

採取による心臓の解剖学的影響や術後心機能の回復度に相違はなかった。

機能的単心室症に対する2期もしくは3期の心臓シャント手術後より回復した症例は、充分経冠動脈的心臓内幹細胞移植療法を受けることが可能であり、平成27年度は、これらの全登録実施例の臨床経過について、詳細に追跡調査していく。

E. 結論

小児心不全に対する心臓内幹自家移植に必要な組織量を心臓手術中に採取することは臨床的に十分に可能で、従来 of 心臓シャント手術法に比べ、術後の心機能や転帰に影響を及ぼすことは認められなかった。。実施予定症例設定数も統計学に基づいて算出されており、岡山大学病院におけるこれまでの手術実績の通り、研究期間内に充分予定症例数の実施登録を完遂できる計画内容であった。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Oozawa S, Akagi T, Sano S A New Hemostasis Tool after Percutaneous Angioplasty: The Hemcontm Pad Hemostasis Device. *J Vasc Med Surg*, 2:125 (e Publish), 2014
- ② Ishigami S, Ohtsuki S, Tarui S, Ousaka D, Eitoku T, Kondo M, Okuyama M, Kobayashi J, Baba K, Arai S, Kawabata T, Yoshizumi K, Tateishi A, Kuroko Y, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, Sano S, Oh H. Intracoronary Autologous Cardiac

Progenitor Cell Transfer in Patients with Hypoplastic Left Heart Syndrome: The TICAP Prospective Phase 1 Controlled Trial. *Circ Res*. 2015;116:653-664.

- ③ Kobayashi J., Sano S., Oh H. Epigenetic modification in congenital heart diseases by using stem cell technologies *Stem Cell Epigenetics* 2015; 2;1
- ④ Kobayashi J., Yoshida M., Tarui S., Hirata M., Nagai Y., Kasahara S., Keiji K., Ito H., Sano S., Oh H. Directed Differentiation of Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells Identifies the Transcriptional Repression and Epigenetic Modification of NKX2-5, HAND1, and NOTCH1 in Hypoplastic Left Heart Syndrome. *PLOS One* 2014;9(7): e102796.
- ⑤ Tarui S., Sano S., Oh H. Stem cell therapies in patients with single ventricle physiology. *Methodist Deakey Cardiovascular Journal*. 2014;10(2):77-81.
- ⑥ Yoshizumi K, Kasahara S, Sano S Anomalous right subclavian artery from pulmonary artery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* Epub ahead of print, 2014
- ⑦ 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
- 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 cardiovascular accidents: initial experiences in Japan *Cardiovasc Interv*

- and Ther* 2014 Jan;29(1):11-7.
- ⑨ 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* 29(3):221-5, 2014
- ⑩ Kijima Y, Akagi T, Nakagawa K, Promphan W, Toh N, Nakamura K, Sano S, Ito H Cardiac erosion after catheter closure of atrial septal defect: Septal malalignment may be a novel risk factor for erosion *Journal Cardiology Case* 9:134-137, 2014
- ⑪ Sakurai S, Kuroko Y, Shimizu S, Kawada T, Akiyama T, Yamazaki T, Sugimachi M, Sano S Effects of intravenous cariporide on release of norepinephrine and myoglobin during myocardial ischemia/reperfusion in rabbits *Life Sciences* 114:102-106, 2014
- ⑫ 樽井俊、王英正、佐野俊二 先天性心疾患外科手術における再生医療 循環器内科 75(1): 87-93, 2014
- ⑬ 笠原真悟、佐野俊二 特集 左心低形成症候群に対する治療戦略 左心低形成症候群における段階的治療—最適な Fontan 手術をめざして— 胸部外科 南江堂, 67(4) 287-293
- ⑭ 大澤 晋、正木久男、藤原寛康、柚木靖弘、佐野俊二 特発性上腕動静脈瘻の1例 脈管学 日本静脈学会, 25 (3) : pp346-349, 2014
- ⑮ 佐野俊二 一枚のシェーマ 右室-肺動脈シャントを用いたNorwood手術変法 胸部外科 南江堂, 67 (10) : 914, 2014
- ⑯ 坂野紀子、笠原真悟、荻野景観、篠崎洋二、佐野俊二 在宅医療での遠隔リアルタイムモニタリングシステム構築の試み; 5症例の経験 日本遠隔医療学会雑誌 日本遠隔医療学会, 10 (1) : pp52-57, 2014
- ⑰ 佐野俊二 房室中隔欠損(心内膜床欠損)循環器心疾患最新の治療2014-2015 堀正二・永井良三編 南江堂, pp208-212, 2014
- ⑱ 佐野俊二、笠原真悟、新井禎彦、岩崎達雄、清水一好、戸田雄一郎、杉本健太郎、石井典子、川瀬宏和、森田 潔、伊藤英史 大動脈縮窄症・大動脈弓離断症に対する手術と体外循環法 心臓手術の実際Part3 許俊鋭・山田芳嗣・百瀬直樹編 学研メディカル秀潤社, pp283-292, 2014
- ⑲ 佐野俊二 脳死判定 小児科研修ノート改訂第2版 永井良三・五十嵐隆・秋山千枝子・賀藤均・金子一成・田原卓浩・渡邊博 診断と治療社, III-4 PP202-206, 2014
- ⑳ 笠原真悟、佐野俊二 先天性心疾患に対する遠隔医療の構築 月刊新医療 株式会社エム・イー振興協会, 41(10)146-149, 2014
2. 学会発表
- ① Sano S Critical aortic stenosis in neonates and infants. 22th ASCVTS 2014, Istanbul
- ② Sano S Individualizing Care for the Patient with Neonatal Ebstein's Malformation. 22th ASCVTS 2014, Istanbul
- ③ Sano S My worst case. 22th ASCVTS 2014, Istanbul
- ④ Sano S HLHS: state of the art World Congress of Cardiology 2014, Melbourne
- ⑤ Sano S Hypoplastic left heart syndrome and beyond XVIII Annual Scientific Session of Bourakovsky Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow

