

100. Yu, J.H.; Quan, J.S.; Huang, J.; Nah, J.W.; Cho, C.S. Degradable poly(amino ester) based on poly(ethylene glycol) dimethacrylate and polyethylenimine as a gene carrier: Molecular weight of PEI affects transfection efficiency. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, *20*, 2501–2510.
101. Veisoh, O.; Kievit, F.M.; Gunn, J.W.; Ratner, B.D.; Zhang, M. A ligand-mediated nanovector for targeted gene delivery and transfection in cancer cells. *Biomaterials* **2009**, *30*, 649–657.
102. Pan, X.; Guan, J.; Yoo, J.W.; Epstein, A.J.; Lee, L.J.; Lee, R.J. Cationic lipid-coated magnetic nanoparticles associated with transferrin for gene delivery. *Int. J. Pharm.* **2008**, *358*, 263–270.
103. Li, Z.; Xiang, J.; Zhang, W.; Fan, S.; Wu, M.; Li, X.; Li, G. Nanoparticle delivery of anti-metastatic NM23-H1 gene improves chemotherapy in a mouse tumor model. *Cancer Gene Ther.* **2009**, *16*, 423–429.
104. Gonzalez, B.; Ruiz-Hernandez, E.; Feito, M.J.; Lopez de Laorden, C.; Arcos, D.; Ramirez-Santillan, C.; Matesanz, C.; Portoles, M.T.; Vallet-Regi, M. Covalently bonded dendrimer-maghemite nanosystems: Nonviral vectors for *in vitro* gene magnetofection. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 4598–4604.
105. Wu, H.-C.; Wang, T.-W.; Bohn, M.C.; Lin, F.-H.; Spector, M. Novel magnetic hydroxyapatite nanoparticles as non-viral vectors for the glial cell line-derived neurotrophic factor Gene. *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 67–77.
106. Zhao, D.; Gong, T.; Zhu, D.; Zhang, Z.; Sun, X. Comprehensive comparison of two new biodegradable gene carriers. *Int. J. Pharm.* **2011**, in press.
107. Kami, D.; Takeda, S.; Makino, H.; Toyoda, M.; Itakura, Y.; Gojo, S.; Kyo, S.; Umezawa, A.; Watanabe, M. Efficient transfection method using deacylated polyethylenimine-coated magnetic nanoparticles. *J. Artif. Organs* **2011**, in press.
108. Moghimi, S.M.; Symonds, P.; Murray, J.C.; Hunter, A.C.; Debska, G.; Szewczyk, A. A two-stage poly(ethylenimine)-mediated cytotoxicity: Implications for gene transfer/therapy. *Mol. Ther.* **2005**, *11*, 990–995.
109. Zou, S.M.; Erbacher, P.; Remy, J.S.; Behr, J.P. Systemic linear polyethylenimine (L-PEI)-mediated gene delivery in the mouse. *J. Gene Med.* **2000**, *2*, 128–134.
110. Biswas, S.; Gordon, L.E.; Clark, G.J.; Nantz, M.H. Click assembly of magnetic nanovectors for gene delivery. *Biomaterials* **2011**, *32*, 2683–2688.
111. Ahmed, M.; Deng, Z.; Narain, R. Study of transfection efficiencies of cationic glyconanoparticles of different sizes in human cell line. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 1980–1987.
112. Frohlich, E.; Kueznik, T.; Samberger, C.; Roblegg, E.; Wrighton, C.; Pieber, T.R. Size-dependent effects of nanoparticles on the activity of cytochrome P450 isoenzymes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2010**, *242*, 326–332.
113. McBain, S.C.; Griesenbach, U.; Xenariou, S.; Keramane, A.; Batich, C.D.; Alton, E.W.F.W.; Dobson, J. Magnetic nanoparticles as Gene delivery agents: Enhanced transfection in the presence of oscillating magnet arrays. *Nanotechnology* **2008**, *19*, 405102.
114. Kamau, S.W.; Hassa, P.O.; Steitz, B.; Petri-Fink, A.; Hofmann, H.; Hofmann-Amttenbrink, M.; von Rechenberg, B.; Hottiger, M.O. Enhancement of the efficiency of non-viral gene delivery by application of pulsed magnetic field. *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, e40.

115. Dimos, J.T.; Rodolfa, K.T.; Niakan, K.K.; Weisenthal, L.M.; Mitumoto, H.; Chung, W.; Croft, G.F.; Saphier, G.; Leibel, R.; Goland, R.; *et al.* Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* **2008**, *321*, 1218–1221.
116. Ebert, A.D.; Yu, J.; Rose, F.F., Jr.; Mattis, V.B.; Lorson, C.L.; Thomson, J.A.; Svendsen, C.N. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* **2009**, *457*, 277–280.
117. Okita, K.; Ichisaka, T.; Yamanaka, S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* **2007**, *448*, 313–317.
118. Okita, K.; Nakagawa, M.; Hyenjong, H.; Ichisaka, T.; Yamanaka, S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* **2008**, *322*, 949–953.
119. Takahashi, K.; Tanabe, K.; Ohnuki, M.; Narita, M.; Ichisaka, T.; Tomoda, K.; Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **2007**, *131*, 861–782.

