

## Overview

室原 豊明

血管新生・再生に関する研究が盛んである。特に遺伝子治療や細胞治療による血管再生療法の基礎・臨床研究の成績が1990年代から発表され始めると、臨床研究の間でも内科・外科を巻き込んで、この分野の研究が広く活性化された。これに伴い、基礎研究も進展し、新たな知見が国内外より公表されるに至った。本特集では、これら血管新生に関する基礎・臨床研究のup-to-dateを、第一線の国内の研究者にお願いし、それぞれサマライズしていただいた。

バイパス手術や血管内インターベンションなど、これまでの治療が不可能な重症末期の閉塞性動脈硬化症(arteriosclerotic obliterans: ASO)・Buerger病(thromboangitis obliterans: TAO)・末期虚血性心疾患患者に対して、血管新生(再生)療法が行われている。この治療概念は血管内皮特異的成長因子であるvascular endothelial growth factor(VEGF-A)の発見から話が始まる。VEGF-Aはもともと培養腫瘍細胞から放出される蛋白として発見精製され、血管内皮細胞の増殖や遊走を特異的かつ強力に刺激して、腫瘍の栄養血管形成を刺激することで、腫瘍発育を支持していることが明らかにされた。そこで、この成長因子の機能を抑制することで副作用のより少ない腫瘍の治療ができるのではないかと期待されている。事実、最近行われているヒト化VEGF中和抗体(Avastin®)を使った臨床試験では、ほかの抗ガン剤との併用で、一定の腫瘍縮小効果や転移抑制効果が確認されている(<http://www.Anti-VEGF.com>)。

逆にこの血管新生因子の代表格ともいえるVEGF-Aを使えば、重症虚血領域に新しい血管が再生(新生)できるのではないかと考え、この治療を提唱し発展させたのが、米国Tufts大学のJeffrey M Isner教授(故人)である。彼はこの分野で先駆的な仕事を次々に発表し、後に血管新生療法のいわば「創業者」の1人として非常に有名になったが、実はbFGF(basic fibroblast growth factor)を用いた血管新生療法の概念が、東京大学のYanagisawa-Miwaらにより、いち早く1992年にScience誌に報告されている。生前のIsner教授は、このScienceの論文を高く評価し、機会あるごとにこの内容を引用していた。Isner教授は1994年にVEGFの組み換え蛋白

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学

(rhVEGF)を経動脈的に投与することにより、実験的に作製したウサギ虚血下肢に新しい血管が再生できることを最初に報告した。血管新生(再生)療法(therapeutic angiogenesis)という言葉は、この時から広く使用され始めた。その後、VEGF、VEGF-2、bFGF(FGF2)、FGF4、HGF等の成長因子の遺伝子・蛋白、HIF-1などの転写因子を使った遺伝子治療などが、この血管新生療法のために研究開発されてきた。

その後、多数の研究者がVEGFやFGF-2の組み換え蛋白や遺伝子を動物実験や臨床研究において使用し、その有効性についてもさまざまな報告がなされるようになった。遺伝子や組み換え蛋白を応用した血管新生(再生)療法の結果に関しては、これまでの多くの研究を合わせると、基本的には以下のように要約することができよう。動物実験モデルに関しては、虚血を改善すること。臨床研究においては、少数(約30例以下)の1施設第I、IIa相試験では有望な成績が得られているにもかかわらず、比較的大人数の多施設試験(第IIb相以降)では、無効あるいは他覚的改善効果が得られていないことが挙げられる。たとえば、2003年に発表されたVEGF蛋白を使った狭心症治療の第IIb相多施設試験であるVIVA研究では、60日の時点ではプラセボ群と治療群との差が得られなかったと報告された。ただし、120日後では狭心痛の頻度の減少も報告されており、今後のフォローアップの結果が待たれるところである。このように、虚血性疾患などの循環器領域での治療効果判定では、高い確率でプラセボ効果が出る可能性があるため、データの解釈には特に注意を要する。あるいは、血管再生という過程は極めて巧妙に統御されており、無数の因子(蛋白・酵素・血管作動性物質・細胞・細胞外マトリックスなど)がそれに関与している。そのため単一の成長因子のみによる血管新生療法にはやはり限界があるのではないかと推測できる。