- ⑥ **Sano S** Evolving surgical strategies in UVH -What is the Appropriate Indications of Fontan Operation in Current Era?- 48th AEPC 2014, Helsinki
- ⑦ **Sano S** BT shunt or PDA stent - the ICU view? 48th AEPC 2014, Helsinki
- ⑧ **Sano S** Inflammatory diseases of the aorta: Role of Surgery World Society for Pediatric and Congenital Heart Surgery 4th Scientific Meeting and Annual Business Meeting, San Paulo
- ⑨ **Sano S** The impact of the Norwood-Sano procedure in the clinical outcome of HLHS World Society for Pediatric and Congenital Heart Surgery 4th Scientific Meeting and Annual Business Meeting, San Paulo
- ⑩ **Sano S** Evaluation of the right ventricle as the systemic ventricle World Society for Pediatric and Congenital Heart Surgery 4th Scientific Meeting and Annual Business Meeting, San Paulo
- ⑪ **Sano S** Hypoplastic Left Heart Syndrome - Norwood, Sano and Beyond- 24th World Congress of Cardiothoracic Surgeons, Geneva
- ⑫ **Sano S, Yamagishi M.** Creation of a pulmonary valve and valve conduit- multi center study of Fan-shaped ePTFE Valve & ePTFE Conduit with Bulging Sinuses in Japan - 28th EACTS, Milan
- ⑬ **Sano S** The Options to treat the failing RV 48th AEPC 2014, Helsinki
- ⑭ **Sano S** Hypoplastic Arch and Coarctation 22th ASCVTS 2014, Istanbul
- ⑮ **Sano S** Biventricular Repair in PAIVS The 5th Congress of Asia Pacific Pediatric Cardology and Cardiac Surgery, New Delhi, India
- ⑯ **Sano S** Surgical Strategy of c-TGA,DORV The 5th Congress of Asia Pacific Pediatric Cardology and Cardiac Surgery, New Delhi, India
- ⑰ **Sano S** Congenital heart Surgery -Past, Present and Future- 24th Annual Congress of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of Asia, Hanoi
- ⑱ **Sano S** Specific techniques for atrioventricular valve repair in neonates and infants Advanced Course on the Mitral and Tricuspid Valve, Munich
- ⑲ **佐野俊二** New Concept Hybrid Operating Room and Cardiac ICU 第 16 回日本成人先天性心疾患学会総会・学術集会ランチョンセミナー
- ⑳ **佐野俊二** 外科手術と新しい治療法 これからどうなる?市民公開講座 大人になった先天性心疾患:第2ステージのはじまり
- ㉑ **佐野俊二** 予防に繋がる再生医療 第4回予防医学指導士養成研修会
- ㉒ **佐野俊二** 小児心臓外科医を含めた岡山大学の研修への取り組み 第44回日本心臓血管外科学会学術総会
- ㉓ **佐野俊二** 左心低形成症候群(HLHS)に対する Sano 手術 第44回日本心臓血管外科学会学術総会
- ㉔ **佐野俊二** 日本と欧米の小児心臓外科の違い～我々はどこを目指すべきか～ 第49回聖マリア病院地域医療支援講演会
- ㉕ **佐野俊二** 成人における先天性心疾患の治療 釧路市医師会学術講演会

- ②⑥ 佐野俊二 What We Have Achieved in Last 2 Decades-and Future!!～この 20 年で私たちが到達したこと・・・そして未来～ 第 50 回日本小児循環器学会総会・学術集会
- ②⑦ 佐野俊二 Did Sano Shunt Improve Survival of HLHS?-What We Have Learned from 16 Year's Experience- 第 50 回日本小児循環器学会総会・学術集会
- ②⑧ 佐野俊二 迷走する専門医制度 三金会
- ②⑨ 佐野俊二 先天性心疾患治療の最前線 広島心臓血管外科懇話会
- ③⑩ 佐野俊二 先天性心疾患治療の最前線 第 7 回先天性心疾患シンポジウムイン岡山
- ③⑪ 佐野俊二 成人先天性心臓疾患手術 高知医療再生機構補助金講演会
- ③⑫ 佐野俊二 未来の治療：再生医療シミュレーション 高知医療再生機構補助金講演会
- ③⑬ 佐野俊二 Hybrid Cardiovascular Suite:The Operating Room of the Future 第 50 回日本小児循環器学会総会・学術集会
- ③⑭ 佐野俊二 夢の扉を開く 釧路孝仁会講演会
- ③⑮ 佐野俊二 心臓血管外科治療の過去・現在・未来 第 12 回北部循環器カンファレンス
- ③⑯ 佐野俊二 夢を追って 社会医療法人孝仁会、札幌第一病院合併記念講演会
- ③⑰ 佐野俊二 心臓外科における国際貢献-ベトナムにおける試み- 第 2 回国際医療貢献フォーラム
- H. 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。

冠動脈内注入法による心臓内幹細胞の自家移植に関する研究

研究分担者 大月 審一 岡山大学病院教授

研究要旨

先天性心疾患に対する治療法として、従来の姑息的心臓手術以外に、最近では経皮的心臓カテーテル法を用いたインターベンションにより、器質的な形態異常の修復が可能となり全身の血行動態の改善につながっている。特に、小児心臓疾患は多様性に富み、疾患別の解剖学的特徴を踏まえた治療戦略の選択が重要である。本研究では、これまでに臨床的治療法として未確立の心筋再生医療法が心臓手術後の心室機能改善に寄与するかについて、ランダム化された34症例を対象に冠動脈内注入法による心臓内幹細胞自家移植療法を実施することで、安全性と有効性を焦点に通常的心臓手術単独群と比較検証する。

