の差があることがわかってきた。げっ歯類での ES 細胞には腫瘍性変化をきたす可能性があることから、霊長類における今後の研究展開が待たれる場所である。

(3) 骨格筋芽細胞

骨格筋芽細胞は、骨格筋の前駆細胞として強い増殖能があり虚血に強い。骨格筋芽細胞の虚血部位への移植は、同部位に骨格筋を形成する。ラットの心筋梗塞モデルを使用し、骨格筋芽細胞を移植したところ、筋組織の形成と心機能の改善を認めた。骨格筋芽細胞移植は既にフランスや北米にて臨床使用されており、大腿筋より採取した細胞を培養し、ICM の症例に移植され心収縮力の改善を認めた。骨格筋芽細胞の移植療法は、移植時の拒絶反応や倫理面での問題がなく实际的ではあるが、その後の研究から骨格筋芽細胞移植後の催不整脈作用が認められ、移植された細胞自体にパワーソース作用の証拠がなく、さらなる研究が必要となっている。

(4) 骨髄細胞

骨髄中の骨髄間質細胞は多分化能をもった細胞であることがわかっており、骨髄細胞から胎児型心筋細胞への誘導が可能であるとの報告がある。ラットでの実験から心筋梗塞層へ骨髄細胞を移植することにより、心筋様細胞と血管新生が確認されたとの報告や、大動物での骨髄細胞移植実験で stroke volume、局所灌流の改善が認められている<sup>13)</sup>。これらの結果から骨髄単核球細胞から臨床応用が始まった。骨髄移植細胞では、移植された細胞が心筋細胞へ分化したとの報告は未だなく、骨髄細胞は bFGF や VEGF、

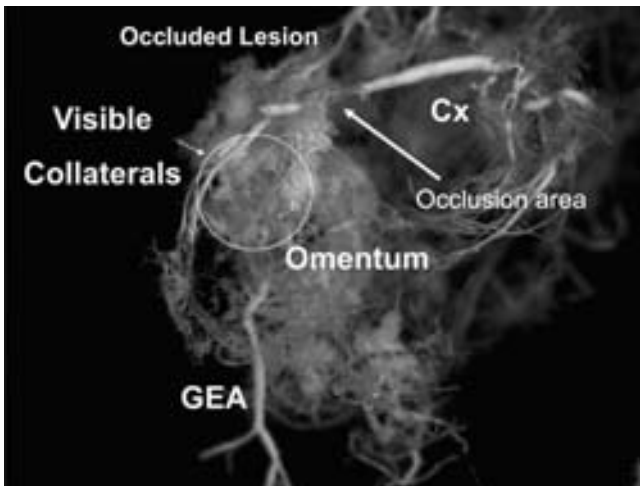


図1 bFGFの徐放による側副血行の増生と胃大網動脈造影にて閉塞冠動脈の遠位部が造影される。  
CX:左回旋枝, GEA:胃大網動脈

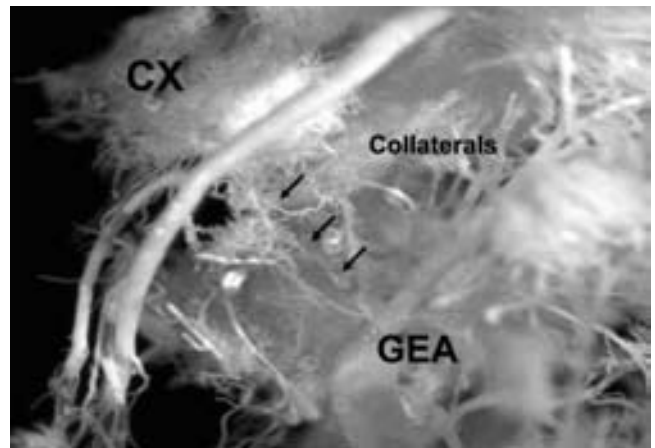


図2 副血行が豊富に再生され, 小動脈形成 (angiogenesis, arteriogenesis) が示唆される。  
CX:左回旋枝, GEA:胃大網動脈