© 2011 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

## 《トピックス》

# 心不全に対する再生医療 ——幹細胞移植・細胞シート

五 條 理 志 許 俊 鋭\*

### 要 目

- 急性心筋梗塞に対する体性幹細胞移植による臨床研究が数多く行われ、systematic review も複数報告され、少ないながらも心機能の回復が認められた。
- 組織工学の中で、scaffold を要しない細胞シートは大きな変革をもたらした。角膜を含めて、すでに商品化に向けて大きな一歩を踏み出している。
- 細胞移植という方法論による治療法は、ドナー細胞としては骨格筋芽細胞・骨髄由来間葉系幹細胞・脂肪由来幹細胞・心筋幹細胞などが主に使用され、急性心筋梗塞から重症心不全まで、幅広い疾患に対して臨床研究が行われている。
- 左室補助人工心臓装着患者への再生医療を併施する治療は、大きなポテンシャルを有しており、われわれは心筋幹細胞移植との統合治療を計画している。

### はじめに●

細胞移植で心臓病を治療する研究が行われはじめて久しい。その間に、幹細胞生物学の著しい進歩があり、再生不可能と考えられてきた心臓にも心筋幹細胞の存在が示唆され、実験レベルでは種々の細胞移植による不全心の機能改善が数多く発表されている。再生医療という用語は、2000年に使われはじめたばかりであるが、今や生物学や医療の世界にとどまらず、広く一般の方々にまで知られるようになっていく。中でも心臓病への再生医療の臨床研究は非常に活発に行われており、1,000例を超える方々が臨床研究に参加してい

る。現在では、対象とされる疾患も急性心筋梗塞から重症心不全にまで広がっており、本稿では、これらの心臓再生療法の現況を概観する。

### 現在までに行われた心臓再生医療のメタアナリシス●

さまざまな臓器における幹細胞の研究から成人の臓器に存在する体性幹細胞に関する多くの知見が蓄積され、とくに、幹細胞がその存在する臓器以外の機能細胞へ分化(可塑性)することが報告され、体性幹細胞を用いた細胞移植が多くの臓器で研究されている。急性心筋梗塞に対する報告が群を抜いて多く、骨髄や末梢血に由来する単核球もしくは CD34, CD133 細胞、骨髄由来の間葉系幹

\* S. Gojo (特任准教授), S. Kyo (特任教授) : 東京大学大学院医学系研究科重症心不全治療開発講座。

細胞などが、無作為比較対象試験(RCT)として実施されてきた。これらの細胞移植の臨床研究の症例数は1,000例を超え、2006年ころよりそれらの試験を統合した形で解釈したsystematic reviewが報告されている<sup>1-3)</sup>。さまざまな指標が加重平均の差を使って統合・評価されており、収縮末期容量・拡張末期容量・心筋障害面積は細胞移植群で有意に有効であることが示された。一方、左室駆出率はばらつきが大きいものの、細胞群においてわずかではあるが3%程度の有意な改善があったことが、いずれのメタアナリシスでも示された。この左室駆出率のばらつきの大きさから、サブグループ解析が行われた結果、細胞数が多いほど駆出率の改善が大きい、もしくは、投与用量と有意な相関があると報告されている。安全性に関しては、どのレビューでも急性心筋梗塞における細胞移植は6カ月のfollow-up期間におけるmobility/mortalityに有意な変化をもたらすことなく、心不全による再入院や心筋梗塞再発を減少させる傾向が指摘されている。

また、冠動脈バイパス術(CABG)に併施される形で、心外膜側より細胞移植が行われる形での臨床研究も多く報告されており、最近、メタアナリシスの結果が報告された<sup>4)</sup>。このプロトコルを採用した171の臨床研究の報告から、4つのRCTと2つのコホート試験を対象にメタアナリシスが行われた。その結果EFは5.4%有意に上昇し、左室拡張終末期容積(LVEDV)は9.56 ml有意に減少した。一方、有害事象の発生は有意な上昇はなく、骨髄幹細胞の直接心筋内移植は安全な治療法と考えられると報告されている。

## 心臓再生医療の方法論◎

### 1. 細胞シート

組織工学は細胞・増殖因子・scaffoldの3点セットで多くの研究がなされてきたが、scaffoldにはさまざまな問題点が指摘されてきた。細胞はscaffoldの表面に分布する傾向にあり充実性の組織の作出が困難であること、複数の細胞種を用い

ると三次元配列・構成をコントロールすることができないこと、増殖因子の濃度勾配等をコントロールできないこと、栄養血管を誘導することにハードルが存在することなどの障壁が存在する。

近年、デフォルトとして考えられてきたscaffoldを用いずに、細胞と最小限の生体材料で三次元の組織を構築しようとするアプローチが数多く報告されるようになってきている。中でも、細胞シートの創出は大きなブレイクスルーであった。37℃で疎水性の性質を有し、32℃で親水性となるpoly(N-isopropylacrylamide): PIPAAmについての研究がなされる中で、この物質を細胞培養皿表面に塗布することで、細胞培養の継代時に細胞回収のために行う細胞表面蛋白の酵素処理が不要となることが示された。この特徴を利用して、培養細胞を単層の密な状態にすることでシート状の構造体(細胞シート)として回収可能で、細胞の集合体がそれぞれの細胞の支持体となり、scaffoldを不要なものとした。この技術は細胞シート工学という領域を創出し、角膜を含めてきわめて広い領域で応用されている。これまで循環器系において、骨格筋芽細胞・間葉系幹細胞・血管内皮細胞・平滑筋細胞・心筋細胞をドナー細胞として細胞シートが作成され、さまざまな実験が行われ、その有効性が示されている<sup>5)</sup>。短所としてあげられていた単層であることは、細胞シートの重層化という技術が開発過程で、実用化の段階に達していることである。現在、大阪大学では重症心不全に対して骨格筋芽細胞シートを使った心機能改善を目標にした臨床研究が行われており、4層の重層化が臨床の場で使用されている。さらに、テルモ株式会社が骨格筋芽細胞シートの治験を計画している。細胞培養というステップを踏んだ再生医療の商品化という意味では、日本ではJ-TECのジェイスに次ぐ2例目である。規制を含めて、まだまだ多くのハードルがあると思われるが、再生医療が日本で根を下ろすことができるかどうかの試金石とも捉えられており、非常に大きな期待がかかっている。

