

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の実用化研究

研究分担者 大阪大学医学系研究科 特任准教授(常勤) 宮川 繁

研究要旨

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究として実施している、重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による再生細胞治療法の安全性・有効性を検証し、高度医療化、ひいては保険医療化することを究極の目的と見据え、重症心不全に対する新たな治療法として bridge-to-transplantation から bridge-to-recovery の再生治療の確立を目指す。

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、その有効性の検討と、保険医療化を目指している。

本年度は、拡張型心筋症・虚血性心筋症に対する新規治療の開発のため、筋芽細胞シートの臨床応用を中心に研究を継続すると同時に、同臨床研究を終了し、総括報告書を作成する。また、テルモ社企業治験を終了し、臨床研究総括報告書とともに、PMDA に提出し、筋芽細胞シートの条件付き承認を目指す。また、拡張型心筋症に対する医師主導型治験 (Phase 2a) を申請し、治験届けを提出することを目的とする。

B . 研究方法

1) 骨格筋筋芽細胞シート移植による臨床研究の実施

平成 24 年度に実施した成人重症拡張型心筋症及び虚血性心筋症の患者に対する骨格筋芽細

胞シート移植臨床研究(HM0801号)を終了し、同臨床研究に続いて、拡張型心筋症、虚血性心筋症に対する筋芽細胞シートの臨床研究 (HM1303号、Prospective matched controlled study) を立案し、実施した。

2 . 筋芽細胞シートの虚血性心筋症における薬事申請、及び拡張型心筋症に対する医師主導型治験

虚血性心筋症に対するテルモ社企業治験を終了し、大阪大学臨床研究総括報告書とともに PMDA に提出し、薬事申請を行う。拡張型心筋症に対する医師主導型治験の承認を目指して、PMDA との面談等を行い、治験届けを行う。

(倫理面への配慮)

1 . 臨床試験の実施に際しては、研究計画書(プロトコール)に関して医学部医学倫理委員会での承認を受け、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき厚生労働大臣の意見を聴いた後、医学系研究科長の責任のもと実施することとし、本人の書面による informed consent を取得した患者のみを研究

対象とする。

2. 基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミド DNA あるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施する。
3. 動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なう。

C. 研究結果

1. 心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

平成 26 年度においては、拡張型心筋症 6 例、虚血性心筋症患者 3 例に対して筋芽細胞シート移植を行った。全ての症例で手術は安全に完遂し、術後筋芽細胞シートに関連した有害事象は認めていない。

全死亡回避率は 1 年 100%、3 年 82.5%であり (図 1) 心関連死亡回避率は 1 年 100%、3 年 91.7%であり (図 2) 良好な結果であった。さらに、心不全再発回避率は 1 年 88.2%、3 年 80.2%、5 年 66.8%であった (図 3)。また responder、non responder を検証したところ、左室拡張末期径 (LVDd) が 72mm 以下の患者は 75%で左室収縮能が改善し、72mm 以上の患者では、左室収縮能の改善は認めなかった。また心不全再発回避率に関しては、LVDd が 72mm 以下の患者は術後 50 ヶ月で 85.7%、72mm 以上の患者は 41.7%であった (図 4)。

