

## 重症心不全に対する新しい治療戦略：補助人工心臓と再生治療の融合

大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科

堂前 圭太郎, 宮川 繁, 戸田 宏一, 澤 芳樹

Keitaro DOMAE, Shigeru MIYAGAWA, Koichi TODA, Yoshiki SAWA

### 1. はじめに

本邦における心不全による年間死亡者数は4万人を超え、今後、高齢化に伴い、さらなる心不全患者の増加が予想されており、いわゆる「心不全パンデミック」が到来している。心不全に対する標準治療では、いわゆる New York Heart Association (NYHA) 分類 I - II においては内服治療や、外科的治療、心臓再同期療法 (CRT-D) などのデバイス治療が選択されるが、さらに病状が進行し NYHA 分類 III - IV となり、不可逆の状態となった場合には、補助人工心臓、心臓移植が適応となる。しかし、補助人工心臓においては、その耐久性や、抗凝固療法に伴う出血やデバイス感染などの重篤な合併症、心臓移植においては本邦の深刻なドナー不足の問題や、移植後の免疫抑制薬の投与とそれに伴う合併症の問題があり、普遍的治療とは言い難い現状である<sup>1),2)</sup>。このような状況から、重症心不全治療においては、従来の置換型治療を補完する、あるいは代替可能な新たな治療法が求められている。

本稿では、重症心不全における新しい治療法である再生治療に対する当科での取り組みと、従来の人工心臓と心臓移植を中心とした重症心不全治療に再生治療を組み込んだ新しい治療戦略について紹介する。

### 2. 筋芽細胞を用いた心臓再生治療への取り組み

我々は、従来の補助人工心臓などの置換型治療の限界を感じ、2000年代より細胞治療を心不全治療へ導入すべく細胞源とその供給方法の研究を開始した。ヒト臨床に応用可

能な細胞源として、自己骨格筋由来の筋芽細胞に着目し、さらに供給法として、従来は不全心に細胞を直接的に注入する方法が一般的であったが、温度応答性培養皿<sup>3)</sup>を用いて、細胞シートを作製し、これを心臓へ移植することにより、より大量の細胞を安全に供給し得る新しい方法を開発し、骨格筋由来筋芽細胞シートの作製と評価を行った。まずラットを用いて、骨格筋由来筋芽細胞シートをラット梗塞心移植した<sup>4)</sup>。その結果、従来法である注射針を用いた細胞移植法と比較して、組織、心機能において、有意な改善が起こることを報告した。さらに、大動物心不全モデルとして、ブタ慢性心筋梗塞モデル<sup>5)</sup>を作製し、筋芽細胞シートを移植し、長期にわたる心機能改善効果を確認するとともに、本治療法の安全性を確認した。これらの動物実験と並行して、我々は筋芽細胞シートの心不全に対する心機能向上効果に関するメカニズムを解明すべく、基礎的研究を行った。元来、基底膜に存在する筋芽細胞は、骨格筋が損傷した際に、活性化され、細胞が増殖・分化することで、欠損した骨格筋を補うことが知られている。筋芽細胞を心臓に移植した際、筋芽細胞は心筋特有の収縮蛋白や connexin 43 を発現しないため、電氣的にレシピエント心と隔絶されて心臓内に存在し、レシピエント心と同期して拍動することはない。我々は、筋芽細胞シートの効果のメカニズムは、移植した細胞より遊離される様々なサイトカインによる作用であると考え、筋芽細胞シートを移植されたラット慢性期心筋梗塞モデルの心臓組織において、hepatocyte growth factor (HGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), stromal derived factor-1 (SDF-1), insulin growth factor-1 (IGF-1) の発現が向上していることを見出した<sup>4)</sup>。また、HGF, VEGF などの作用だけではなく、シートを移植した部位に、residual stem cell と呼ばれる心筋幹細胞が多数集積していることが観察された<sup>4)</sup>。同

#### ■ 著者連絡先

大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科  
(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2)  
E-mail. minipoooooch@yahoo.co.jp

細胞は、心筋がダメージを受けた際に、損傷部位に集積し、分化して心筋細胞特有の骨格蛋白を発現し、損失した心筋細胞の補填にあたっていることが知られている。このように細胞シートは、移植した細胞から遊離したサイトカインによるパラクライン効果を介して内因性の心筋再生メカニズムを惹起しているものと考えられ、これらが本治療における心機能改善効果のメカニズムであると考えている。

