

遺伝子改変ブタを用いた異種心臓移植の現状と展望

大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科学

河村 拓史

Takuji KAWAMURA



1. はじめに

2022年1月に米国のメリーランド大学で、末期心不全患者(57歳, 男性)に対し、遺伝子改変ブタを用いた異種心臓移植が実施された¹⁾。これは世界中で死因の上位となっている心不全に対する新規治療方法として、有望な選択肢となりうる可能性を提示した画期的な出来事であった。本邦においても心疾患は死因第2位で、高齢化社会により患者数の増加も見込まれることから、異種心臓移植を新規治療方法として開発、導入することは非常に重要と考えられる。

本稿では、本邦における心不全治療の現状、異種移植を目的とした遺伝子改変ブタ開発の歴史と現状について紹介するとともに今後の課題を提示する。

2. 重症心不全治療の現状

遺伝子改変ブタを用いた異種心臓移植を一般に普及した医療とするうえで、どのような患者を適応とするべきかを検討することは、非常に重要な課題と考えられる。まず、本邦における重症心不全治療の現状を提示し、異種心臓移植の適応となりうる患者を考察する。心不全治療では、臨床的な病期により治療方法が検討される。生活管理、薬物治療、弁膜症や冠動脈病変への治療介入を行ったうえで、心不全症状のコントロールが困難な症例は、米国心臓病学会においてステージDに分類され、生命予後延長のための心臓移植、植込型補助人工心臓の適応となる。本邦では、心臓移植の適応は65歳未満が望ましいとされているが、心臓以外の臓器の機能障害、活動性感染、悪性腫瘍などの除

外基準により適応外となる患者も多い。また、現状で日本心臓移植研究会のまとめによると、心臓移植の平均待機期間は5年間程度となっており²⁾、諸外国と比べて非常に長期間の待機が必要な状況で、その間の様々な合併症により心臓移植に到達できない患者も存在する。

また、植込型補助人工心臓については、心臓移植までの橋渡しとして使用するか、destination therapyとして使用するかになるが、いずれも介助者が必要な治療であるため、社会的に適応外となる患者が存在する。さらに、植込型補助人工心臓は、現状では左室補助として使用することに限定されており、右心不全を伴う両心不全や、拡張障害を主病態とする拘束型心筋症、肥大型心筋症に対する治療効果は限定されている。また、植込型補助人工心臓では、脳血管疾患や感染症などの合併症にも常に注意が必要となる。つまり、ステージDの重症心不全の治療として、現在長期予後が期待できる選択肢は心臓移植、植込型補助人工心臓であるが、いずれも限定された適応やその合併症により、治療できない患者が存在していることは確かである。では、そのようなステージDの重症心不全患者で、心臓移植や植込型補助人工心臓の適応とならない患者の予後について明らかにするため、我々の施設でステージDの重症心不全で機械的補助循環による治療を必要とし、心臓移植や植込型補助人工心臓の適応とならなかった患者の予後を調査した。

2010～2022年の間に重症心不全により一時的な機械的補助循環を使用した患者35名の生命予後を検討した。その結果、図1に示す通り、生存期間の中央値は3.2ヶ月で、6ヶ月生存率は32%、1年生存率は15%と非常に予後が不良であった。このような予後不良な患者群に対して、異種心臓移植は生命予後の延長が期待できる選択肢となりうるか

■ 著者連絡先

大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科学
(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2)
E-mail: t-kawamura@surg1.med.osaka-u.ac.jp