HGF などの強力な血管新生因子を誘導することが報告されており, 骨髄細胞移植によって分泌された血管新生作用によって心機能が改善された可能性も十分に考えられ, パワーソースとしての限界も指摘されている。

#### (5) 心筋 stem cell

心臓内に存在している多能性肝細胞が発見された。すなわち, 骨髄や心筋細胞中の stem cell から心筋細胞に分化する細胞の存在が報告された。この心筋細胞の単離方法や培養法, vivo において移植した心筋細胞が心機能を改善させるといった報告が学会レベルで盛んに行われている。採取できる細胞数が少ないことや生着率の問題等, 解決すべき点があるが, パワーソースとして現在最も期待されている細胞で, 今後のさらなる研究の結果が待たれるところである。

### IV. 虚血性心筋症に対する外科的再生医療

再生医療の発展はめざましく, あらゆる領域での研究がなされており, 循環器領域でも様々な再生療法を応用した治療法が行われている。しかし, 今後さらに増加するであろうと思われる ICM 症例に対する治療戦略として, 外科的治療である左室形成術は, 拡大した左室に対して直視下に左室のジオメトリーを考慮した形態を作成でき, そのジオメトリー改善は左室の wall stress を低下させることが明らかとなっている<sup>4)</sup>。さらに ICM に併発する僧帽弁逆流に対しても, その病態や左室の機能・構造を考慮した僧帽弁形成術自体にも, 左室の形態を改善させ心機能を改善することも認められている<sup>2)</sup>。ICM の根本の原因である心筋虚血に対しては, 冠動脈バイパスによる完全血行再建が可能であることから, 外科的治療は ICM に対して有用な手段であることは理解できるであろう。しかし, リモデリングが生じた心筋は前述のように心筋自体の病気であり, ダメージを受けた残存心筋の機能を細胞レベルまで改善させ

なければ, 左室形成術後の再拡大を防止し, 心機能を維持させることはできないと考えている。すなわち, 外科的治療だけではなく再生療法を組み合わせるハイブリッド治療により, さらなる有効性が増強すると期待される。われわれは実験レベルにおいて, ICM ラットモデルに左室形成を行った後に心筋細胞移植を追加したところ, 左室形成術後再拡大の抑制を確認した<sup>8)</sup>。拡張型心筋症ラットモデルにて左室形成術後に HGF 徐放を加えることによっても, 遠隔期での線維化と再拡大を抑制することを確認した。さらにウサギの冠動脈枝を結紮した急性心筋梗塞モデルを用いて, bFGF ゼラチンシートを梗塞部に置き, その上に胃大網動脈をつけた大網を縫着したところ (Bio-CABG), 血管新生による側副血行の増生が促進され, 閉塞した冠動脈の遠位側の血流が造影にて認められた (図 1)。そして電子顕微鏡にて小動脈形成 (angiogenesis, arteriogenesis) であることも確認された (図 2)<sup>14)</sup>。このように, ICM に対しての形態的治療を外科的に行うと同時に, 残存心筋に対して細胞移植による心筋ボリュームを増加させ, 血管再生により細部にわたる血流改善を行うことこそが, 今後の外科治療または総合的治療につながるものとなるであろうと思われる。

### V. 虚血性心筋症治療に対する今後の展望

ICM のみならず重症心不全の治療戦略は新たな時代に入り, 外科的治療や内科的治療と再生治療を組み合わせたハイブリッド療法時代が始まろうとしている。再生療法の研究開発が様々な分野で行われていくことによって, 今後さらに深刻化するであろう高齢化やハイリスク症例に対しても, 低侵襲で確実性のある安全性の高い治療を提供できるようになり, quality of life の向上に最も重要な一因となるであろう。それと同時に, 心臓移植に代る新たな治療法の確立も十分に可能になると考える。しかし一方で, 再生

