

厚生労働科学研究費補助金

成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

小児心不全に対する細胞治療と単心室症由来人工多能性幹(iPS)細胞の樹立による次世代心筋再生医療法の開発に関する研究

平成22年度～24年度 総合研究報告書

研究代表者 王 英正

平成25(2013)年 5月

目 次

I . 総合研究報告

小児心不全に対する細胞治療と単心室症由来人工多能性幹(i P S)細胞の樹立による次世代心筋再生医療法の開発に関する研究

王 英正----- 3

(資料) 小児心不全への心臓内幹細胞自家移植療法の第1相臨床試験

(資料) 小児心不全由来の疾患特異的 i P S 細胞の樹立と機能解析

(資料) 直接リプログラミング法による人工心筋細胞の作製

II . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 38

III . 研究成果の刊行物・別刷 ----- 57

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業
(総合)研究報告書

小児心不全への心臓内幹細胞自家移植療法の第1相臨床試験に関する研究

研究代表者 王 英正 岡山大学病院教授

研究要旨

複雑心奇形である機能的単心室症に対する修復術後遠隔期における循環不全は、従来の治療法では救命が期待できない重篤な心疾患である。2009年7月に成立した改正臓器移植法により、国内での小児心臓移植の実施が可能となったが、慢性的なドナー不足は世界規模で深刻であり、新たな治療法の開発が注目されている。本研究では、末期小児心不全に対する心臓内幹細胞を用いた自家細胞移植療法の臨床研究の実施することを目的とする。

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

心臓血管外科教授

伊藤 浩

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

循環器内科教授

社会背景のもと、心筋再生医療が実用化され、重篤な心不全を改善させることができれば、心臓移植適応となる小児症例を減少させ、切実な臓器提供者不足の問題を解消し、国民医療費においても大きな国家財政の負担軽減となる。

心臓内自己幹細胞を用いた細胞治療法は、心不全の予防から健康寿命の延伸に寄与する画期的な医療技術である。2009年に米国より実施開始された虚血性心不全患者を対象とした心臓内自己幹細胞の冠動脈内注入法による第I相臨床試験 (SCIPPIO試験及びCADUCEUS試験)により、安全性をはじめとして、細胞治療による梗塞サイズの縮小と局所壁運動の改善効果が示唆されているが(Lancet 378:1847; 2011, Lancet 379: 895;2012)、小児心不全への治療効果は不明である。

A. 研究目的

本邦における小児重度心不全に対する医療背景として、小児の海外渡航による心臓移植医療に大きく依存し、それに関わる費用は1億円を超えている。また、心臓移植を必要とする治療抵抗性の心不全の予後は、一年生存率が50%以下と不良であり、心不全治療に関連する入院費や薬物治療費は国民医療費の約20%以上を占める。このような

申請者らは、これまでにマウス及びヒト心臓内における心臓内幹細胞の存在と大型動物での細胞移植効果について報告してきた (*Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:12313, *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:1858)。

また、申請者らが報告した小児心臓における自己幹細胞の存在量と増殖能力が成人症例より高いという結果から、本細胞移植技術の小児心不全への臨床的有用性は十分に期待できる (*Biochem Biophys Res Commun* 352:635; 2007)。さらに、先天性心疾患患者からのiPS細胞の樹立に関する報告も皆無であることから、本研究内容は極めて独創的で、最先端の開発研究といえる。

本研究では患者本人の心臓内幹細胞を用いた心筋再生医療として、小児心不全を対象とする第I相臨床試験 (TICAP試験) の実施により、本治療法の安全性を検証し、将来の標準治療化に向けた基盤技術の確立を目指す。

本臨床研究の推進により、再生医療技術の社会還元及び国民の健康増進に対して着実に寄与できると考える。

B. 研究方法

1. 右心負荷モデルへの細胞治療の前臨床試験

第1相臨床試験の成果検証とともに、有効性試験への準備を行う。第2相臨床試験においては、冠動脈内に注入する自己幹細胞数を決定することが重要である。このため、中型動物であるラットモデルを用いて、以下のような前臨床試験を行った。

小児心不全の主たる病態である右心室負荷はラットの肺動脈を絞扼せることで動物実験モデルとして作成し、大量培養した心臓内幹細胞を冠動脈内に直接注入する。自家細胞移植に必要な細胞数として、30万個/kgと60万個/kgの2つの細胞数を

2群に分けて注入し、無移植群に比べ心機能の改善度を検証し、移植に必要な最小細胞数を決定する。

2. 小児心不全への心臓内幹細胞自家移植療法

世界初となる小児心不全への細胞治療法の第1相臨床試験は、平成23年1月に「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」に則り、厚生科学審議会にて実施承認後、同年3月より岡山大学病院で2年間かけて合計7症例に対し細胞移植の登録実施を行う。

対象は0から6歳までの機能的単心室性の心不全症例とし、目標症例数は7例とする。通常の外科的修復術時に右心耳または右流出路から心臓組織 (100mgから250mg) を採取し、自家心臓幹細胞株を樹立する。約2-3週間で移植に必要な細胞数 ($3 \times 10^5/\text{kg}$) まで幹細胞を増殖させ、心臓手術後評価のための心臓カテーテル検査時に、冠動脈内に直接注入することで移植する。細胞移植後1年まで追跡調査し、安全性の評価を行う。

プロトコルの主要エンドポイントに従い、心不全、致死性不整脈、蛋白漏出性腸症、感染症、造腫瘍作用などを含む重篤な有害事象の発生有無に最大限の注意と経過観察を行う。

治療法の安全性と有効性を確認するために、第3例が術後6ヶ月経過した段階で、独立モニタリング委員会において、心不全の悪化、致死性不整脈、血圧低下、心拍数の低下などの有害事象の発生等を評価し、臨床研究の続行に問題がないかを審議する。

