

201128008B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

重症拡張型心筋症への

bridge-to-transplantation / recovery を目指した

新規治療法の開発と実践

平成21～23年度 総合研究報告書

代表者 澤 芳樹

平成24年5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

重症拡張型心筋症への

bridge-to-transplantation / recovery を目指した

新規治療法の開発と実践

平成21～23年度 総合研究報告書

代表者 澤 芳樹

平成24年5月

## 目次

### I. 総合研究報告

重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した新規治療法の開発と実践

澤 芳樹 ..... 1

### II. 分担研究報告

1. 重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を  
目指した新規治療法の開発と実践

宮川 繁・市川 肇 ..... 6

2. 脂肪幹細胞由来心筋芽細胞移植にむけた大動物モデル検定

松山 晃文 ..... 31

3. c GMP 対応の細胞培養システムの構築

川真田 伸 ..... 166

4. 重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した心筋治療法の安全性・有効性評価のための生物統計学的デザイン・方法論の開発に関する研究

大門 貴志 ..... 168

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 177

IV. 研究成果の刊行物・別刷

## 重症拡張型心筋症へのbridge-to-transplantation/recoveryを目指した 新規治療法の開発と実践

研究代表者 大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科 澤 芳樹

### 研究要旨

拡張型心筋症に対する新たな治療法として、再生細胞治療法を実践、先進医療化、ひいては保険医療化することを本研究の目的とする。前臨床研究として、重症心不全モデル動物に対して、血管ネットワークを豊富に持つ大網と筋芽細胞シート移植の臨床効果、及び血管新生を促す薬剤と筋芽細胞シートを用いたコンビネーション治療、新しい細胞源（心筋芽細胞）の基礎的研究を行うとともに、筋芽細胞シート移植の臨床研究を重症心不全患者14例に対して行い、次世代のbridge-to-recovery再生医療としての確立を目指した。本研究にて行った治療のデータをもとに、PMDAとの交渉を行い、最終的に企業治験の申請が受理され、本年度には治験を開始する予定である。

また、拡張型心筋症患者に対する、植え込み型人工心臓を用いた安全で、QOLの高いBridge to Transplantation治療を実践し、ひいてはヒト幹細胞臨床研究指針にのっとり、Bridge to Recovery治療として人工心臓装着重症心不全患者に対する筋芽細胞シート移植を4例行い、うち2例は人工心臓より離脱した。観察期間が終了した人工心臓を装着していない心不全患者5例において、ほとんどの症例で左室のreverse remodeling効果、症状の改善を認めた。

### 研究分担者

1. 宮川 繁 大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科 助教
2. 松山晃文 大阪大学医学部附属病院未来医療センター 特任准教授
3. 市川 肇 国立循環器病研究センター 小児心臓外科部長
4. 川真田伸 先端医療センター 細胞評価事業部
5. 大門貴志 兵庫医科大学医学部数学教室 講師

### A.研究目的

難治性の拡張型心筋症の治療において、これまでの補助人工心臓より心臓移植への橋渡し治療のみでは、限界があるのが現状である。この限界を克服するために、本研究では、筋芽細胞シートの臨床応用の継続を行い、最終的には、その効果の検討と、保険医療化を目

指おり、具体的な研究目的は以下のとおりである。

1. 拡張型心筋症に対する新規治療の開発のため、臨床の現場では、筋芽細胞シートの重症心不全に対する移植、及び筋芽細胞シート移植の安全性・治療可能性の検討を行った。また、前臨床研究として、次世代細胞シ

ト移植法を目指し、筋芽細胞シートと大網のコンビネーション治療、筋芽細胞シートと血管新生薬剤とのコンビネーション治療の開発を本研究の目的とした。

筋芽細胞シートによる Bridge to Recovery 治療のみではなく、植え込み型補助人工心臓を用いた、自宅にて安全に心移植待機できる Bridge to Transplantation 治療を確立するとともに、移植待機中に再生型治療を用いた Bridge to Recovery 治療を行えるような新しい臨床プロトコルを模索することを目的とした。

2. 脂肪組織由来多系統前駆細胞由来心筋芽細胞移植の臨床研究にむけ、大量・安全・安定的な GMP 対応細胞培養技術を開発、その安全性および有効性について重症心不全モデル動物にて検証を行うことを目的とする。

3. 従来型の頻度流の統計的推測方式に基づく生物統計学的デザイン・解析に関して予備的な検討（主に目標症例数の根拠づけ）を行うとともに、Bayes 流の統計的推測方式に基づく最適治療レジメン探索のためのデザイン及び方法論を開発し、その適用可能性を検討することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

当院にて左室補助人工心臓を装着した 4 例の拡張型心筋症患者に対して、骨格筋採取を行い、当院未来医療センターの Cell processing center にて、GMP 基準を満たす筋芽細胞を単離し、温度応答性培養皿を用いて、筋芽細胞シートを作成する。新規植え込み型定常流人工心臓を装着し、筋芽細胞シート移植を行い、細胞シートによる人工心臓よりの

“Bridge to Recovery”を目指す。左室補助人工心臓を装着していない重症心不全患者に対して、筋芽細胞シート移植を行い、治療法の安全性・可能性を検討する。

また、体外式人工心臓より植え込み型定常流人工心臓への入れ替えを行い、安全に循環動態を維持しながら心臓移植まで自宅にて待機できるような、“Bridge to Transplantation”への橋渡し治療を行う。植え込み型人工心臓への入れ替えだけではなく、新規に拡張型心筋症患者に植え込み型人工心臓を植え込み、Bridge to recovery 治療を促進するために、未だ確立されていない植え込み型定常流人工心臓の離脱テストを施行する。

筋芽細胞シートの次世代移植法の開発を行った。筋芽細胞シートと血管網の豊富な大網のコンビネーション治療を、大動物心不全モデルに施行し、心臓超音波、組織学的検討を行い、その効果を解析する。また、筋芽細胞シートと血管新生誘導薬剤との併用による治療効果を同様の方法にて検討する。

### 2.

#### 1) 脂肪組織由来多系統前駆細胞由来心筋芽細胞

ヒト脂肪組織から新規間葉系幹細胞として本研究分担者が確立した方法でヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞を培養し、実験に供した。

再生心筋芽細胞は、ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞を 0.1% DMSO 加 48 時間で培養して得た。

#### 2) 実験動物

重症心不全モデルとして豚を選択、心不全モデルを作製した。免疫抑制剤としては、タクロリムスあるいはシクロスポリンを選

扱し、経冠動脈にて細胞を移植し、心機能の改善効果を検討した。

### 3) コールドラン

GMP 対応細胞培養施設を借り上げ、患者さんに投与する前のいわゆる cold run を実施し、製品標準書、製造手順書、製造指図書、製造記録書を策定にむけたデータ収集を行なう。

3. 以下の視点で生物統計学的に予備的検討を行い、議論を行う。

1. 安全性の観点からの心筋治療における頻度流の目標症例数の根拠づけ
2. 安全性の観点からの最適治療レジメンの Bayes 流逐次推定法の開発とシミュレーションによる検討

(倫理面への配慮)

筋芽細胞シート移植法に関しては、大阪大学医学部倫理委員会、および大阪大学付属病院未来医療センターにて、本プロトコルの倫理性、妥当性に関して十分な議論が行われている。また、厚生労働省ヒト幹細胞委員会においても、本臨床研究は認可を受けている。まだ認可を受けていない植え込み型定常流人工心臓は、医師主導のもとに使用されており、既存の体外式補助人工心臓を本人工心臓に入れ替えるプロトコルも、本学倫理委員会にて承認を受けている。患者へのインフォームドコンセントに関しても、各種倫理委員会にて認可を受けた書面にて、承諾を得ている。大動物実験に関しては、大阪大学倫理委員会の承認を得ている。