図 1; 全死亡回避率

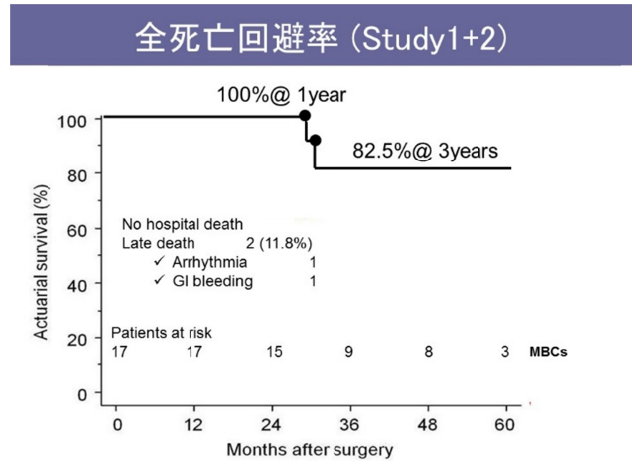


図 2; 心関連死亡回避率

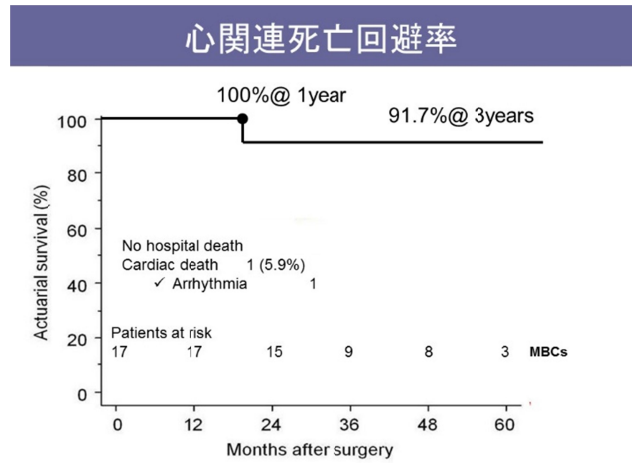


図 3; 心不全再発回避率

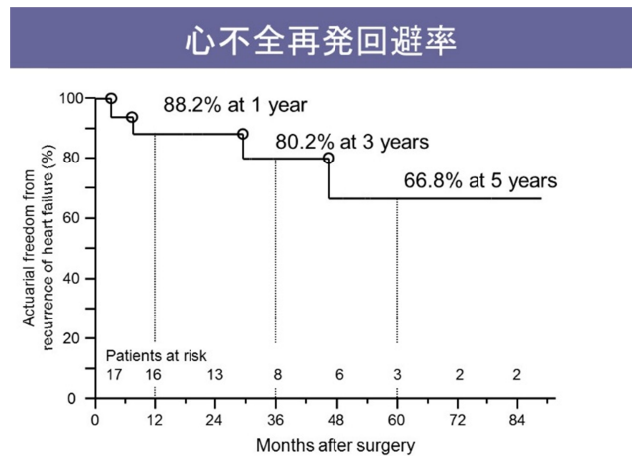
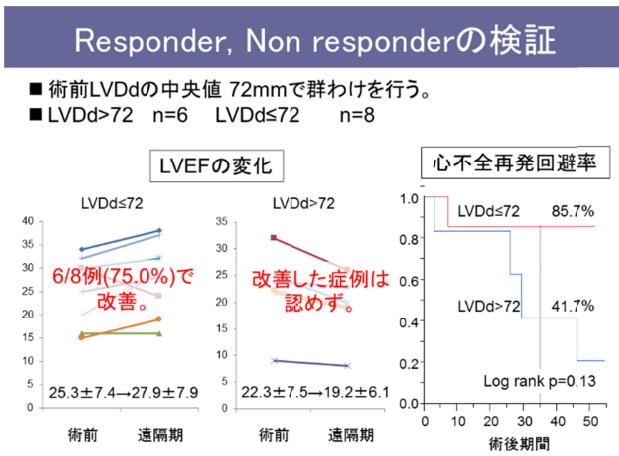
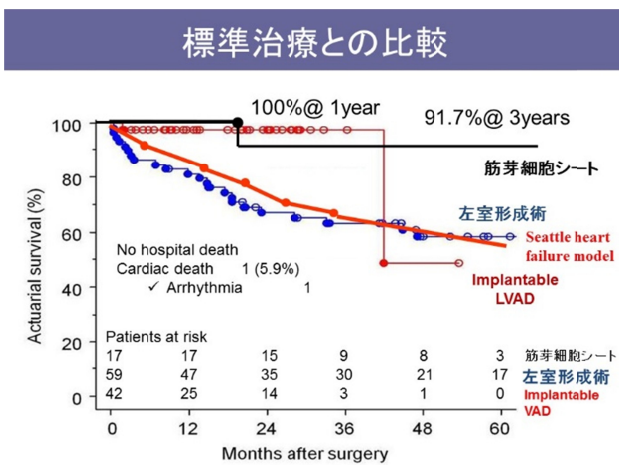