A. 研究目的

機能的単心室症のうち、左心低形成症候群は重症度が高く、その解剖学的分類によって多彩であるが、潜在的に心予備能が低い症例が多く、様々な心臓カテーテル治療を併用することで心不全の発症を予防する治療戦略がとられている。

具体的には左心低形成症候群に合併する血行動態異常として、出生後からの動脈管の狭小化による肺血管抵抗の低下に伴う肺動脈と体循環バランスの破綻が起こり、プロスタグランジン投与やステント留置による動脈管の開存維持が臨床上よく行われる治療法である。

また、出生直後よりチアノーゼが重度で血行

動態が不安定な症例は心房中隔欠損口が小さいまたは開存していない場合には、緊急外科的手術もしくはカテーテルによるステント留置で中隔壁の閉鎖を解除することで酸素化を図る。

左心低形成症候群に対して、通常は従来のNorwoodやSano手術を第1期手術として行うことが標準治療であるが、最近では上述のカテーテル治療を組み合わせたハイブリッド手術法が新しいオプション治療法として登場した。本疾患に対するハイブリッド手術法とは、新生児期に肺動脈絞扼術に加え、動脈管および心房中隔内にステントを留置するで、心臓カテーテルと心臓手術が同時に実施できるハイブリッド手術室で行う。このアプローチの優位性は現在検証中であるが、少なく

とも最終手術に至るまでの期間に心房中隔、肺動脈や大動脈弓に対する追加の心臓カテーテル治療が必要になることが多く、新生児期の入院期間が短いことが現在のところ明らかな利点である。いずれの初期治療法においても、集約的にはFontan第3期手術が必要であることに変わりなく、施設によっては新生児期にハイブリッド手術治療を行い、小児心臓移植実施まで待機する治療方針を選択している。

このように小児心臓病に対するカテーテル治療は有用で心臓手術に比べ低侵襲であることも大きな利点である。対象疾患は左心低形成症候群のみならず、大動脈弁狭窄、大動脈縮窄症、心室中隔欠損症、肺動脈や弁自身の器質的狭窄、冠動静脈ろう、肺動脈内における人工血管の閉塞に対するステント留置や逆流への肺動脈弁置換、各種血管奇形や側副血行路への塞栓術など広い領域で用いられる治療法である。

小児冠動脈病変に対するカテーテル治療は上記の疾患以外に川崎病などがあるが、医療技術的には、小児心疾患に対する冠動脈インターベンションは充分可能であると考えられる。本研究では、上記のステント留置術、コイル塞栓術、バルーン拡張術以外に、心臓内幹細胞の冠動脈注入法による心筋再生医療の安全性と有効性を検証することで、新たな小児心不全治療法の確立を目指す。

B. 研究方法

冠動脈造影

- 1) 試験治療として、全身麻酔下に4Fのシースを右下腿動脈より挿入する。
- 2) 術前診断に基づき、冠動脈造影を行い、機能

的心室への支配冠動脈の走行及び瘤形成や器質的狭窄の有無を確認する。

冠動脈内への自己心臓内幹細胞移植

心臓幹細胞の適格基準を自己心臓内幹細胞に関する概要書に定められた手順にて評価、適応有りの症例において以後のプロトコル治療を行う。適応無しと判定された場合は、脱落と判定され、直ちにデータセンターに結果を報告する。

治療法：

- 1) カテーテル検査時には、初期にヘパリン急速飽和量（100 単位/kg）を投与する。
- 2) 移植する幹細胞の冠動脈内への接着及び浸透のため、perfusion balloon カテーテルを用いて移植する。
- 3) 自己心臓内幹細胞 3.0×10^5 個/kg を合計 3ml の 10%自己血清含む細胞用培養液に懸濁させる。
- 4) 低圧で膨らましたバルーンの中を通じて、幹細胞を注入する。
- 5) 冠動脈内注入は 1ml ずつ合計 3 回に分け、一回当たりの注入時間は 3 分とする。
- 6) それぞれの幹細胞注入後、3 分間の休止時間を置き、心筋虚血時間を最小限にする。

試験治療に対する補助治療及びモニタリング

- 1) 細胞移植時の冠動脈内注入する 30 分前にアンカロン注 150 を塩酸アミオダロンとして、10microgam/kg/min を容量型の持続注入ポンプ用いて、末梢静脈より投与する。
- 2) 術翌日より、アンカロンを 4mg/kg を 2 回/日で術後 7 日まで内服投与とする。
- 3) 細胞移植時に補助循環（人工心肺）は必ずし

も必要とはしないが、致死的合併症の出現に備えて常に使用可能な状態に待機する。

- 4) 細胞移植時に収縮期血圧 80mmHg 以下の時は投与を一時中断し、昇圧剤その他の開心術時に必要とされる補助療法で回復の後、投与を再開する。

試験スケジュール変更基準

1) 治療前

- ① 患者理由により手術が延期される場合
- ② 心臓内幹細胞精製過程の準備期間にて、明らかな心不全の再発などにより、治療が必要となった場合（この場合、細胞は試験再開まで凍結保存とする）。

2) 治療後細胞移植後

明らかな心不全の再発などにより、治療が必要となった場合は、救命治療を最優先とし、心機能評価などの定期的評価はスキップ可能とする。

プロトコル治療中止基準

- 10) 被験者が試験参加の同意を撤回した場合、あるいは試験継続の意思を表明できない意識障害や混迷状態に陥った場合。
- 11) 登録後に不適格症例であることが判明した場合。
- 12) 心臓幹細胞採取において以下の合併症にて遂行不能の場合。
- ① 心臓組織採取不能例
 - ② 心タンポナーデ
 - ③ 心室性不整脈（散発性の心室性期外収縮は除く）
 - ④ 心原性ショック
- 13) 心臓幹細胞培養工程において、培養 21 日ま