## C. 研究結果(詳細は分担の項目参照)

### 1. 心不全患者に対する筋芽細胞シート移植治療

左室補助人工心臓を装着した患者4例より、骨格筋を安全に採取を行うことが可能であった。大阪大学附属病院未来医療センターの Cell processing center にて、治療効果を期待できる量、質の筋芽細胞を得ることが可能であり、計24枚の筋芽細胞シートを作成可能であった。本筋芽細胞シートを4名の左室補助人工心臓装着患者に安全に移植した。全例において、安全に、有害事象を認めず、筋芽細胞シート移植が可能であった。移植した4例のうち、3例において、心機能の向上効果を認め、うち2例は完全に人工心臓より離脱し、現在、自宅療養中である。

左室補助人工心臓を装着していない心不全患者13例に対して、筋芽細胞を単離し、所定量の細胞を培養することが可能であり、うち10例に筋芽細胞シートを移植した。現在5症例の観察期間は終了し、筋芽細胞シートに起因する有害事象は観察されなかった。5例のうち3例に左室 reverse remodeling 効果を認め、全例において SAS、6分間歩行による生活の質の改善を認めた。

これまで、体外式左室補助人工心臓を装着されていた患者に対して、植え込み型補助人工心臓への入れ替えを4例行った。本治療の目的は、脳梗塞、感染症の合併症が多く、病院への入院を余儀なくされていた、体外式人工心臓装着患者に対して、安全に自宅にて心臓移植待機をさせることと、安全性を担保しつつ、筋芽細胞シート移植による Bridge to Recovery 治療を行うためである。本治療法を開発することにより、人工心臓の合併症を少なくでき、自宅での心臓移植待機が可能となる。

### 2. 心筋芽細胞を用いた重症心不全に対する前臨床研究

免疫抑制化慢性心不全モデルブタを作製、

当該動物への経冠動脈投与で心機能の改善と長期生存率改善を認め、その重症心不全への有効性を示した。また、被投与細胞が重症心不全モデルブタ心組織内で心筋細胞への分化を組織学的に確認、細胞加工医薬品として *in situ* differentiation が作用機序であることを示した。有効性にかかる CTD 要求試験では、ブタを用いる有効性用量設定試験を実施し、 $3 \times 10^5/\text{kg}$  が至適細胞数であることが明らかとなった。

細胞固有特性の評価として造腫瘍試験、軟寒天コロニー形成試験、核型分析試験を GLP にて終了した。毒性試験として、げっ歯類(ヌードラット)を用いた用量設定試験(non-GLP)と単回投与毒性試験(GLP)(経左心室腔内投与・経静脈投与)にて毒性を認めなかった。

安全性薬理コア・バッテリー試験では、中枢・呼吸安全性薬理試験(GLP)が終了し、中枢毒性、呼吸毒性ともに認められなかった。

慢性毒性試験と体内動態試験(運命試験)を兼ねて3頭の慢性心筋梗塞モデルブタへの細胞投与後6カ月経過観察した。FDAのOrgan Panelを参考に30臓器をリストアップし、各々につき肉眼的所見、組織学的病理所見を確認、慢性毒性試験として病的所見を認めていない。

GMP 対応細胞培養システムの構築にむけ、治験水準の製品標準書、標準手順書、製造指図書・記録書を作成した。GMP 対応プレ・コールドランを 2 例実施し、手順書・指図書の改定・修正を行った。平成23年度においては、当該改定・修正を下にコールドランとして 2 例実施した。

細胞特性解析・生物学的同等性の検定のため、248 種類の細胞表面マーカーについて合計 5 ロットの再生心筋芽細胞を検討し、品質担

保に重要な3種類のマーカーを選定(CD45 陰性、CD44 陽性、CD90 陽性)、その他品質を担保する規格を設定した

3. 筋芽細胞シート移植治療の可能性、安全性を適切に評価できるようなシステムの開発

有害事象の発現割合が低い場合には、3~5 例の目標症例数は有害事象を観測するのに十分な症例数とは言い難い。一方で、例えば、発現割合のパラメータの値が  $0.4 (= 4/10)$  と想定すると、このような比較的頻回に観測される有害事象の場合には、3~5 例の目標症例数でもある程度有害事象を同定できる症例数といえそうである。

候補治療レジメンと反応の真の関係曲線が平坦な場合(表2の Scenario 9)では、最適治療レジメンを選択する割合が低くさらなる改良が必要であるが、その他の場合では、研究開始時の候補モデルが誤規定されたとしても、最適治療レジメンを選択する割合は相応に高いといえそうである。ただし、患者数が減少するにつれてこの割合は低下していくため、今後さらなる改良が依然として必要である。

#### D. 考案

筋芽細胞シートの臨床研究においては、安定に GMP 基準を維持した筋芽細胞シートを作成することが可能であり、また、左室補助人工心臓を装着した患者に移植可能であった。今後、筋芽細胞シート移植の安全性・可能性を評価し、統括報告書を作成予定であり、拡張型心筋症に対する筋芽細胞シート治療の高度医療化を行う予定である。また、当初の目的であった本細胞シート治療の企業治験申請も達成した。また、植え込み型新規定常流補助人工心臓への植え替え治療“Bridge to Bridge”は、心臓移植まで安全にかつ合併症なく自宅待機できる可能性が示唆され、今後補助人工

心臓を用いた“Bridge to Transplantation”治療に有意義な治療であると思われる。さらに、本研究で開発した“Bridge to Bridge”, “Bridge to Transplantation”治療をベースとした“Bridge to Recovery”治療を、小児心不全患者にも応用していく予定であり、現在プロトコールを作成している。

今回の検討にて、脂肪間葉系幹細胞由来心筋芽細胞も、大動物実験のより臨床効果を有することが確認され、同細胞の安全性、および品質においても GMP 対応であり、今後の臨床応用が待たれる。また、細胞を用いた治療の臨床研究において、safety and feasibility study の目標症例数や臨床効果を解析できるスタディデザインを模索することができた。

#### E. 結語

本プロジェクトにより、細胞シート治療の安全性、可能性が示されるとともに、新しい植え込み型定常流人工心臓と細胞シートを用いた新しい心不全治療の可能性が示され、企業治験につなげることができた。今後、心筋芽細胞シートの臨床応用を目指し、さらに治療効果を高める方法を模索する予定であり、品質を担保された心筋芽細胞の臨床応用も今後検討する予定である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

各分担者の項参照

##### 2. 学会発表

各分担者の項参照

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

各分担者の項参照

##### 2. 実用新案登録

各分担者の項参照

#### 3. その他

各分担者の項参照



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

研究分担者 大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科 宮川 繁

国立循環器病研究センター小児心臓外科 市川 肇

研究要旨

拡張型心筋症に対する新たな治療法として、再生細胞治療法を实践、先進医療化、ひいては保険医療化することを本研究の目的とする。前臨床研究として、重症心不全モデル動物に対して、血管ネットワークを豊富に持つ大網と筋芽細胞シート移植の臨床効果、及び血管新生を促す薬剤と筋芽細胞シートを用いたコンビネーション治療の検討を行った。また、筋芽細胞シート移植の臨床研究を重症心不全患者に対して行い、次世代の bridge-to-recovery 再生医療としての確立を目指した。また、拡張型心筋症患者に対する、植え込み型人工心臓を用いた安全で、QOL の高い Bridge to Transplantation 治療を实践し、ひいてはヒト幹細胞臨床研究指針ののっとり、人工心臓装着重症心不全患者に対する筋芽細胞シート移植を行い、Bridge to Recovery 治療を行った。

