

1. 末梢動脈 慢性動脈閉塞症に対する自家骨髄細胞移植の治療経験

梅澤 久輝¹ 根岸 七雄¹ 斉藤 穎² 麦島 秀雄³ 福田 昇⁴

要 旨：自家骨髄単核球系細胞移植による血管新生療法を、3例に対し行った。跛行肢の1例は、症状の緩解は得られなかった。術前より、安静時疼痛、潰瘍を認めていた2症例は、投与後約2週目ころより症状の緩解が得られた。しかし当初緩解を認めたとうちの1例は、移植後約1年で虚血性潰瘍が再発。移植後2年目に再度骨髄移植を行ったが、足指の壊死が進行し小切断を余儀なくされた。自家骨髄細胞移植を行った3例の経過について報告する。

(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 215-220)

Key words: angiogenesis, vasculogenesis, bone marrow cells

はじめに

閉塞性動脈硬化症(athelosclerosis obliterans: ASO)や閉塞性血栓性血管炎(Buerger病)に対する治療法は、重症度の診断に基づいて、薬物療法やインターベンション療法、および外科的血管再建術が選択されてきた。その中でも重症虚血肢の治療は難渋することも少なくなく、重症虚血肢症例の約20%、年間約200人の患者が下肢切断を受けQOL(quality of life)を障害されている¹⁾といわれる。このような従来の治療に抵抗性あるいは適応外となる重症虚血肢患者の治療として血管新生療法が注目を集めている。

本邦では世界に先駆けて、ASOやBuerger病などの重症虚血肢に対する自家骨髄単核球系細胞移植による血管新生療法(therapeutic angiogenesis)の有効性が発表²⁾され、2003年6月には再生医療としては初めて高度先進医療に認可された。現在では24の大学病院や国立循環器病センターなどで200人以上に実施されるとともに17施設(2007年4月1日現在)が高度先進医療に承認されている。

当施設においても、心臓血管外科、循環器内科、細胞再生移植部門による日大再生医療研究会が2002年より組織され、下肢慢性動脈閉塞症例に対する自家骨髄細胞移植による血管新生療法をスタート³⁾させ、現在までに3例に計4回の自家骨髄細胞移植を行った。

当施設での重症虚血下肢への血管新生療法の適応基準を示す。

適応症例

血管造影またはMRAにより、閉塞または有意狭窄病変部位が確認されている慢性動脈閉塞症例で、血管再建術が困難な症例。

の条件を満たし、かつ当該末梢動脈病変により潰瘍、安静時疼痛が存在する症例。

の条件を満たし、間歇性跛行症状の明らかなもの(傾斜12%、速度2.4km/hの条件で500m以下)で、足関節上腕血圧比(ankle brachial pressure index: ABPI)が0.3~0.9、あるいは次のいずれかの絶対血圧を代用することも許可される。

足関節圧(< 70mmHg)

足趾血圧の低下(< 50mmHg)

TcPO₂の低下(< 50mmHg)

同意取得時の年齢が、80歳以下、自分の意思表示

¹ 日本大学医学部外科学系心臓血管外科学分野

² 日本大学医学部先端医学系探索医療・ゲノム疫学分野

³ 日本大学医学部小児科学系小児科学分野

⁴ 日本大学医学部先端医学系細胞再生・移植医学分野

2007年5月9日受理

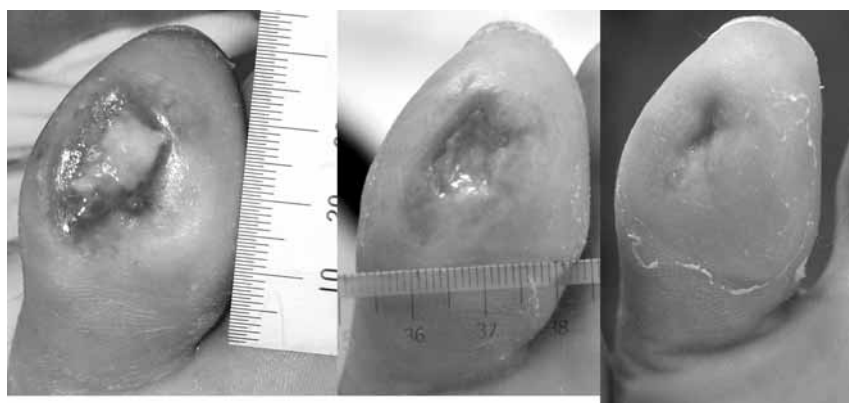


Figure 1 Case1: Ischemic ulcer before and after treatment.

