

術後先天性心疾患の臨床疫学調査に関する研究

研究分担者 佐野俊二 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科教授

研究要旨

心臓手術を受けた左心低形成症候群の予後経過は年単位での評価が必要で、臨床症状出現時には多くの症例において、既に心不全病態は完成しており、再手術や心臓移植の適応となることが多い。本研究により心臓手術を受けた時に採取した余剰組織を用いて、疾患特異的iPS細胞を樹立することにより、希少で原因不明であり根治的治療法が未確立な小児重症心疾患に対して、手術後早期に予後予測する方法を開発する。

A. 研究目的

機能的単心室症は先天性複雑心奇形の一つで、左心低形成症候群をはじめ、二つの心室のうち一つが正常な発育形態を示さず、二つの心室流入路を持つが、房室弁のどちらか一つが完全に閉鎖している循環動態を示す心臓である。両心室とも通常に発達し、心室中隔の形成が不良の症例は除くと規定されている。兄弟や子孫への遺伝を規定する因子は不明で、その確率は約2～5%とされている。

第1期手術による1年累積生存率は、その術式によってやや異なるが、約80%と報告されているが、術後5年目までに約半数の症例で肺動脈内に狭窄をきたし、stentによる再拡張や肺動脈形成術を必要とする。また、第1期手術に生存した症例の中で、第2期手術(Glenn手術)まで到達できた症例でも、長期予後で見ると、継続的に減少し、8年目での生存率は70%といわれている。

さらに、第3期手術であるFontan術まで行われた症例の中で、心不全死や心臓移植を免れた長期生存率は、最近の手術式の改良により、有意に改善してきてはいるものの、25年の観察期間で見ると、50-70%まで、依然として継続的に低下していることが容易わかる。最も重要なことは、Fontan手術を受けた症例の20歳以降の長期における心事故回避率は極めて不良で、30歳までに約半数の症例で心不全や不整脈などによる心関連事故が発症することになる。

これまで多くの臨床研究の報告により、GlennやFontan手術における予後予測因子が検討されたが、術前ハイリスク群や手術後も心機能が回復しない症例は、最終的に心臓移植に頼らざるを得ないのが現状である。Fontan手術を施行できなかった小児心不全や術後に心機能が改善しなかった症例において、心臓移植を行った症例についての

長期成績を見ると、単心室循環を伴わない心臓移植群に比べ、有意に予後不良であることが明らかになった。

致死性心不全を伴う先天性心疾患に特異的なiPS細胞を用いた研究はこれまでに報告がない。これまでの研究は疾患発症後における染色体や遺伝子変異の解析が中心で、特定の疾患家系が存在しない孤発性の左心低形成症候群において、疾患の発症規定遺伝子の同定は極めて困難であった。本研究によって、これまで原因不明とされてきた左心低形成症候群の本質的病態解明と予後規定因子の同定につながる。

B. 研究方法

先天性心疾患のうち、機能的単心室症は症状が重篤なため、一医療機関当たりの患者数は多くはない。分担研究者らが統括する岡山大学病院心臓血管外科及び小児循環器科における適格基準に該当した年間あたりの手術実績症例数や外来紹介患者数は約30～40例である。

2013年度に心臓手術による余剰組織を提供し得た合計10症例に対して、疾患特異的iPS細胞を樹立し、組織提供者の臨床疫学的追跡調査を行う。

具体的には以下の諸項目について術前ならびに術後長期にわたって詳細に検討する。

1. 第1期手術における長期予後規定因子

左心低形成症候群を含む機能的単心室症は、当初その手術成績は芳しくなかったが、様々な手術方法の改良により、その術後急性期死亡率は10%以下まで低下し、血行動態の改善に伴う全身管理が容易になったが、長期での追跡調査により、以下に示すようないくつかの予後規定因子が明らかとなった。

1) 僧房弁狭窄症と大動脈弁閉鎖症の合併例

- 2) 心駆出率が50%以下の症例
- 3) 右鎖骨下動脈の解剖学的に異常な走行
- 4) 術中における体外循環時間の長さ

2. 第2期手術における長期予後規定因子

二方向性大静脈—肺動脈吻合(Glenn手術)は、機能的単心室症の中期的管理において、有効な第2期シャント術であるが、最終的な修復手術であるFontan手術までの心機能や予後改善を規定するいくつか重要な寄与因子が検討され、これまでに報告されてきた。

- 1) 房室弁逆流の存在
- 2) 心室拡張末期圧 >12mmHg
- 3) 平均肺動脈圧格差 >9mmHg
- 4) 平均肺血管抵抗 >2U m²
- 5) 平均肺動脈圧 >18mmHg
- 6) 肺動脈への側副血行路の存在
- 7) 心室径の拡大