### 3. 左室補助人工心臓を装着した拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

これらの基礎的実験をもとに、左室補助人工心臓(LVAD)を装着している拡張型心筋症(DCM)患者に対する骨格筋筋芽細胞シート移植の臨床研究を、大阪大学倫理委員会、未来医療センターに承認を受け、2007年より開始した。本研究は、筋芽細胞シート移植の安全性を検討するとともに、心機能改善の可能性を検討することを目的とした。2007年5月から2010年5月までの期間において、DCMによる末期心不全状態を呈し、LVADを装着し心臓移植待機中の4例を対象とし、平均年齢は36.5歳、男性3例、女性1例であった。全例体外設置型補助人工心臓(Nipro LVAD)を装着し、平均358±77日の移植待機中であった。移植手術は全身麻酔、右側臥位、分離肺換気で開始、左肋間開胸により心臓に到達し、左室前壁から側壁にかけて筋芽細胞シートを移植した(平均純度70.2%、細胞数 $4.3 \times 10^8$ )。これら4例において、術後3例において左室収縮能の改善、左室のリバースリモデリングを認め、最終的には2例が人工心臓から離脱し<sup>6)</sup>、現在離脱後それぞれ5年、8年が経過しているが心不全徴候を認めず、日常生活に復帰している。また、離脱できなかった2例においても心臓移植に到達し、同様に日常生活に復帰している。本治療の周術期、遠隔期において、致死的不整脈や手術関連合併症を認めず、本治療の安全性が確認された。このような心機能改善効果は、LVADにおける強力なvolume reductionによるbridge to recovery効果と筋芽細胞シートのもつ心筋賦活効果の両者の作用であると考えられる。

### 4. DCM、虚血性心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

前述の結果を受け、本治療の有効性をさらに検証すべく、筋芽細胞シート単独による臨床研究を開始した。本臨床研究は、DCMあるいは虚血性心筋症(ICM)による心不全を呈し、最大限の内科的治療、外科的治療によっても左室駆出率(LVEF)35%以下、NYHA II度以上の心不全状態である患者を対象とした。対象患者は、2010年5月から2016

年4月までの30例で、平均年齢は54歳、DCM15例、ICM15例であり、平均心不全罹患期間は2.9年、術前のNYHA分類による自覚症状の平均は $2.8 \pm 0.6$ 年であった。移植手術は前述の手順で、平均移植細胞純度は81.7%、細胞数 $4.8 \times 10^8$ を左室前壁から側壁にかけて移植した。全例術前、術後早期(6ヶ月)、術後遠隔期(術後1~3年)において、心不全、運動耐用能の評価とともに、心臓超音波検査、心臓カテーテル検査、心電図同期造影心臓Computed Tomography(CT)検査を行い、心機能の詳細な検討を行った。その結果、自覚症状においては、術後早期において有意な改善を示し、さらに術後遠隔期においても維持されていた(NYHA分類 術前 $2.8 \pm 0.6 \rightarrow$ 術後早期 $2.2 \pm 0.6 \rightarrow$ 術後遠隔期 $2.1 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ )。また6分間歩行試験による運動耐用能では、術前 $414 \pm 114$  mから術後早期において $470 \pm 131$  mと有意な改善( $P < 0.05$ )を示し、さらに遠隔期においても $498 \pm 125$  mとさらなる改善傾向を示した。また、心不全の一般的な指標であるbrain natriuretic peptide(BNP)値においても同様に、術前平均358 pg/mlから術後早期、遠隔期においてそれぞれ274 pg/ml、165 pg/mlと有意な改善を示した( $P < 0.05$ )。

一方、心機能においても心臓超音波検査における左室拡張末期径(LVEDD)は17例(56.7%)で改善を示し、LVEFにおいても16例(63.3%)で改善を認めた。さらに疾患別にみると、ICM症例においては、術前と比較し、術後遠隔期において、LVEF、LVEDDの有意な改善( $EF: 26.7 \pm 5.9 \rightarrow 31.5 \pm 8.1\%$   $P < 0.05$ ,  $LVEDD: 66.5 \pm 6.2 \rightarrow 63.6 \pm 7.1$  mm  $P < 0.05$ )を示した。一方、DCM症例においては、LVEFやLVEDDの有意な改善は認めなかったが、術後遠隔期においても良好に維持されていた( $LVEF: 19.4 \pm 8.0 \rightarrow 20.9 \pm 5.5\%$   $P = 0.33$ ,  $LVEDD: 77.0 \pm 9.7 \rightarrow 74.7 \pm 6.9$  mm  $P = 0.52$ )。