A: Before treatment.

B: At 156 days post-treatment.

C: At 300 days post-treatment.

A | B | C

が的確に行える症例。

また除外基準としては、以下の条件とした。

悪性新生物を有する者およびその既往のある者。

重篤な心疾患、肝疾患、血液疾患、進行中の感染症またはその他の重篤な合併症を有する者。

増殖性糖尿病性網膜症を有する者。

同意取得時6カ月以内に手術もしくは血管内治療などの血行再建術が施行されている患者。

その他、試験担当医師が不適切と判断した症例。

以上を踏まえううえで、当施設での3例4回の治療経験を報告する。

症例 1

42歳，男性

主訴：左第1趾の虚血性潰瘍

現病歴：2001年11月，上記主訴にて，某大学病院に約2カ月入院。しかし改善傾向がみられず，退院。その後某院より，当院を紹介され，2002年4月，当院初診。

既往歴：糖尿病，HCV(+)

入院時理学的所見：背部より臀部にかけ刺青を認める以外に胸腹部理学的所見に異常なし。局所所見であるが，左第1趾は虚血性萎縮を認め，中心に白苔を伴った潰瘍を認めた(Fig. 1A)。

血管造影検査：左膝窩動脈以下，前脛骨動脈および後脛骨動脈は，分岐直後にて途絶し，腓骨動脈のみ足

関節まで造影されている。

入院後経過：lipo-PGE1およびアルガトロバンの連日投与，また下肢痛に対しては持続硬膜外麻酔を施行しながら，足浴を連日行い，PG製剤軟膏等を使用した。しかし薬物治療のみでは，潰瘍の縮小や安静時疼痛も改善せず，また血管造影所見からも外科的血行再建術の適応も困難であり，本人および家族とも相談し，自家骨髄細胞移植療法を行う方針とした。骨髄採取に先立ち，自己血貯血MAP2単位を行った。

2002年10月11日，全身麻酔，硬膜外麻酔併用下に腹臥位とし，両側腸骨より自家骨髄液500mlを採取したのち，速やかにCOBE spectraを用いて，骨髄単核球を分離した。1.89 × 10⁹個の細胞を下腿腓腹部に42カ所と足底に8カ所，1カ所につき0.75ccずつ26G針にて移植を行った(Fig. 2)。

投与後，2週間目より安静時疼痛は軽減し，4週目には術前値の1/10程度に改善した。また潰瘍底も徐々に縮小した(Fig. 1B, C)。その後も定期的に外来通院を続けており，2007年4月現在において潰瘍の再発は認めていない。

