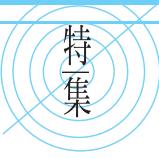


Vascular Street



特集

「心筋は再生するのか？」



福岡大学 心臓・血管内科学
教授 朔 啓二郎 先生

福岡大学病院 循環器内科
八尋 英二 先生

はじめに

私どもの福岡大学医学研究科循環生理化学大学院を卒業し、福岡大学筑紫病院第一内科のスタッフをしていた八尋英二先生が、約3年間のアメリカ留学を終え、今年4月帰国した。エモリー大学Husain教授のもとで、心筋再生に関する様々な研究をおこない、勝利感とともに自信たっぷりに帰国したので、彼の仕事の一部を皆さんにご紹介したい。

朔 心筋が再生するのか、その周囲の血管が再生するのか、多くの議論があるところですね。経冠動脈的細胞移植療法の現状ですが、2-3年前にアメリカ心臓病学会(AHA)のLate Breakingでいくつか報告されました。ポジティブだったり、ネガティブだったり、ポジティブな中には長期的には改善効果が無くなる試験も見受けられます。心機能改善効果に一定の見解は得られていないようですね(表1)。まず、そのあたりからお伺いします。

八尋 私は人間と同じ哺乳類であるマウスを使った実験を数多く行ってきました。図1はマウスの心筋細胞のDNA合成と心筋細胞の核が2核の割合を胎児期から新生児期まで検討した図です。この図から、心筋細胞のDNA合成は、出生してから数日後に一時的なピークを迎える後10日目にはほぼ消失する経過を示します。一方、この流れとは対照的に2核の心筋細胞、つまり分化を止めた心筋細胞は胎児期にはほとんど認めなかつたのが、出生と同時に2核心筋細胞の割合が急

激に増加し数週間後には90%を超える割合になります。このことからも、心筋細胞は出生後すぐに細胞周期が停止し、最終分化の状態へと移行するようです。そのため、成体においても2核の心筋細胞が主体になります。それでは私たち人間の心筋細胞はどうかというと、25-60%程度の心筋細胞がやはり2核であり、この図と同様に出生後すぐにDNA合成は停止し心筋細胞は最終分化の状態になると考えられています。その後、心筋細胞は個体の成長に伴い心筋細胞が増殖するのではなくDNA合成が無いため、心臓サイズの增大に合わせて1つ1つの心筋細胞が肥大する事によって補われていく、これが定説です。

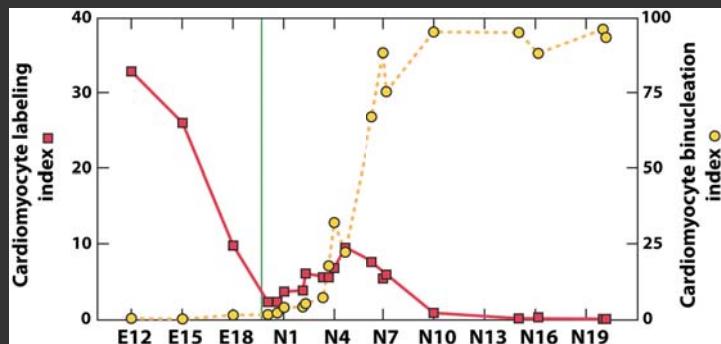
朔 つまり、心臓の主要な構成物質である心筋細胞は細胞周期に再び入る事無く出生後すぐに最終分化する。従って、心筋梗塞などの虚血により障害された心筋細胞は、2度と再生する事無く、年月を経てリモデリングを発症し最終的には心不全の状況に陥る事になりますね。

試験名／グループ名	試験形式	移植細胞種類	結果
TOPCARE	無作為試験 左室造影にて評価	骨髓単核球、 血管内皮細胞	3ヶ月後左室造影にて2.9%改善
BOOST	無作為試験 MRIにて評価	骨髓単核球	6ヶ月後6%改善するも18ヶ月後には 有意差なし
Janssens et al	無作為二重盲試験 MRIにて評価	骨髓単核球	4ヶ月後に梗塞領域縮小あるも左室 収縮能改善なし
ASTAMI	無作為二重盲試験 SPECT, UCG, MRIにて評価	骨髓単核球	6ヶ月後に左室収縮能改善なし
REPAIR-AMI	無作為二重盲試験 左室造影にて評価	骨髓単核球	4ヶ月後に左室収縮能2.5%改善

表1 心血管疾患に対する経冠動脈的細胞移植療法の現状

ネズミ成長過程での心筋細胞のDNA合成と2核性

- ほ乳類の心筋細胞は生後直ぐに細胞周期から脱落する
- このプロセスを *terminal differentiation*



Adapted from Soopaa Kim, Pajak, Franklin, Field. Am J Physiol 271:H2183-9, 1996

図1

八尋 循環器専門医にとってこの病態を改善する事が最優先課題と思います。近年、我が国においても心血管病は増加の一途である事は周知の事実であり、その終末像である心不全の根本的な治療は移植医療に頼らざるを得ない状況にあります。日本では脳死などの法的・倫理的な問題も解決していないませんし、移植は誰もが受けられる治療ではないのが現状です。