A. 研究目的

これまで、我々は、心不全に対する新しい治療法として、筋芽細胞シート移植法を開発し、現在、左室補助人工心臓を装着した心不全患者に対する筋芽細胞シート移植治療プロトコールと左室補助人工心臓を装着する以前の段階の心不全患者に対する筋芽細胞シート移植治療プロトコールの2つの臨床研究を行っている。

今回の研究の目的は、本治療法をヒト心不全患者に行い、本治療法の安全性、可能性を検討すること、および前臨床研究として、大動物心不全モデルに対する血管新生を増幅した新しい細胞シート移植治療法の開発を行うことである。

また植え込み型補助人工心臓を用いた、自宅にて安全に心移植待機できる Bridge to Transplantation 治療を確立するとともに、移植待機中に再生型治療を用いた Bridge to Recovery 治療を行えるような新しい臨床プロトコールを模索した。(図1)

B. 研究方法

1. 当院にて左室補助人工心臓を装着した拡張型心筋症患者に対して、骨格筋採取を行い、当院未来医

療センターの Cell processing center にて、GMP 基準を満たす筋芽細胞を単離し、温度応答性培養皿を用いて、筋芽細胞シートを作成する。

2. 左室補助人工心臓を装着していない心不全患者に対して、1と同様に骨格筋を採取し、筋芽細胞を単離培養し、筋芽細胞シートを作成する。

3. 新規植え込み型定常流人工心臓を装着し、筋芽細胞シート移植を行い、細胞シートによる人工心臓よりの“Bridge to Recovery”を目指す。また、体外式人工心臓より植え込み型定常流人工心臓への入れ替えを行い、安全に循環動態を維持しながら心臓移植まで自宅にて待機できるような、“Bridge to Transplantation”への橋渡し治療を行う。

4. 血管新生を促す大網、またはプロスタグランジン製剤を筋芽細胞シートとコンビネーションさせ、同コンビネーション治療を、大動物心不全モデルに施行し、心

臓超音波、組織学的検討を行い、その効果を解析する。

(倫理面への配慮)

筋芽細胞シート移植法に関しては、大阪大学医学部倫理委員会、および大阪大学附属病院未来医療センターにて、本プロトコルの倫理性、妥当性に関して十分な議論が行われている。また、厚生労働省ヒト幹細胞委員会においても、本臨床研究は認可を受けている。まだ認可を受けていない植え込み型定常流人工心臓は、医師主導のもとに使用されており、既存の体外式補助人工心臓を本人工心臓に入れ替えるプロトコルも、本学倫理委員会にて承認を受けている。患者へのインフォームドコンセントに関しても、各種倫理委員会にて認可を受けた書面にて、承諾を得ている。

また、動物実験においても、大阪大学より承認を受け、実験を行った。

## C. 研究結果

### 1. 心不全患者に対する筋芽細胞シート移植治療

#### 1-1. 左室補助人工心臓を装着した重症心不全患者に対する自己筋芽細胞シート移植

左室補助人工心臓を装着した患者4例より、骨格筋を安全に採取を行うことが可能であった。大阪大学附属病院未来医療センターの Cell processing center にて、臨床プロトコルに使用可能であるレベルの筋芽細胞を得ることが可能であり(表1)、1人当たり計24枚の筋芽細胞シートを作成可能であった。本筋芽細胞シートを4名の患者に安全に移植することが可能であり、臨床効果も認められた(図2)。単離された筋芽細胞の培養上清中のサイトカイン濃度を検討したところ、様々な血管新生サイトカイン濃度が上昇しており、特に、肝細胞増殖因子(Hepatocyte Growth Factor)、VEGFの産生が顕著であった(図3)。

3症例において左室容積の縮小化、左室収縮能の改善、BNPの低下、心室性不整脈の減少を認め、大阪大学循環器内科・心臓血管外科との合同カンファレンスにて、人工心臓よりの離脱が可能であると判断され、

人工心臓より3例離脱した。うち、2例は順調にカテコラミンを減量することができ、強心剤より離脱することができ、現在自宅にて療養中である。1例目は、離脱してから3年近く経過しているが、臨床症状もなく、心機能も維持されている。もう一例は、左室補助人工心臓より離脱できたが、輸血の副作用等があり、植え込み型人工心臓を再装着となった。植え込み型人工心臓装着後、術後経過良好で、現在自宅にて移植待機中である(図2)。

1例は、筋芽細胞シート移植にて心機能の向上を認めず、約2年間心移植待機し、昨年末に心臓移植を受けた。摘出した筋芽細胞シート治療を受けた心臓を観察すると、筋芽細胞シートを移植した部位において、非移植部位、及び人工心臓を装着した際の筋芽細胞シート移植前の検体と比較して、血管密度は高く(図4)、心筋細胞のデスミンの染色性も良好であった。また、移植前の検体の Connexin43 の発現を検討したところ、Connexin43 の発現は diffuse であり、蛋白量の低下していた。一方、筋芽細胞シートを移植した患者では、Connexin43 の発現の局在性は明瞭であり、発現量も向上していた(図5)。fast type myosin heavy chain(MHC) をマーカーとする筋芽細胞を免疫染色にて確認したところ、fast type MHC 陽性の細胞は認められなかった。GCH 解析にて、ゲノム異常を解析したところ、筋芽細胞シート移植検体にゲノム異常は認めず、筋芽細胞シートの安全性が示唆された(図6)。また、測定可能であった症例2例において、アンモニア PET による心筋組織への血液灌流量を測定したところ、1例は筋芽細胞移植前と比較して、移植後に血液灌流量の向上を認めたが、他1例は血液灌流量の向上を認めなかった(図7)。

#### 1-2 左室補助人工心臓を装着していない重症心不全患者に対する自己筋芽細胞シート移植

名の心不全患者より、下肢骨格筋を採取し、筋芽細胞を GMP 基準のもと、問題なく単離することができ、本臨床プロトコルに使用できる純度、細胞数の筋芽細胞を回収可能であった(表1)。また、温度応答性培養皿を用いて平均して24枚/人の筋芽細胞シートを

作成することができた。

9名の重症心不全患者(拡張型心筋症患者3名、虚血性心筋症患者6名)に筋芽細胞シートを移植した(表2)。9名とも重症の心不全であるため、骨格筋採取後、植え込み型人工心臓の補助を必要する可能性が考えられるため、本患者の心不全治療用に植え込み型人工心臓を待機させた。

9例の症例のうち、5例が半年の観察期間を終了した。全ての症例において、筋芽細胞シート移植に起因すると思われる有害事象は認められず、筋芽細胞移植を行った全例において、治療を完遂することができた。懸念されていた重篤な心室性不整脈は検出されず、本データは筋芽細胞シート移植の安全性を担保しているものと思われる。

観察期間が終了した虚血性心筋症3症例において、左室 reverse remodeling 効果を示し(表3)、症状の回復も認めた(表4)。

虚血性心筋症3症例において、左室容量の低下、左室収縮力の向上、壁応力の低下、臨床症状の改善が認められた症例が1例、左室容量、左室収縮力に変化は認められなかったが、壁応力の低下、臨床症状の改善を認めた症例が1例、左室容量の減少と臨床症状の緩和が得られた症例が1例あり、心不全の重症度によって、筋芽細胞シート移植後のレスポンスが違っていることが判明した(表3、4)。虚血性心筋症3例において、アンモニアPETによる心筋血液灌流量を定量化した。3症例中2症例において、筋芽細胞シート移植前と比較して、心臓全体の血液灌流量の増加を認めた。特に、筋芽細胞シート移植を行った左室側壁の血液灌流量の向上が著しかった(図8)。