## 2. 細胞移植

1) 骨格筋芽細胞：心臓への細胞移植として最初に臨床応用されたのが、骨格筋芽細胞である。臨床応用にいたるまでに、動物実験において細胞の生着・筋管細胞への分化が確かめられ、不全心モデルにおいては移植局所およびグローバルな心機能の改善が、複数の施設から報告された。一方、移植された細胞が心筋細胞へ分化することはなく、ホスト心筋細胞とは構造的にも機能的にも独立した形で存在することが認められ、骨格筋芽細胞移植後に不整脈が生じることが指摘されていた。2000年6月に培養自己骨格筋芽細胞移植の臨床第1例が施行され、続いて8つのphase Iの臨床研究が虚血性心疾患に対して行われ、多くの情報が提供された。いずれの研究でも有効性が示唆されたが、安全性に関しては、致死性不整脈の問題がクローズアップされた。その後、左室駆出率が35%以下の重症心不全の虚血性心疾患の患者を対象に多施設による二重盲検のRCT (MAGIC Trial) がヨーロッパで行われた<sup>6)</sup>。術早期の不整脈がコントロールに対して約2倍の発症率で、有効性に関しても有意な改善を認められなかった。一方、米国では現在も虚血性心疾患への骨格筋細胞移植のRCTが進行中であり、phase IIが終了し良好な結果が出ているとして、phase II/IIIへ進捗していると報告されている。

2) 骨髄間葉系幹細胞：中胚葉に由来する組織は、血球系細胞、血管、心臓、骨、軟骨、脂肪組織、骨格筋、腱、組織間充織(線維芽細胞)などがあり、約130年も前にCohnheimによって間葉系幹細胞の概念は提唱されている。再生医療という言葉が使われるようになってからは、ES細胞が倫理的な問題で臨床応用への距離がありすぎることを背景に、体性幹細胞の代表として間葉系幹細胞の大きなポテンシャルがクローズアップされ、それに関わる報告が著しく増加した。現在のところ、慢性心不全に対する間葉系幹細胞移植のRCTが数多く進行中である<sup>7)</sup>。この領域は、ベンチャーカンパニーが細胞培養の領域で関与してい

ることが多いが、自己細胞でのビジネスモデルを作り上げることは、きわめて困難であるとの認識を反映して、同種細胞を“off-the-shelf: 棚卸”の細胞製剤として販売することを目指しているところが多い。一方、アカデミアでの間葉系幹細胞移植のドナー細胞としては、そのほとんどが自己であり、免疫系の関与を除外して純粹に細胞移植の安全性と有効性を確認するためのデザインとなっている。投与方法では、カテーテルを用いた心内膜側もしくは外科的な心外膜よりの心筋内注入が相半ばしていて、付着系細胞という性質より冠動脈注のプロトコルは報告されていない。細胞製剤という新しい概念の製剤が確立しつつある現在、自己・同種ともにドナー細胞としてRCTが進行していることは、治療の選択肢が増え、多くの異なった病態が存在する臨床においては、大きな価値があると思われる。

3) 脂肪由来幹細胞：日常の臨床において、骨髄は血液疾患などでアプローチすることが一般的な組織であるが、脂肪組織は、形成外科において広く普及しているliposuction(脂肪吸引)という方法でアプローチされ、かつ、骨髄以上に採取しやすく、量的にも非常に豊富な組織である。脂肪100 ml から $5 \times 10^7$ 個の有核細胞を抽出することが可能で、 $1 \times 10^3 \sim 4$ 個に1個の割合で幹細胞・前駆細胞が含まれていると報告されている。ブタを用いた前臨床試験でも骨髄幹細胞と同様な結果が報告され、急性心筋梗塞および虚血性心筋症・慢性心不全に対して脂肪由来幹細胞移植のRCTが行われている。最近、急性心筋梗塞に対するAPOLLO試験<sup>8)</sup>からの結果が報告され、頻脈性不整脈の有意な低下等、その有効性が示された。現在、ヨーロッパでは急性心筋梗塞・心不全に対する脂肪由来幹細胞移植の保険償還に向けた臨床試験がはじめられている。

4) 心筋幹細胞：最近まで、心筋細胞は完全に分化し分裂を休止した細胞であるため、心臓はダメージを受けても修復されることのない臓器だと長い間広く考えられていた。ところが、血液、皮

膚、脳、肝臓、消化管、骨格筋といったさまざまな臓器から幹細胞の存在が証明されており、心臓にも幹細胞システムが存在する可能性が熱く議論されている。マーカーとしては c-kit, Sca-1, isl-1 などが報告されている。