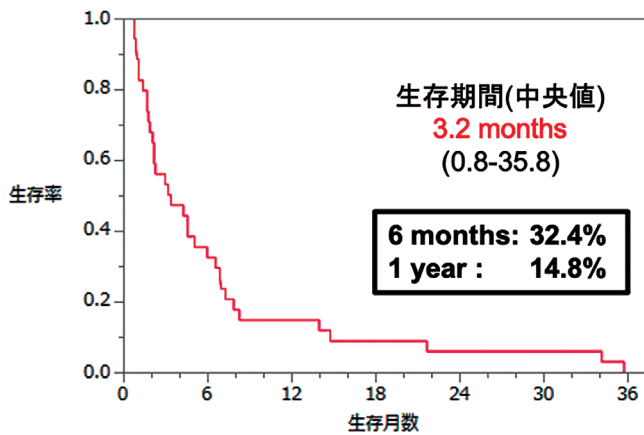


図1 機械的循環補助を必要とする心臓移植および植込型補助人工心臓適応外患者の予後

我々の施設で、2010～2022年の間に重症心不全により一時的な機械的補助循環を使用したか、心臓移植や植込型補助人工心臓の適応とならなかった患者35名の生存曲線をカプラン・マイヤー法にて提示した。

について、慎重な検討を重ねたうえで、適応を決定すべきと考えられる。

3. 異種心臓移植開発の歴史

これまでに報告されている異種動物からの心臓移植は、1964年にHardyらによりチンパンジーからの同所性移植が行われ、術後1時間で拒絶により死亡した症例³⁾から始まる。以後、チンパンジー、ヒヒなどの霊長類からの concordant 移植、ブタ、ヒツジからの discordant 移植が数例報告されている⁴⁾が、臨床で普及するほどの生着は得られず、また、同種心臓移植、植込型補助人工心臓などの開発、発展があったことから、異種心臓移植への注目や期待は相対的に減少していった。

しかしながら、異種移植のドナーとして、サイズ、繁殖供給、ヒトへの感染移入の危険性、動物愛護などの面からブタが最適と判断され、遺伝子工学の発展とともに異種移植の開発は進んできた。まず、拒絶反応のメカニズムの解明から、ブタ-ヒト間の補体系の反応の不一致が報告され、その後ブタ-ヒト間で抗原となる種特異的な糖鎖抗原 [α -1,3-galactosyltransferase (α Gal), N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc), Sda] が報告⁵⁾されたことから、遺伝子工学的手法すなわち transgenic (TG) および遺伝子 knockout (KO) を用いた、拒絶反応の起きにくい遺伝子改変ブタの作出が試みられるようになった。2000年初期ごろまでにはブタに CD46 (membrane cofactor protein, MCP), CD55 (decay accelerating factor, DAF), CD59 (membrane inhibitor of reactive lysis, MIRL) などのヒト補体制御因子を TG する遺伝子改変ブタが作製され^{6)~11)}、異所性心移植や同所性心移

植での拒絶反応低下、グラフト生着の延長が報告された¹²⁾。一方で糖鎖抗原の KO については、ブタでは ES 細胞 (embryonic stem cell) が樹立されていないことから様々な方法が試みられ、2002年には α Gal の糖転移酵素を KO した遺伝子改変ブタが作出された^{13),14)}。また、これら以外に、マクロファージを介した自然免疫系の拒絶反応制御のための CD47-TG や、凝固制御因子-TG (thrombomodulin, protein C receptor)、移植心肥大を抑制するための成長因子受容体-KO などの遺伝子改変ブタが作出されている。現状では、これら複数の遺伝子の KO と TG を組み合わせた遺伝子改変ブタが臨床応用に用いられている。

遺伝子改変ブタの作出に伴い、前臨床試験として行われる霊長類への移植における臓器の生着時間も延長してきた。2000年初期までは、数分から数日までの生着しか認められなかった¹⁵⁾が、複数の遺伝子を改変したブタの作出、免疫抑制薬の改良により、異所性心移植で最長945日間¹⁶⁾、同所性心移植で最長264日間¹⁵⁾のグラフト生着が得られるようになった。現在の国際異種移植学会でのコンセンサスとしては、臨床で異種心臓移植を行うためには、最低半年間の同所性移植での生着が得られる遺伝子改変ブタと移植チームが必要とされている。