症例 2

21歳，男性

主訴：100mの間歇性跛行

現病歴：1999年，運動中に突然の左下肢痛を自覚。その後下肢痛が持続し，数カ所の整形外科に通院した

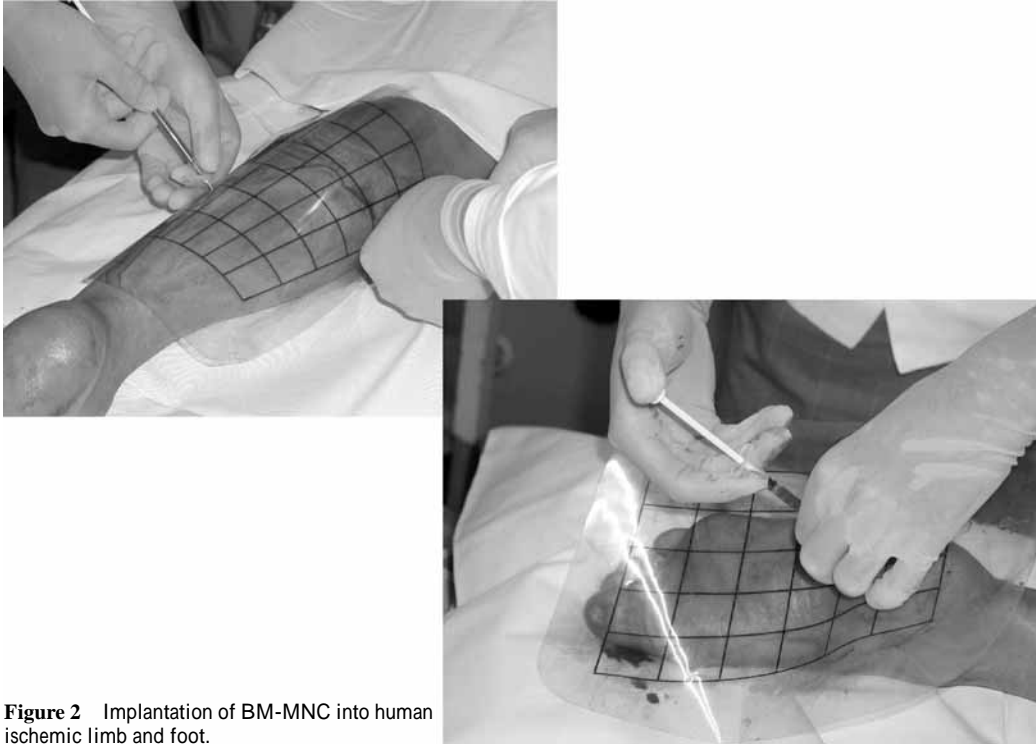


Figure 2 Implantation of BM-MNC into human ischemic limb and foot.

が、症状は軽快せず、2000年12月、当院整形外科受診した際に当科受診を勧められ、2001年1月、当科初診。その後の精査にて、左大腿動脈閉塞症と診断された。しばらく薬物療法にて、経過観察していたが、改善傾向を認めず、再入院となった。

既往歴：特記すべき異常なし。

血管造影検査：左浅大腿動脈末梢より膝窩動脈以下3分岐まで完全閉塞し、側副血行路にて、前脛骨動脈末梢のみ造影された。

入院後経過：薬物療法、運動療法を行ったが、跛行距離の改善には至らず、外科的血行再建術の適応も考えられたが、若年者でありバイパス閉塞による下肢切断の可能性も考慮し、繰り返し行うことも可能な骨髄移植療法を強く希望され、施行することとした。術前に自己血貯血2unitを行った。

2005年2月25日、症例1と同様に全身麻酔、硬膜外麻酔下に両側腸骨より600mlの骨髄液を採取した。ただちに分離操作を開始したが、症例1の際に使用したCOBE spectraが使用できず、比重遠心法にて分離操作

を行った。 1.15×10^9 個の細胞を下腿腓腹部に42カ所に分け、0.7ccずつ26G針にて移植を行った。術前ABPIは、右/左が1.14/0.56であったのに対し、移植後2週目1.23/0.45、移植後4週目1.02/0.48、移植後6週目0.93/0.43と改善は認められなかった。またトレッドミルテスト(斜度12%、速度2.4km/h)では、術前pain free walking distance(PWD)およびmaximum walking distance(MWD)は、66m/184mだったのに対し、2週目93m/150m、4週目131m/323m、6週目118m/252mとわずかに跛行距離の改善傾向が認められた。

症例 3

31歳、男性

主訴：左足趾潰瘍および安静時疼痛

現病歴：2001年10月ころより左足趾に潰瘍形成し、某院皮膚科に通院するも改善せず、2002年1月に都立某病院を受診し、精査施行。Buerger病と診断され、lipo-PGE1製剤、抗血小板剤投与を受け、軽快。同年夏には、完全に症状は消失した。2003年1月より症状再



Figure 3 Case 3 : Ischemic ulcers before and treatment.
 A: Before treatment.
 B: At 36 days post-treatment.
 C: At 110 days post-treatment.

A | B | C

燃。再度lipo-PGE1製剤，抗血小板剤の投与を開始したが，潰瘍の改善はみられず，骨髄移植による血管新生療法的に紹介入院となった。

既往歴：特記すべき異常はなし。

喫煙歴：20本/日。10年以上。

入院時理学的所見：胸腹部理学的所見に異常なし。局所所見であるが，左第1趾より第5趾および足背の一部にまで広がる，白苔を伴ったびらんおよび潰瘍形成を認めた(Fig. 3A)。

血管造影検査：左膝窩動脈以下，前脛骨動脈は分岐した直後で途絶し，腓骨動脈幹以下は先細りとなり，corkscrew signを呈し，側副血行路にて後脛骨動脈が造影されている。

入院後経過：連日，足浴を行いながら，安静時疼痛に対しては，硬膜外麻酔およびソセゴン錠の内服にてコントロールし，アルガトロバン，lipo-PGE1製剤の投与を行いながら，経過観察していたが，安静時疼痛の改善や潰瘍の縮小効果もみられず，また血管造影所見からも外科的の血行再建術の適応も困難であり，本人および家族とも相談し，自家骨髄細胞移植療法を行う方針とした。骨髄採取に先立ち，自己血貯血MAP2単位を行った。