で必要細胞数(3.0×10^6 /kg 個)に達しない場合。

- 14) 培養開始時、細胞凍結時、及び細胞解凍時のエンドトキシン、細菌、真菌、マイコプラズマ検査、細胞上清ウイルス検査で陽性の場合。なお細胞移植後に上記検査結果が陽性と判定された場合は、被験者にその旨説明し、支持療法として創感染に対処する。
- 15) 試験治療待機期間及び、試験治療後の観察期間中に何らかの侵襲的治療（補助循環装置、心室再同期療法、心臓移植等）が必要とされた場合（術後回復期間中の集中治療室における一過性ペースメーカー埋め込み、補助循環装置の使用は除く）。
- 16) 細胞移植治療中に致死的合併症（心室細動含む）が発生した場合。
- 17) 死亡した場合。
- 18) その他試験担当医師が被験者の安全性確保及び自己決定権尊重のためにプロトコル治療の中止を判断した場合。

支持療法

以下の予想される有害事象に対して、適切な治療を行う。

- 1) 採血部の疼痛・皮下出血：局所圧迫及び消炎鎮痛外用剤の投与。
- 2) 採血後の貧血：鉄剤の投与。
- 3) 鼠径穿刺部の疼痛・皮下出血：局所圧迫及び消炎鎮痛外用剤の投与。
- 4) 鼠径穿刺後の後腹膜腔血腫、腰部皮下血腫：必要な場合はドレナージ。
- 5) 術中の不整脈（心室細動を含まない）：抗不整脈薬の投与。
- 6) 術中、術後回復期間においての遷延性低血圧

もしくは心原性ショック：昇圧剤、強心剤の投与、補助循環装置の使用。

- 7) 創感染（縦隔炎含む）：菌同定・抗生物質の投与、無効な場合は病巣洗浄・搔爬。
- 8) 全身麻酔に関連した有害事象：
 - ①アナフィラキシーショック：ステロイド剤等の投与。
 - ②肝機能検査異常：肝庇護剤の投与。
 - ③腎機能検査異常：輸液による電解質補正、重篤な場合は透析。

併用禁止薬

被験者において、試験前、試験期間中において併用禁止とする薬剤は特に規定しないが以下に挙げる薬剤は、心臓手術前後 1 週間の休薬が望ましい。

- ① パナルジン、プレタール等の抗血小板薬
- ② バイアスピリン

後療法

プロトコル治療後は一般的に難治性重症心不全患者に実施する標準治療を行う。つまり担当医が最善と判断する治療、すなわちリハビリテーション並びに合併症の防止を行い、特に制限を設けない。

予想される有害事象

心臓カテーテル検査に関連した有害事象、合併症

- 1) 鼠径穿刺部の疼痛、出血。
- 2) 局所麻酔薬によるアレルギー反応。
- 3) 術後の止血不良による穿刺部の血腫。
- 4) 極めて稀ではあるが術後穿刺部出血による後腹膜血腫。
- 5) 極めて稀ではあるが穿刺部の感染。

造影・心内圧検査による有害事象

- 1) 造影剤アレルギー。
- 2) 極めて稀ではあるが、カテーテル操作による心室、血管の穿孔。
- 3) 検査後の心タンポナーデ。
- 4) 房室ブロック（脚ブロックを含む）。
- 5) 心室性不整脈。
- 6) 極めて稀ではあるが死亡。
- 7) 感染症。

冠動脈内への幹細胞注入に関する有害事象

- 1) 培養上清中に細菌が検出され、同一の細菌により術部感染が発生した場合。
- 2) 細胞移植部からの腫瘍発生(間葉系幹細胞を体外で培養したのち、ヒトに投与した臨床試験はいくつか報告されているが、現在のところ腫瘍発生はない)。
- 3) 細胞移植時、冠動脈内注入する際に生じる心室性不整脈（前臨床試験ブタ全 70 頭への心筋局注に際し、初期の 1 例目においてのみ穿刺関連の心室性不整脈の発生を認めたが、穿刺前のアミオダロン前投薬によるプロトコル改変治療後は、心室性不整脈の発生は一例も認めていない）。

幹移植術後の心室性不整脈への対応について

これまでに報告された骨髄幹細胞の冠動脈内注入による臨床試験では、小児及び成人心不全を含め、致死性不整脈の発生は報告されていない。

一方、本研究で用いられる心臓内幹細胞については、心臓幹細胞自体の再生機序、gap-junction 蛋白を介したホスト心筋との電氣的融合の形成、前臨床試験での不整脈監視試験の結果からは、その心室性不整脈の発生の危険性は低いと思われる。

また、最近報告された大型動物用いた類似の心臓内幹細胞移植の冠動脈注入法による前臨床試験においても、致死性不整脈の発生は認められていない。さらに、TICAP 第 1 相臨床試験ならびに成人虚血性心不全を対象にした SCPIO や CADUCEUS 臨床試験のように、冠動脈注入法による不整脈惹起の報告もないことから、本第 2 相臨床試験において致死性不整脈の発生の可能性は低いと考えられる。

また、従来報告されている骨格筋芽細胞移植による催不整脈作用（心室性不整脈）と同様の不整脈発生の危険性に関して、日本循環器学会の不整脈治療のガイドラインに則り、標準的抗不整脈治療を行う。この抗不整脈治療に対して抵抗性の致死性不整脈の発生を認めた場合は、埋め込み型除細動器の移植適応ガイドラインに則り、適応とされる症例には埋め込み型除細動器の移植を行う。

有害事象の報告と対応

報告義務のある有害事象

報告義務のある有害事象は、初回の心臓カテーテル検査から幹細胞移植手術後 1 年の間に発生したものとする。

報告・対応手順

試験責任/分担医師は、一次報告（72 時間以内）、二次報告（7 日以内）、詳細調査報告、最終報告を行う。

対応手順

主任研究者、研究事務局および独立データモニタリング委員は、一次報告後の対応、二次報告後の対応、独立データモニタリング委員会による評価・勧告、対策の決定、最終報告後の対応を行