観察期間が終了した拡張型心筋症2症例において、1例はカテコラミンを持続注入されていた症例であった。筋芽細胞移植後、造影CT検査にて、左室容量、収縮能に変化は認められなかったが、右室容量、右室収縮能の向上を認め、最終的にカテコラミンより離脱することができた。現在では、仕事に復帰しており、QOLの向上を認めている。他の1例においては、左室収縮能に向上は認められなかったものの、左室容

量の減少、臨床症状の改善を認めた(表5、6)。

これまで観察終了となった患者の臨床効果を検討すると、術前より左室機能が極めて低下し、左室の線維化が高度に進行した超重症心不全群においては、左室機能の向上、左室容量の低下といった左室の reverse remodeling 効果を得ることは難しいが、臨床症状の改善は顕著であった。また同症例群においては、右心機能を廃絶した症例が多いが、左室と比較して、筋芽細胞シート移植により右室機能が回復してくる症例が見受けられ、臨床症状の改善は、右室機能の向上の他、心不全による病的な肺血管、肺実質の改善による可能性もあり、今後同治療法の臨床効果判定には、グローバルな視野が必要であるものと思われる。また、心不全が中等度の患者においては、左室収縮能改善、左室容量の減少、左室壁応力の減少が認められ、また臨床症状の改善も認められるが、臨床症状の改善においては、超重症心不全患者と比較すると軽微であった。(図9-1、-2、-3、-4)

現在4症例を経過観察中であり、本研究終了までにあと4例の患者への筋芽細胞シート移植を予定している。

## 2. 細胞シートを用いた新しい再生治療研究—前臨床研究—

今回、我々は、筋芽細胞シート移植の臨床研究を行っているが、心機能が極めて悪く、心筋組織が高度な線維化を呈している不全心においては、筋芽細胞シートの心筋再生効果が低いことが予測できた。筋芽細胞シートの効果を増幅するためには、シート移植時に、なるべく沢山の細胞を生着させることが重要であり、そのためには、血管を再生させ、移植した細胞の血流を維持すると同時に、移植細胞の脱落の主要な原因である炎症を緩和させることが必須であるものと考えられる。そこで我々は、筋芽細胞シートと大網とのコンビネーション治療、およびプロスタグランジン製剤と筋芽細胞シートとのコンビネーション治療の前臨床研究を行った。

### 2-1. プタ慢性期梗塞モデルに対する筋芽細胞シ

## ートと大網のコンビネーション治療

自己筋芽細胞シートを作成し、筋芽細胞シートを大網で覆って、ブタ慢性期梗塞モデルに移植した。筋芽細胞シートと大網を同時に移植したコンビネーション治療群においてはコントロール、筋芽細胞シート単独群と比較して、著明な血管新生を伴って、筋芽細胞シートが梗塞心に生着し、生着した細胞は移植後8週間にて損失されなかった。超音波にて機能を解析したところ、コントロール群、筋芽細胞シート単独群と比較し、心機能向上効果は増幅された。また、筋芽細胞シートの心機能向上のメカニズムである血管新生サイトカインによるパラクライン効果は、筋芽細胞シートと大網移植のコンビネーション治療群にて、最も高かった(図10)。高感度CTにて、大網の血管は、レシピエント心筋に延長し、新生血管は虚血心筋を灌流していることが判明した(図11)。大網を用いた本移植法は、多量の細胞シートを血管を構築しながら、心臓に移植できる画期的な方法であり、今後の臨床応用が期待できるものと思われる。

### 2-2. プロスタグランジン製剤投与と筋芽細胞シート移植のコンビネーション治療

イヌに対して高速ペーシングを行い、拡張型心筋症モデルを作成した。プロスタグランジン製剤を拡張型心筋症イヌの心筋に直接投与し、同部位に筋芽細胞シートを移植した。このプロスタグランジン製剤は、*in vitro*にて、平滑筋細胞、血管内皮細胞に作用し、様々なサイトカイン(肝細胞増殖因子等)を発現させ、様々な臓器に作用することが知られている。この薬剤と筋芽細胞シートを拡張型心筋症イヌに投与し、その治療効果を検討した。

プロスタグランジン製剤のみを投与した群では、投与部位に一致して、局所機能が向上した。一方、筋芽細胞シートとプロスタグランジン製剤を同時投与した群では、全体的な心機能向上効果が認められた(図12)。

## 3. 植え込み型人工心臓による Bridge to Transplantation の実践

### 3-1. 重症心不全患者に対する植え込み型人工

## 心臓の装着

これまで、例の拡張型心筋症患者に対して、積極的に植え込み型人工心臓を装着し、うち15名は退院することが可能であり、現在自宅にて心移植待機している。本臨床研究にて使用した植え込み型人工心臓は、Dura Heart、Jarvik2000、Heart wear である。Dura Heart、Jarvik2000 に関しては、すでに日本において治験を行われており、Heart wear は世界的に最も使用されている人工心臓であるが、日本での治験は行われていない。本臨床研究にて、Heart wear が Bridge to transplantation に大きな寄与をする可能性が示され、我々のデータをもとに、今後日本で治験が行われる予定である。

これら植え込み型人工心臓を装着した患者に対して、離脱テストを行っており、植え込み型人工心臓にて左室が unloading され、機能回復が認められた患者に対して、積極的に筋芽細胞シート移植を行い、Bridge to recovery 治療を行う。

### 3-2. 体外式人工心臓より植え込み型人工心臓への植え替え

これまで、重症心不全における治療として、体外式補助人工心臓のみが保険認可され、各病院で装着されていたが、同人工心臓は感染、脳合併症率も高く、一旦装着すれば、心臓移植まで病院に入院を余儀なくされていた。本プロトコルにて、安全な Bridge to Transplantation を実践するため、これまで体外式人工心臓を装着された患者で、心臓移植まで入院を強いられている患者に対して、植え込み型人工心臓への植え替えを行い、安全に自宅にて心臓移植を待機してもらえるようなプログラムを設定した。本臨床研究にて、5名の体外式人工心臓を装着した患者に対して、植え込み型人工心臓に入れ替え、全例成功し、自宅にて移植待機中である。また、これらの患者に対して、積極的に離脱テストを行い、左室 unloading により左室機能が回復した患者において、人工心臓よりの離脱基準に達しなければ、筋芽細胞シート移植

を積極的に行い、Bridge to Recovery を行う。

### 3-3. 植え込み型人工心臓装着患者に対する人工心臓離脱プログラムの検討

体外式人工心臓装着患者に対する離脱プログラムは当院にて確立されていたが、植え込み型人工心臓における離脱プログラムは世界的にも確立されていない。今後保険医療となり増加していくと考えられる植え込み型人工心臓による Bridge to Recovery 治療を進めるうえで、植え込み型人工心臓における離脱テストの確立は、解決すべき課題である。植え込み型人工心臓装着患者に対して、人工心臓離脱テストを行い、植え込み型人工心臓よりの Bridge to Recovery の可能性を検討した。