有効性の評価項目は術後3ヶ月、1年目における心不全の臨床症状、BNP値ならびに心エコー法、心MRI、心室造影による心駆出率の改善度とし、また、心臓カテーテル検査による心室拡張末期圧、肺動脈圧、肺動脈圧格差、肺血管抵抗値を計測し、標準治療群の7症例と比較検証する。

3. 第2相臨床試験のプロトコル作成と承認申請

第1相臨床試験の安全性確認を踏まえ、有効性検証目的となる第2相臨床試験では、第1相臨床試験の成果を踏まえ、細胞治療の有効性を検出する必要最小限の症例数を算出する必要がある。7対7症例の第1相臨床試験において得られた細胞移植後の心機能改善度を解析し、同群間のみならず異群間での心機能改善度を統計学的に有意に検出できる実施症例数を算出する。

作成した第2相臨床試験プロトコルは学内の倫理委員会での審議承認を経て、厚生科学審議会に提出し、承認申請を行う。第2相臨床試験はより科学的な有効性の判定を行うため、試験設計は無作為割り付けによる比較対照試験とする。また、有害事象に関するデータモニタリングを実施するため、eClinical/Electronic Data Capture (EDC) による登録症例の適応基準の判定、コンピューターによる無作為の群別割り付けや細胞治療前後の臨床経過の追跡を行う内容にする。

(倫理面への配慮)

1. ヒト心臓組織の心筋生検による採取は、岡山大学医学部の倫理委員会にて審査承認された臨床研究プロトコル(承認番号766)に従順して行い、「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。
2. 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。
3. 臨床研究プロトコルはヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成18年告示第425号)を遵守して作成し、外部倫理委員会を

めた体制で審査される。

4. 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。ヒト心臓内幹細胞は、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成22年告示第380号)を遵守して、岡山大学病院内に整備したGMP基準の細胞調節施設内で精製する。
5. 臨床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、危険性の説明と研究内容に関する理解を得る。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。
6. 有害事象発生時には、試験責任/分担医師は「重篤な有害事象発生時対応マニュアル」に沿って対応し、一次、二次と最終報告を行う。

C. 研究結果

1. 第1相臨床試験プロトコルの承認

第1相臨床試験への動物検証実験として、冠動脈注入法による細胞治療の安全性確認をSprague Dawleyラットにおける右心室圧負荷モデル用いて検証した。30匹のラットを2群に分け、18ゲージの針用いて、肺動脈に狭窄病変を作成した。術後1週間目において、手術による急性期死亡を免れたラット22匹についてさらに、細胞移植群(n=12)と非移植群(n=10)に分けて移植検討を行った。方法は10分間隔で、上行大動脈と肺動脈を同時に20秒間閉塞させ、その間に1mLに希釈した 1×10^5 個のラット心臓内幹細胞を合計3回に分けて大動脈幹内に注入し、冠動脈内に投与した。非細胞移植群は同量の生理食塩水を注入した。

安全性の検証においては、細胞移植群12匹中1匹、非細胞移植群10匹中1匹が細胞移植前の再麻

酔中で死亡したため解析対象から除外した。細胞移植群のうち5匹、非細胞移植群のうち4匹をそれぞれ移植前のコントロールとして解析した。移植手技を完結した細胞移植群6匹及び非細胞移植群5匹とも細胞移植後4週間まで生存し、病理組織学的検討を行った。冠動脈注入法においても、右室内血管周囲及び心内膜側にドナー細胞の生着を認め、約3～5%が心筋細胞に分化した。もう一つ重要で期待された効果として、右室圧負荷によって、惹起された右室心筋での線維化領域が細胞移植によって有意に縮小した。

また、細胞移植群、非細胞移植群とも全例において、冠動脈注入時に心電図モニターによる監視を行い、両群とも虚血性変化や有害不整脈の発生は認められなかった。

2. 実施終了の第1相臨床試験のデータ解析(安全性検証)

平成23年度から平成24年度にかけて移植実施した全7症例の安全性検証について、移植直後から1年間にかけて長期にわたって観察し各種評価法により定量化した。移植後急性期より、冠動脈内注入法による細胞移植で虚血や不整脈の惹起を認めず、移植後1年間を通じて、死亡、心不全発症や感染症の併発などの事象は起こらなかった。もっとも重要なこととして、細胞移植した全7症例において、移植した心臓部位を含め腫瘍形成作用を認められなかった。

3. 第1相臨床試験の有効性検証

本臨床研究では、7症例の細胞移植群と7症例の標準治療群(非細胞移植群)の比較試験を行い、心臓内幹細胞自家移植の有効性について検証した。細胞移植後1週間前後にて、全7症例とも軽快退院となり、3か月目および1年目での心機能評価を各種パラメーターを用いて解析した。

細胞治療の有効性について、細胞移植後3か月目より1年目にかけて、心エコー、心臓カテーテル、心臓MRI検査によって評価し、心室駆出率と心係数の継続的改善を示した。興味深いことに、細胞治療群は移植後心収縮能のみならず、拡張能の改善ならびに三尖弁の弁輪径の縮小を認めた。

D. 考察

本第1相臨床試験で実施した全7症例において冠動脈内注入法による細胞治療法の安全性を確認した。治療有効性に関しては、今後34人から構成される無作為割り付けした第2相臨床試験において平成25年度より検証していく。

E. 結論

左心低形成症候群7症例を対象に、小児心不全における心臓内自己幹細胞を用いた冠動脈内注入による移植法の安全性を確認した。体重が3キロ以上で、年齢が生後6か月以降なら、カテーテル操作を伴う冠動脈造影や細胞注入は技術的に充分実施可能でかつ安全である。具体的には、細胞移植後1年目までの観察期間において、細胞注入による急性心筋虚血、催不整脈作用はなく、心不全や死亡事例も生じなかった。長期的観察期間における細胞起因性の腫瘍形成や感染症の発症も認めなかった。

また、細胞治療群の7症例は非細胞治療群の7症例に比し、心室収縮能および拡張能の改善を有意に認め、移植後1年目まで継続したこれらの有効性を示唆する所見は、今後合計34人まで症例数を増やしたランダム化対照比較試験を登録実施することによって注意深く検証していく予定である。