4. 本邦で異種心臓移植を行うための課題

2022年1月に米国のメリーランド大学で遺伝子改変ブタを用いた異種心臓移植が実施されて以降、本邦では異種移植を実現するために各分野の専門家を集めたコンソーシアムを形成し、検討を行ってきた。その中で解決が必要と考えられ、課題として提示された事項について述べる。

1) 遺伝子改変ブタの種類を選定

米国で臨床応用が行われた遺伝子改変ブタの導入を行うか、本邦で開発するかを検討すべきではあるが、海外で前臨床試験の結果が得られている遺伝子改変ブタを導入する方が時間的には早くなる可能性が高い。しかし、その場合、米国から遺伝子改変ブタをどのような形(細胞、受精卵、凍結胚、生体など)で導入するのが現実的であるかについて検討する必要がある。また、同時に海外で開発された遺伝子改変ブタを超えるものを本邦独自に開発することも重要と考えられる。

2) 遺伝子改変ブタから摘出した臓器の安全性の担保

Designated pathogen free (DPF) ブタからの臓器摘出を行うことが前提であるが、まず本邦での DPF の定義の策定が必要である。人獣共通感染症に関しては、生育環境により異なる病原体を考慮する必要があるため、外国の事例を参考に本邦独自の項目の策定が必要と考えられる。また、

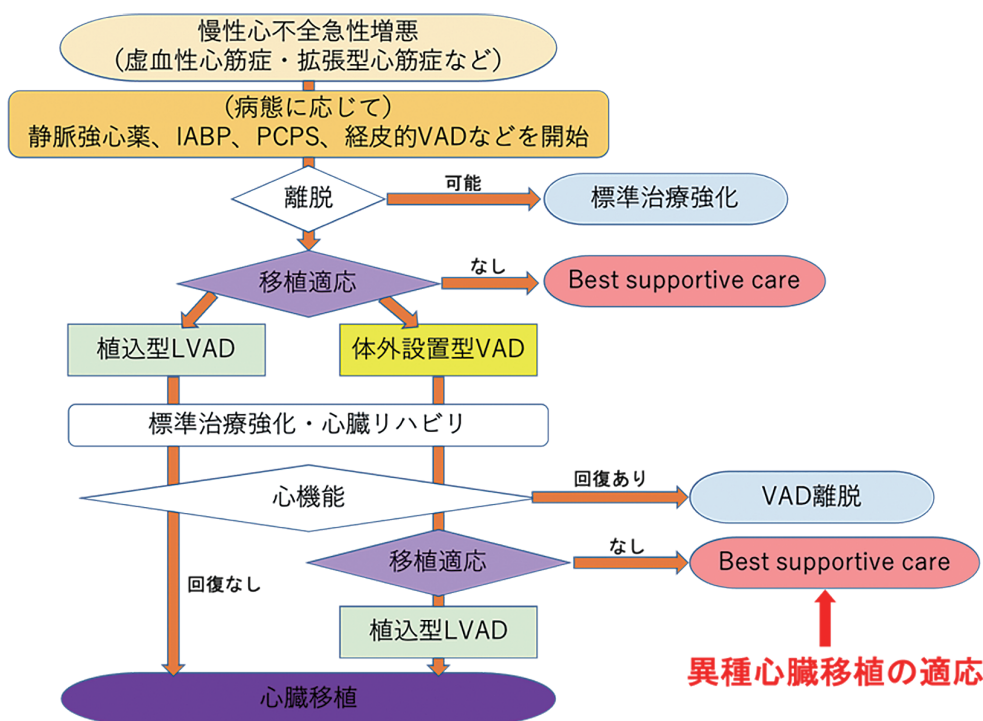


図2 急性心不全治療のフローチャート (2023年8月現在)

本邦における重症心不全治療と異種心臓移植適応患者に関するフローチャート (文献20を基に筆者が作成)
 IABP, intra-aortic balloon pumping; PCPS, percutaneous cardiopulmonary support; LVAD, left ventricular assist device;
 VAD, ventricular assist device.