京都府立医科大学の松原らは、cardiosphere を形成する心筋幹細胞を用いた心筋再生治療を行うべく、ブタを用いたランダム化した前臨床試験を行い、8.5% の左室駆出率の改善と 30% に及ぶ梗塞領域の縮小化を確認した<sup>9)</sup>。この前臨床大動物研究の結果を基に、ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会での審議を経て承認を得、ALCADIA という試験名で ClinicalTrial.gov に登録され、臨床試験が開始されている。当該研究は文部科学省の橋渡し推進研究にてサポートされており、CABG と細胞移植を併用するアームと左室補助人工心臓 (left ventricular assist device : LVAD) 装着患者を対象とするアームの 2 つのプロトコルを有している。現在、第一アームの第 1 相 : 6 症例を昨年より開始している。対象は心筋梗塞後心不全で CABG を予定されている左室駆出率 35~15% の患者である。スキームは CABG 前にバイオプシーにて右室中隔より心筋サンプルを採取し、Good Manufacturing Practice に準ずる Cell Processing Center にて、その組織から心筋幹細胞を増殖させ、CABG の手術のときに心外膜側より心筋内注入を行うとともに、注入部位を basic FGF gelatin sheet で被覆するものである。臨床試験の進め方として、安全性にとくに重きを置き、移植後 4 週間後のデータを安全管理委員会にて審査された後に、次の症例の登録に入るという形が取られている。2011 年 3 月の時点で 3 症例目に入っており、有害事象は起こっていない。有効性に関しては、データ集積中であり近く報告される予定であるが、良好な結果が出はじめている。

#### 人工心臓と再生療法の統合治療◎

2005 年から 2007 年にかけて、われわれは前任の埼玉医科大学で 4 例の骨髄単核球移植を

LVAD 装着患者に行った。いずれも虚血性心筋症で、LVAD 装着から全身状態が回復した時期に骨髄が採取され、閉鎖系にて単核球が分離濃縮され、カテーテルを用いて LVAD 装着手術のときに併施された CABG のバイパスグラフトより経冠状動脈に投与された。6カ月の follow-up 期間において、細胞移植にかかわる有害事象はなかった。細胞移植を実施した 4 例の中で 1 例で著明な心機能回復を認め、LVAD からの離脱が可能であった<sup>10)</sup>。その患者は 5 年を経過して左室駆出率は 40% 弱で安定して推移しており、外来通院を行いながら元気に日常生活を送っている。また、前出の大阪大学でも骨格筋芽シートを用いた臨床研究では、LVAD 装着患者に適應して、4 例中 1 例にて LVAD からの離脱が成功したと報告している。しかし、ドイツからは 10 例の LVAD 装着患者において、LVAD 装着時に骨髄由来単核球の心筋内注入を行うも 1 例の離脱を認めるのみで、細胞移植の有効性は明らかではないと報告された。これらの臨床研究からは、有効性に関しては何ら結論的なものを語れるようなものではなく、現在、心筋幹細胞をドナー細胞として心筋内直接注入と bFGF gelatin sheet を併用する方法で、LVAD 装着患者へのプロトコル作成中である。

#### おわりに◎

昨年、先端医療財団臨床研究情報センターより主要国における幹細胞臨床試験の現状がレポートされ、合計 248 のプロトコルの中で日本は 11 のプロトコルが走っていて、序列としては 7 番目ということである。国別では米国が 88、インドが 23、中国が 20 となっており、インド・中国の急増ぶりが明らかとなった。iPS 細胞が報告されて、再生医療実現化に向けて加速予算が計上されるなど、一時下火となっていた再生医療への風向きも再び順風となっているが、臨床をみると承認される臨床試験の増加のペースは緩やかである。

安全性を確保しながら、新しいものを開発するリスクをどこまで許容するかは大きな問題である

と思われる。しかし、植込み型人工心臓が治験開始から3年で保険償還された事案をみると、リスクの大きな治療法でも、今という時代においては、迅速な医療現場への導入が可能な環境にあるように思われる。基礎研究での有望なプロトコルが1つでも多く、素早く、安全に臨床に応用されることを切に祈り、本稿の終りにしたい。

## 文 献●

- 1) Abdel-Latif A et al : Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair : a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med 167(10) : 989, 2007
- 2) Lipinski MJ et al : Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction : a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. J Am Coll Cardiol 50(18) : 1761, 2007
- 3) Martin-Rendon E et al : Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction : a systematic review. Eur Heart J 29(15) : 1807, 2008
- 4) Donndorf P et al : Intramyocardial bone marrow stem cell transplantation during coronary artery bypass surgery : a meta-analysis. J Thorac Cardiovasc Surg, 2011, Epub ahead of print
- 5) Miyagawa S et al : Impaired myocardium regeneration with skeletal cell sheets : a preclinical trial for tissue-engineered regeneration therapy. Transplantation 90(4) : 364, 2010
- 6) Menasche P et al : The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial : first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. Circulation 117(9) : 1189, 2008
- 7) Hare JM : Translational development of mesenchymal stem cell therapy for cardiovascular diseases. Tex Heart Inst J 36(2) : 145, 2009
- 8) Meliga E et al : Adipose-derived cells. Cell Transplant 16(9) : 963, 2007
- 9) Takehara N et al : Controlled delivery of basic fibroblast growth factor promotes human cardiosphere-derived cell engraftment to enhance cardiac repair for chronic myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 52(23) : 1858, 2008
- 10) Gojo S et al : Cardiac resurrection after bone-marrow-derived mononuclear cell transplantation during left ventricular assist device support. Ann Thorac Surg 83(2) : 661, 2007

## INFORMATION

### 第 77 回 消化器心身医学研究会学術集会

日 時 2011 年 10 月 22 日 (土) 17:00~20:00 (予定)  
(JDDW2011 会期: 10 月 20 日~23 日・第 3 日目)