F. 研究発表

論文発表

1. Yoshida M, Oh H. Stem Cell Engineering for Cardiac Tissue Regeneration. *Cardiology* 115:191-193 (2010).
2. Isodono K, Takahashi T, Imoto H, Nakanishi N, Ogata T, Asada S, Adachi A, Ueyama T, Oh H, Matsubara H. PARM-1 is an Endoplasmic Reticulum Molecule Involved in Endoplasmic Reticulum Stress-induced Apoptosis in Rat Cardiac Myocytes. *PLoS ONE* 18(5):e9746(2010).
3. Rodriguez G, Ueyama T, Ogata T, Czernuszewicz G, Tan Y, Dorn GW 2nd, Bogaev R, Amano K, Oh H, Matsubara H, Willerson JT, Marian AJ. Molecular genetic and functional characterization implicate muscle-restricted coiled-coil gene (MURC) as a causal gene for familial dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4(4):349-58.
4. 樽井 俊、佐野俊二、王 英正 小児心不全への細胞治療 Medical Science Digest 特集;37:439-442 (2011)
5. 王 英正 小児心不全への細胞治療の現状と展望 呼吸と循環 60:S14-S16 (2012)
6. 王 英正 テロメア生物学から心筋再生医療の実用化へ 岡山医学会雑誌 124;27-34(2012)
7. 小林純子、佐野俊二、王 英正 先天性心疾患に対する心筋再生医療 循環器内科 71(4):360-368 科学評論社 (2012)

学会発表

1. Takehara N, Tsutsumi Y, Amano K, Oh H, Yaku H, Tabata Y, Matsubara H,

Transplantation of autologous human cardiosphere-derived stem cells innovated via hydrogel surgical approach; the first-in-man clinical trial. *XX World Congress of International Society for Heart Failure*, 114:P-1-37-2 (2010.5).

2. 王 英正 小児心不全への細胞治療の開発 第16回西日本小児がんセミナー 大阪 (2010. 2)
3. 王 英正 心筋再生医療が描く現在と未来 2010 年循環器エキスパート合同ミーティング 岡山 (2010.4)
4. 王 英正 小児心不全への細胞治療の現状と展望 重症心不全治療フォーラム 岡山 2011.10.22
5. 王 英正 心不全の心筋再生医療 岡二会 岡山 2012.1.28
6. Oh H. Cardiac progenitor-based therapy and reprogramming in patients with congenital heart disease, *Cardiac Development Symposium*, Munich (2012.3)
7. Direct induction of human cardiac progenitor cells to functional cardiomyocytes by defined factors. Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. *American Heart Association Suppl.* (2011).
8. Insulin-like growth factor-2 receptor controls human cardiac progenitor proliferation and differentiation in children with congenital heart malformation. Yoshida M, Kobayashi, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H. *American Heart Association Suppl.* (2011).
9. Direct reprogramming of human cardiac

- progenitor cells towards functional cardiomyocytes. Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. Suppl. p213 (2011).
10. Generation and functional analysis of induced pluripotent stem cells in patients with congenital heart disease. Kobayashi J, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. Suppl. p172 (2011).
 11. Heterokaryon-based reprogramming of human cardiac progenitor cells into functional cardiomyocytes. Hirata M, Kobayashi J, Tarui S, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. Suppl. p352 (2011).
 12. Mechanical stretch promotes reprogramming of human cardiac progenitors into functional cardiomyocytes by defined factors. Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Yoshida M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H 第75回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal*
 13. Reprogramming of human cardiac progenitors into pluripotency in patients with congenital heart disease. Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H 第75回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal*
 14. 王 英正 心不全の心筋再生医療 岡二会 岡山 (2012.1.28)
 15. 王 英正 小児心不全と細胞治療 先天性心疾患シンポジウム 岡山 (2012.5.27)
 16. 王 英正 左心低形成症候群に対する心臓内幹細胞自家移植療法 第7回 岡山心移植心不全研究会 岡山 (2012.9.4)
 17. 王 英正 第15回遺伝子治療推進産学懇話会 小児心不全への再生医療の可能性 京都大学東京オフィス (2012.9.25)
 18. 王 英正 Mending and Modeling the Congenital Heart Diseases by Patient-Specific Cardiac Progenitors 東京女子医科大学 第3回最先端研究開発支援プログラム(FIRST)セミナー 東京 (2012.10.05)
 19. 王 英正 重度心臓病に対する心筋再生医療 オープンフォーラム 2012 岡山 (2012.10.27)
 20. 王 英正 心筋再生医療の臨床試験と研究開発状況 技術情報協会セミナー 東京 (2012.11.20)
 21. 王 英正 疾患特異的幹細胞およびiPS細胞を駆使した希少小児心疾患に対する細胞治療と病態解明 消化器研究セミナー 岡山大学 (2013.1.10)
 22. 王 英正 橋渡し研究加速推進ネットワーク シンポジウム 小児心不全に対する細胞治療の中間報告と疾患特異的iPS細胞の樹立による次世代心臓再生法の開発 岡山 (2012.7.7)
 23. 王 英正 岡山心臓血管外科カンファレンス 小児心不全への細胞治療法の可能性 岡山 (2012.7.21)
 24. Oh H. Mending and Modeling the Congenital Heart Diseases by Patient-Specific Cardiac Progenitors. Symposium at Texas Heart Institute

