

放射線被ばく医療を支える再生医療の実用化と幹細胞研究

朝長万左男, 長井一浩, 福島卓也, 宮崎泰司

われわれは、放射線被ばくによる造血系を含む多様な組織障害に対して、幹細胞を用いた「再生・細胞医療」の実用化を目指した研究を展開してきた。とくに、自家骨髄単核細胞移植による下肢末梢血管閉塞性疾患に対する血管再生治療を、原研分子治療部門および附属病院心臓血管外科のチームで実施してきた。現在まで、3症例を集積している。移植骨髄単核細胞数は、 $1.4 \sim 6.8 \times 10^9$ 個であった。全例で、臨床症状や血行動態の改善を認めた。また、一部の症例では、治療実施後の血管造影検査で新生血管の出現を確認できた。最長観察期間は1年8ヶ月であり、症状の再燃なく社会生活に復帰している。本治療法による血管再生の機序には移植された血管内皮前駆細胞と各種 pro-angiogenic factor とが協調的に作用していると考えられた。血管内皮細胞は放射線被ばくの標的のひとつであり、各種組織の血行障害の要因となる。今後、血管再生治療をはじめとした再生医療を実際の被ばく医療に応用可能なものにする開発研究を進めるとともに、その開発基盤となる幹細胞に対する放射線の影響を解明してゆく。

成 果

1. 自家骨髄単核細胞移植による血管再生治療の実用化

血管内皮細胞は放射線感受性があり、被ばく障害の標的となりうる。電離放射線により血管内皮細胞がアポトーシスに陥った結果、微小血栓形成や血流不全を起こし、脳血管・中枢神経症状や皮膚潰瘍等の発生に関与していると考えられている。

1997年、Asahara らのグループによって、血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell: EPC) が成体の末梢血からはじめて分離同定された。この発見を端緒

として、近年、患者の自家骨髄細胞を用いた血管再生治療が臨床応用されるようになってきた。とくに、本邦における共同臨床研究「骨髄細胞移植による末梢血管疾患および虚血性心疾患の治療 (Therapeutic Angiogenesis Using Cell Transplantation Trial: TACT)」は先駆的な成果挙げており、われわれは、このTACTのプロトコルに準じて下肢血管再生治療を開始した。

対象は、閉塞性動脈硬化症 (atherosclerotic obliterans: ASO) や Buerger 病などの慢性下肢虚血性疾患で、従来の薬物療法や各種血行再建術・血管形成術が無効であり、自覚症状や血管閉塞病変の強い症例である。全身

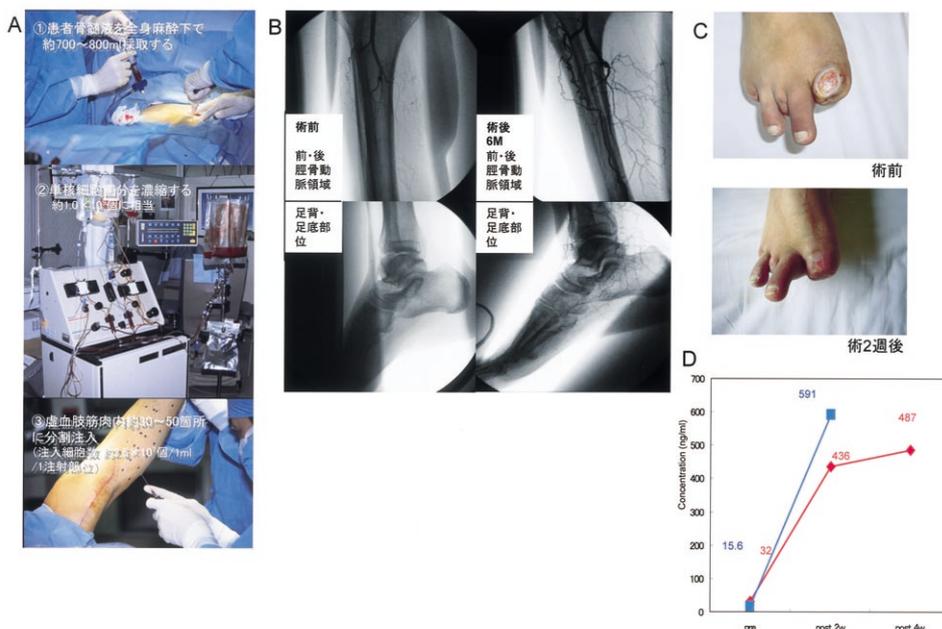


図1. 自家骨髄単核細胞移植による血管再生治療。A. 治療方法の概略。B. 症例1の術前および術6ヶ月後の右下肢血管造影所見。術前には著明な血行不全を認めたが、術後、前・後脛骨動脈が描出され、下腿腓腹筋・ヒラメ筋および足底部の微小血管の増生像を認める。C. 症例3の右第1趾の難治性反復性皮膚潰瘍所見。形成外科的の局所処置を共に行い改善し、以後再発を認めない。D. 症例1、2の血清中血管内皮増殖因子 (VEGF) 濃度の変化 (: 症例1、 : 症例2)。移植後の持続的濃度上昇を認める。

