

閉塞性動脈硬化症に基づく進行性の下肢虚血に対して、自己骨髄単核球細胞移植による血管新生治療が奏効した1例

Therapeutic Angiogenesis by Autologous Transplantation of Bone-Marrow Cells in a Patient With Progressive Limb Ischemia Due to Arteriosclerosis Obliterans: A Case Report

長谷部秀幸
長田 満
兒玉 康史
藤岡 大祐
佐野 圭太
中村 貴光
三森 徹
中村 和人
橘田 吉信
一木 美英
尾畑 純栄
川端 健一
柳 光章
佐野 壮一
高野 一
梅谷 健
久木山清貴

Hideyuki HASEBE, MD
Mitsuru OSADA, MD
Yasushi KODAMA, MD
Daisuke FUJIOKA, MD
Keita SANNO, MD
Takamitsu NAKAMURA, MD
Tohru MITSUMORI, MD
Kazuto NAKAMURA, MD
Yoshinobu KITTA, MD
Yoshihide ICHIKI, MD
Jyunei OBATA, MD
Kenichi KAWABATA, MD
Mitsuaki YANAGI, MD
Sohichi SANNO, MD
Hajime TAKANO, MD
Ken UMETANI, MD
Kiyotaka KUGIYAMA, MD, FJCC

Abstract

A 78-year-old woman with arteriosclerosis obliterans was admitted with complaints of progressive ischemic change and resting pain of the left leg. She had severe ischemic limb in stage of the Fontaine classification. Angiography showed total occlusion of the three main arteries with poor collateral flow at the left crus. Autologous transplantation of bone-marrow mononuclear cell to her left leg was performed to achieve therapeutic angiogenesis. One month later, follow-up angiography showed excellent angiogenesis of collateral vessels at the left crus. Her pain was relieved and leg amputation was not necessary. Recently, the TACT study in Japan showed the efficacy of angiogenesis by autologous bone-marrow transplantation for peripheral artery disease. This case illustrates the efficacy of this therapy.

J Cardiol 2004 Apr; 43(4): 179 - 183

Key Words

■Angiogenesis

■Arteriosclerosis

■Transplantation (bone-marrow cells)

山梨大学医学部附属病院 第二内科: 〒409 - 3898 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東1110

The Second Department of Internal Medicine, Yamanashi University School of Medicine, Yamanashi

Address for correspondence: KUGIYAMA K, MD, FJCC, The Second Department of Internal Medicine, Yamanashi University School of Medicine, Shimokatoh 1110, Tamaho-cho, Nakakoma-gun, Yamanashi 409 - 3898

Manuscript received October 20, 2003; revised November 25, 2003; accepted November 25, 2003

はじめに

骨髄細胞には心血管系構成細胞の幹細胞が含まれ、さらに骨髄細胞自身が強力な血管新生因子である血管形成誘導因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)や塩基性線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor: bFGF)を分泌する。このことを利用し近年、我が国においては重症末梢性血管疾患(閉塞性動脈硬化症、Buerger病)の患者に対して内皮前駆細胞を含む自己骨髄単核球細胞の虚血骨格筋内注射による移植が行われるようになり、有効な治療法として認識されてきている。今回、同治療により明らかな臨床症状の改善と著明な血管新生が認められた1例を経験したので報告する。

症 例

症 例 78歳,女性

主 訴: 左下肢の安静時痛, 左下肢の壊死化。

現病歴: 1997年頃より左下肢の間欠性跛行が出現し、徐々に増悪してきた。2003年2月中旬より左足の皮膚病変が出現し、その後チアノーゼ、冷感の増悪をきたし安静時痛も加わり、血管内エコー法により閉塞性動脈硬化症(Fontaine 度)と診断された。各種薬物療法(アルプロスタジルアルファデクス40 μ g/day, ベラプロストナトリウム120 μ g/day, シロスタゾール200mg/day)が開始されたが、その後も左下肢虚血はさらに進行し、全体的に冷感が強く、左第4趾は黒色化、壊死し、疼痛のため歩行不能となった。2003年3月28日、自己骨髄単核球細胞移植による血管新生治療の適応検討を含め、精査加療目的で当科に入院となった。

入院時現症: 身長150cm, 体重60.0kg, 体温37.7 $^{\circ}$ C, 血圧は右上肢が153/90mmHg, 右下肢が141/72mmHg, 左上肢が156/83mmHg, 左下肢は疼痛が強く測定不能, 脈拍93/min, 心音および呼吸音は正常, 意識清明。貧血・黄疸・甲状腺腫大なし。血管雑音を聴取せず, 右下腹部および正中線上に虫垂炎・子宮後屈の手術痕あり, 左第4・5趾は壊死化, 左足背は蒼白・冷感あり, 左大腿動脈触知は微弱, 膝窩動脈・後脛骨動脈・足背動脈は触知しなかった。