- (2012.11.4)
25. Oh H, Tarui S, Ohtsuki S, Sano S. Cardiac progenitor cell infusion in patients with hypoplastic left heart syndrome: a prospective phase 1 clinical trial. Japanese Heart Failure Society (2012,12.2)
 26. Oh H. iPS 細胞を用いた心疾患の新たな診断法と治療開発 岡山大学サイエンスカフェ (2013.2.8)
 27. 王 英正 希少難治性心不全に対するヒト幹細胞移植療法の長期的エビデンス 第 12 回日本再生医療学会 (2013.3.21)
 28. Oh H. Cardiac progenitor-based therapy and reprogramming in patients with congenital heart disease, *Cardiac Development Symposium*, Munich (2012.3)
 29. Patient-specific induced pluripotent stem cells from cardiac progenitors recapitulate the models for cardiac chamber disorder. Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, K Takahashi, K Naruse, Sano S, Oh H *International Society of Stem Cell Research* (2012)
 30. Mechanical stretch modulates calcium handling during direct cardiac reprogramming of resident progenitor cells in human heart. Tarui S, Kobayashi J , Hirata M, Yoshida M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S,Ito H, Sano S, Oh H *International Society of Stem Cell Research* (2012)
 31. Transition of cardiogenic to angiogenic potential of human cardiac progenitor cells occurs with age. Yoshida M, Tarui M, Kobayashi J , Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H. *International Society of Stem Cell Research* (2012)
 32. Mechanical stretch modulates calcium handling during direct cardiac reprogramming of resident progenitor cells in human heart. Tarui S, Kobayashi J , Hirata M, Yoshida M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S,Ito H, Sano S, Oh H *European Society of Cardiology* (2012)
 33. Patient-specific induced pluripotent stem cells from cardiac progenitors recapitulate the models for cardiac chamber disorder. Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, K Takahashi, K Naruse, Sano S, Oh H *European Society of Cardiology* (2012)
 34. Hedgehog interacting protein controls age-dependent angiogenic activity in human cardiac progenitor cells through insulin-like growth factor-1 receptor signaling Yoshida M, Kobayashi, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H. *American Heart Association Suppl.* (2012).
 35. Patient-specific induced pluripotent stem cells for modeling hypoplastic left heart syndrome. Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, K Takahashi, K Naruse, Sano S, Oh H *American Heart Association Suppl.* (2012).
 36. Factors-based human cardiomyocytes differentiation exhibits defective maturation and excitation through aberrant calcium handling proteins. Tarui S, Kobayashi J , Hirata M, Yoshida M,

- Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H *American Heart Association Suppl.* (2012).
37. Mechanical stretch promotes reprogramming of human cardiac progenitors into functional cardiomyocytes by defined factors. Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Yoshida M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H 第76回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal* (2012)
38. Reprogramming of human cardiac progenitors into pluripotency in patients with congenital heart disease. Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H 第76回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal* (2012)
39. 先天性心疾患患者由来の心臓内幹細胞を用いた疾患特異的ヒトiPS細胞の樹立と機能解析. 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 小児循環器学会 (2012)
40. Heterokaryon-based reprogramming of human cardiac progenitor cells into functional cardiomyocytes. Hirata M, Kobayashi J, Tarui S, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. 小児循環器学会 (2012)
41. 疾患特異的ヒトiPS細胞を用いた左心低形成症候群の実験モデル化と病態解析 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 日本胸部外科学会 *Gen Thorac Cardiovasc Surg. Suppl.* 439 (2012)
42. 人工ヒト心筋細胞の成熟化におけるカルシウムイオンポンプの重要な役割 樽井俊, 小林純子, 平田昌敬, 高橋賢, 入部玄太郎, 成瀬恵治, 笠原真悟, 佐野俊二, 王英正 日本胸部外科学会 *Gen Thorac Cardiovasc Surg. Suppl.* 440 (2012)
43. Aberrant calcium handling inhibits functional maturation and excitation in factors-based human cardiomyocytes differentiation. Tarui S, Kobayashi J, Hirata M, Yoshida M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Ito H, Sano S, Oh H 日本心不全学会 YIA (2012).
44. 先天性心疾患の疾患特異的iPS細胞の樹立と左心低形成症候群の心臓発生異常の解明 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 日本心臓血管外科学会 (2013)
45. Modeling and dissecting hypoplastic left heart syndrome by patient-specific induced pluripotent stem cells Kobayashi J, Tarui S, Hirata M, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. 第77回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal* (2013)
46. Engineering human bioartificial heart with three-dimensional extracellular matrix materials. Hirata M, Kobayashi J, Tarui S, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. 第77回日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal* (2013)
47. Heterokaryon-based reprogramming of human cardiac progenitor cells into functional cardiomyocytes. Hirata M,

Kobayashi J, Tarui S, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. 日本心臓血管外科学会 (2013)

吉積 功, 新井禎彦, 笠原真悟, 佐野俊二, 王 英正 日本外科学会 Young Researcher Award (2013)

48. ハーフクリップ法によるラット右心圧負荷モデルの作製 Okuyama M, Hirata M, Kobayashi J, Tarui S, Tateishi A, Arai S, Kasahara S, Sano S, Oh H. 日本心臓血管外科学会 (2013)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

49. 疾患特異的 iPS 細胞の樹立と左心低形成症候群の心臓発生異常の解明 小林純子, 樽井 俊, 平田昌敬, 川畑拓也, 黒子洋介, 立石篤史,

3. その他

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業
(総合)研究報告書

小児心不全由来の疾患特異的 i P S 細胞の樹立と機能解析

研究代表者 王 英正 岡山大学病院教授

研究要旨

左心低形成症候群は先天性心疾患による心不全死の約25~40%を占めるとされており、心臓移植以外に根治的な治療法はない。国内では乳幼児への心臓移植の実施例がまだなく、姑息的心臓手術後の10年生存率は約60%程度で、長期予後を予測する診断法は確立されていない。臨床的に術後成績を規定する要素として、房室弁逆流や蛋白漏出性腸症の併発があるが、遅発性のため術後早期における予測は困難である。本研究によって、疾患特異的iPS細胞を樹立することにより、病態発症前に初期化し培養細胞系において、経時的に房室弁や心臓の四腔形成に重要な各種転写因子を網羅的に解析することで、術後の遅発性心臓合併症を予測できる。

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

心臓血管外科教授

限界がある。このため、標準外科的治療後の中長期における生命予後を予測する方法を開発することは、治療戦略上、心臓移植適応候補者を選定する面からも重要な研究課題である。