療法は新たな副作用や疾患を発症していく可能性も否定できず、安全性に関しての十分な配慮と確認が最優先な課題である。

## VI. おわりに

心不全領域は内科的にも外科的にも様々な治療開発が進んできているにもかかわらず、コンセンサスのとれた治療法にはなりえていないのが現実である。疾患の予防に始まり、疾患のメカニズムの解明から治療法やフォローアップに至るまで、内科医や外科医のみならず、様々な分野の医師や研究者が協力体制を整え、あらゆる英知を結集した集学的治療体制を確立し、目的を明確に精進することにより、必ずやより良い治療法の確立へとつながると信ずるのである。

## 文 献

- 1) Langer R, Vacanti JP: Tissue engineering. *Science* 1993; **260**: 920-926
- 2) Batista RJV, Santos JLV, Takeshita N, Lise Bocchino L, Lima PN, Cunha MA: Partial left ventriculectomy to improve left ventricular function in end-stage heart disease. *J Card Surg* 1996; **11**: 96-98
- 3) Dor V, Sabatier M, Di Donato M, Maioli M, Toso A, Montiglio F: Late hemodynamic results after left ventricular patch repair associated with coronary grafting in patients with postinfarction akinetic or dyskinetic aneurysm of the left ventricle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; **110**: 1291-1301
- 4) Koyama T, Nishimura K, Soga Y, Unimonh O, Ueyama K, Komeda M: Importance of preserving the apex and plication of the base in left ventricular volume reduction surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; **125**: 669-677
- 5) Nishina T, Nishimura K, Yuasa S, Miwa S, Nomoto T, Sakakibara Y, Handa H, Hamanaka I, Saito Y, Komeda M: Initial effects of the left ventricular repair by plication may not last long in a rat ischemic cardiomyopathy model. *Circulation* 2001; **104** (suppl I): I-241-I-245
- 6) Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, Isner JM: Constitutive expression of phVEGF 165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1998; **97**: 1114-1123
- 7) Losordo DW, Vale PR, Hendel RC, Milliken CE, Fortuin FD, Cummings N, Schatz RA, Asahara T, Isner JM, Kuntz RE: Phase 1/2 placebo-controlled, double-blind, dose-escalating trial of myocardial vascular endothelial growth factor 2 gene transfer by catheter delivery in patients with chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2002; **105**: 2012-2018
- 8) Tabata Y, Ikada Y: Vascularization effect of basic fibroblast growth factor released from gelatin hydrogels with different biodegradabilities. *Biomaterials* 1999; **20**: 2169-2175
- 9) Iwakura A, Fujita M, Kataoka K, Tambara K, Sakakibara Y, Komeda M, Tabata Y: Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in a rat infarct model. *Heart Vessels* 2003; **18**: 93-99
- 10) Sakakibara Y, Tambara K, Lu K, Nishina T, Sakaguchi G, Nagaya N, Nishimura K, Li RK, Weisel RD, Komeda M: Combined procedure of surgical repair and cell transplantation for left ventricular aneurysm: an experimental study. *Circulation* 2002; **106** (suppl I): I-193-I-197
- 11) Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, Mickle DAG, Zhang J, Mohabeer MK, Rao V, Ivanov J: Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg* 1996; **62**: 654-661.
- 12) Sakakibara Y, Tambara K, Lu F, Nishina T, Nagaya N, Nishimura K, Komeda M: Cardiomyocyte transplantation dose not reverse cardiac remodeling in rats with chronic myocardial infarction. *Ann Thorac Surg* 2002; **74**: 25-30
- 13) Tomita S, Mickle DAG, Weisel RD, Jia ZQ, Tumiati LC, Allidina Y, Liu P, Li RK: Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; **123**: 1132-1140
- 14) Ueyama K, Bing G, Tabata Y, Ozeki M, Doi K, Nishimura K, Suma H, Komeda M: Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model: revival of classic concept with modern biotechnology. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; **127**: 1608-1615