会 場 博多港国際ターミナル 3F ターミナルホール  
(〒812-0031 福岡市博多区沖浜町 14-1 Tel 092-282-4871)

会 長 田妻 進 (広島大学病院医系総合診療科)  
浅川明弘 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科社会行動医学講座心身内科学分野)

演題応募方法 Web 登録システムにてお申し込み下さい。

URL ; <https://ds-pharma.jp/form/fm/syoukaki77>

消化器心身医学研究会ホームページからが便利です。

演題応募締切 2011 年 8 月 10 日 (水) 必着

参加証 日本心身医学会指導医・認定医研修 3 単位, 日本心療内科学会 3 単位

参加費 1,000 円

問合先 大日本住友製薬株式会社 CNS 統括部内  
「第 77 回消化器心身医学研究会学術集会」係宛

〒104-8356 東京都中央区京橋 1-13-1

Tel 03-5159-2530 Fax 03-5159-2944

特集

血管・心筋再生は  
どこまで来たか

治す

12-c

Expertise

重症心不全に対する再生治療

## 心臓移植・人工心臓患者に 心臓再生医療をどう活かすか

▶ *Integrated strategy of heart transplantation, ventricular assist device, and regenerative medicine*

五條理志（東京大学大学院医学系研究科重症心不全治療開発講座）

植込み型補助人工心臓の保険償還が決定し、2011年4月より保険治療としての植込み型補助人工心臓治療が可能となった。また、昨年7月より改正脳死移植法が施行され、その実施数は飛躍的に増加し、本年4月には小児心臓移植の第一例目を実施された。重症心不全治療にとっては、社会的な環境が整わず一般的な治療法として認知されてこなかったこの2つの治療手段が、長年の関係者の努力の結果、大きな一歩を踏み出した。一方、幹細胞生物学は心臓が再生機構を有する動物的な存在である可能性を示し、組織工学はシート工学という新しい領域を創出した。translational researchとしての再生医療も“ヒト幹細胞を用いる臨床試験の指針”が出されて以来、循環器領域において着実に実施例が積み重ねられている。薬剤治療・リハビリテーション・従来のカテーテルインターベンション・外科手術に加えて、このような手段が現実のものとなりはじめ、これらの治療法を組み合わせた統合治療が、今後の大きな潮流になることが予想される。その先駆けとして、左室補助人工心臓治療と再生治療の併用治療が行われはじめている。本稿では、心臓移植・人工心臓(ventricular assist system ; VAS)の現況を概観し、再生医療を組み合わせることのrationaleとその実績を示し、本領域の将来像を展望する。



表1 INTERMACS profile  
(文献1より引用)

| profile level | official shorthand   | PT status                     | general time frame for support               |
|---------------|----------------------|-------------------------------|--|
| level 1       | "crash and burn"     | critical cardiogenic shock    | hours  |
| level 2       | "sliding fast"       | progressive decline           | days to week                                 |
| level 3       | stable but dependent | stable but inotrope dependent | weeks  |
| level 4       | "frequent flyer"     | recurrent advanced HF         | weeks to few months, if baseline restored    |
| level 5       | "housebound"         | exertion intolerant           | weeks to months                              |
| level 6       | "walking wounded"    | exertion limited              | months, if nutrition and activity maintained |
| level 7       | advanced class III   | advanced NYHA III             |  |

## 心臓移植の現状

世界の心臓移植の統計はISHLTの2010年の報告では、移植後のhalf-lifeが13年という数字が報告されており、重症心不全に対する最後の砦としての確固とした地位を築いている。しかし症例数は、アメリカでは1990年ごろより2,000~2,500例でプラトーの状態となり、ヨーロッパでも2000年ごろより1,000例程度で横ばいとなり、ドナー不足は依然大きな問題で今もなお解決法が模索されている(<http://www.ishlt.org/registries/slides.asp?slides=heartLungRegistry>)。

日本は1999年に脳死体からの臓器移植再開後、2010年までに86例の臓器提供があり、66例の心臓移植と1例の心臓移植が行われた。昨年7月に施行された改正臓器移植法により同年12月までに29例の臓器提供と23例の心臓移植が施行された。治療成績は、症例数が欧米に比しきわめて少ないにもかかわらず、5年生存率が94.9%と良好である(<http://www.jotnw.or.jp/datafile/newsletter/pdf/vol.14.pdf>)。

日本の心臓移植の特異な点は、レシピエントの90%近くがVAS装着患者であることがあげられ、欧米の20%前後とはきわめて対照的である。また、装着期間も平均でおよそ800日に及ぶ長期間であることがあげられる。また、今回の改正においては小児の脳死判定を可能とし、小児心臓移植の道が開かれることとなった。本年4月にその第一例目が施行され、小児の重症心不全患者・家族にとっては希望の光が現実のものとなった感であろう。現状では、小児用VASが日本には存在していないが、心臓移植という受け皿ができたことにより、小児に対してもVAS治療のrationaleが整ったと考えられる。現在、東京大学を中心にBerlin Heart社製Excor<sup>®</sup> Pediatricの医師主導型治験が計画されている。一方、日本では60歳以下を心臓移植のレシピエントの対象としているが、ISHLTのデータベースでは60歳以上のレシピエントがほぼ1/4を占めるに及んでおり、最近では70歳以上の患者への心臓移植も無視できない数になってきている。高齢化社会をいち早く迎えたわが国が早晚直