A. 研究目的

単心室循環を示す左心低形成症候群は1万人に1人の頻度で年間約1,000人が出生し、米国では小児心臓移植適応例の約半数が本疾患に属するように極めて予後が不良の希少難治性心疾患である。一方、乳幼児における心臓移植の実績がない我が国では、生後直後より3期にわたる心臓手術が唯一の治療法であり、5年生存率は約60%と

これまで多くの臨床研究の報告により、機能的単心室症に対する心臓シャント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。特に第3期である 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、先天性心奇形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。

また、左心低形成症候群の初期予後規定因子として、染色体異常を伴う内臓心房錯位をはじめ、僧帽弁狭窄症と大動脈弁閉鎖合併例が報告されているが、中長期に発症する房室弁逆流や蛋白漏出性腸症合併例の予後も不良で、術後に予知するすべがなく、その分子機構は明らかにされていない。

臨床的には、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 3 か月以内に予後予測が可能となり、長期入院による患者さん本人とご家族の負担を軽減させることができる。

本研究では、心臓手術中に入手した余剰組織を用いて心臓内幹細胞を精製し、レトロウイルスベクターを用いて、Oct4, Klf4, Sox2, c-mycを直接遺伝子導入することで疾患特異的ヒトiPS細胞を樹立する。樹立した各種先天性心疾患由来のiPS細胞を心筋細胞に直接系統誘導する各段階において、経時的に遺伝子発現様式を調べることで、疾患発症にかかわる規定因子群を同定する。

さらに単心室系の循環動態をもつヒトiPS細胞より分化させたヒト心筋細胞と心室切除後において極めて高い自己再生能をもつzebrafish心の自己再生プログラムと比較検討することで、次世代心筋再生医療法につながる新たなヒト心筋細胞誘導因子群を同定する。

本研究の推進により、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、心臓手術後の予後調査研究と 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、普及を図るとともに、長期にわたる患者さん本人とご家族の生活面での支障を取り除き、医療費の負担軽減を図る。

B. 研究方法

1. 心臓手術時の余剰組織採取と心臓内幹細胞の初期化

各種先天性心疾患の心臓手術に際し、患者さんのご両親より余剰組織の採取に関する同意書を得る。採取組織量としては100-250mgの心臓組織を右心房より採取後培養に用いる。約10日から2週間の細胞培養で、患者特異的心臓内幹細胞の純化精製と大量培養を行う。

しかしながら、すでに病態発症している組織細胞では、ヒト心臓発生初期における転写因子群の異常について大部分において集約することは可能であるが、臨床上孤発性疾患が多い左心低形成症候群に対しては、前駆細胞を用いた解析法により個々の疾患における起因遺伝子を同定することは困難である。

一方、iPS細胞作製技術は、既に疾患を発症した患者の体組織細胞を初期化することで、疾患発症前に遺伝子情報をリセットでき、かつ継時的に疾患発症にかかわる遺伝子発現異常を網羅することができる。

レトロウイルスベクターを用いて、胚性幹(ES)細胞に初期化する転写因子群であるOct4, Klf4, Sox2, c-mycを細胞内に導入し、約3週間の培養でES様コロニーを得る。形成されたES細胞コロニーを機械的に採取し、継代培養することで真のヒ

トiPS細胞をクローン化する。

樹立したヒト iPS 細胞に対して、免疫組織染色、アルカリフォスファターゼ染色、DNA メチル化解析、網羅的遺伝子発現解析を行った。また、疾患特異的 iPS 細胞を NOD/SCID マウスの精巢に移植し、奇形腫形成を確認する。さらに、樹立した疾患特異的ヒト iPS 細胞に心筋分化誘導を行い、免疫組織染色で確認後、各種転写因子群の推移をリアルタイム RT-PCR 用いて解析する。

本研究では、複数株以上の左心低形成症候群由来の iPS 細胞を樹立し、流入路や流出路閉鎖を伴う重篤性が高い本疾患の心臓発生異常に関わる分子制御機序について網羅的に解明する。

(倫理面への配慮)

1. ヒト心臓組織の採取は、岡山大学医学部の倫理委員会にて審査承認された臨床研究プロトコル(承認番号 766)に従順して行い、“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。
2. 遺伝子組み換え実験(承認 9068 号)やレトロ及びレンチウイルスの感染は P2 レベルの実験室で行い、移植された動物は隔離した遺伝子操作動物管理施設にて飼育を行う。
3. 動物実験計画書(承認 389 号)に従い、動物施設への実験動物の導入に当たっては、必要に応じて適切な検疫、隔離飼育等を行うことにより、実験実施者、飼養者及び他の実験動物の健康を損ねることのないように講じる。
4. 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。

5. 臨床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、危険性の説明と研究内容に関する理解を得る。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。

C. 研究結果

1. 各種先天性心疾患由来のiPS細胞の樹立

開心手術時に採取した心臓組織から心臓内幹細胞を精製純化し、疾患特異的iPS細胞の樹立に用いた。樹立した疾患特異的iPS細胞はES細胞に特異的な未分化転写因子群であるNanog、Oct4、TRA-1-60、TRA-1-81、SSEA-3/4を発現し、アルカリフォスファターゼ染色陽性であった。

また、胚性幹細胞特異的転写因子であるOct4やNanogのプロモーター領域におけるDNAメチル化について検討したところ、樹立したiPS細胞は初期化前に比べ有意に脱メチル化が観察された。マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析においても、初期化されたiPS細胞においてOct4とNanogの遺伝子発現が約1,000倍発現上昇していた。

2. 左心低形成症候群由来のiPS細胞の機能解析による複雑心奇形の病態解明

左心低形成症候群と二心室心疾患である肺静脈還流異常症ならびに理研より購入したcontrolとなるiPS細胞である201B7を用いて、心筋細胞に分化誘導し、各種心筋転写因子群について定量的にRT-PCRを行い比較検討した。