図 4 ; responder、non responder の検証



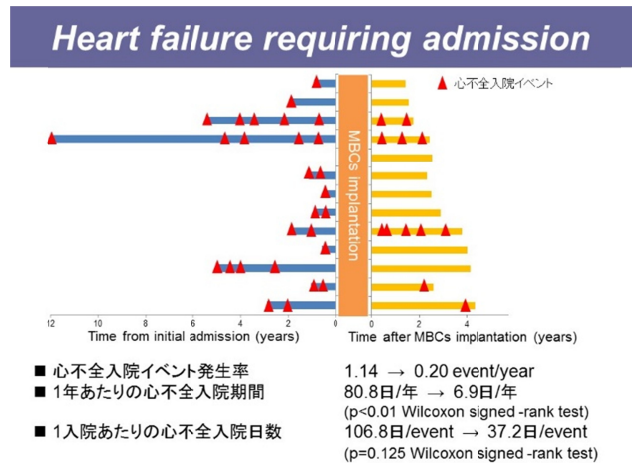
また、筋芽細胞シート移植を行った患者の術前のデータを参考に、"The Seattle Heart Failure Model"を用いて、予測生命予後を算出し、実際の生命予後と比較した。筋芽細胞シート移植を受けた患者は、予測生命予後や既存手術と比較して、良好である可能性があり、今後のデータの蓄積により、さらに精度を増した解析が可能であると思われる(図5)。

図 5 ; 筋芽細胞シート移植患者の生命予後



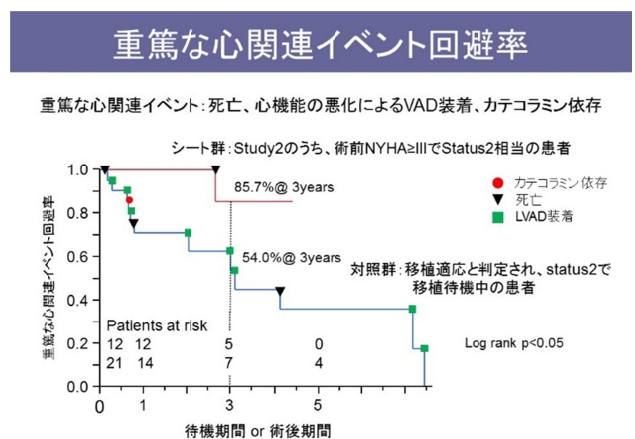
また、術前後の心不全入院歴を解析すると、筋芽細胞シート移植後に入院回数、入院期間が有意に減少した(図6)。

図 6 ; 入院回数の改善



今回の筋芽細胞シートを移植した心不全患者の中で、心移植登録施行済みもしくは、心機能的には心移植登録施行可能であるが、年齢、家族等の背景により、移植登録を施行しえなかった症例群と、これまでの移植登録を行い、status 2の状態の患者で、人工心臓を装着された、またはカテコラミン依存状態になる確率に関して比較を行った。シート移植患者は、status 2の状態で移植を待機している患者と比較して、人工心臓の装着率、カテコラミン依存状態になる率は有意に低値であった(図7)。

図 7 ; 人工心臓、カテコラミン依存回避の可能性



2. 筋芽細胞シートの虚血性心筋症における薬事申請、及び拡張型心筋症に対する医師主導型治験

・虚血性心筋症に対する薬事申請

臨床研究(HM0801号)を終了し、同臨床研究の総括報告書と2014年度まで行ったテルモ社の進める企業治験(TCD-51073)のデータとともにPMDAに提出し、薬事申請を行っている。

・拡張型心筋症に対する医師主導型治験

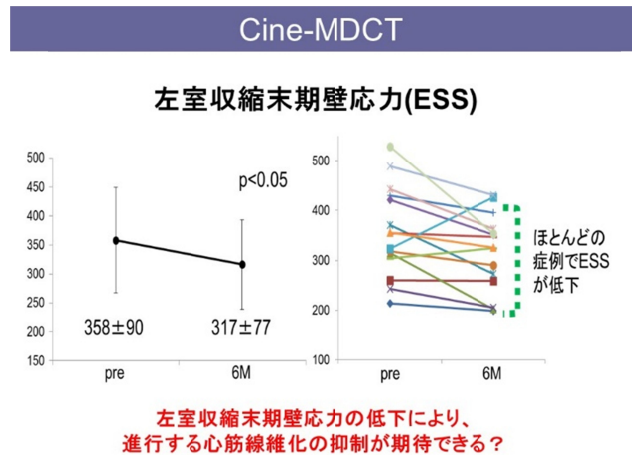
平成25年12月6日事前面談、平成26年3月27日対面助言、平成26年9月30日院内IRB承認を経て、平成26年11月5日に治験届けを行った。現在対象患者の選択中である。