う。

臨床研究終了後の追跡調査

3年間の臨床研究終了後も通常の保険診療行為として被験者の追跡を、10年以上を目安として行う。被験者に病原体感染等の有害事象が生じた場合は、適切な医療措置を行うとともに、最終調製物に関する確認を行い、原因究明に努める。他の被験者の健康状態も確認し、被験者の安全性確保に努める。

観察・検査・報告項目とスケジュール

心臓カテーテル検査当日（細胞移植日）

- 1) 身体所見： 体重、血圧、脈拍数
- 2) 冠動脈造影： 主要冠動脈の有意狭窄の検証
- 3) 心機能： 心内圧測定、心血管造影
- 4) 心電図
- 5) 24 時間心電図モニター監視（術後から術後 1 週目まで）

心臓カテーテル検査翌日（細胞移植後）

- 1) 身体所見： 体重、血圧、脈拍数
- 2) 血液学的検査： 白血球数、好中球数、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板
- 3) 生化学検査
 - ① GOT(AST)、GPT(ALT)、LDH、総ビリルビン、直接ビリルビン、総タンパク、アルブミン、血清クレアチニン、BUN、電解質 (Na、K、Cl)、CRP、CPK、CPK-MB、BS
- 4) 心電図
- 5) 胸部 X 線検査： 胸部前後撮影
- 6) 24 時間心電図モニター監視： 致死性・非致死性不整脈の検証

細胞移植後 1 週目

- 1) 身体所見： 体重、血圧、脈拍数
- 2) 血液学的検査：白血球数、好中球数、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板
- 3) 生化学検査
 - ① GOT(AST)、GPT(ALT)、LDH、総ビリルビン、直接ビリルビン、総タンパク、アルブミン、血清クレアチニン、BUN、電解質 (Na、K、Cl)、CRP、CPK、CPK-MB、BS、BNP
- 4) 凝固系：PT、APTT、D-dimer
- 5) 24 時間心電図モニター監視： 致死性・非致死性不整脈の検証
- 6) 心電図
- 7) 胸部 X 線検査： 胸部前後撮影
- 8) 臨床症状： 心不全、チアノーゼ

細胞移植後 3 ヶ月目 (エンドポイント判定)

- 1) 身体所見： 体重、血圧、脈拍数
- 2) 心電図
- 3) 胸部 X 線検査： 胸部前後撮影
- 4) 心機能： 心エコー図法、心内圧測定、心血管造影、心臓 MRI
- 5) 24 時間ホルター心電図： 致死性・非致死性不整脈の検証
- 6) 臨床症状： 心不全、チアノーゼ
- 7) 血液学的検査：白血球数、好中球数、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板
- 8) 生化学検査
 - ① GOT(AST)、GPT(ALT)、LDH、総ビリルビン、直接ビリルビン、総タンパク、アルブミン、血清クレアチニン、BUN、電解質 (Na、K、Cl)、CRP、CPK、CPK-MB、BS
 - ② BNP、CEA、CA19-9

- 9) 凝固系： PT、APTT、D-dimer

術後1年目 (プロトコル治療終了) /試験中止時

- 1) 身体所見： 体重、血圧、脈拍数
- 2) 心電図
- 3) 胸部 X 線検査： 胸部前後撮影
- 4) 心機能： 心エコー図法、心内圧測定、心血管造影、心臓 MRI
- 5) 24 時間ホルター心電図： 致死性・非致死性不整脈の検証
- 6) 臨床症状： 心不全、チアノーゼ
- 7) 血液学的検査：白血球数、好中球数、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板
- 8) 生化学検査
 - ① GOT(AST)、GPT(ALT)、LDH、総ビリルビン、直接ビリルビン、総タンパク、アルブミン、血清クレアチニン、BUN、電解質 (Na、K、Cl)、CRP、CPK、CPK-MB、BS
 - ② BNP、CEA、CA19-9

(倫理面への配慮)

遵守すべき諸規則

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、2004年10月第56回東京総会で最新改訂)や「臨床研究に関する倫理指針」(平成15年7月30日厚生労働省公布、改正：平成16年厚生労働省告示第459号)の内容を遵守し、更に「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成18年7月3日 厚生労働省公布)の内容に準じて施行する。

説明と同意（インフォームド・コンセント）

試験責任／分担医師は、被験者が試験に参加する前、心臓組織の採取前及び細胞移植手術前に、それぞれ説明文書を用いて十分説明し、試験への参加について自由意思による同意を本人から文書として得る。文書による同意を得る際には、説明医師ならびに被験者が説明文書の内容を十分理解した上で、同意書（様式）に各自日付を記入し、記名捺印または署名する。試験責任／分担医師は、記名捺印または署名した同意書の写しを説明文書と共に被験者に交付し同意書原本は説明文書と共にカルテに添付して当該医療機関で保管する。

説明文書に重大な改訂があった場合、説明医師は試験参加中の被験者に対して改訂後の説明文書を用いて再度説明し、試験参加の継続について自由意思による同意を本人から文書として得る。

試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合、試験責任／分担医師はその旨をカルテに記載し、記録を残す。被験者は同意を撤回する場合、試験責任者に対し同意撤回文書の交付を要求し、必要事項を記入した後に、提出する。試験責任医師は同意撤回文書を独立データモニタリング委員会に提出報告する。独立データモニタリング委員会は同意撤回手続きが正しく行われたことを確認、担当の試験責任医師にこれを通知する。試験責任医師は被験者に通知し、同意撤回手続きが完了する。同時に試験責任医師は登録・データセンターに試験中止報告書を提出する。