異種移植への免疫反応回避のために導入されるヒト補体制御因子などが、本来ブタに感染しないウイルスの受容体として働く可能性について指摘されており^{17)~19)}、異種移植目的の遺伝子改変ブタ特有の感染症への注意も必要と考えられる。

3) 異種心臓移植の適応となる患者選定, 治療目的の設定

前述の通り、異種心臓移植を導入するうえで最初に適応となるのは、既存の同種心臓移植や植込型補助人工心臓の適応とならない患者で、現状ではbest supportive care (BSC)の方針となる患者になると考えられる (図2)。当然のことながら、移植後の予後を左右する全身状態不良の患者は避けるべきであり、①ある程度状態は安定しているが、このままの体外式補助循環では退院不可能な患者に対して、退院を目的として行う治療として行うのか、②退院できないまでもQOL (quality of life) 改善を目的とするのか、また、③同種心臓移植の適応にはなるが植込型補助人工心臓が使用できない病態の患者に対して、同種心臓移植までの橋渡しを目的として行うのか、などの設定が可能性として考えられる。

4) 異種心臓移植を行う際の臓器摘出・搬送, 移植手術のプロトコール

前述の「2) 遺伝子改変ブタから摘出した臓器の安全性の

担保」とも関係するが、遺伝子改変ブタの作製、臓器摘出の場所については、可能な限り移植手術を行う施設に近い場所であるべきと考えられる。現実的には現在の同種心臓移植と同様に、移植施設のスタッフが臓器摘出場所に行き、摘出手術後に臓器搬送を行うことが想定される。また、移植手術についてはブタ心臓との解剖学的な相違を念頭に、吻合方法などを検討する必要があると考えられる。

5) 免疫抑制プロトコールの策定

免疫抑制療法は、移植する遺伝子改変ブタの前臨床試験で使用したプロトコールを基本として行うべきで、多くは同種心臓移植でも用いられる免疫抑制薬が基本になる。現状では導入療法として抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン製剤 (ATG)、抗CD20モノクローナル抗体 (リツキシマブ)、維持療法としてカルシニューリン阻害薬 (シクロスポリン、タクロリムス)、抗CD154抗体もしくは抗CD40抗体、ミコフェノール酸モフェチル (MMF)、ステロイド、mTOR (mammalian target of rapamycin) 阻害薬 (シロリムス、エベロリムス)、抗炎症療法 [TNF (tumor necrosis factor) 阻害薬、IL (Interleukin) -6阻害薬]、抗凝固・血小板療法 (低分子ヘパリン、アスピリンなど) などが想定されている。しかし、抗CD154抗体もしくは抗CD40抗体など、臨床で用いられていない薬剤を使用する可能性もあり、異種移植

と同時に用いる目的での使用許可を得る必要がある。

5. おわりに

心不全患者が増加していく中で、異種心臓移植への期待は大きい。当科では2023年5月に、前述の2022年の遺伝子改変ブタを用いた異種心臓移植を主導した、米国のメリーランド大学のMuhammad Mohiuddin先生に大阪大学でご講演いただき、異種心臓移植の臨床現場の様子を伺う非常に貴重な機会を得た。そこでMohiuddin先生が強調していたのは、異種心臓移植を受けた患者が意識を取り戻し、家族と面会することができ、関係した皆から医療チームが感謝されたということであった。まだまだ治療成績としては納得できるものではなく、臨床現場で普及する医療となるためには越えなければならない壁は高いと考えられるが、目的をどこに設定するかで、救われる患者が存在することは確かであるということであった。第一線で先駆的な仕事をされているMohiuddin先生の動機はシンプルで、強い情熱を感じ感銘を受けるとともに、我々も今回提示された課題に真摯に取り組む必要があると感じさせられた。また、異種移植をとりまく環境が時代とともに変化する中で、注目されない時期にも基礎研究を続け、拒絶反応の分子的なメカニズムを地道に研究してきた基礎研究者の方々には臨床応用への期待を抱くことはできない。その情熱、努力に敬意を表したい。