3. 第3期手術における長期予後規定因子

第3期修復術として、Fontan手術は極めて有効なシャント術であるが、一定の症例において本手術実施後においても、心機能が改善せず、死亡または心臓移植の適応となるケースが存在する。いくつかのretrospective studyによって、その重要な予後規定因子が報告されてきた。

- 1) 左心低形成症候群に属する単心室症例
- 2) 蛋白漏出性腸症合併例
- 3) 肺血管抵抗が高い症例
- 4) 右房圧が高い症例
- 5) 右室型の単心室症例
- 6) 術後心室内に血栓形成した症例
- 7) 術後アスピリンなどの抗血小板や抗凝固療法を併用していない症例

これらの既報の予後規定因子を含め、心臓手術後における心不全症状の再燃や心不全死の有無を中心に、iPS細胞の機能解析した全症例に関する房室弁逆流の遅発性発症や蛋白漏出性腸症の合併について追跡調査する。

また、「難病関連研究分野」のうち、「次世代遺伝子解析による希少難治性循環器疾患の診断治療法の開発」の一般研究班と連携し、解析データの提供と共同研究を進める。全国の専門家からなる左心低形成症候群に関する研究班を立ち上げ、研究成果を評価する。

(倫理面への配慮)

本研究に携わるすべての者は、ヒトを対象とする全ての医学研究が準拠すべき「世界医師会ヘルシンキ宣言」(1964年第18回世界医師会ヘルシンキ総会で起草、2008年10月WMAソウル総会で最新修正)を順守して行う。

疫学研究の適正な推進のため、「疫学研究に関する倫理指針」(平成20年12月1日一部改正)を順守し、研究対象者の個人の尊厳と人権を守る。

各関係者は臨床研究を遂行にあたり、「臨床研究に関する倫理指針」(平成20年厚生労働省告示第415号)を遵守して行う。

ヒト心臓組織の入手は、外部委員を含めた岡山大学倫理委員会にて審査承認されたプロトコル(承認766号)に従順し、「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について」(平成10年厚生科学審議会答申)を遵守する。患者さんへのインフォームドコンセントを徹底して行い、患者さんの同意のもと不要となった余剰組織を研究開発に使用する。

個人情報の保護を最優先し、ヒト組織の取り扱いに関する資料の提出及び調査には積極的に協力する。また、提供していただいたヒト組織は幹細胞の分離のみに全て使用し、倫理委員会で承認されていない研究目的には一切使用しない。

臨床疫学研究に参加する患者さんへのインフォームドコンセントを徹底して行い、研究内容に関する説明と理解を得る。同意書原本は説明文書と共にカルテに添付して岡山大学病院で保管する。同意の撤回が生じた場合は、同意撤回文書を岡山大学病院にも提出する。

C. 研究結果

申請した研究計画通りに、平成25年度内に合計10症例の先天性心疾患由来の術中に入手した余剰組織を提供し疾患特異的iPS細胞の樹立に協力した。

樹立した個々のiPS細胞の機能解析から、心臓の初期発生に関与するNKX2-5、HAND1、HAND2、房室管と弁形成に関与するTBX2、NOTCH1、HEY1、HEY2、左室流出路形成に関与するNOTCH1、HEY1、HEY2の発現が著明に抑制されていることを明らかにした。これらの諸因子群の発現パターンは左心低形成症候群の解剖学的異常と一致しており、病態形成の分子機構について明らかにした。

これらのうち、NKX2-5、HAND1、NOTCH1が心筋構造蛋白の転写制御に深く関わり、心臓手術後に発症する遠隔期心不全や各種合併症の惹起に関与している可能性の知見を得ることができた。今後長期における心臓手術後における心不全症状の再燃や心不全死の有無を中心に、iPS細胞の機

能解析した全症例に関する房室弁逆流の遅発性発症や蛋白漏出性腸症の合併について臨床疫学的追跡調査を行う。

D. 考察

複雑心奇形の病態は単一遺伝子の異常では説明できない疾患が多く、疾患特異的iPS細胞の樹立を用いた病態解析法はこれまでに明らかにできなかった先天性心疾患の発症機序の解明や術後予後を予測することを可能にした。

本研究で同定したNKX2-5, HAND1, NOTCH1といった候補転写因子群を基軸に、心臓手術後の長期予後調査研究とiPS細胞を用いた疾患病態の研究成果を融合させ、新しい医療法の確立および普及を図る。

E. 結論

2013年度に開始した本研究により、先天性心疾患の術後成績に關与し候補となる3つの心臓特異的転写因子群(NKX2-5, HAND1, NOTCH1)の同定に成功した。これらの術後症例に関して、主たる遅発性心不全の起因となる房室弁逆流や蛋白漏出性腸症の合併を臨床疫学的に追跡調査することで、集約的な病態制御の構図を具体的に確定し、難治性疾患の予後診断法として臨床的に確立していく。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takaya Y, Taniguchi M, Akagi T, Nobusada S, Kusano K, Ito H, Sano S. Long-term effects of transcatheter closure of atrial septal defect on cardiac remodeling and exercise capacity in patients older than 40 years with a

reduction in cardiopulmonary function. *J Interv Cardiol*. 2013 Apr;26(2):195-9.