さらにICM症例では、心臓カテーテル検査による平均肺動脈圧(PAP)や肺血管抵抗(PVR)において、術後6ヶ月において有意な低下を認めた( $PAP 26.9 \rightarrow 20.4$  mmHg,  $PVR 205 \pm 132 \rightarrow 160 \pm 56$  dyne  $\cdot$  sec  $\cdot$  cm<sup>-5</sup>)。さらに心電図同期造影CTより、Janzの式を用いて左室収縮末期壁応力(ESS)の解析を行ったところ、術後6ヶ月において11例(73.3%)でESSの低下を認め、全体では $380 \rightarrow 333$  kdyne/cm<sup>2</sup>と有意な改善を示した( $P < 0.05$ )。術後在院死亡を認めず、周術期での致死的不整脈や手術関連合併症も認めなかった。術後31ヶ月に不整脈による突然死を1例認めたが、心血管関連死回避率は1年で100%、3年で91.7%であった。また、心不全再発回避率は1年で88.2%、3年で80.2%であり、心不全入院イベント発生率は $0.82 \rightarrow 0.32$ 回/年と

術後有意な改善を示した ( $P < 0.01$  Wilcoxon signed-rank test)。

以上の結果から、本治療は安全であり、自覚症状、運動耐用能の改善に有効であり、心不全入院イベントの発生を減少させ、生命予後を改善する可能性が示唆された。一方、本治療においては心臓超音波検査などでは心機能の改善が認められない症例においても自覚症状や運動耐用が改善したことを示しており、その機序としては基礎的研究から明らかとなった筋芽細胞シート移植による血管新生や線維化抑制作用が左室コンプライアンスを改善し、左室内圧の低下をきたし、ESSの低下、肺高血圧の改善から左室リバースリモデリングや自覚症状の改善が達成されたと推測され、さらに心不全による再入院の回避や遠隔期予後の改善につながると考えられる。しかし、前述の通り本治療はあくまでパラクライン効果によるサイトカイン治療が本態と考えられるため、移植心に十分な viability のある心筋が存在しない場合には、本治療の効果が充分発揮しえない可能性があり、今後さらに低心機能患者における本治療の有効性と本治療への responder, non-responder となる因子の検討を行っていく必要がある。

## 5. 重症心不全に対する新しい治療戦略：再生型治療と置換型治療の融合

本邦における心不全治療の現状では、65歳未満の末期心不全患者は、心臓移植登録を行い、適応ありと判定された後に、それぞれの重症度によって status 1 あるいは status 2 として移植待機となる。Status 1 の患者においては、通常はLVADを装着した状態での移植待機となり心臓移植にいたるが、status 2 の患者においては、心機能の低下が進行し補助人工心臓の装着あるいは強心薬の投与が必要な段階となって status 1 となる。このような状況において、status 2 の患者においては、骨格筋筋芽細胞を用いた再生治療を行うことで、心不全の進行を緩やかにし、LVADの装着をより遅らせる、あるいは回避しうる効果が期待される。また現在では、移植適応なしと判定された患者や65歳以上の患者においては、保存的治療しか選択肢がない状況であるが、このような移植適応がない心不全患者においても、骨格筋筋芽細胞シートを用いた再生治療は、自己組織を用いた安全で効果の期待できる治療選択肢となり得る可能性がある。

さらに、補助人工心臓装着となった status 1 の患者においても、再生治療を併用することでLVADにおける bridge to recovery 効果と筋芽細胞シートの持つ心筋賦活効果の両者の相乗効果により、心機能のさらなる改善、LVADから

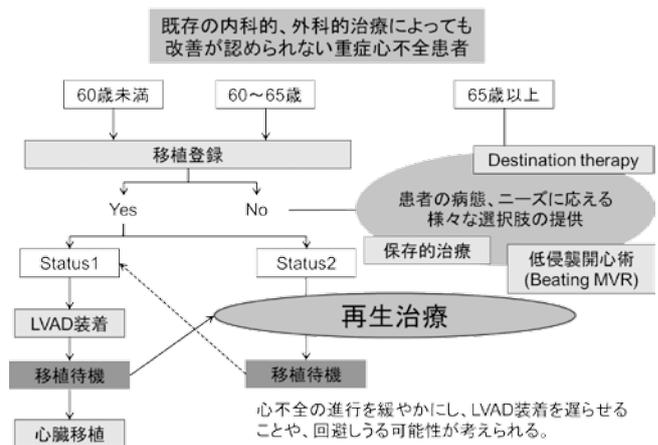


図1 再生治療を併用した重症心不全に対する新しい治療戦略

の離脱といった選択肢も今後期待される。今後本邦でも開始される予定の destination therapy も含め、患者の病態、ニーズに応える様々な選択肢の1つとなり得ると考えられる (図1)。

重症心不全治療における補助人工心臓、心臓移植といった置換型治療は、依然として心不全治療の golden standard であることは明らかであるが、重症心不全における置換型治療と再生型治療は相反するものではなく、互いに補完しあうことでさらなる治療成績の向上や、対象患者の拡大に寄与すると考えられる。