定常流式 LVAD においては、流入部・流出部に逆流防止弁が存在しないため、LVAD を完全に停止すると大動脈から左心室への逆流を生じ、著明な心不全を発症する。そのため、定常流式 LVAD では拍動流式 LVAD と違い、完全に LVAD を停止しての LVAD off test を行うことができない。我々は、定常流式 LVAD の設定をデバイスの最低回転数まで低下させることで自己心に負荷をかけ、さらに生理食塩水によって心臓に容量負荷をかけて、それらに対する反応を分析し、拍動流式 LVAD の off test で得られた data と比較することで、定常流式 LVAD の離脱基準作成を試みた。以下に本プロジェクトで確立した定常流 LVAD の離脱テストの方法を記載する。

#### ① 検査方法

LVAD による unloading と薬物治療を原則として 3 ヶ月間行った後にカテーテル検査室にて LVAD off test を行う。橈骨動脈または大腿動脈に動脈圧ラインを挿入、右大腿静脈より透視下に Swan-Ganz カテーテルを挿入する。Swan-Ganz カテーテルは右内頸静脈からの挿入も可能だが、同時に心エコーを行う必要があるため鼠径部からの挿入が望ましい。ヘパリンの投与は行わない。LVAD の回転数を段階

的に最低回転数まで下げていき、各ポイントにおける血行動態・心機能の計測を行う。最低回転数では、5 分間その回転数で運転したのちに計測を行う。LVAD の回転数は DuraHeart では Baseline、1500rpm、1350rpm、1200rpm (最低回転数)、HeartMate II では Baseline、8000rpm、7000rpm、6000rpm (最低回転数) とする。回転数を低下する過程で、患者の自覚症状の著明の悪化を認めた場合はその時点で終了する。

#### ② 水負荷試験

最低回転数での計測終了後、(1) PCWP の 10mmHg 以上の上昇、(2) LVEF の 10%以上の低下、(3) 本人の自覚症状の悪化のいずれも認めなかった場合に、最低回転数のままで水負荷試験を行う。水負荷試験は、10mL/kg/min の生理食塩水を中枢ルートより 15 分間手押しで注入する。水負荷開始後 3 分、6 分、9 分、12 分、15 分の各ポイントで計測を行う。

#### ③ 計測項目

各ポイントにおける計測項目は以下のとおりである。

1) Baseline、最低回転数、水負荷 15 分

LVAD flow, HR, BP, PAP, PCWP, RAP, thermo CO/CI, Fick CO/CI, LVDd, LVDs, LVEF, PA SaO<sub>2</sub>, Ao SaO<sub>2</sub>

2) 1)以外のポイント

LVAD flow, HR, BP, PAP, PCWP, RAP

以上の方法を用いて、埋め込み型人工心臓 6 例の離脱テストを行った。結果は以下のとおりであ

る。

- 1例において、LVAD 回転数を最低回転数まで下げた際に息切れと胸部圧迫感が出現したため、水負荷試験を行わずに終了した。
- 他5例においては、水負荷試験まで行い終了。特に症状の出現を認めなかった。
- LVAD 離脱 テストに起因した合併症を認めなかった。
- 症状が出現した症例においては、PCWP が 7mmHg (baseline)から 32mmHg (最低回転数)まで上昇した。
- そのほかの症例においては、水負荷試験において PCWP の上昇を認める症例とあまり変化しない症例があり、水負荷に対する各計測値の反応は、拍動流式 LVAD における off test 時と類似していた。
- Toyobo LVAD から DuraHeart に移行した1症例において、Toyobo LVAD 装着時に施行した off test の結果と DuraHeart にて施行した off test の結果を比較すると、計測の各ポイントにおいて類似した結果が得られた。(図13) 本患者は Toyobo LVAD 装着後、筋芽細胞シートを移植し、心機能の向上を認めたため、LVAD よりの離脱を試みたが、LVAD よりの離脱後、輸血によるショックにて、植え込み型人工心臓を再装着した患者である。

## 2) 6例の検査結果から得られる考察

定常流式植込み型 LVAD においても、LVAD 離脱テストは安全に施行し得ることが示された。定常流式植込み型 LVAD において各デバイスの最低回転数まで LVAD 補助を減じることで、自己心に対して、拍動流式 LVAD を完全に停止させた時と同様な負荷をかけることができると考えられた。また、水負荷試験における各指標の変化は、拍動流式 LVAD における水負荷試験と同様に心機能（特に拡張機能）の指標となりうると思われた。現在 6

症例と症例数が少なく、また実際に LVAD から離脱し得た症例がないため、今後さらに症例数を増やして検討を重ねる必要はあるが、定常流式植込み型 LVAD においても LVAD 離脱基準を作成できる可能性が示唆された。本離脱テストの結果をもとに、筋芽細胞シート移植の適応の可否を決定し、積極的に筋芽細胞シート移植治療を行う予定である。

## D. 考察

筋芽細胞シートの臨床研究においては、安定に GMP 基準を維持した筋芽細胞シートを作成することが可能であり、また、左室補助人工心臓を装着した患者に移植可能であった。移植した4例において、2例の患者が左室補助人工心臓より離脱可能であり、本プロトコールは筋芽細胞シートの safety and feasibility study であるが、ある程度の有効性も推測できるものと思われた。今後、その筋芽細胞シートの安全性および機能の解析を行う予定であるが、問題点は、筋芽細胞シートの心臓への移植方法であると考えている。今後、筋芽細胞シート移植のデバイスの開発や、もしくは、今回の前臨床試験で行った大網を移植支持体とした細胞シート移植法の臨床応用が有用であると考えている。また、大網を移植支持体とした移植方法は、大動物で行った実験であり、今後その詳細なメカニズムを小動物心不全モデルにても検証する必要があるものと思われる。

今年から虚血性心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植の企業治験が開始されるが、エンドポイントをどう設定するかが重要であるものと考えられる。年度 班による心不全治療薬の効果判定に関するガイドラインが発行されたが、主要なエンドポイントとして、Ejection fraction といった左室収縮能をエンドポイントに設定するよりも、生活の質改善、症状の改善、生命予後を延長をエンドポイントに設定すべきであることが明記されているが、いかにして生活の質、症状の改善を評価するかが問題であり、今後の検討を要するものと思われる。また、生命予後の延長に関しては、心不

全治療薬の最も重要な使命であるものと思われ、積極的に本治験のエンドポイントとして設定すべきであると考えられる。しかし、生命予後の改善を証明するには、長期間の観察が必要であるので、生命予後を予測しうる指標、例えば左室収縮末期容量等のパラメータにより、生命予後に関する筋芽細胞シートの有効性を設定すべきと考えられる。本臨床研究より、左室収縮能の改善は得られていない症例においても、6分間歩行や身体活動表による生活の質、運動耐用能の改善は得られており、心収縮能の改善のみに頼らないエンドポイントの設定が重要であるものと思われる。

また、本臨床研究にて得られた成果をもとに、テルモ社による企業治験申請が受理され、この春より治験がスタートすることが決定した。再生医療のかかわる治験は本邦では極めて少なく、本臨床研究をもとに、企業治験まで到達できたことは意義が大きいものと思われる。

今回、大網を移植支持体とした前臨床研究を行い、その有用性を示したが、対象患者が重症心不全患者であるため、できるかぎり低侵襲な治療法を開発することが重要なポイントであるものと思われる。移植した筋芽細胞に対する blood perfusion 効果を持つ大網のかわりに、強力な血管新生効果を持つ薬剤とのコンビネーション治療も、治療の低侵襲化から鑑みるに、有効な手段であるものと考えている。今後、前臨床研究にて行った新規治療法の臨床応用化を考え、研究を進めていく必要がある。