まず、左心低形成症候群由来のiPS細胞は上記の2つの比較iPS細胞に比べ、心筋分化過程における初期転写因子であるNkx2.5の発現低下を認

め、心臓発生一次領域を司る前駆細胞の増殖および心筋系統誘導が障害されていることが示唆された。

また、左心低形成症候群の解剖学的特徴の一つである房室弁や中隔形成に関わるNotch1やHey1/2の転写発現異常を認めた。集約的に左右心室形成に重要なHand1/2の発現様式に異常が確認された。

また、単心室心由来iPS細胞から分化した心筋細胞はカルシウムの取り込みにおいて有意に少ない頻度の取り込みを示した。

複雑心奇形である左心低形成症候群の基幹病態像として、上記の一連となる心臓の発生過程の異常によってもたらされた疾患であることが明らかとなり、従来の疾患ゲノム解析法では解明しえない、複雑な先天性疾患の病態を疾患固有のiPS細胞を樹立することで、心筋細胞分化誘導早期から病態進展過程を詳細にかつ連続的に再構築できることが示唆された。

D. 考察

先天性心疾患患者の心臓組織より精製した心臓内幹細胞は、血液細胞や皮膚生検と異なり、術中に入手できるきわめて侵襲性が低い方法であり、疾患特異的ヒトiPS細胞の樹立に有効な細胞源である。

左心低形成症候群由来のiPS細胞は、その基本転写因子群の発現様式に疾患病態像を反映した特性があり、複雑心奇形の発症に関わる分子生物学的な機序解明に有用な研究ツールであった。

今後、候補となる各種遺伝子操作動物の作成と表現型解析により、より特異的な疾患関与遺伝子群の同定について詳細な解析を進めたい。

さらに、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予定である。

E. 結論

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。左心低形成症候群由来のiPS細胞の樹立により、心臓発生初期段階における複合的な転写活性異常を包括的に解析しえた。

本研究で樹立した各種疾患特異的iPS細胞を駆使することで、難治性疾患の長期的臨床疫学調査研究に応用する革新的予後診断法の開発に向けた研究を今後継続的に行うことが必要である。

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、これまで約99%以上が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。

また、左心低形成症候群由来iPS細胞を詳細に解析することで、単心室心固有の遺伝子プログラムと自己再生能がきわめて高い下等動物であるzebrafishとの対比比較により、新たなヒト心臓再生医療法の開発につながる可能性がある。

F. 研究発表

論文発表

1. Kotani Y, Ishino K, Honjo O, Sano S. Fontan completion in patient with pulmonary artery sling associated with

- hypoplastic left heart syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Jul;140(1):e12-3 (2010).
2. Miyahara Y, Kasahara S, Ishino K, Sakurai S, Sano S. Successful Fontan completion in a patient with noncompaction myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Apr;139(4):e85-7 (2010).
 3. Ugaki S, Kasahara S, Kotani Y, Nakakura M, Douguchi T, Itoh H, Arai S, Sano S. Extracorporeal membrane oxygenation following Norwood stage 1 procedures at a single institution. *Artif Organs.* 2010 Nov;34(11):898-903.
 4. Fujii Y, Kasahara S, Kotani Y, Takagaki M, Arai S, Otsuki S, Sano S. Double-barrel Damus-Kaye-Stansel operation is better than end-to-side Damus-Kaye-Stansel operation for preserving the pulmonary valve function: the importance of preserving the shape of the pulmonary sinus. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011 Jan;141(1):193-9.
 5. Ugaki S, Kasahara S, Arai S, Takagaki M, Sano S. Combination of continuous irrigation and vacuum-assisted closure is effective for mediastinitis after cardiac surgery in small children. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010 Sep;11(3):247-51.
 6. Ugaki S, Kasahara S, Fujii Y, Sano S. Anatomical repair of a persistent left superior vena cava into the left atrium. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010 Aug;11(2):199-201.
 7. Fujii Y, Kotani Y, Takagaki M, Arai S, Kasahara S, Otsuki S, Sano S. Growth of the lateral tunnel in patients who underwent a total cavopulmonary connection at less than 5 years of age. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010 Jul;38(1):66-70.
 8. Kijima Y, Taniguchi M, Akagi T, Nakagawa K, Kusano K, Ito H, Sano S. Torn atrial septum during transcatheter closure of atrial septal defect visualized by real-time three-dimensional transesophageal echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010 Nov;23(11):1222.e5-8
 9. 藤井泰宏、赤木禎治、谷口 学、中川晃志、木島康文、大月審一、富井奉子、岩崎達雄、五藤恵次、戸田雄一郎、岡本吉生、新井禎彦、笠原真悟、佐野俊二 成人期心房中隔欠損に対するカテーテル閉鎖術と外科的閉鎖術の臨床成績比較：単一施設における後方視的非ランダムイズ化検討 日本小児循環器学会雑誌 27(1) :23-30 (2011).
 10. 樽井 俊、佐野俊二、王 英正 小児心不全に対する心筋再生療法 Medical Science Digest 37(11):439-442(2011)
 11. 笠原真悟、佐野俊二 先天性心疾患患者における導管による右室流出路再建術の検討 日本循環器学会専門医誌 19(2):291-295(2011)
 12. Tomii T, Honjo O, Matsumoto T, Tachibana H, Fujii Y, Ishino K, Ogasawara Y, Sano S. Impact of chronic cyanosis and reoxygenation on the microheterogeneity of the myocardial blood flow: digital radiographic study in neonatal rats. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 59(10):672-680(2011).
 13. Shimizu K, Toda Y, Iwasaki T, Takeuchi M, Morimatsu H, Egi M, Suemori T, Suzuki S, Morita K, Sano S Effect of tranexamic acid