Ohno N, Ohtsuki S, Kataoka K, Baba K, Okamoto Y, Kondo M, Sano S, Kasahara S, Honjo O, Morishima T. Usefulness of balloon angioplasty for the right ventricle-pulmonary artery shunt with the modified Norwood procedure. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013 Apr;81(5):837-42.

Takaya Y, Akagi T, Kijima Y, Nakagawa K, Taniguchi M, Ohtani H, Sano S, Ito H. Transcatheter closure of right-to-left atrial shunt in patients with platypnea-orthodeoxia syndrome associated with aortic elongation. *Cardiovasc Interv Ther*. 2014 Jan 31. [Epub ahead of print]

Tarui S, Sano S, Oh H. Stem cell therapy in patients with single ventricle physiology. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*, 2014 (in press).

Ündar A, Wang S, Palanzo D, Weaver B, Pekkan K, Agirbasli M, Zahn JD, Luciani GB, Clark JB, Wilson RP, Kunselman AR, Sano S, Belli E, Pierce WS, Myers JL. Outcomes of the ninth international conference on pediatric mechanical circulatory support systems and pediatric cardiopulmonary perfusion. *Artif Organs*. 2014 Jan;38(1):5-10.

Sano S, Fujii Y, Kasahara S, Kuroko Y, Tateishi A, Yoshizumi K, Arai S. Repair of Ebstein's anomaly in neonates and small infants: impact of right ventricular exclusion and its indications. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2014 Mar;45(3):549-55. Tateishi A, Kasahara S, Kawabata T,

Kuroko Y, Yoshizumi K, Takagaki M, Arai S, Sano S. The effect of pulmonary root translocation on the left ventricular outflow tract. *Ann Thorac Surg*. 2013 Oct;96(4):1469-71.

Kanamitsu H, Fujii Y, Mitsui H, Sano S. Effects of atrial natriuretic peptide after prolonged hypothermic storage of the isolated rat heart. *Artif Organs*. 2013 Nov;37(11):1003-8.

Kijima Y, Akagi T, Nakagawa K, Taniguchi M, Ueoka A, Deguchi K, Toh N, Oe H, Kusano K, Sano S, Ito H. Catheter closure of patent foramen ovale in patients with cryptogenic cerebrovascular accidents: initial experiences in Japan. *Cardiovasc Interv Ther*. 2014 Jan;29(1):11-7.

黒子洋介、佐野俊二 先天性心疾患 完全大血管転位症 今日の循環器疾患 治療指針 pp531-532, 2013.

服部 滋、吉積 功、川畑拓也、新井禎彦、笠原真悟、佐野俊二 先天性右室瘤の外科治療：乳児期に急速な瘤拡大を示した1例 日本小児循環器学会雑誌, 29:194-199, 2013.

樽井俊、佐野俊二、王 英正 心筋幹細胞を用いた先天性心疾患に対する心筋再生医療 月刊循環器 9月号 3(9): 69-76 医学出版(2013)

2. 学会発表

Kasahara S, Goto T, Okuyama M, Hirata M, Kobayashi J, Tarui S, Ishigami S, Kawabata T, Kuroko Y, Masuda Z, Zenichi, Yoshizumi K, Arai S, Sano S. SURGICAL RESULTS FOR THE PATIENTS WITH FUNCTIONAL SINGLE VENTRICLE

HAVING HIGH PULMONARY ARTERY PRESSURE ASCVTS 2013 2013.4.4.7. 神戸

Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Takahashi K, Iribe G, Naruse K, Kasahara S, Sano S, Oh H Factors-based human cardiomyocytes differentiation exhibits incomplete maturation and excitation through aberrant calcium handling proteins The 21st Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4.4.7 神戸

Junko Kobayashi, Masashi Yoshida, Suguru Tarui, Masataka Hirata, Ken Takahashi, Shingo Kasahara, Kenji Naruse, Hiroshi Ito, Shinji Sano, Hidemasa Oh. PATIENT-SPECIFIC INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS RECAPITULATE THE MODELS OF HYPOPLASTIC LEFT HEART SYNDROME 21st Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular Suregery 2013.4.7 神戸