また、本治療法の高度先進治療申請も、本プロジェクトの一つの目標として掲げており、現在の safety and feasibility study を参考に、高度先進医療化を行うこととする。本プロジェクトは、高度先進医療化だけではなく、筋芽細胞シートの小児心不全への適応も目標としており、来期は、小児心不全への展開も考慮しており、小児心不全における筋芽細胞シート治療のプロトコルを作成中である。

また植え込み型新規定常流補助人工心臓への植え替え治療は、心臓移植まで安全にかつ合併症なく移植待機することが可能であることが示され、今後補助

人工心臓を用いた“Bridge to Transplantation”治療に有意義な治療であるものと思われる。また、このような合併症の少ない人工心臓の補助下に、細胞シートを用いた心筋再生治療が行われれば、新たな心不全治療を開拓できるものと思われる。有効な Bridge to Recovery 治療を達成するためには、植え込み型人工心臓よりの離脱可能性を探る離脱テストを確立することが必須である。今期は、植え込み型人工心臓を装着した患者に対して、積極的に離脱テストを行い、植え込み型人工心臓における離脱テストの方法を確立したが、今後、植え込み型人工心臓装着患者に対する筋芽細胞シート移植治療による Bridge to recovery 治療を行う方針である。

植え込み型人工心臓は、昨年春保険に認可され、特定の施設での植え込みが行われることが予想される。当プロジェクトで確立した植え込み型人工心臓における離脱プロトコルが臨床の現場で多数行われ、再生型治療を中心とした Bridge to recovery 治療に大きく貢献するものと思われる。

## E. 結論

本プロジェクトにより、細胞シート治療の安全性、可能性が示されるとともに、新しい植え込み型定常流人工心臓と細胞シートを用いた新しい心不全治療の可能性が示された。

今後、本プロジェクトで行った前臨床研究をもとに、さらに治療効果を高める新しい再生型治療が、臨床の現場で実施される可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

本プロジェクトにおいて、健康に危険であった事象は認められていない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kainuma S, Sakaguchi T, Saito S, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Sakata Y, Takahashi A, Uehata T, Kuratani T, Sawa Y. Implantation of a Jarvik 2000 left ventricular assist device

- as a bridge to eligibility for refractory heart failure with renal dysfunction. *J Artif Organs*. 2011 Sep 18.
2. Kawamura M, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito S, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Exchange of DuraHeart left ventricular assist device via a subcostal approach. *J Artif Organs*. 2011 Sep 16.
  3. Imanishi Y, Sawa Y(7). Induced adipocyte cell-sheet ameliorates cardiac dysfunction in a mouse myocardial infarction model: a novel drug delivery system for heart failure. *Circulation*. 2011 Sep 13;124(11 Suppl):S10-7.
  4. Shudo Y, Sawa Y(11). Novel regenerative therapy using cell-sheet covered with omentum flap delivers a huge number of cells in a porcine myocardial infarction model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011 Sep 14. [Epub ahead of print] PMID:21924436[PubMed - as supplied by publisher]
  5. Fujita T, Sawa Y(7). Clinical impact of combined transplantation of autologous skeletal myoblasts and bone marrow mononuclear cells in patients with severely deteriorated ischemic cardiomyopathy. *Surg Today*. 2011 Aug;41(8):1029-36.
  6. Imanishi Y, Miyagawa S(2), Saito A(3), Sawa Y(5). Allogenic skeletal myoblast transplantation in acute myocardial infarction model rats. *Transplantation*. 2011 Feb 27;91(4):425-31.
  7. Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Biventricular support using implantable continuous-flow ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant*. 2011 Apr;30(4):475-8. Epub 2011 Feb 3.
  8. Miyagawa S, Sawa Y(3). Tissue-engineered cardiac constructs for cardiac repair. *Ann Thorac Surg*. 2011 Jan;91(1):320-9.
  9. Miyagawa S, Saito A, Sakaguchi T, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Imanishi Y, Kawaguchi N, Teramoto N, Matsuura N, Iida H, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Impaired Myocardium Regeneration With Skeletal Cell Sheets-A Preclinical Trial for Tissue-Engineered Regeneration Transplantation Therapy.
  10. Hata H, Sawa Y(5). Engineering a novel three-dimensional contractile myocardial patch with cell sheets and decellularised matrix. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010 Oct;38(4):450-5. Epub 2010 Mar 23.
  11. Saito S, Matsumiya G, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Kuratani T, Sawa Y. Risk factor analysis of long-term support with left ventricular assist system. *Circ J*. 2010 Mar 25;74(4):715-22. Epub 2010 Feb 17.
  12. Okura H, Matsuyama A, Lee CM, Saga A, Kakuta-Yamamoto A, Nagao A, Sougawa N, Sekiya N, Takekita K, Shudo Y, Miyagawa S, Komoda H, Okano T, Sawa Y. Cardiomyoblast-like cells differentiated from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve left ventricular dysfunction and survival in a rat myocardial infarction model. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010 Jun;16(3):417-25.
2. 学会発表  
【国外学会】
1. Sawa Y. Tissue-Engineered Cell Sheets to Facilitate VAD Wean. 49<sup>th</sup> American Heart Association (AHA) Orland 2011.11.12-16
  2. Shirasaka T. Combined Therapy of Skeletal Myoblast Cell-Sheet Transplantation with Administration of Prostacycline Agonist Makes Left Ventricular Reverse Remodeling on the Impaired Myocardium in Rapid-Pacing Induced End-stage Heart Failure in Canine Heart. 49<sup>th</sup> American Heart Association (AHA) Orland 2011.11.12-16
  3. Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Ueno T, Kuratani T, Saito A, Sawa Y. Myoblast Sheet Implantation Can Prevent the Impairment of Cardiac Diastolic Function after Left Ventricular Restoration by Modulating the Extracellular Matrix Gene Expression. Progress Meeting on International consortium for cardiac tissue engineering Tampere, Finland 2011.8.22-24