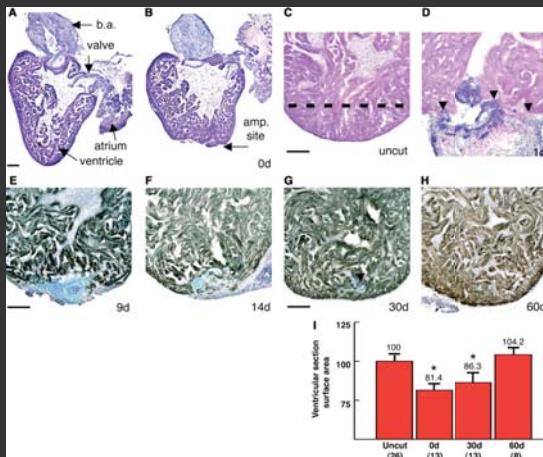
朔 そこで注目を浴び始めたのは重症虚血肢に対する骨髄

や末梢単核球細胞による血管再生治療、再生医療です。どれがどの程度期待できるかが問題ですね。iPS細胞もでてきましたが、安全性の問題も同時にクローズアップされるようになりました。動物での再生の話をさらに詳しく教えてください。

八尋 ゼブラフィッシュという魚がいますが、これは先生の部屋でも飼育できますが、「網膜」「脊髄」そして「ひれ」などが再生する事がよく知られており、再生医療の分野では飼育も簡単であることから、多くの研究がされている動物です。2002年Possらは初めてゼブラフィッシュを用いて心筋細胞(心臓)再生を報告しました。彼らは心臓の心尖部を20%切り取り

60日後には切り取られた部位が完全に新しい心筋細胞によって再生された事を初めて報告しました(図2)。もしこの現象が哺乳類ひいてはヒトで起こると、先ほどより述べている心不全に対して有用な治療法になる事は誰も疑いようがない事であると思いました。循環器領域でのこの分野はまだ日が浅く、この前年2001年には骨髄幹細胞をマウスの心筋梗塞後梗塞部に投与すると心筋が再生したと報告され、世界中の循環器医が注目し始めたばかりの新しい分野ですね。

ゼブラフィッシュは傷害心筋を再生する



Poss, Wilson, Keating. *Science* 298:2188-2190, 2002

図2

図3はゼブラフィッシュの心筋再生のDNA合成状況を免疫染色で示したものです。青は核、赤は心筋細胞で緑はBrdU陽性で細胞が細胞周期のG1からS期に移行している事を示し、つまりDNA合成を示しています。矢印で示すのは、心筋細胞内の核がDNA合成を始めている事を示しています。ゼブラフィッシュの場合、心臓障害後14日目にDNA合成のピーク(32%)をむかえ、その後も引き続きDNA合成がおこっている事がわかります。

朔 それでは、先ほどお話ししいただいた幹細胞を用いたマウス心筋細胞のDNA合成はいくつかの報告がありますが、このゼブラフィッシュと比較すると、どの程度になるのですか？

八尋 非常に低い割合です。いくつかの報告がありますが、0.004%程度であると思います。しかし、ゼブラフィッシュの心筋再生の分子生物学的機序を解明するための様々な試み、例えば各種幹細胞治療、遺伝子治療、サイトカイン治療、細胞工学的治療などあらゆる方面から研究は進められているのも事実ですね。これだけ注目される再生医療は、21世紀の医療分野においてトップだとおもいます。

朔 現時点での報告をまとめますと、私たち人間は心臓の再生能が低く、心筋梗塞を起こして重症な虚血状態に陥った心筋細胞は数ヶ月経過すると線維化を起こし、その後リモデリングを発症することになりますね。

八尋 そうだと思います。イモリも線維化は起こすのですがヒトに比べると非常に限られた範囲の線維化に留まり、新たな心筋細胞が作られる事も報告されています。一方先ほどのゼブラフィッシュは全く線維化の無い完全なる心筋細胞再生能を持っている事がわかっています。1グラム中の心臓には 20×10^6 個の心筋細胞が存在するとされており、成人の心臓は平均約200グラムと報告されます。そこに、心筋梗塞を25%程度(左前下行枝領域)の心筋梗塞を起こした場合、 1×10^9 個の心筋細胞が損なわれます。図4に様々な種の再生スペクトラムを示しますが、ずいぶん、種によってその内容が異なりますね。