## 6. 今後の心不全治療の展望

現在では、さらにICMに対して多施設での企業治験を7例に行い、その安全性を検証した。2015年9月には厚生労働省から製造承認を取得し、2016年5月より世界初の心筋再生医療製品として保険診療が開始される<sup>7)</sup>。また、大阪大学心臓血管外科(当科)では現在、ICM 20例、DCM 20例を目標症例数として、新規の臨床研究を開始しており、さらにDCMに対する医師主導型治験も開始し、現在2例において治療を行い、経過観察中である。今後、さらなる症例数の増加による本治療の有効性の検証と、より長期における心機能の推移、心不全再発や有害事象などの観察が重要と思われる。

さらに、将来的には細胞治療の有効性の向上を目指し、ホスト心筋と電気的に結合し、収縮弛緩運動を行う iPS 細胞由来心筋細胞を用いた細胞シート移植の臨床応用が期待されている。このような治療は、現在の筋芽細胞シートを用いた治療におけるサイトカインによるパラクライン効果に加えて、心筋補充療法としての効果により、さらなる心

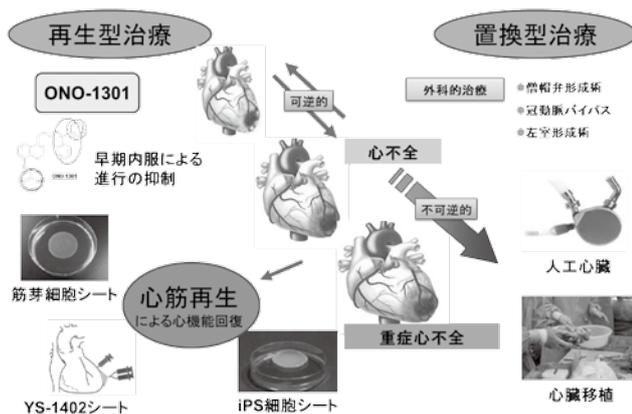


図2 重症心不全治療のみらい  
再生型治療と置換型治療は車の両輪である。

機能改善効果や、より重症な患者への治療効果が期待される。現在、当科においてはiPS細胞を用いた細胞治療の臨床応用にむけ、細胞の腫瘍原性といった安全性の問題や、大量培養と同時に心筋へ効率的に分化誘導を行う培養法の研究とともに、大動物による安全性、有効性試験を進めており、first in humanまで目前となっている状況である<sup>8)</sup>。

当科では、より治療効果の高い心筋再生治療法の開発に加えて、従来の細胞を用いた再生治療の問題点である培養期間やコストを解決すべく、再生治療のメカニズムを模倣した低分子化合物の開発も進めており、2015年よりプロスタサイクリンアゴニストであるONO-1301やその徐放製剤であるYS-1402を用いたICMに対する医師主導治験を開始し、新しい再生治療製品としての保険承認を目指している。

このように、様々な心臓再生治療の選択肢の広がりや、補助人工心臓の治療成績の向上とともに、両者が車の両輪

としてより多くの患者へ、その状態や希望に応じた治療の選択肢を提供することが可能となっていくと思われる(図2)。

### 利益相反の開示

澤 芳樹：テルモ株式会社(研究費, 寄付金)  
その他の著者に規定されたCOIはない。

### 文 献

- 1) 日本心臓移植研究会：本邦心臓移植登録報告(2014). 移植 **49**: 275-80, 2014
- 2) Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, et al: Sixth INTERMACS annual report: a 10,000-patient database. J Heart Lung Transplant **33**: 555-64, 2014
- 3) Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, et al: Two-dimensional manipulation of cardiac myocyte sheets utilizing temperature-responsive culture dishes augments the pulsatile amplitude. Tissue Eng **7**: 141-51, 2001
- 4) Memon IA, Sawa Y, Fukushima N, et al: Repair of impaired myocardium by means of implantation of engineered autologous myoblast sheets. J Thorac Cardiovasc Surg **130**: 1333-41, 2005
- 5) Miyagawa S, Saito A, Sakaguchi T, et al: Impaired myocardium regeneration with skeletal cell sheets--a preclinical trial for tissue-engineered regeneration therapy. Transplantation **90**: 364-72, 2010
- 6) Sawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, et al: Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. Surg Today **42**: 181-4, 2012
- 7) Sawa Y, Yoshikawa Y, Toda K, et al: Safety and Efficacy of Autologous Skeletal Myoblast Sheets (TCD-51073) for the Treatment of Severe Chronic Heart Failure Due to Ischemic Heart Disease. Circ J **79**: 991-9, 2015
- 8) Kawamura M, Miyagawa S, Miki K, et al: Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. Circulation **126**(11 suppl 1): S29-37, 2012