4. Shudo Y, Miyaigawa S, Saito A, Sakaguchi T, Kainmuma S, Kuratani T, Sawa Y. Novel Regenerative Therapy Using Cell-Sheet Covered with Omentum Flap to Deliver Huge Numbers of Cells in a Porcine Myocardial Infarction Model. 91<sup>th</sup> AATS (American Association for Thoracic Surgery) Philadelphia 2011.5.7-11
  5. Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Ueno T, Kuratani T, Saito A, Sawa Y. Myoblast Sheet Implantation Can Prevent the Impairment of Cardiac Diastolic Function after Left Ventricular Restoration by Modulating the Extracellular Matrix Gene Expression. 31<sup>th</sup> International Society for Heart and Lung Transplantation San Diego 2011.4.13-16
  6. Yoshiki Sawa. Cardiac Regenerative Therapy. 16<sup>th</sup> International Surgical Symposium cum 2nd West China - CUHK Surgical Forum 中国 2010.11.20
  7. Saito S, Matsumiya G, Miyagawa S, Atsuhiko S, Sawa Y. Myoblast Sheet Implantation can Prevent the Impairment of Cardiac Diastolic Function and Late Remodeling after Left Ventricular Restoration in Severe Ischemic Cardiomyopathy. 47<sup>th</sup> American Heart Association's Scientific Sessions(AHA) Orlando Florida 2009 11.15-18
  8. Miyagawa S, Matsumiya G, Sakaguchi T, Saitoh A, Kawaguchi N, Matsuura N, Iida H, Shimizu T, Teruo O, Sawa Y. Tissue implantation with autologous skeletal cell sheets improves the cardiac performance in the porcine infarct myocardium; A pre-clinical trial for tissue engineered regeneration therapy. 2<sup>th</sup> The Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS ) Soul 2009.8.31-9.3
  9. Saito S, Matsumiya G, Miyagawa S, Saito A, Kuratani T, Ichikawa H, Sawa Y. Myoblast Sheet Attenuates Late Remodeling and Preserves Cardiac Function after Left Ventricular Restoration in Rats. 2<sup>th</sup> The Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS) Soul 2009.8.31-9.3
- 【国内学会】**
1. 宮川 繁, 澤 芳樹. 再生医療を用いた心不全に対するアンチエイジング治療. アンチエイジングフェスタ 2011 大阪 2011.12.2-3
  2. 宮川 繁, 澤 芳樹. 心不全における再生医療の現況. 第 49 回日本人工臓器学会大会 東京 2011.11.25-27
  3. 宮川 繁, 吉川泰司, 坂口太一, 西 宏之, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 樋口貴宏, 首藤恭広, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する自己筋芽細胞移植の効果—症例報告—. 第 15 回日本心不全学会学術集会 鹿児島 2011.10.13-15
  4. Yoshikawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, Saito A, Nishi H, Fukushima S, Saito S, Higuchi T, Shudo Y, Sawa Y. A Scaffold-free myocardial regenerative therapy using the autologous skeletal-muscle-derived cell (SC) sheet implantation for patients with dilated cardiomyopathy. 第 15 回日本心不全学会学術集会 鹿児島 2011.10.13-15
  5. 吉岡大輔, 坂口太一, 宮川繁, 西宏之, 吉川泰司, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 上野高義, 倉谷徹, 澤芳樹. Toyobo 型 LVAD から植込み型 Dura Heart LVAD への conversion の有用性の検討. 第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会 名古屋 2011.10.9-12
  6. 吉川泰司, 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 樋口貴宏, 首藤恭広, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する自己筋芽細胞移植の効果—症例報告—. 第 32 回循環器内科・外科フォーラム 大阪 2011.9.10
  7. 宮川 繁. From Bench to Bedside work in cell sheet-based myocardial regeneration therapy. 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 横浜 2011.8.3-4
  8. 吉岡大輔, 坂口太一, 宮川繁, 西宏之, 吉川泰司, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 上野高義, 倉谷徹, 澤芳樹. Optimal Timing of Left Ventricular Assist Device implantation for Severe Heart Failure Patients. 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 横浜 2011.8.3-4
  9. 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 首藤恭広, 樋口貴宏, 上野高義, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する再生型治療の現状と展望. 第 16 回日本冠動脈外科学会学術大会 長野 2011.7.14-15

10. 吉川泰司, 坂口太一, 宮川 繁, 西 宏之, 福寫五月, 齋藤俊輔, 上野高義, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 虚血性心筋症患者への自己筋芽細胞シート移植の効果. 第54回関西胸部外科学会学術集会 高松 2011.6.30-7.1
11. 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 首藤恭広, 齋藤充弘, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 重症心不全における再生型治療の基礎研究および臨床応用. 第111回日本外科学会定期学術総会 震災の影響により誌上発表 (予定: 東京国際フォーラム 2011.5.26-28)
12. 首藤恭広, 宮川 繁, 齋藤充弘, 坂口太一, 西 宏之, 吉川や牛倉谷 徹, 澤 芳樹. 重症心不全における新しい細胞移植の検討: 細胞シートの大綱を用いた大量細胞移植法. 第111回日本外科学会定期学術総会 震災の影響により誌上発表 (予定: 東京国際フォーラム 2011.5.26-28)
13. 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 齋藤充弘, 首藤恭広, 清水達也, 岡野光夫, 澤 芳樹. 重症心不全に対する筋芽細胞シート of 臨床応用. 第27回日本医工学治療学会学術大会 岡山 2011.4.22-24
14. 澤 芳樹. 弱った心臓は甦る!?. 第10回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2
15. 澤 芳樹. 自己筋芽細胞シートによる心筋再生治療臨床研究. 第10回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2
16. 吉川泰司, 宮川繁, 坂口太一, 齋藤充弘, 西宏之, 福寫五月, 齋藤俊輔, 首藤恭広, 澤芳樹. 左室補助人工心臓装置を要する末期拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第10回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2
17. 宮首藤恭広, 宮川 繁, 齋藤充弘, 坂口太一, 西宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 甲斐沼尚, 清水達也, 岡野光夫, 澤芳樹. 重症心不全における新しい細胞移植法の検討: 細胞シートと大綱を用いた大量細胞移植法. 第10回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2
18. 川 繁, 坂口太一, 西宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 齋藤充弘, 倉谷徹, 澤芳樹. 重症心不全に対する自己細胞による再生医療の展開. 第41回日本心臓血管外科学会学術総会 浦安 2011.2.23-25
19. 吉川泰司, 坂口太一, 宮川繁, 西宏之, 福寫五月, 上野高義, 倉谷徹, 澤芳樹. 重症心不全患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第41回日本心臓血管外科学会学術総会 浦安 2011.2.23-25
20. 首藤恭広, 宮川繁, 齋藤充弘, 坂口太一, 西宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 首藤恭広, 樋口貴宏, 鎌田創吉, 甲斐沼尚, 吉岡大輔, 清水達也, 岡野光夫, 澤芳樹. 重症心不全における細胞シートと大綱を用いた新しい大量細胞移植法の検討. 第41回日本心臓血管外科学会学術総会 浦安 2011.2.23-25
21. 吉川泰司, 宮川 繁, 坂口太一, 齋藤充弘, 西 宏之, 福寫五月, 齋藤俊輔, 首藤恭広, 樋口貴宏, 澤 芳樹. 左室補助人工心臓装置を要する末期拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第39回人工心臓と補助循環懇話会 米子 2011.2.18-19
22. 吉岡大輔, 坂口太一, 宮川繁, 西宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 上野高義, 倉谷徹, 澤芳樹. DuraHeart LVAD weaning test 4例の経験. 第39回人工心臓と補助循環懇話会 米子 2011.2.18-19
23. 澤 芳樹. 心筋パッチ再生治療. 第2回先進医療フォーラム 東京 2011.2.5
24. 澤 芳樹. 心筋生成治療の現状と展望. 第18回日本血管生物医学会 大阪 2010.12.1-3
25. 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福寫五月, 齋藤俊輔, 齋藤充弘, 首藤恭広, 清水達也, 岡野光夫, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 重症心不全に対する筋芽細胞シートを用いた再生治療. 第48回日本人工臓器学会 大会 仙台 2010.11.18-20
26. Yoshiki Sawa. Clinical Experiences with The JARVIK 2000 AXIAL - FLOW PUMP. 第63回日本胸部外科学会 定期学術集会 大阪 2010.10.24-27
27. 坂口太一, 宮川 繁, 西 宏之, 吉川泰司, 山内 孝, 齋藤俊輔, 澤 芳樹. 補助人工心臓を用いた重症心不全に対する集学的治療 Multidisciplinary approach using left ventricular assist devices for severe heart failure. 第63回日本胸部外科学会 定期学術集会 大阪 2010.10.24-27
28. 首藤恭広, 宮川 繁, 齋藤充弘, 坂口太一, 吉川泰司, 山内 孝, 齋藤俊輔, 樋口貴宏, 鎌田創吉, 清水達也, 岡野光夫, 大倉華雪, 松山晃文, 澤 芳樹. 重症心不全における細胞シートと大綱を用いた新しい大量細胞移植法の検討 Cell sheet based myocardial construct with well-developed vasculature network could deliver a large amount of cells to the scar in pig