D. 考察

筋芽細胞シート移植を受けた患者の、術前のデータより、Seattle Heart Failure Modelを用いて、予測生命予後を算出し、実際の筋芽細胞シート移植を受けた患者の生命予後と比較したところ、実際の生命予後は、予測生命予後より良好である可能性が示唆された(図5)。Seattle Heart Failure Modelは、人工心臓の有効性を検証する際に、本来であればコントロール群が必要であるが、人工心臓を装着しないコントロール群を設けることは、倫理的に困難であるという理由で作成された生命予後予測曲線である。当科において、同予測生命予後曲線は日本人心不全患者の生命予後をも予測しうるか検証したところ、3年までは高い確率で日本人の生命予後をも予測しうることを検証している。

続いて、心臓同期CTを用いて、左室収縮末期壁応力(ESS)の算出を行った。1例を除いて、全例、ESSは低下を認めた。ESSが低下していることの臨床的意義は、ESSが低下することにより、左室心筋組織の線維化が抑制されることが知られており(American Heart Journal Volume 141, Issue 2, Pages 234-242, February 2001)筋芽細胞シートにより今後進行していく左室の線維化を抑制しうることを示唆されたと考えている(図8)。

図8. 左室収縮末期壁応力の変化



E. 結論

本プロジェクトにより、筋芽細胞シート移植の安全性を検証することが可能であり、有効性を探索可能であった。本グラントに支援された臨床研究をもとに、虚血性心筋症に対する企業治験による薬事申請、拡張型心筋症に対する医師主導型治験を行うことが可能となり、良質な臨床研究の施行により、同製品の安全性、有効性が評価されるものと思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sawa Y, Yasushi Yoshikawa, Koichi Toda, Satsuki Fukushima, Kenji Yamazaki, Minoru Ono, Yasushi Sakata, Nobuhisa Hagiwara, Koichiro Kinugawa, Shigeru Miyagawa. 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. 2015; 79:991-999.

2) Kamata S, Miyagawa S, Fukushima S,

- Imanishi Y, Saito A, Maeda N, Shimomura I, Sawa Y. Targeted Delivery of Adipocytokines Into the Heart by Induced Adipocyte Cell-Sheet Transplantation Yields Immune Tolerance and Functional Recovery in Autoimmune-Associated Myocarditis in Rats. *Circ J.* 2015; 79(1):169-79. [2014 Nov 5. Epub ahead of print]
- 3) Kainuma S, Miyagawa S, Fukushima S, Pearson J, Chen YC, Saito A, Harada A, Shiozaki M, Iseoka H, Watabe T, Watabe H, Horitsugi G, Ishibashi M, Ikeda H, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Naito H, Umetani K, Shimizu T, Okano T, Kobayashi E, et al. Cell-sheet Therapy with Omentopexy Promotes Arteriogenesis and Improves Coronary Circulation Physiology in Failing Heart. *Mol Ther.* 2014; 23(2):374-86
- 4) Shudo Y, Miyagawa S, Ohkura H, Fukushima S, Saito A, Shiozaki M, Kawaguchi N, Matsuura N, Shimizu T, Okano T, Matsuyama A, Sawa Y. Addition of mesenchymal stem cells enhances the therapeutic effects of skeletal myoblast cell-sheet transplantation in a rat ischemic cardiomyopathy model. *Tissue Eng Part A.* 2014 ;20(3-4):728-39.
- 5) Kamata S, Miyagawa S, Fukushima S, Nakatani S, Kawamoto A, Saito A, Harada A, Shimizu T, Daimon T, Okano T, Asahara T, Sawa Y. Improvement of cardiac stem cell sheet therapy for chronic ischemic injury by adding endothelial progenitor cell transplantation: analysis of layer-specific regional cardiac function. *Cell Transplant.* 2014; 23(10):1305-19.
- 2 . 学会発表
- 1) 宮川 繁、戸田宏一、仲村輝也、吉川泰司、福嶋五月、齋藤哲也、河村拓史、堂前圭太郎、石田勝、増田茂夫、齋藤充弘、伊東絵望子、今西悠基子、島本知美、小田 望月紀子、澤芳樹 . 重症心不全に対する再生治療の現状と展望 . 第 14 回日本再生医療学会、横浜、2015/3/19-21. シンポジウム
- 2) 大河原弘達、宮川繁、福嶋五月、齋藤充弘、戸田宏一、澤芳樹 . ガラス化凍結による骨格筋筋芽細胞シート長時間保存の検討 . 第 14 回日本再生医療学会、横浜、2015/3/19-21 口演
- 3) 堂前 圭太郎、宮川繁、戸田宏一、仲村輝也、吉川泰司、福嶋五月、齋藤俊輔、吉岡大輔、齋藤哲也、上野高義、倉谷徹、澤芳樹 . 重症心不全に対する骨格筋 筋芽細胞シートを用いた心筋再生治療における臨床研究 . 第 14 回日本再生医療学会、横浜 2015/3/19-21 シンポジウム
- 4) 齋藤充弘、宮川繁、福嶋五月、堂前圭太郎、大橋文哉、伊勢岡弘子、石川烈、武田真季、大河原弘達、武内涼平、頼紘一郎、松村匡記、広瀬正一、佐野進弥、野口枝莉、竹内稔和、車陽介、菅原浩行、鮫島正、澤芳樹 . 自家骨格筋筋芽細胞シート移植の臨床研究における細胞培養実績 . 第 14 回日本再生医療学会、横浜、2015/3/19-21 ポスター
- 5) 原田明希摩、宮川繁、福嶋五月、甲斐沼尚、小澤秀登、齋藤充弘、清水達也、岡野光夫、澤芳樹 . ラット心筋梗塞モデルに対する細胞シート移植治療における血管新生プロセスの検討 .