面する問題となろう。

## 人工心臓治療の現状

日本臨床補助人工心臓研究会による2009年のレジストリーによると、1980年の第一例目より合計1,128症例の補助人工心臓が装着されている。約2/3が国循環型の左室補助人工心臓(left ventricular assist system; LVAS)であり、日本で長期使用に耐えうる使用可能な唯一の補助VASであった。体外設置型LVASの治療成績に関しては、数年前までは、適応が遅すぎる重症患者をも対象としていたことによる周術期のinitial dropが大きく、一年生存率が50%程度であった。アメリカでは、植込み型補助VASが使用されるなかで、NYHA IVをさらに分類する形の重症度分類(INTERMACS profile: 表1)が定められた<sup>1)</sup>。この分類をもとにして、東京大学からはprofile 2もしくは3でのLVAS装着術後の三年生存率が80%程度であるとの報告がなされている。profile 1の症例に関しては、植込み型LVASの

適応はなく、体外設置型LVASにならざるをえず、その結果は依然として厳しいものがあるものの、少しずつ成績の改善がみられる。右心不全は人工心肺離脱から早期周術期に起こる難しい問題であるが、NOの積極的な使用に加えて、RVAS-ECMOを早期導入することで<sup>2)</sup>、以前と比較すれば右心不全で失うことは少なくなっている。また、創部感染に関しては持続陰圧吸引療法が術後管理の労力を大幅に削減するとともに、治療にまで導くことも可能となり<sup>3)</sup>、LVAS治療の成績向上に寄与している。

植込み型補助VASに関しては、2001年に発表されたLVAS(HeartMate VE)と至適内科療法とのランダム化試験：REMATCH trialで二年生存率がLVAS群の23%、内科治療群の8%など、LVASで有意に良好な結果から、LVASのdestination therapy：長期在宅治療が認められることとなった<sup>4)</sup>。日本では、

本年4月より本体および術後管理料を含めて二機種の植込み型LVASが保険償還され、保険診療のなかで使用可能となった。テルモ社製DuraHeart<sup>®</sup>とサンメディカル社製EVAHEART<sup>®</sup>が先行しているが、引き続きJarvik社製Jarvik 2000とThoratec社製HeartMate IIが早晚臨床に上がってくると思われる。いずれも定常流ポンプであり、時代とともに、容量・重量ともにますます小型化し(HeartMate XVE：600cc/1,200gに対してJarvik 2000：25cc/90g)、欧米人に比し小柄な日本人にも使用しやすくなっている。また、日本での実績は、先行しているEVAHEART<sup>®</sup>は4年生存率で72%、遅れて始まったDuraHeart<sup>®</sup>は2年生存率が100%と、ともにきわめて良好な結果である。大きな一歩を踏み出した人工心臓治療であるが、その向上した成績がゆえに、術前の心源性循環不全に起因した腎不全が血液透析から離脱できないという症例も経験

するようになってきている。このような症例は、心臓移植の適応からも除外され、体外設置型であれば、QOLの低い院内管理が生涯続かざるをえず、植込み型であれば、年齢が若年でも長期在宅管理しか選択肢がなくなってしまう。このような症例に対しては、VASからの離脱をめざす治療戦略の開発が必要であろうと考える。

### bridge-to-recovery (BTR)

心臓は再生しない臓器とされてきた。しかし、LVAS装着中に、自己心機能が回復する現象が報告され<sup>5)</sup>、その現象をもとにVASの離脱を行う戦略がbridge-to-recoveryとよばれて、1990年代後半より熱心に多くの施設で試みられてきた<sup>6)</sup>。しかしながら、BTRの離脱率は一様ではなく、ISHLTのデータベー

表2 リバースリモデリング  
(文献8より引用)

|              |   | 不全心      | リバースリモデリング   |
|--------------|---|----------|--------------|
| hemodynamics | PA, PCWP, MVO <sub>2</sub><br>mAoP, CO  | 上昇<br>低下 | 低下<br>上昇     |
| 心筋構成蛋白       | サルコメリックプロテイン・ピンクリン・<br>デスミン・β-チューブリン・ジストロフィン  | 増加       | 正常化          |
| 収縮蛋白関連       | アクチン・トロポミオシン・トロポニンC/T   | 低下       | 改善           |
| Ca調節関連       | SERCA2a, RyR, Na <sup>+</sup> -Ca <sup>+</sup> exchanger<br>PKB, Akt, GSK-3-β                                     | 低下<br>低下 | 改善<br>不変/改善? |
| 代謝関連         | ミトコンドリア機能, uncoupling protein 3, caveolin<br>glucose transporter 1/4, muscle carnitine<br>palmitoyl transferase-1 | 低下<br>低下 | 改善<br>不変     |
| 炎症性サイトカイン    | IL-6, IL-8, TNFα  | 上昇       | 改善           |
| 細胞外マトリックス    | collagen I, III   | 上昇       | 正常化/不変/上昇?   |

スによると5%程度の離脱率であり、離脱率基準を甘くすると慢性心不全の再燃が増加するという厳しい現実があった<sup>7)</sup>。一方、BTRのメカニズムに関してはさまざまな角度から検討が行われ、LVAS単独での限界が明らかとなっている。