2003年4月22日，症例1，2と同様に全身麻酔，硬膜外麻酔下に両側腸骨より500mlの骨髄液を採取した。

COBE spectraを使用し，骨髄単核球を分離した。2.61 × 10⁹個 CD34陽性細胞4 × 10⁷個)の細胞を下腿腓腹部に42カ所と足底に8カ所，1カ所につき0.7ccずつ26G針にて移植を行った。

ABPK(右/左)は，術前は1.02/0.68だったが，2週目は1.04/0.67，3週目は1.04/0.71，5週目は0.93/0.73，7週目は1.09/0.89と術前と比較すると0.2以上の上昇を認めた。また術後2週目ころより足趾潰瘍は縮小傾向を認めた(Fig. 3B, C)。安静時疼痛も投与2週目ころより緩解し，硬膜外麻酔を中止し，鎮痛剤の内服も中止できた。

その後，定期的に外来通院しており，2004年2月5日のABPK(右/左)は，0.94/0.78。しかし，同年4月下旬より左下肢の安静時疼痛が出現し，ABPK(右/左)は0.88/測定不能の状態であり，急性増悪の診断にて再入院となった。左膝窩動脈の完全閉塞を認め，閉塞部位にカテーテルを留置し直接線溶療法を開始。その後，同部位に高度狭窄病変が残存したため，同部位に対し経皮的冠動脈バルーン形成術(plain old balloon angioplasty: POBA)を施行し，ABPK(右/左)1.05/1.12と改善し抗血小板剤に加え，抗凝固剤を開始し，退院となった。

同年8月上旬より再度増悪症状が出現し，足趾より足背にかけてチアノーゼを呈しており，ABPIは測定できず，急性増悪の診断にて再入院となった。左膝窩動

脈は完全閉塞をしており、カテーテルによる直接線溶療法を開始。しかし血栓は溶解しなかったため、POBAを追加後、さらに線溶療法を追加し改善した。その後カテーテル感染より、MRSA(methicillin resistant Staphylococcus aureus)菌血症を併発した。VCM(バンコマイシン)の投与を開始。しかし8月12日より、再度左下肢の循環障害が発現したが、菌血症を併発していたためカテーテル治療は断念し、全身投与による線溶療法のみ施行した。3週間の抗生剤投与にて、菌血症は改善したが、膝窩動脈は閉塞したままとなり、経過観察となった。同年12月下旬より、左足趾先端に皮下膿瘍を形成し安静時疼痛が出現し再入院。薬物療法を施行しながら治療を続けたが、症状の改善はみられなかった。これ以上の保存的治療の限界と診断し、2005年4月5日、2回目の自家骨髄細胞移植を行った。両側腸骨より500mlの骨髄液を採取し、骨髄単核球を分離し、下腿腓腹部の48カ所と足底の12カ所に細胞移植を行った。しかし足趾の壊死が進行し、9月20日、左第1~5足趾切断を施行。また、疼痛に対しても改善されず、塩酸オキシコドンの内服にてコントロールし退院となった(Fig. 4)。2007年4月現在まで、症状は安定しており定期的に外来にて経過観察中である。

考 察

血行再建術や経皮的血管形成術等が困難な症例や血行再建術の適応にならない重症虚血肢症例は、将来的に下肢切断に至る可能性が高い。そのような症例に対して、遺伝子や幹細胞を用いて、虚血部周辺の組織からの血管新生や側副血行路の発達を促して、虚血組織の血流を確保し、組織障害や壊死を軽減させようとする血管新生療法が注目されている。

2000年1月に関西医科大学、自治医科大学、久留米大学が共同で骨髄単核球を利用したTACT-1(Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation)臨床試験が開始された。Fontaine III~IV度の重症虚血肢症例45例に対し、自家骨髄細胞移植を実施。骨髄移植群では、ABPIが0.097増加し、下肢疼痛緩和が20人中18人でみられ、トレッドミル歩行距離は2.6倍以上増加した。この成績は世界で初めの細胞移植による血管新生療法として、国際的に評価された²⁾。

その後、2005年1月1日までに本邦14施設からの190例(ASO 125例, Buerger病65例)の臨床成績の中間報



Figure 4 Case 3: The present condition.