謝辞

今回、本稿執筆の機会をいただいた大阪大学心臓血管外科宮川 繁教授、宮川周士先生に感謝申し上げ、ご期待に沿えるよう研鑽して参りたいと思う。また、本稿は日本医療研究開発機構 (AMED) の課題番号JP23mk0121265の支援を受け作成した。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Griffith BP, Goerlich CE, Singh AK, et al: Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *N Engl J Med* **387**: 35-44, 2022
- 2) 日本心臓移植研究会：心臓移植レジストリ報告. <http://www.jsht.jp/%E3%83%AC%E3%82%B8%E3%82%B9%E3%83%88%E3%83%AA20221231.pdf> Accessed 24 Aug 2023
- 3) Hardy JD, Chavez CM: The first heart transplant in man: historical reexamination of the 1964 case in the light of current clinical experience. *Transplant Proc* **1**: 717-25, 1969

- 4) Shu S, Ren J, Song J: Cardiac xenotransplantation: a promising way to treat advanced heart failure. *Heart Fail Rev* **27**: 71-91, 2022
- 5) Galili U, Swanson K: Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**: 7401-4, 1991
- 6) McGregor CG, Davies WR, Oi K, et al: Cardiac xenotransplantation: recent preclinical progress with 3-month median survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* **130**: 844-51, 2005
- 7) Houser SL, Kuwaki K, Knosalla C, et al: Thrombotic microangiopathy and graft arteriopathy in pig hearts following transplantation into baboons. *Xenotransplantation* **11**: 416-25, 2004
- 8) Vial CM, Ostlie DJ, Bhatti FN, et al: Life supporting function for over one month of a transgenic porcine heart in a baboon. *J Heart Lung Transplant* **19**: 224-9, 2000
- 9) Adams DH, Chen RH, Kadner A: Cardiac xenotransplantation: clinical experience and future direction. *Ann Thorac Surg* **70**: 320-6, 2000
- 10) Adams DH, Chen RH, Kadner A, et al: Technique for heterotopic pig heart xenotransplantation in primates. *Ann Thorac Surg* **68**: 265-8, 1999
- 11) Diamond LE, McCurry KR, Martin MJ, et al: Characterization of transgenic pigs expressing functionally active human CD59 on cardiac endothelium. *Transplantation* **61**: 1241-9, 1996
- 12) Miyagawa S, Maeda A, Toyama C, et al: Aspects of the Complement System in New Era of Xenotransplantation. *Front Immunol* **13**: 860165, 2022
- 13) Dai Y, Vaught TD, Boone J, et al: Targeted disruption of the alpha1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs. *Nat Biotechnol* **20**: 251-5, 2002
- 14) Phelps CJ, Koike C, Vaught TD, et al: Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. *Science* **299**: 411-4, 2003
- 15) Singh AK, Goerlich CE, Shah AM, et al: Cardiac Xenotransplantation: Progress in Preclinical Models and Prospects for Clinical Translation. *Transpl Int* **35**: 10171, 2022
- 16) Mohiuddin MM, Singh AK, Corcoran PC, et al: Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft. *Nat Commun* **7**: 11138, 2016
- 17) Bergelson JM, Chan M, Solomon KR, et al: Decay-accelerating factor (CD55), a glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory protein, is a receptor for several echoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 6245-8, 1994
- 18) Dörig RE, Marcil A, Chopra A, et al: The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell* **75**: 295-305, 1993
- 19) Yu J, Murthy V, Liu SL: Relating GPI-Anchored Ly6 Proteins uPAR and CD59 to Viral Infection. *Viruses* **11**:1060, 2019
- 20) 日本循環器学会, 日本心不全学会, 日本胸部外科学会, 他: 急性・慢性心不全診療ガイドライン (2017年改訂版). 2018