一方、成人における血管新生(neovascularization)には、既存の分化した血管内皮細胞の発芽的増殖と遊走によるもの(狭義のangiogenesis)以外にも、成人の末梢血中を流れる血管内皮細胞に分化しうる血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cell: EPC)の取り込み、分化による血管新生(血管発生: vasculogenesis)の2つの機序が存在することが基礎的・臨床的研究より明らかに

なってきた。1997年、Asaharaらは成人末梢血中のCD34陽性細胞の分画から血管内皮細胞へと分化しうる細胞が得られることを報告した。さらに成人においては、血管内皮前駆細胞は骨髄細胞に由来することが骨髄移植モデルマウスを用いた実験で明らかになってきた。またヒトにおいても、Gunsiliusらは骨髄移植を受けた患者の末梢血を採取し、血管内皮細胞培養条件下で培養するとドナー由来の血管内皮細胞が出現することを報告している。Linらは、男性から女性に骨髄移植を行った患者において、末梢血単核球培養後に出現する血管内皮細胞の性染色体のgenotypeを検討し、培養1カ月ころより出現する内皮細胞(outgrowth endothelial cells: OEC)はほとんどドナー由来であることを報告している。

以上のような背景から、われわれは骨髄細胞や末梢血中に流れる血管内皮前駆細胞を取り出し、それらを虚血部位に移植することによって血管再生を促すことができると考えた。まずウサギの片側下肢虚血モデルを作製し、手術1週間後に自己骨髄由来単核球細胞を移植することにより、虚血下肢の血管新生が増強され虚血が改善されることを証明した。移植した細胞は、血管内皮細胞になり血管形成に参加する以外に、paracrine的に血管新生促進因子(VEGF, bFGF, angiopoietinなど)を放出し、局所の血管を刺激することにより血管新生が促進されることが考えられた。同様に、臍帯血由来の血管内皮前駆細胞移植が、ヌードラットの下肢虚血モデルにおいて血管新生を促進することを示している。一方、Kalkaらは、末梢血を培養し血管内皮細胞前駆細胞

を得たあとにヌードマウスに経血管的に移植し、下肢虚血が改善する方法を示している。そこでわれわれは、前記のような実験的根拠に基づき、倫理委員会申請・承認を得たのち、従来の治療法では下肢切断回避困難な末梢性血管疾患(ASO・TAO)患者に対して、自己骨髄細胞の虚血骨格筋内移植術を施行した。結果は良好であり、自覚症状の改善・有意な血管新生・歩行距離の増加等を認めた。

このように、血管新生成長因子の蛋白補充療法や遺伝子治療の臨床試験が第I, IIa相での試験では有効性が示されたものの、多施設にわたる第IIb相以上の臨床試験では有効性が証明されなかったものが多く見受けられた。一方、骨髄単核球細胞を使用した臨床試験は多くの施設で有効性が証明されている。骨髄単核球細胞は、一定の培養条件下で血管内皮前駆細胞ならびに血管内皮細胞となることが証明されている。さらに、動物モデル・骨髄移植を受けた患者・補助心臓を入れた患者における観察より、骨髄細胞が血管内皮になりうることを証明されており、骨髄細胞が血管新生を生じさせるtoolとして急速に注目を集めるようになってきた。

今回の特集号では上記の点などを踏まえ、それぞれの分野の世界をリードする専門家から、基礎的・臨床的に血管発生/血管新生、さらに遺伝子や細胞を使った再生医療の基礎と臨床について詳しく解説いただくことにした。いずれも多忙な方ばかりであり、玉稿を執筆いただいたことにこの場をお借りして感謝申し上げます。