- on blood loss in pediatric cardiac surgery: a randomized trial. *Journal of Anesthesia* 25(6):823-830(2011).
14. Kawabata T, Kasahara S, Arai S, Sano S Right ventricular exclusion for a neonatal patient with Ebstein anomaly: A free wall resection of the right ventricle. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 142(6):1582-1584(2011).
 15. Shimizu S, Une D, Shishido T, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. Norwood procedure with non-valved right ventricle to pulmonary artery shunt improves ventricular energetics despite the presence of diastolic regurgitation: a theoretical analysis. *J Physiol Sci*. 61:457-465(2011).
 16. Sano S Invited commentary *Annals of Thoracic Surgery*. 92(5):1740-1741(2011).
 17. Itoh H, Sano S, Pouard P. Pediatric perfusion in Japan: 2010 practice survey. *Perfusion*27(1):72-77, 2012.
 18. Fujii Y, Ishino K, Tomii T, Kanamitsu H, Fujita Y, Mitsui H, Sano S. Atrionatriuretic Peptide improves left ventricular function after myocardial global ischemia-reperfusion in hypoxic hearts. *Artificial Organs* 36(4):379-386, 2012.
 19. Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, Ito H, Sano S. Transcatheter Closure of a Large Atrial Septal Defect under Microprobe Transesophageal Echocardiographic Guidance. *Echocardiography* 29(4):E94-96, 2012.
 20. Nakagawa K, Akagi T, Taniguchi M, Kijima Y, Goto K, Kusano KF, Itoh H, Sano S. Transcatheter closure of atrial septal defect in a geriatric population. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 80(1):84-90, 2012.
 21. Itoh H, Ichiba S, Ujike Y, Kasahara S, Arai S, Sano S. Extracorporeal membrane oxygenation following pediatric cardiac surgery: development and outcomes from a single-center experience. *Perfusion* 27(3):225-229, 2012.
 22. Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, Ito H, Koide N, Sano S. Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography*25(4):376-382, 2012.
 23. Sano S, Fujii Y, Arai S, Kasahara S, Tateishi A. Atrioventricular valve repair for patient with heterotaxy syndrome and a functional single ventricle. *Seminars in thoracic and cardiovascular surgery, Pediatric cardiac surgery annual* 15(1):88-95, 2012.
 24. Sano S. Editorial Comment: Does the shunt type determine midterm outcomes after a Norwood operation? *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 42(2):216-217, 2012.
 25. Fujii Y, Sano S, Asou T, Imoto Y, Oshima Y, Kawasaki S, Kishimoto H, Sakamoto K, Maeda M, Yamagishi M, Matsuo K. Outcomes of one-lung fontan operation: a retrospective multicenter study in Japan. *Annals of Thoracic Surgery* 94(4):1275-1280, 2012.

26. Sano S. Japanese congenital heart surgery is almost the same level of Europe and North America. *Nihon Geka Gakkai Zasshi*113(3):288-291, 2012.
27. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sata Y, Mizuno M, Kamiya A, Shishido T, Inagaki M, Shirai M, Sano S, Sugimachi M Medetomidine, an α 2-adrenergic agonist, activates cardiac vagal nerve through modulation of baroreflex control. *Circulation Journal*76(1):152-159, 2012.
28. Fujii Y, Kasahara S, Kotani Y, Takagaki M, Arai S, Otsuki S, Sano S. Double-barrel Damus-Kaye-Stansel operation is better than end-to-side Damus-Kaye-Stansel operation for preserving the pulmonary valve function: the importance of preserving the shape of the pulmonary sinus. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011 Jan;141(1):193-9.
29. Kotani Y, Ishino K, Honjo O, Sano S. Fontan completion in patient with pulmonary artery sling associated with hypoplastic left heart syndrome. Kotani Y, Ishino K, Honjo O, Sano S. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 Jul;140(1):e12-3.
30. Miyahara Y, Kasahara S, Ishino K, Sakurai S, Sano S. Successful Fontan completion in a patient with noncompaction myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 Apr;139(4):e85-7.
31. Shimizu S, Une D, Shishido T, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. Norwood procedure with non-valved right ventricle to pulmonary artery shunt improves ventricular energetics despite the presence of diastolic regurgitation: a theoretical analysis. *J Physiol Sci*. 2011 Aug 10
32. 佐野俊二、笠原真悟、新井禎彦、岩崎達雄、森田 潔、伊藤英史 心臓手術の実際 第22回 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 - *Clinical Engineering*23(2):151-159, 2012.
33. 佐野俊二 日本の心臓・大血管外科レベルは欧米を超えているか? 5. 先天性心疾患 日本外科学会雑誌 113(3):288-291,2012
34. 佐野俊二、笠原真悟、藤井泰宏 第9章 先天性心疾患の最新治療 3. Ebstein 奇形の外科治療 先端医療シリーズ 43 循環器疾患の最新医療 pp137-139, 2012
35. 佐野俊二 世界における循環器専門医 オーストラリアの循環器医の現状 循環器専門医 20(1):162-166, 2012.
36. 佐野俊二 IV. 成人期の先天性心疾患の治療 2.手術 (2) 再手術の時期と問題点 新・心臓病診療プラクティス 18 大人になった先天性心疾患, 2012

学会発表

1. 佐野俊二 Change and Challenge - 胸部外科の変革と未来への挑戦 - 第63回日本胸部外科学会定期学術集会 2010
2. Sano S Surgical management of Hypoplastic Left Heart Syndrome(HLHS) The International HLHS Symposium - learning from experts 2010
3. Sano S Norwood/Sano operation The International HLHS Symposium - learning from experts 2010
4. Sano S Results with Norwood Procedure The International HLHS Symposium -