告⁴⁾では、ASO, Buerger病ともABPI, VAS(visual analogue scale), 潰瘍直径, 歩行距離は移植後に有意に改善したが、時間の経過とともに低下する傾向にあったと報告している。全体を通して、Buerger病はASOと比較して、治療反応性が良かったとしている。またBuerger病におけるABPIの値を除いてはいずれの指標も2年後においても前値と比較し有意な上昇を示したとしている。本治療の機序について、現在は、初期に報告されたように移植された細胞が高率に血管細胞に分化するのではなく、むしろ移植細胞から分泌されるVEGF(vascular endothelial growth factor), bFGF(basic fibroblast growth factor)などの血管内皮増殖因子が血管新生に重要であると考えられている⁵⁻⁸⁾。

日本大学でこれまで経験した3例は、すべてBuerger病に対して行った。安静時疼痛および虚血性潰瘍を認めた2例は、投与後しばらくは著効を示し安静時疼痛、潰瘍も消失した。しかし2例のうちの1例は、1年後より症状の増悪症状を呈し、2年後には再移植を行ったが、足趾の壊死が進行し足趾切断を要した。これまでの当院での骨髄細胞移植療法の結果では、全症例において血管造影や経皮酸素分圧測定などでは変化はなかった。1例のみABPIにおいて、改善がみられた。しかし全般的に他覚的検査では明らかな症状の改善を示唆する所見に乏しく、術前術後の信頼できる評価法の確立が今後望まれる^{9,10)}。

また、今回のわれわれの症例では、3例中2例で移植直後より良好な結果が得られたが、移植後1年ないし2年と経過すると治療の有効性に疑問が残った。現

時点においては、自家骨髄細胞移植による血管新生療法は、まだまだ未解決の問題が多々ある。投与方法や評価法、どの程度の細胞数が必要なのか、あるいは効果が一番得られる細胞数はどのくらいなのか、また、レスポonder、ノンレスポonderをそれぞれ経験しており、どのような症例に効果があるのか、など適応症例や注入部位の問題がある。

今後、その作用メカニズムの解明を深めるためにも、さらなる症例の積み重ねと臨床データの詳細な検討が必要と考えられた。

まとめ

3例の閉塞性血栓性血管炎症例に対し、計4回の自家骨髄細胞移植療法の治療経験を報告した。移植後3例中2例に短期的ではあるが治療効果が認められた。

文 献

- 1) 牧野寛史, 荻原俊男, 森下竜一: 遺伝子治療閉塞性動脈硬化症(ASO), Buerger病の治療. 日臨, 2005, 63: 491-497.
- 2) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T et al: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial. Lancet, 2002, 360:

427-435.

- 3) 梅澤久輝, 根岸七雄: 日大板橋病院での慢性動脈閉塞症に対する自家骨髄細胞移植の治療経験. 日大医学雑誌, 2003, 62: 359-362.
- 4) 松原弘明, 本庄尚謙, 五十殿弘二 他: 2. 細胞治療 自家骨髄単核球による血管再生療法 - TACT臨床研究 - . Angiology Frontier, 2006, 5: 35-39.
- 5) Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS et al: Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. Circulation, 2004, 109: 1543-1549.
- 6) Zeigelhoeffer T, Fernandez B, Kostin S et al: Bone marrow-derived cells do not incorporate into the adult growing vasculature. Circ Res, 2004, 94: 230-238.
- 7) Rehman J, Li J, Orschell CM et al: Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. Circulation, 2003, 107: 1164-1169.
- 8) Jackson KA, Majka SM, Wang H et al: Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest, 2001, 107: 1395-1402.
- 9) 近藤隆久, 井澤英夫, 小林昌義 他: 骨髄細胞による末梢性血管疾患の治療例. Geriatric Medicine, 2003, 41: 1819-1823.
- 10) 小林光一, 古森公浩, 室原豊明: 細胞移植による治療的血管新生療法. 炎症と免疫, 2004, 12: 135-140.

Therapeutic Angiogenesis for Peripheral Arterial Occlusive Disease

Hisaki Umezawa,¹ Nanao Negishi,¹ Satoshi Saitoh,² Hideo Mugishima,³ and Noboru Fukuda⁴

¹Division of Cardiovascular Surgery, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

²Division of Genomic Epidemiology and Clinical Trials, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

³Division of Pediatrics and Child Health, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

⁴Division of Cell Immunology and Allergology, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: angiogenesis, vasculogenesis, bone marrow cells

We treated 3 patients presenting with critical limb and ischemic limbs by autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells. Cell therapy using bone marrow mononuclear cells was effective at least for 1 year. Further studies will allow us to develop more effective treatments for ischemic vascular disease.

(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 215-220)

Online publication June 8, 2007

脈管学 Vol. 47, 2007