第 14 回日本再生医療学会、横浜 2015/3/19-21 一般演題

学会 福岡国際会議場 2014/9/30-10/3 ポスター

6) 塩崎 元子、宮川繁、福嶋五月、齋藤充弘、樋口貴宏、吉岡大輔、伊東絵望子、望月 小田紀子、増田茂夫、松本邦夫、澤芳樹 . 体性幹細胞シート移植は分泌する肝細胞増殖因子により平滑筋細胞の表現型を変化させ細胞外基質の再構築を促進する . 第 14 回日本再生医療学会、横浜 2015/3/19-21 ポスター

12) 小澤 秀登、宮川繁、他、澤芳樹 . 虚血性心疾患に対する自己骨格筋芽細胞シート移植における幼若細胞由来骨格筋芽細胞シートの有用性の検討 第 50 回小児循環器学会総会・学術集会岡山コンベンションセンター 2014/7/3-4 シンポジウム

7) 堂前 圭太郎、宮川繁、他、澤芳樹 . 重症心不全に対する骨格筋芽細胞シートを用いた心筋再生治療における安全性、有効性の検討 第 41 回日本臓器保存生物医学会学術集会、大阪 2014/11/28-29 シンポジウム

13) 宮川 繁、他 . 心不全外科学における再生医学 第 114 回日本外科学会 京都 2014/4/4 ワークショップ

H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1 . 特許取得

8) 大河原弘達、齋藤充弘、宮川繁、他、澤芳樹 . ガラス化凍結法を用いた、骨格筋芽細胞シート長時間保存の検討 第 41 回日本臓器保存生物医学会学術集会、大阪 2014/11/28-29 一般口演

1) 2014 特願 2014-179148
内容：シート状細胞培養物回収システムおよび方法
発明者：大橋文哉、竹内涼平、鮫島正、宮川繁、澤芳樹、齋藤充弘

9) 甲斐沼 尚、宮川繁、他、澤芳樹 . 筋芽細胞シートと大網同時移植による心筋再生療法の治療効果メカニズム：新生血管の安定性および冠動脈微小循環に与える影響についての検討、第 67 回日本胸部外科学会、福岡、2014/9/30-10/3 ポスター

2) 2014 特願 2014-179149
内容：シート状細胞培養物回収システムおよび方法
発明者：大橋文哉、鮫島正、宮川繁、澤芳樹、齋藤充弘

10) 堂前圭太郎、宮川繁、他、澤芳樹 . 重症心不全に対する骨格筋芽細胞シートを用いた心筋再生治療の中期成績と心機能改善効果 第 67 回日本胸部外科学会 福岡国際会議場 2014/9/30-10/3 一般口演

3) 2014 特願 2014-179150
内容：シート状培養物とフィブリンゲルとの積層体の製造方法
発明者：竹内涼平、大橋文哉、鮫島正、宮川繁、澤芳樹、齋藤充弘

11) 石田 勝、宮川繁、他、澤芳樹 . 虚血性心疾患モデルにおける幹細胞種別細胞シートの心機能改善効果の比較検討 第 67 回日本胸部外科

4) 2014 特願 2014-179151
内容：補強部を有するシート状培養物とフィブリンとの積層体

発明者：竹内涼平、大橋文哉、鮫島正、宮川繁、
澤芳樹、齋藤充弘

2．実用新案登録 該当なし

3．その他 特記事項なし