麻酔下で患者腸骨より骨髓液 400-800mL を採取し、比重遠心処理 (COBE Spectra AUTO PBSC, GAMBRO) することで約 1.0×10^9 個/オーダーの単核球を濃縮した。これを、1カ所あたり 2.5×10^7 個/mL の細胞浮遊液として、足底部も含む患肢全体に 1.5 ~ 3 cm 間隔の格子点状の位置に筋肉内注射した (図 1A)。現在まで 3 症例に本治療を実施した (表 1)。いずれの症例も、一時的な移植側患肢の腫脹・熱感を認めたが、持続的な有害事象を認めなかった。全例において自他覚所見は改善しており、1年を越える長期の効果持続症例も認めている。

症例 1 では、右下腿への移植術 6 ヶ月後に実施した血管造影検査で、下腿腓腹筋・ヒラメ筋内および足底部の微小血管が増生し、前・後脛骨動脈が描出された。症例 3 では、経皮的組織酸素分圧 (TcO_2) 正常化や皮膚潰瘍の治癒を認めた (図 1B, C)。

本治療における血管再生の機序に関しては、依然不明な点も多い。移植された骨髓単核細胞中に存在する EPC が、障害局所において増殖・分化する vasculogenesis と、同時に移植された多様な骨髓細胞から分泌される pro-angiogenic factor によって元来局所に存在していた血管内皮細胞が増殖する angiogenesis の機序が想定されている。

今回の症例において、移植細胞中に含まれる EPC は、colony forming unit-endothelial cell (CFU-EC) アッセイおよび EPC のマーカーである CD34 + Flk-1 + 細胞の FACS 解析を行い、各々 $18.5 \sim 26.8/10^6$ non-adherent BMMNC と $0.039 \sim 0.1\%$ であり、健常人骨髓と同等の結果が得られた。一方、血清血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) 濃度を測定したところ、術後の上昇傾向を認めた (図 1D)。これらの結果は、本移植療法における血管新生では、上記の両メカニズムが協調的に働いているという考え方を支持している。

放射線被ばくが様々な組織障害を引き起こし、幹細胞がその標的となっていることを考慮すると、幹細胞の働きを利用した再生医療によって障害組織の再構築と機能回復を目指すことが出来る。今回報告した血管再生治療に関しても、これが放射線被ばくによる血管内皮障害による血行不全と組織障害を修復させる手段となる可能性がある。

しかし、Dainiak らによる世界の主な放射線事故にお

ける HSCT の治療成績のレビューや、米国戦略的国家備蓄 (the strategic national stockpile) のワーキンググループによる被ばく医療における HSCT の適応に関する認識によれば、現在の被ばく医療において HSCT の位置付けが限定的なものに留まっていることが解る。

HSCT による造血系の再構築と共に、非造血系組織の再生医療が、被ばく医療の枠組みのなかで新しい位置付けを得るためには、今後様々な課題を解決してゆく必要がある。多くの課題は、再生医療の開発全体に共通するものであるが、さらに、放射線被ばくという特殊な状況に対応するための新しい幹細胞ソースの開発、ドナー探索システムの構築、被ばく線量および組織障害の新しい予測・評価 (トリアージ)・診断法と治療プログラムの開発による HSCT と再生医療の適応の明確化等は、緊急被ばく医療分野においてとりわけ急務である。

2. 幹細胞研究と再生医療開発のコア・ファカルティとしての活動

高速セルソーターや細胞培養施設を利用して、多方面の研究グループによる幹細胞研究や各種再生・細胞治療開発研究の支援を展開してきた。中でも、原研分子診断学研究分野の光武らによる甲状腺がん細胞における side-population (SP) 細胞画分を解析では、世界に先駆けて甲状腺がん幹細胞の性質を明らかにする試みが成果を上げている。また、放射線生物学の鈴木らによる原子爆弾被爆者の体性幹細胞における長期放射線影響の解析が開始されている。一方治療開発の領域では、附属病院移植・消化器外科チームと共に、新たに血糖コントロール困難な糖尿病症例に対する、膵島細胞移植療法の臨床応用研究が開始されており、臨床での実践を目指している。

ま と め

幹細胞を同定しその増殖・分化・機能等の制御機構を解明する基礎研究の進歩と歩調を併せながら、今後臨床応用へ向けた再生医療の実用化研究開発が進展すると思われる。幹細胞が標的となる放射線被ばく障害に対する治療戦略構築においても、これらの領域は重要な位置を占めるものと考えられる。

表 1 自家骨髓単核細胞移植による下肢動脈閉塞性疾患に対する血管再生治療実施例のまとめ

症例	性別	年齢	診断	症状・所見	前治療	移植細胞数	症状の改善	検査所見の改善	観察期間
症例 1	男性	48	Buerger 病	皮膚潰瘍・間欠性跛行	薬物療法・血管バイパス術・amputation	6.8×10^9 個	跛行や疼痛の軽快・潰瘍の再発なし	TcO_2 正常化 (術 4 週後)・血管造影所見の改善 (術 6 ヶ月後)	1 年 8 ヶ月
症例 2	男性	54	Buerger 病	下肢の疼痛	薬物療法・腰部交感神経節切除術・バイパス術・amputation	1.4×10^9 個	疼痛の軽減	皮膚温の上昇 (術 2 週後)	11 ヶ月
症例 3	男性	41	Buerger 病	皮膚潰瘍・間欠性跛行	薬物治療・皮膚潰瘍部局所治療・amputation	4.0×10^9 個	潰瘍の治癒・下肢痛の軽減	TcO_2 正常化 (術 1 週後)	5 ヶ月