個人情報の保護

個人情報の保護については、岡山大学に適用される法令、条例等を遵守する。試験に係わる関係者は、ヒト幹細胞臨床研究を行う上で知り得た被験

者等に関する個人情報を正当な理由なく漏らしてはならないものとする。職を退いた後も同様とする。

試験責任医師および試験分担医師は、症例登録票および症例報告書等を当該機関外に提供する際には、連結可能匿名化を行うために新たに被験者識別コードを付し、それを用いる。医療機関外の者が、被験者を特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しない。

登録・データセンターが医療機関へ照会する際の被験者の特定は、試験責任医師および試験分担医師が管理する被験者識別コードまたは登録・データセンターが発行した登録番号を用いて行う。主任研究者等が試験で得られた情報を公表する際には、被験者が特定できないよう十分配慮する。

健康被害に対する補償

本臨床試験の実施に起因して有害事象が発生し、被験者に健康被害が生じた時には、すみやかに適切な治療その他最善の措置を受けることが出来るように、主任研究者、試験分担医師と岡山大学病院が対応する。

C. 研究結果

2013年6月から本第2相臨床研究の開始以降、2015年3月10日までに、ランダム化により割振りされた細胞移植群全17症例と非移植群のうち3か月目の評価検査を終了しかつ救済移植を希望された全17症例の合計34症例に対して、患者さん由来の心臓内幹細胞の冠動脈内注入を実施した。移植細胞数はプロトコル通り体重kgあたり30万個の幹細胞を3等分し、右冠動脈、左前下行枝ならびに回旋枝内に選択的に合計3mLとなるように注

入した。うち、解剖学的に低形成の冠動脈を示した5症例においては選択的注入を断念し残りの2本の冠動脈内にそれぞれ1.5mLずつ注入した。

一回当たりの冠動脈内注入時間は0.5～1.5分であったが、5分以上の休止期間をはさみ、全予定細胞数をそれぞれ冠動脈内に移植できた。右冠動脈起始部注入時に一過性の洞性徐脈を8症例に認め、バルーンによる1分以上の冠動脈閉塞の際には、ほぼ全症例において心電図上一過性のST-T変化と血圧の低下を観察した。これらの事象はバルーンdeflationにより速やかに基本調律やカテーテル前の心電図に回復し、血管拡張剤などの持続的後療法を必要とする有害事象の発生は認めなかった。

また、プロトコル治療に則り不整脈予防のため、カテーテル後のアンカロン内服を全症例に実施しているが、うち3症例はアンカロンによる陰性変時作用により、1度の房室ブロックを術後2日目から検出し、同症例のアンカロン中止により速やかに房室ブロックの改善を認めた。また、1症例においては心臓手術後より投与開始されたワーファリンと移植手術中の抗凝固療法（ヘパリン）により、心臓カテーテル後一過性の脳内出血と脊椎内出血を認めたが、抗凝固療法中止により回復した。全症例において細胞注入に伴う催不整脈作用を認めず、冠動脈穿孔や術後心タンポナーデ、感染症やアレルギーの合併も観察されなかった。

D. 考察

冠動脈注入法による心臓内幹細胞移植法は、安全で、これまでに経験した全34症例において、心臓関連の重篤な有害事象の発生は認められなかった。有効性検証は現在症例登録実施中であるが、細胞移植群に割り付けとなり、これまで移植した

17症例のうち、3か月目の評価カテーテル検査を終了した12症例に関しては、解析終了した非移植群の16症例に比べ、心室造影による心駆出率評価に有意な改善を認めた($p=0.005$)。今後、細胞移植群に割り当てられた全17症例の3か月目の心機能検査を詳細に継続検証し、また、非移植群に割り付けられながら希望により救済移植を受けた全17症例の3ヶ月目における心機能評価と比較検討することで、カテーテル治療の安全性に加え、細胞治療の臨床的有効性についてより詳細に検討していく。

E. 結論

冠動脈内注入法による心臓内幹細胞移植は、技術的に実施可能で安全である。本臨床研究開始2年度以内に全予定症例数の34人に移植できたことにより、研究計画3年目以降から、細胞移植群および非移植群の間における臨床経過の相違を長期にわたって追跡可能となり、造腫瘍作用の解析を含め、臨床治験に向けた細胞移植における安全性及び有効性に関する臨床的エビデンス構築の推進に今後も継続して邁進していく。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Ishigami S, Ohtsuki S, Tarui S, Ousaka D, Eitoku T, Kondo M, Okuyama M, Kobayashi J, Baba K, Arai S, Kawabata T, Yoshizumi K, Tateishi A, Kuroko Y, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, Sano S, Oh H. Intracoronary Autologous Cardiac Progenitor Cell Transfer in Patients with

Hypoplastic Left Heart Syndrome: The TICAP Prospective Phase 1 Controlled Trial. *Circ Res.* 2015;116:653-664.

- ② Mutations of NOTCH3 in childhood pulmonary arterial hypertension. Chida A, Shintani M, Matsushita Y, Sato H, Eitoku T, Nakayama T, Furutani Y, Hayama E, Kawamura Y, Inai K, Ohtsuki S, Saji T, Nonoyama S, Nakanishi T. *Mol Genet Genomic Med.* 2014 May;2(3):229-39
- ③ Stenting for pulmonary artery stenosis complicated by univentricular physiology: subanalysis of JPIC stent survey. Fujii T, Tomita H, Ohtsuki S, Kobayashi T, Ono Y, Yazaki S, Kim SH, Nakanishi T. *J Cardiol.* 2014 Oct;64(4):324-7
- ④ Baba, K., Kondo, M., , Eitoku, T., Kurita, Y., Shigemitsu, Yuusuke., Fukushima, Yuusuke., Hirai, Kenta., Ohtsuki, S.: Hydrogel expanded coils for vascular occlusion in congenital heart disease. *Catheter Cardiovasc Interv* 2014; 83:12231.
- ⑤ 栗田佳彦, 大月審一: I-P-046 カプセル内視

鏡によるフォンタン手術後蛋白漏出性胃腸症の治療効果判定について. 日本小児循環器学会雑誌 30(suppl): 5281-5282, 2014.