Goki T, Miyata H, Murakami A, Tomotaki A, Goki T, Matsumura G, Sano S, Takamoto S DOSE SURGICAL APPROACHES HAVE ANY IMPACT ON MORTALITY AND MORBIDITY AFTER BLALOCK-TAUSSIG SHUNT PROCEDURES. RISK MODELS BASED ON THE JAPAN CONGENITAL CARDIOVASCULAR SURGERY DATABASE 21st Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4.7 神戸

Goto T, Yoshizumi K, Kasahara S, Arai S, Tateishi A, Kuroko Y, Kawabata T, Sano S

SURGICAL REPAIR FOR DOUBLE
OUTLET RIGHT VENTRICLE WITH
INTACT VENTRICULAR SEPTUM 21st
Annual Meeting of the Asian Society for
Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4. 7
神戸

Ishigami S, Kasahara S, Takagaki M, Arai
S, Sano S SALVAGE PROCEDURE FOR
HIGH RISK PATIENTS WITH COMPLEX
CARDIAC ANOMALY 21st Annual
Meeting of the Asian Society for
Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4. 7
神戸

Sano S, Kasahara S, Yoshizumi K, Tateishi
A, Kawabata T, Kuroko Y, Fujii Y, Arai S
SANO MODIFICATION WITH A RIGHT
VENTRICLE-TO-PULMONARY ARTERY
SHUNT TO THE PATIENTS WITH
HYPOPLASTIC LEFT HEART
SYNDROME ASCVTS 2013 2013.4. 7 神
戸

Murakami A, Takamoto S, Miyata H, Morita
N, Sano S JAPAN CONGENITAL
CARDIOVASCULAR SURGERY DATABASE
FOR QUALITY IMPROVEMENT 21st
Annual Meeting of the Asian Society for
Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4. 7 神
戸

Sano S PARACHUTE MITRAL VALVE The
21st Annual Meeting of the Asian Society for
Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4. 7
神戸

Sano S FIRST STAGE PALLIATION UNITY
RU-PA SHUNT TO HLHS The 21st
Annual Meeting of the Asian Society for
Cardiovascular Thoracic Surgery 2013.4. 7

神戸

Douguchi T, Itoh H, Taka H, Yagi T, Sano S
VENO-VEIN BYPASS 中に高カリウム
血症の是正を目的として CHD を使用した脳
死肝腎移植術の 1 症例 The 21st Annual
Meeting of The Asian Society for
Cardiovascular and Thoracic Surgery
2013.4. 7 神戸

笠原真悟、吉積 功、高垣昌巳、新井禎彦、
佐野俊二 複雑心奇形を有する成人期再手術
例の治療成績ならびに現状の問題点 第
113 回日本外科学会定期学術集会
2013.4.11 福岡

小林純子、樽井 俊、平田昌敬、川畑拓也、
黒子洋介、立石篤史、吉積 功、新井禎彦、
笠原真悟、佐野俊二、王 英正 疾患特異的
iPS 細胞を用いた左心低形成症候群における
心臓発生異常の解明 第 113 回日本外科学
会定期学術集会 2013.4.11 福岡

Sano S, Kasahara S, Fujii Y, Tateishi A,
Kuroko Y, Yoshizumi K, Arai S
Atrioventricular valve Repair in
Heterotaxy syndrome 2013 AATS Mitral
Conclave 2013.5.2 New York

Sano S, Oh H, Tarui S, Kobayashi J, Hirata
M, Kawabata T, Tateishi A, Kuroko Y,
Yoshizumi K, Arai S, Kasahara S Annual
Meeting of American Association for
Thoracic Surgery 2013.5.4 Minneapolis

Sano S. Stem Cell Therapy In Children
With HLHS 9th International
Conference on Pediatric Mechanical
Circulatory Support System & Pediatric
Cardiopulmonary Perfusion 2013.5.8
Hershey

Yoshizumi K, Kasahara S, Tateishi A, Kawabata T, Kuroko Y, Arai S, Sano S The influence of Lower Body Circulatory Arrest on the Acute Kidney Injury after Surgery for Congenital Heart Disease in Neonate 9th International Conference on Pediatric Mechanical Circulatory Support Systems & Pediatric Cardiopulmonary Perfusion 2013.5.8 Hershey

佐野俊二 先天性心疾患治療の最前線 第 6 回先天性心疾患シンポジウムイン岡山 2013.5.18 岡山

Sano S 日本における心疾患治療の最新状況について International contribution of Cardio Surgery starts with training young

surgeon Medical Excellence JAPAN Seminar -Vietnam~Japan Medical Collaboration- 2013.8.26 Hanoi
Sano S RV-PA conduit for Stage I Hypoplastic Heart Syndrome The 5th Congress of Asia Pacific Oediatric Cardiac Society 2014.3.6. New Delhi.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。