心不全が進行性の心室拡大・心機能低下を示すとき、この過程は心室リモデリングとよばれるが、LVASを装着することで、この過程の一部は可逆的であり正常化に向かうことが示され、リバースリモデリングとよばれている(表2)<sup>8)</sup>。LVASの駆動により血行動態的には肺動脈圧・肺動脈楔入圧の低下と大動脈圧・心拍出量の増加を示し、左室をアンローディングして左室の拡張末期圧容量曲線を左下方に偏らせ、左室酸素消費量を減少させる。細胞レベルでは、細胞骨格系蛋白であるサルコメリック蛋白、ピンクリン、デスミン、 $\beta$ -チューブリンなどが左室で正常化し、細胞肥大が改善し、心筋重量が減少する。収縮関連の検討では、左室のforce-frequency relationshipの正常化および $\beta$ -adrenergic stimulationへの反応性の向上を認められ、アクチン・トロポミオシン・トロポニンC、Tは改善し、 $\beta$ -adrenergic receptorやRyR2の過リン酸化の正常化が認められる。遺伝子発現のレベルでは、SERCA2a、RyR、 $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchangerが増加する。しかし、PKB/Akt/GSK-3- $\beta$ は活性化されているという報告と、されていないという報告があって、今後の検討の余地がある。代謝関連では、ミ

トコンドリア機能、uncoupling protein 3、caveolinは発現が改善しているが、glucose transporter 1/4、muscle carnitine palmitoyl transferase-1は正常化していない。アポトーシス関連では、Bcl-2、Bcl-XLが活性化され、NF- $\kappa$ Bが減少している。それに伴い、NF- $\kappa$ Bが制御している炎症性サイトカインであるIL-6、TNF $\alpha$ が減少している。細胞外マトリックスはLVASサポートによって、collagen type Iの増加、collagen type IIIの不完全生成、collagenの変性を司るmatrix metalloproteinase-1、9の減少などによるcollagenの増加、それに伴う細胞外マトリックスの増加が起こるといふ報告が多く、心臓の間葉系細胞はLVASサポートに対して、心筋細胞とは異なった反応を示すようである。マイクロレイによる解析では、心不全で異常増加する遺伝子のわずか5%しか正常化しないというデータが示されている。以上のように、自己心臓の機能改善にとってポジティブな反応が不完全にしか生じないことが、LVAS単独では心臓の機能再生が低頻度しか認められない理由であろうと考えられている。

### LVAS離脱基準

LVASを離脱するかどうかの判断を下す確かなcriteriaは現在のところ存在しない。多くの施設で共通して行われていることは、拍動型の場合はoff-

pump試験という方法であり、完全へパリン化の後にLVASを停止させて、心エコー図検査によるdimensionとEFの測定、Swan-Ganzカテーテルによる右心機能の測定を行い、心臓の機能を推定するというものである。ベルリンのグループは、BTRを最も積極的に推進している施設の一つであるが、彼らの指標は、洞調律で心拍数が90回/分で、off-pump試験でDdが55mm以下でEFが45%以上、MR、TRがII度以下で、CIが2.6L/分/m<sup>2</sup>以上、PCWPが13mmHg未満でRAPが10mmHg未満であることとしている<sup>9)</sup>。この指標によって、LVAS離脱後5年間心不全に罹患しない確率は66%で、off-pump試験のEFを50%で切ると5年間心不全フリーの予測値は91.7%となる。一方、off-pump試験で10%以上relative wall thicknessが減少する場合や、LVASサポート中にEFの改善が頭打ちになり10%以上減少する、もしくはDdが10%以上拡大する場合や、離脱後一カ月でEFが10%以上低下する場合は、心不全の再燃リスクが大きいと考えられると報告している。彼らは虚血性ではない心筋症を主な対象としており、非虚血では18%の離脱率で、虚血性心筋症では1%未満の離脱率と報告している。また、拍動型ポンプは24.4%で、定常流ポンプでは9.2%が離脱可能であったとしている。これは、他の施設でも同様の傾向が報告されており、虚血性心疾患においては、積極的な統合治療戦略が必要で、定常流ポンプにおいては、BTRをめざすには

駆動条件に工夫が必要であることを示唆している。

ピッツバーグからは、health statusの評価(LVAS装着期間、病因、不整脈、栄養状態、他臓器の状態)を行った後、心機能の評価(Off-pump Trial、右心カテーテル、運動耐容能)を順次評価するフローチャートが提案されている<sup>10)</sup>。ベルリンのグループのようにこの領域にかなり精通したスタッフが多くいる施設の基準を当てはめただけでは、LVASからの離脱という治療方法はきわめて繊細な管理を用する必要があることより、経験の乏しい施設では同様の結果を出すことは困難かもしれない。そのような点を考慮して、心機能だけに捉われず、患者全体の評価としてBTRの可否を問う形となっている。このフローチャートがどのような結果を示すか、今後の評価が待たれる。

筆者の前任の埼玉医科大学では、心エコー図検査とSwan-Ganzカテーテルのデータをoff-pump 30分で計測し、DdとEFに関してはベルリンのグループと同様、かつ、30分間データが動かないことを離脱の判断材料としていた。東京大学では、LVASサポート中に積極的な筋力トレーニングを行いながら、peak VO<sub>2</sub>が正常の60%程度まで回復し、BNPが二桁になることを離脱に向かう判断材料とし、LVASのweaningはニプロ社製LVASの場合は拍動数を5回程度/週のペースで減少させている。off-pump試験は、心エコー図・Swan-Ganzカテーテルに加えて、水負荷試験・DOB負荷試験・運動負荷試験を行い、

PCWPがいずれかの負荷で10mmHg以上増加するもの、DOBでEFが上昇しないもの、運動負荷でpeak VO<sub>2</sub>が12mL/kg/分以下の場合は離脱困難であると判断している。