2. 学会発表

- ① Baba, K., Ohtsuki, S.: Hydrogel expandable coils for vascular occlusion in congenital heart disease. *Pediatric and adult interventional cardiac symposium*, Chicago, 2014

H. 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。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍 (王 英正)

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|-------------------------|--------------------|-----------|-------|------|-----|------|-------|
| 樽井 俊、 王 英正、 佐野俊二、 | 先天性心疾患外科手術における再生医療 | 福田恵一 | 循環器内科 | 医学出版 | 東京 | 2014 | 87-93 |

書籍 (佐野俊二)

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|--|--|-----------|----------------------|------|-----|------|---------|
| 笠原真悟、 佐野俊二 | 左心低形成症候群に対する治療戦略 左心低形成症候群における段階的治療—最適なFontan手術をめざして— | 許俊鋭 | 胸部外科 | 南江堂 | 東京 | 2014 | 287-293 |
| 樽井 俊、 王 英正、 佐野俊二、 | 先天性心疾患外科手術における再生医療 | 福田恵一 | 循環器内科 | 医学出版 | 東京 | 2014 | 87-93 |
| 大澤 晋、 正木久男、 藤原寛康、 柚木靖弘、 佐野俊二 | 特発性上腕動脈脈瘤の1例 | 日本静脈学会 | 脈管学 | 医学出版 | 東京 | 2014 | 346-349 |
| 佐野俊二 | 一枚のシェーマ 右室-肺動脈シャントを用いたNorwood手術変法 | | 胸部外科 | 南江堂 | 東京 | 2014 | 914 |
| 坂野紀子、 笠原真悟、 荻野景観、 篠崎洋二、 佐野俊二 | 在宅医療での遠隔リアルタイムモニタリングシステム構築の試み；5症例の経験 | 日本遠隔医療学会 | 日本遠隔医療学会雑誌 | 中山書院 | 東京 | 2014 | 52-57 |
| 佐野俊二 | 房室中隔欠損(心内膜床欠損) | 堀正二・永井良三 | 循環器心疾患最新の治療2014-2015 | 南江堂 | 東京 | 2014 | 208-212 |

| | | | | | | | |
|---|--|---|-----------------------|---------------------------|----|------|---------|
| 佐野俊二、 笠原真悟、 新井禎彦、 岩崎達雄、 清水一好、 戸田雄一 郎、杉本健 太郎、石井 典子、川瀬 宏和、森田 潔、伊藤 英史 | 大動脈縮窄症・ 大動脈弓離断症 に対する手術と 体外循環法 | 許俊鋭・山 田芳嗣・百 瀬直樹 | 心臓手術の実 際Part3 | 学研メデ ィカル秀 潤社 | 東京 | 2014 | 283-292 |
| 佐野俊二 | 脳死判定 | 永井良三・ 五十嵐隆・ 秋山千枝 子・賀藤 均・金子一 成・田原卓 浩・渡邊博 | 小児科研修ノ ート改訂第2 版 | 診断と治 療社 | 東京 | 2014 | 202-206 |
| 笠原真悟、 佐野俊二 | 先天性心疾患に 対する遠隔医療 の構築 | | 月刊新医療 | 株式会社 エム・イ ー振興協 会 | 東京 | 2014 | 146-149 |

書籍 (大月審一)

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の 編集者名 | 書 籍 名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|---------------|---|---------------|-----------------|------|-----|------|---------------|
| 栗田佳彦、 大月審一 | カプセル内視鏡 によるフォンタ ン手術後蛋白漏 出性胃腸症の治 療効果判定につ いて | | 日本小児循環 器学会雑誌 | 医学出版 | 東京 | 2014 | 5281-52 82 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|--|-----|---------------|------|
| Ishigami S, Ohtsuki S, Tarui S, Ousaka D, Eitoku T, Kondo M, Okuyama M, Kobayashi J, Baba K, Arai S, Kawabata T, Yoshizumi K, Tateishi A, Kuroko Y, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, Sano S, <u>Oh H.</u> | Intracoronary Autologous Cardiac Progenitor Cell Transfer in Patients with Hypoplastic Left Heart Syndrome: The TICAP Prospective Phase 1 Controlled Trial. | <i>Circ Res.</i> | 116 | 653-664 | 2015 |
| Kobayashi J., Sano S., <u>Oh H.</u> | Epigenetic modification in congenital heart diseases by using stem cell technologies | <i>Stem Cell Epigenetic s</i> | 2 | In press | 2015 |
| Ogata T, Naito D, Nakanishi N, Hayashi YK, Taniguchi T, Miyagawa K, Hamaoka T, Maruyama N, Matoba S, Ikeda K, Yamada H, <u>Oh H.</u> , Ueyama T. | MURC/Cavin-4 facilitates recruitment of ERK to caveolae and concentric cardiac hypertrophy induced by α 1- adrenergic receptors. | <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> | 111 | 3811- 3816 | 2014 |
| Tarui S, San o S, <u>Oh H.</u> | Stem cell therapy in patients with single ventricle physiology. | <i>Methodist DeBakey Cardiovasc ular Journal</i> | 10 | 77-81 | 2014 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------|---|---------|------|
| Kobayashi J., Yoshida M., Tarui S., Hirata M., Nagai Y., Kasahara S., Keiji K., Ito H., Sano S., <u>Oh H.</u> | Directed Differentiation of Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells Identifies the Transcriptional Repression and Epigenetic Modification of NKX2-5, HAND1, and NOTCH1 in Hypoplastic Left Heart Syndrome. | <i>PLOS One</i> | 9 | e102796 | 2014 |
|---|--|-----------------|---|---------|------|