心電図所見: 正常洞調律で, 虚血性変化は認められず。

単純X線写真所見: 心胸郭比は62%, 肺野に異常陰影はなく, 腹部に異常ガス像は認められなかった。

一般検査所見: WBC 36,730/ μ l, RBC 368 \times 10⁴/ μ l, Hb 11.1g/dl, Ht 34.5%, Plt 19.8 \times 10⁴/ μ l, TP 7.0g/dl, Alb 3.0g/dl, ChE 152IU/l, AST 21IU/l, ALT 19IU/l, ALP 236IU/l, γ -GTP 48IU/l, BUN 36mg/dl, Cr 0.97mg/dl, Na 142mEq/l, K 3.3mEq/l, Cl 103mEq/l, CRP 26.9mg/dl, Fib 750mg/dl, FDP-DD 3.3 μ g/ml, RA(-), VEGF 197pg/ml, HGF 1,732pg/ml, bFGF 38.6pg/ml, 検尿に異常所見はなかった。

入院後経過: 入院後も下肢の虚血は日単位で進行し、約2週間で左第2・5趾に壊死が及んだ。下肢動脈造影では、左総腸骨動脈に90%狭窄が認められ、また下腿動脈3分枝以下が途絶し、側副血行路の発達も不良であった。以上より、バイパス術による血行再建は適応外となり、自己骨髄単核球細胞移植による血管新生治療の適応と判断した。

虚血および炎症・壊死化の進行を最小限に抑えるために、前医より継続して抗血小板薬、プロスタグランジンE₁製剤の静注のほか、各種抗生物質の投与を行うとともに、左総腸骨動脈の狭窄に対してのステント留置術および左第2・5趾壊死に対しての部分切除術を施行した。術後も左下肢の壊死化は中枢側へ進行し、可及的早期に血管新生治療を行うため術前準備を進めた。

2003年4月30日、自己骨髄単核球細胞移植術を施行した。全身麻酔下で約500mlの骨髄液を採取し、骨髄単核球を濃縮分離したのち(容量約40ml, 含有単核球細胞約2.0 \times 10⁹個)、これを虚血部左下肢骨格筋に50カ所に分けて注入した。術後の経過は良好で、術後5日目より左足の温和感を自覚するようになり、安静時疼痛も軽減化傾向を呈した。また、術前に認められた壊死部の進行は免れた。サーモグラフィー上も著明な改善を示し(Fig. 1), 移植術1ヵ月後の下肢動脈造影では、下腿動脈3分枝以下に著明な血管新生が認められ(Fig. 2), 臨床症状の明らかな改善と併せて、閉塞性動脈硬化症に対する自己骨髄単核球細胞移植術の成功が確認された。

考 察

我が国の閉塞性動脈硬化症の患者数は年々増加の傾向にある。従来より治療法の主流は薬物療法や外科的

血行再建であったが、重症虚血肢に対しては有効な治療法がなく、下肢切断も余儀なく行われてきた。こうした重症虚血肢症例に対し、血管新生・側副血行路を誘導することにより血流改善を促す血管新生療法は、新しい治療法として最近注目を集めている。

これは大きく2つの方法に分類され、1つが遺伝子治療に基づくものであり、もう1つが細胞移植による血管新生療法である。後者においては、我が国から、Japan trial of Therapeutic Angiogenesis by Cell Transplantation (TACT) studyにより極めて良好な成績が報告され、ヒト虚血肢に対する自己骨髄単核球細胞移植の有効性が確認された¹⁾。

本症例もTACT studyと同様のプロトコルを用い、重症虚血肢に対する血管新生に成功した。本症例の場合、細胞移植に先立ち患側総腸骨動脈の狭窄に対して経皮的血管形成術(ステント留置)が施行された。これは患肢末梢の急速な虚血・壊死化に対して、その進行を可能な限り抑制しようとの意図からであった。しかしながら、血管形成術後も病状は悪化の一途を辿り、本手技が必ずしも合目的であったとはいえない。実際、虚血肢中枢血管の有意狭窄の有無にかかわらず、患肢末梢の虚血に対しての自己骨髄単核球細胞移植は有効であるとする意見もあり、我々の今回のケースも示唆に富む結果であったといえる。