### 人工心臓と再生医療の 統合治療

2005～2007年にかけて、われわれは前任の埼玉医科大学で4例の骨髄単核球移植をLVAS装着患者に行った<sup>11)</sup>。いずれも虚血性心筋症で、LVAS装着から全身状態が回復した時期に骨髄が採取され、閉鎖系にて単核球が分離濃縮され、カテーテルを用いてLVAS装着手術時になされたCABG (coronary artery bypass grafting)のバイパスグラフトより経冠状動脈にて投与された。6カ月のフォローアップ期間において、細胞移植にかかわる有害事象はなかった。埼玉医科大学において、当該臨床試験以前には12例の虚血性心筋症に対してLVASが装着されたが、一例も自己心の自然回復は認められなかった。結果は、細胞移植を実施した4症例中一人が著明な心機能回復を認め、LVASからの離脱が可能であった。その患者は5年を経過して左室駆出率は40%弱で安定して推移しており、外来通院を行いながら元気に日常生活を送っている。

われわれのグループ以外では、大阪大学が自己骨格筋芽シートをLVAS装着患者に適応して、LVASからの離脱

が可能になったことを報告している。ここで用いられた細胞シートという組織工学により創出された材料は、心臓のみならず、角膜をはじめさまざまな分野に応用されており、再生医療の大きな柱となっており、非常に期待されている方法である。また、アメリカではLVAS装着患者を対象に骨髄由来単核球もしくはCD34陽性細胞の移植が多施設でのRCTとして施行された。また、現在もミネソタ大学が骨髄由来単核球移植のPhase Iの臨床試験を計画しており、Angioblast Systemsというベンチャーカンパニーが開業系前駆細胞の提供を行っているPhase IIの多施設でのRCTが進行中である。

VASを用いない心筋再生の臨床研究は、再生医療全体のなかでも非常に高い割合を占めており、VAS開発の牽引役である研究者から、今後のVAS開発の目標は完全置換型人工心臓ではなく、携帯可能な介入治療を志向するデバイス開発が必要である<sup>12)</sup>との論が出るほどに、心臓は再生するという可能性が示され続けている。

### おわりに

移植医療と人工臓器治療が新しい時代に入り、より多くの重症心不全に苦しむ患者がその恩恵に浴することが可能となった。一方で、臓器移植の適応が現状のままではその歪が顕在化する日は遠くない。特に、高齢者・新生児を含めた小児に対しては、経済的にもしく

は規制に関する問題が大きく関与し、解決しなければならない課題が積み上がっている。このような課題に対しても、再生医療による統合治療はBTR

を含めて一つの解決策を提供すると考えられる。さらに再生医療は、臓器移植に対する免疫寛容誘導、異物に対する自己組織化、創傷治療の促進など、

重症心不全の治療において多方面で大きなブレイクスルーを与えうると考えられる。

## 文献

- 1) Kirklin JK, Naftel DC, Stevenson LW, et al: INTERMACS database for durable devices for circulatory support: first annual report. *J Heart Lung Transplant* 27(10): 1065-1072, 2008.
- 2) Gojo S, Kyo S, Sato H, Nishimura M, et al: Successful LVAS and RVAS-ECMO support in a patient with fulminant myocarditis who failed to recover from ventricular fibrillation with PCPS and IABP. *J Thorac Cardiovasc Surg* 126(3): 885-886, 2003.
- 3) Kawata M, Nishimura T, Hoshino Y, et al: Negative pressure wound therapy for left ventricular assist device-related mediastinitis: two case reports. *J Artif Organs* 2011 Feb 24. [Epub ahead of print]
- 4) Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al: Long-term use of a left ventricular assist device for end-stage heart failure. *N Engl J Med* 345(20): 1435-1443, 2001.
- 5) Nakatani T, Sasako Y, Kumon K, et al: Long-term circulatory support to promote recovery from profound heart failure. *ASAIO J* 41(3): M526-M530, 1995.
- 6) Levin HR, Oz MC, Chen JM, et al: Reversal of chronic ventricular dilation in patients with end-stage cardiomyopathy by prolonged mechanical unloading. *Circulation* 91(11): 2717-2720, 1995.
- 7) Hetzer R, Muller JH, Weng Y, et al: Bridging-to-recovery. *Ann Thorac Surg* 71(3 Suppl): S109-S113, 2001.
- 8) Klotz S, Jan Danser AH, Burkhoff D: Impact of left ventricular assist device(LVAD) support on the cardiac reverse remodeling process. *Prog Biophys Mol Biol* 97(2-3): 479-496, 2008.
- 9) Dandel M, Weng Y, Siniawski H, et al: Heart failure reversal by ventricular unloading in patients with chronic cardiomyopathy: criteria for weaning from ventricular assist devices. *Eur Heart J* 32(9): 1148-1160, 2011.
- 10) Santelices LC, Wang Y, Severyn D, et al: Development of a hybrid decision support model for optimal ventricular assist device weaning. *Ann Thorac Surg* 90(3): 713-720, 2010.
- 11) Gojo S, Kyo S, Nishimura S, et al: Cardiac resurrection after bone-marrow-derived mononuclear cell transplantation during left ventricular assist device support. *Ann Thorac Surg* 83(2): 661-662, 2007.
- 12) Nose Y, Motomura T, Miyamoto H, et al: The need to change our objective for artificial heart development: from totally implantable permanent ventricular assist devices to wearable therapeutic ventricular assist devices. *Artif Organs* 34(12): 1069-1076, 2010.