雑誌 (佐野俊二)

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|---|-----|----------|------|
| Ishigami S, Ohtsuki S, Tarui S, Ousaka D, Eitoku T, Kondo M, Okuyama M, Kobayashi J, Baba K, Arai S, Kawabata T, Yoshizumi K, Tateishi A, Kuroko Y, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, <u>Sano S, Oh H.</u> | Intracoronary Autologous Cardiac Progenitor Cell Transfer in Patients with Hypoplastic Left Heart Syndrome: The TICAP Prospective Phase 1 Controlled Trial. | <i>Circ Res.</i> | 116 | 653-664 | 2015 |
| Kobayashi J., <u>Sano S.</u> , Oh H. | Epigenetic modification in congenital heart diseases by using stem cell technologies | <i>Stem Cell Epigenetics</i> | 2 | In press | 2015 |
| Tarui S, <u>Sano S.</u> , Oh H. | Stem cell therapy in patients with single ventricle physiology. | <i>Methodist DeBakey Cardiovascular Journal</i> | 10 | 77-81 | 2014 |

| | | | | | |
|--|--|------------------------------------|----|---------|------|
| Kobayashi J., Yoshida M., Tarui S., Hirata M., Nagai Y., Kasahara S., Keiji K., Ito H., <u>Sano S.</u> , Oh H. | Directed Differentiation of Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells Identifies the Transcriptional Repression and Epigenetic Modification of NKX2-5, HAND1, and NOTCH1 in Hypoplastic Left Heart Syndrome. | <i>PLOS One</i> | 9 | e102796 | 2014 |
| Oozawa S, Akaigi T, <u>Sano S</u> | A New Hemostasis Tool after Percutaneous Angioplasty: The Hemcontm Pad Hemostasis Device. | <i>J Vasc Med Surg</i> | 2 | 125 | 2014 |
| Yoshizumi K, Kasahara S, <u>Sano S</u> | Anomalous right subclavian artery from pulmonary artery. | <i>Asian Cardiovasc Thorac Ann</i> | | Epub | 2014 |
| <u>Sano S</u> , 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. | <i>Eur J Cardiothorac Surg.</i> | 45 | 549-555 | 2014 |
| Kijima Y, Akaigi T, Nakagawa K, Taniguchi M, Ueoka A, Deguchi K, Toh N, Oe H, Kusano K, <u>Sano S</u> , Ito H | Catheter closure of patent foramen ovale in patients with cryptogenic cardiovascular accidents: initial experiences in Japan | <i>Cardiovasc Interv and Ther</i> | 29 | 11-17 | 2014 |
| Takaya Y, Akaigi T, Kijima Y, Nakagawa K, Taniguchi M, Ohtani H, <u>Sano S</u> , Ito H | Transcatheter closure of right-to-left atrial shunt in patients with platypnea-orthodeoxia syndrome associated with aortic elongation | <i>Cardiovasc Interv Ther</i> | 29 | 221-225 | 2014 |
| Kijima Y, Akaigi T, Nakagawa K, Promphan W, Toh N, Nakamura K, <u>Sano S</u> , Ito H | Cardiac erosion after catheter closure of atrial septal defect: Septal malalignment may be a novel risk factor for erosion | <i>Journal Cardiology Case</i> | 9 | 134-137 | 2014 |

| | | | | | |
|---|--|----------------------|-----|---------|------|
| Sakurai S, Kuroko Y, Shimizu S, Kawada T, Akiyama T, Yamazaki T, Sugimachi M, <u>Sano S</u> | Effects of intravenous cariporide on release of norepinephrine and myoglobin during myocardial ischemia/reperfusion in rabbits | <i>Life Sciences</i> | 114 | 102-106 | 2014 |
|---|--|----------------------|-----|---------|------|

雑誌 (大月審一)

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|---|-------------------------------|-----|---------|------|
| Ishigami S, <u>Ohtsuki S</u> , Tarui S, Ousaka D, Eitoku T, Kondo M, Okuyama M, Kobayashi J, Baba K, Arai S, Kawabata T, Yoshizumi K, Tateishi A, Kuroko Y, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, Sano S, Oh H. | Intracoronary Autologous Cardiac Progenitor Cell Transfer in Patients with Hypoplastic Left Heart Syndrome: The TICAP Prospective Phase 1 Controlled Trial. | <i>Circ Res.</i> | 116 | 653-664 | 2015 |
| Chida A, Shintani M, Matsushita Y, Sato H, Eitoku T, Nakayama T, Furutani Y, Hayama E, Kawamura Y, Inai K, <u>Ohtsuki S</u> , Saji T, Nonoyama S, Nakanishi T. | Mutations of NOTCH3 in childhood pulmonary arterial hypertension. | <i>Mol Genet Genomic Med.</i> | 2 | 229-239 | 2014 |
| Fujii T, Tomita H, <u>Ohtsuki S</u> , Kobayashi T, Ono Y, Yazaki S, Kim SH, Nakanishi T. | Stenting for pulmonary artery stenosis complicated by univentricular physiology: subanalysis of JPIC stent survey. | <i>J Cardiol.</i> | 64 | 324-327 | 2014 |

| | | | | | |
|--|--|--|-----------|--------------|-------------|
| <p>Baba, K. , Kondo, M. , Eitoku, T., Kurita, Y.,Shigemitsu , Yuusuke., Fukushima, Yuusuke., Hirai, Kenta., <u>Ohtsuki, S</u></p> | <p>Hydrogel expanded coils for vascular occlusion in congenital heart disease.</p> | <p><i>Catheter Cardiovasc Interv</i></p> | <p>83</p> | <p>12231</p> | <p>2014</p> |
|--|--|--|-----------|--------------|-------------|