朔 種は異なりますが先ほどのデータですが、マウス(DNA合成能は0.004%)ではいくら

ゼブラフィッシュの傷害心筋でのDNA合成

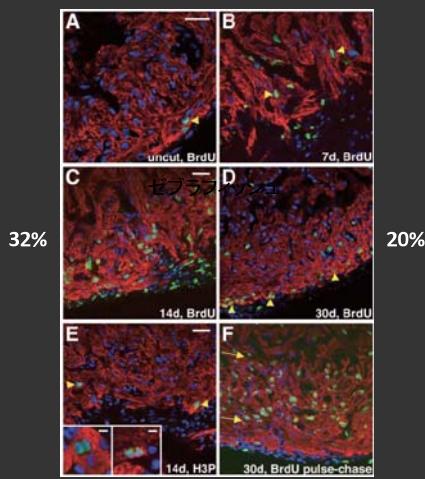
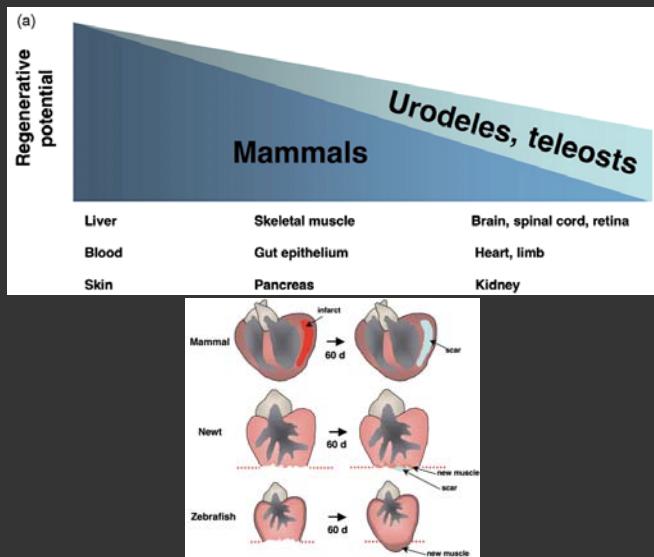


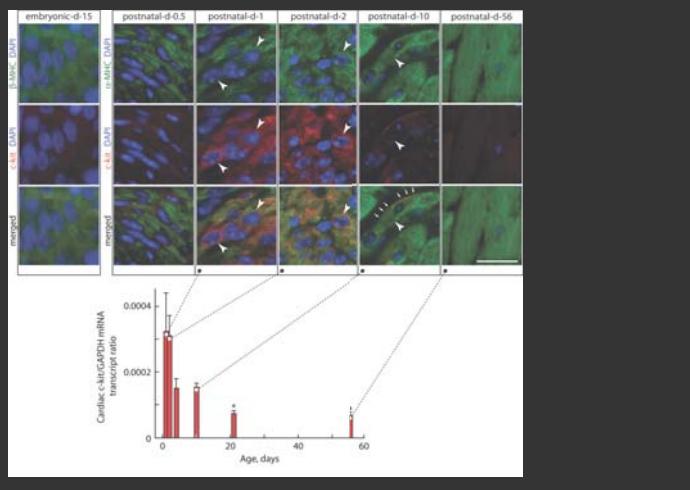
図3



様々な種の再生スペクトラム



マウス心筋細胞のc-kit 受容体の発現



幹細胞が心筋再生するとしても、これほどの数の心筋細胞を補うだけの能力があるかはまだ不明であり、臨床的にも幹細胞治療によてもPositiveデータがないのはこの低い再生能の影響があると考えていいのでしょうか？

八尋 はい、そう考えるのが良いと思います。しかし、近年心臓に内在する心幹細胞(Cardiac Stem Cells)の存在が証明され非常に注目を集めています。つまり、この幹細胞は他の幹細胞とは異なり心臓を構成する細胞にのみ分化するため今迄とは違った高い割合で心筋細胞に分化する期待が込め

られています。いずれにしても、現時点ではどの心筋再生治療が良いのかは結論が出てませんね。

朔 図4ですが、面白い事に我々ヒト(哺乳類)の非常に低い再生能臓器が、皮肉にも医療分野において重要な臓器ばかりである事に気づかされますね。

八尋 大変重要な観点だと思います。私がアメリカで見つけたことですが、私たち人間は、マウス心筋細胞のc-kit受容体(幹細胞のマーカーの一つ)が胎生期にはほとんど発現が無く、出生直後より急激な発現量の増加を認め、10日目には発現は急激に低下し56日目と同程度迄に発現量が減っている事を免疫染色とmRNAにて確認し報告しました(図5)。この事は、前述のDNA合成と心筋細胞2核の図と照らし合わせると同じような経過を辿る事がわかります。それで、心筋細胞の核を検討しましたところ、2核の心筋細胞が80%以上と同様な所見が観察されました。この事より、マウス心筋細胞の最終分化にはこのc-kit受容体が1つのキーファクターであると考えてます。

Prof. Saku's Commentary

留学から帰ってくるドクターにはいくつかのパターンがある。留学はエンジョイするためのものだった人、大きくステップアップする手段であった人、多くの業績を上げたにもかかわらず日本で研究室をセットアップしないタイプ、私のようにひたすら自分のラボを独立させようとする人、それぞれの目標が異なるのも事実だが、帰国後数ヶ月でその人の先がみえてくる。器具・機械がない理由はもともとそうであるが、それではないパッション(情熱)が今後の方向性をきめるようだ。八尋君にはさらなる飛躍を期待したい。