- myocardial infarction model. 第 63 回日本胸部外科学会 定期学術集会 大阪 2010.10.24-27
29. 澤 芳樹. 心不全治療のみらい. 第 51 回日本脈管学会 総会 旭川 2010.10.14-16
30. 澤 芳樹. 重症心不全に対する筋芽細胞シート治療. 第 14 回日本心不全学会 学術集会 東京 2010.10.7-9
31. Yasuhiro Shudo, Shigeru Miyagawa, Atsuhiko Saito, Taichi Sakaguchi, Yasushi Yoshikawa, Takashi Yamauchi, Sokichi Kamata, Satoshi Kainuma, Satoshi Nakatani, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Yoshiki Sawa. Cell sheet based myocardial construct with well-developed vasculature network could deliver a large amount of cells to the scar in pig myocardial infarction model. 第 14 回日本心不全学会 学術集会 東京 2010.10.7-9
32. 澤 芳樹. 骨格筋芽細胞を用いた心不全治療. 第 58 回日本心臓病学会 学術集会 東京 2010.9.17-19
33. 坂口太一. 重症心不全の治療と心臓移植. 第 53 回関西胸部外科学会 学術集会 名古屋 2010.6.24-25
34. 澤 芳樹. 重症心不全に対する治療戦略. 第 103 回日本循環器学会 北海道地方会 札幌 2010.6.19
35. 澤 芳樹. 重症心不全に対する心筋再生治療. 第 35 回日本外科系連合学会 東京 2010.6.18
36. 澤 芳樹. 重症心不全に対する外科治療. 第 96 回日本循環器学会 中国・四国地方会 米子 2010.6.11-12
37. 澤 芳樹. 心筋再生治療の現状と未来. 第 31 回日本循環制御医学会 大阪 2010.5.28-29
38. Shigeru Miyagawa, Taichi Sakaguchi, Yasushi Yoshikawa, Takashi Yamauchi, Shunsuke Saito, Atsuhiko Saito, Takahiro Shudo, Yoshiki Sawa. From bench to bedside work in cell sheet-based myocardial regeneration therapy. 20<sup>th</sup> World Congress of the International Society for Heart Research (ISHR) 京都 2010.5.13-16
39. 澤 芳樹. 心筋再生治療の現状と展望. 第 26 回日本医工学治療学会 東京 2010.4.2-4
40. 宮川 繁. 坂口太一. 吉川泰司. 山内 孝. 齋藤俊輔. 齋藤充弘. 倉谷 徹. 澤 芳樹. 細胞シート工学を用いた重症心不全に対する再生型治療法の開発. 第 9 回日本再生医療学会 総会 広島 2010.3.18-19
41. 澤 芳樹. ナノ技術による細胞シート工学を応用した心筋再生医療. 第 2 回ナノ・バイオメディカル学会 大阪 2010.2.22
42. 澤 芳樹. 重症心不全に対する再生医療. 橋渡し研究支援推進プログラム市民公開講座 大阪 2010.1.29
43. 澤 芳樹. 重症心不全に対する心筋再生治療. 第 39 回日本創傷治療学会 東京 2009.12.8-9
44. 宮川 繁. 松宮護郎. 坂口太一. 山内 孝. 齋藤充弘. 齋藤俊輔. 首藤恭宏. 今西 悠基子. 倉谷 徹. 上野高義. 清水達也. 岡野光夫. 澤 芳樹. 重症心不全に対する自己細胞組織移植と左室補助人工心臓を用いた集学的心筋再生治療. 第 47 回日本人工臓器学会大会 新潟 2009.11.13-15
45. 坂口太一. Jarvik 2000. 第 15 回日本臨床補助人工心臓研究会 新潟 2009.11.12
46. 澤 芳樹. 重症心不全に対する外科治療戦略. 第 42 回血管研究会 東京 2009.11.5
47. Shigeru Miyagawa, Goro Matsumiya, Taichi Sakaguchi, Takashi Yamauchi, Atsuhiko Saitoh\*, Shunsuke Saitoh, Takahiro Shudo, Yukiko Imanishi, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Yoshiki Sawa. Myocardial regeneration therapy by cell sheet technology for severe heart failure. 第 26 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会 札幌 2009.12.4-5
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
・第 1 回 Heart Failure Summit の開催  
2011 年 1 月にて、Heart Failure Summit を東京新橋にて開催し、厚生労働省官僚、経済産業省官僚、患者、研究者、企業関係者等多数の方が出席された。岡野光夫教授（東京女子医科大学先端生命医科学研究所所長）、小室一成教授（大阪大学

大学院医学系研究科循環器内科)、澤 芳樹 (大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科) を招き、第 1 線の研究者による再生医療の現状の解説、および実際に細胞シート治療や心臓移植を受けた患者に対するインタビュー、フリーディスカッションが行われた (図 14)。多数の出席者より、質問が相次ぎ、本プロジェクトが目指す Bridge to Transplantation、Bridge to Recovery 治療に対する関心の深さ、社会的要望が大きいことが示された。

#### ・第 2 回 Heart Failure Summit の開催

2011 年 12 月 17 日、大阪にて第 2 回 Heart Failure Summit を開催した。筋芽細胞シートを移植した患者、心臓病の子供を守る会会員の方々、医療関係者等様々な分野からの参加者を認めた。宮川分担研究者より本事業の概要、治療成績の発表、神戸大学循環器内科川合教授、大阪大学小児循環器科小垣先生、厚生労働省健康局疾病対策科 中川先生より御講演をいただいた。市民の小児心不全に対する再生治療の要望も多く、今回は、筋芽細胞シートを移植した患者で結成される患者の会を結成し、今後心不全患者間の情報の交換をすすめることとなった (図 15)。

#### ・第 3 回 Heart Failure Summit の開催

2012 年 2 月 14 日東京にて第 3 回 Heart Failure Summit を行った。筋芽細胞シートを移植した患者 3 名、医療関係者、企業関係者、研究者、医師、患者等様々な分野からの参加者を認めた。澤芳樹プロジェクトリーダーより本事業の成果と今後の展開について講演し、大阪大学未来医療センター特任准教授松山晃文先生、東京医科歯科大学循環器内科 磯部光章教授、東京女子医科大学先端生命医科学研究所 岡野光夫所長、北里大学循環器内科 猪又孝元講師、厚生労働省健康局疾病対策科 中川先生より、様々な視点から見た心不全に関する御講演をいただいた (図 16) また、筋芽細胞シート移植を行った患者との座談会が催された。

#### ・重症心不全に対する筋芽細胞シート移植治療の高度医療申請

2011 年 3 月 7 日の厚生労働省にて、重症心不全に対する筋芽細胞シート移植治療の高度医療申請のための事前面談を行い、本治療法の高度先進医療化に関して活発な議論が行われた。

本プロジェクトにおいて得られた知見を基盤として、今回申請を予定している高度医療は筋芽細胞シートの有効性を反映するスタディーデザインである必要があり、現在、有効性を判定できるようなプロトコールを作成している。また、拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植治療の高度医療化を目指して、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プロトコールの統括報告を作成中であり、本報告書が完成次第、そのデータをよりどころとして、高度医療申請を行う予定である。

また、本研究より得られたデータを基にして、虚血性心筋症に対する筋芽細胞シート移植治療の企業治験が PMDA に提出され、スタディーデザインの合意は得られ、は終了しており、本年夏ごろには、治験を開始予定である。