既知のように、血管新生は大きく2つのタイプに分けられる。すなわち、血管内皮前駆細胞が未分化のままその場所にたどり着き、増殖・分化することで血管を構築する(vasculogenesis)タイプと、すでに存在する血管系からの内皮細胞の増殖および遊走を基本として新しく娘血管枝が形成される(angiogenesis)タイプである。細胞移植に基づく血管新生にはvasculogenesisタイプが大きく関与しており、血管内皮前駆細胞が、VEGFなどの血管新生因子の存在下で血管内皮細胞を形成していく^{2,3)}。この血管内皮前駆細胞が含まれるCD34陽性細胞は、通常の末梢血中には骨髄の約1/10の0.05%しか存在せず、このため骨髄由来単核球移植のほうがより有用な血管新生が期待されている⁴⁾。また、VEGFをはじめとする血管新生因子は、血管内皮

細胞の増殖に必要不可欠である。

本症例の場合、入院時に血管新生因子としてVEGF、肝細胞増殖因子、bFGFを測定したが、いずれも対照群の平均値を下回っていた(自験例)。このことは本症例の虚血肢において、末梢の側副血行の発達が乏しかった原因の1つといえるのかもしれない。一方、移植後に極めて豊富な血管新生が発現したという事実は、骨髄中の血管内皮前駆細胞とともに、局所における血管新生因子産生細胞の果たす役割も、治療を成功させるうえでの重要な要因となっていると思われる。

近年、血管新生療法は、遺伝子導入を用いた方法でも飛躍的な進歩を遂げており、実際にVEGF発現遺伝子などの注入により虚血肢に血管新生が起きることも臨床で確かめられている^{5,6)}。これにより、末梢血中のCD34陽性細胞のみでも、十分な血管新生因子の存在下では有効な血管新生が起きることが示された。ただし、適切な治療遺伝子の選択や高い安全性と発現効率を兼ね備えたベクターの開発、有効な発現量の決定など検討していくべき課題も多く残されている。したがって、こうした課題を解決していく中で、より侵襲が少ない形での遺伝子導入による血管新生療法が期待される場所である。

これに対して自己骨髄単核球細胞移植による血管新生療法は、全身麻酔を必要とし、個体への侵襲もある程度避けることはできないが、利点としては自家移植のため免疫系の副作用の心配はなく、また臨床応用が容易なことが挙げられる。幸い本症例においても、78歳という比較的高齢者ではあったが、極めて有効な血管新生療法に成功し、TACT studyの良好な成績を追認する形となった。今後は、効果が得られる細胞数はどの程度なのか、どのような症例がより適しているのか、あるいは注入部位の問題など、さらなる症例の積み重ねと検討が必要であると思われる。また本症例の場合、虚血肢中枢側の狭窄血管に対する血管形成術を施行したが、その必要性の是非や、当施設において移植術を施行するまでの術前検査期間の短縮化などの個別の詳細な検討も重要であり、示唆に富んだ症例であったといえる。

要 約

症例は78歳，女性で，急速に進行する左下肢チアノーゼおよび安静時痛を主訴とした閉塞性動脈硬化症(Fontaine Ⅱ度)の患者である．入院後も日単位に病状は悪化し，血管造影上，左下腿動脈3分枝以下が途絶し，側副血行路の発達も不良であった．この症例に自己骨髄単核球細胞移植を施行し，血管新生に成功し，1ヵ月後に明らかな臨床上的改善が認められた．最近まで重症虚血肢に対する治療法は有効なものがなく，切断も余儀なくされてきたが，我が国からのTACT studyにより，ヒト虚血肢に対する自己骨髄単核球細胞移植による血管新生療法の有用性が示され，この分野に注目が集まっている．今回，同治療の有効例を報告した．

J Cardiol 2004 Apr; 43(4): 179 - 183

文 献

- 1) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T, Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: A pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; **360**: 427 - 435
- 2) Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, Fujita Y, Kothari S, Mohle R, Sauvage LR, Moore MA, Storb RF, Hammond WP: Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998; **92**: 362 - 367
- 3) Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM: Therapeutic angiogenesis: A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994; **93**: 662 - 670
- 4) Bender JG, Unverzag KL, Walker DE, Lee W, Van Epps DE, Smith DH, Stewart CC, To LB: Identification and comparison of CD34-positive cells and their subpopulations from normal peripheral blood and bone marrow using multicolor flow cytometry. *Blood* 1991; **77**: 2591 - 2596
- 5) Isner JM, Baumgartner I, Rauh G, Schainfeld R, Blair R, Manor O, Razv S, Symes JF: Treatment of thromboangiitis obliterans (Buerger's disease) by intramuscular gene transfer of vascular endothelial growth factor: Preliminary clinical results. *J Vasc Surg* 1998; **28**: 964 - 973
- 6) Shyu KG, Chang H, Wang BW, Kuan P: Intramuscular vascular endothelial growth factor gene therapy in patients with chronic critical leg ischemia. *Am J Med* 2003; **114**: 85 - 92