learning from experts 2010

5. Sano S Current surgical indications and outcomes for hypoplastic left heart syndrome International Congress on Pediatric Cardiac Surgery 2010
6. Sano S Outcomes and complications after arch repair International Congress on Pediatric Cardiac Surgery 2010
7. Sano S Evolution of single ventricle palliation in hypoplastic left heart syndrome 39th Annual Meeting of German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery 2010
8. 佐野俊二 小児における心臓移植の実際とその問題点 第 4 回日本循環器学会プレスセミナー
9. 川副浩平、高橋幸宏、坂本喜三郎、大北 裕、佐野俊二、岡林 均、角 秀秋、坂田隆造、高梨秀一郎、田嶋一喜、夜久 均、荻野 均、小宮達彦 心臓外科トレーニングとしてのライブ手術と Animal-Lab Course 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
10. 笠原真悟、小林純子、平田昌敬、樽井 俊、櫻井 茂、藤井泰宏、鶴垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 Ebstein 氏病 - From Neonate to Adult - : Ebstein's Anomaly の治療成績の検討 - Neonate から Adult まで - 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
11. 笠原真悟、小林純子、平田昌敬、樽井 俊、櫻井 茂、藤井泰宏、鶴垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 HLHS に対する 21 世紀の外科治療: Fontan 手術を目指した左心低形成症候群における段階的手術治療の進歩 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
12. 藤井泰宏、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、笠原真悟、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 低形成右室、Borderline 右室に対する戦略 (1 心室? 1+1 心室? 1+1/2 心室? 2 心室?): PA/IVS の 2 心室型修復術の可能性とその適応 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
13. 笠原真悟、小林純子、平田昌敬、樽井 俊、櫻井 茂、藤井泰宏、鶴垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 How to Do It / Difficult cases, Borderline cases: 低形成右室を持つ心室中隔欠損症の両心室治療を目指した段階的手術治療の 1 例 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
14. 新井禎彦、藤井泰宏、佐野俊和、石神修大、堀尾直裕、平田昌敬、櫻井 茂、鶴垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、笠原真悟、三井秀也、佐野俊二 PA/VSD, MAPCAs に対する外科治療の中期成績 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
15. 川畑拓也、笠原真悟、石神修大、平田昌敬、樽井 俊、小林純子、櫻井 茂、藤井泰宏、鶴垣伸也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、新井禎彦、佐野俊二 新生児・乳児期の重症大動脈弁狭窄症に対する直視下交連切開術の検討 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
16. 櫻井 茂、笠原真悟、佐野俊和、石神修大、堀尾直裕、平田昌敬、藤井泰宏、鶴垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 Mitral regurgitation を合併する anomalous origin of the left coronary artery from the pulmonary artery の長期成績 第 63 回日本胸

部外科学会定期学術集会

17. 笠原真悟、堀尾直裕、石神修大、小林純子、平田昌敬、樽井 俊、櫻井 茂、藤井泰宏、鷓垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、新井禎彦、佐野俊二 右室流出路再建術式より考察したファロー四徴症の遠隔成績 - 肺動脈弁輪温存を目指して - 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
18. 鷓垣伸也、笠原真悟、佐野俊和、石神修大、堀尾直裕、平田昌敬、樽井 俊、櫻井 茂、藤井泰宏、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、三井秀也、佐野俊二 完全房室中隔欠損症の手術成績と再手術の危険因子 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
19. 藤井泰宏、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、笠原真悟、新井禎彦、三井秀也、佐野俊二 Asplenia 患者の Fontan 手術後中長期成績 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
20. 藤井泰宏、笠原真悟、佐野俊和、石神修大、堀尾直裕、平田昌敬、櫻井 茂、鷓垣伸也、川畑拓也、立石篤史、藤田康文、高垣昌巳、三井秀也、佐野俊二 One and a half ventricular repair の中長期成績の検討: 右室機能不全患者の根治術の選択肢とすべきか? 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会
21. 佐野俊二 成人期Fontan手術の注意点(姑息術にとどまっていた成人症例にFontan手術を行うための工夫) 第4回成人先天性心疾患セミナー (平成23年5月14-15日 東京)
22. Sano S Surgical management of DORV Joint Meeting of 19th ASCVTS and 21st ATCSA (平成23年5月26-29日 Phuket, Thailand)
23. Sano S Hypoplastic left heart syndrome Joint Meeting of 19th ASCVTS and 21st ATCSA (平成23年5月26-29日 Phuket, Thailand)
24. Sano S Norwood Procedure. Joint Meeting of 19th ASCVTS and 21st ATCSA (平成23年5月26-29日 Phuket, Thailand)
25. Sano S, Kasahara S, Arai S, Fujii Y Pitfall of right ventricle-pulmonary artery shunt in first-stage palliation of hypoplastic left heart syndrome. Joint Meeting of 19th ASCVTS and 21st ATCSA (平成23年5月26-29日 Phuket, Thailand)
26. Sano S, Kasahara S, Arai S, Fujii Y Recent surgical management of hypoplastic left heart syndrome. Joint Meeting of 19th ASCVTS and 21st ATCSA (平成23年5月26-29日 Phuket, Thailand)
27. Sano S Small circuit cardiopulmonary bypass. Why? Birmingham Paediatric Cardiac Workshop 2011 (平成23年6月2-3日 Birmingham)
28. Sano S Evolution and application of the right ventricle to pulmonary artery shunt. Birmingham Paediatric Cardiac Workshop 2011 (平成23年6月2-3日 Birmingham)
29. Sano S The Sano: How I do it. The 5th Cardiac Symposium: Hypoplastic Left Heart Syndrome and Other Functionally Univentricular Heart Disease. (平成23年6月5-7日 Toronto)
30. Sano S HLHS, Norwood-Sano Experience. 50th Anniversary of The Pediatric Cardiology Department. (平成23年7月1-2日 Giessen, Germany)
31. 佐野俊二 複雑心奇形外科治療と小児心移

- 植 第4回先天性シンポジウムイン岡山
(平成23年7月24日 岡山)
32. Sano S The strategy of plasty of atrioventricular valves in the treatment of the single ventricular anomalies. China Heart Congress and International Forum Beijing 2011. (平成23年8月11-14日 Beijing)
 33. 佐野俊二 心不全治療の進歩 - 小児から成人まで - 神戸市医師会学術講演会 (平成23年9月10日 神戸)
 34. Itoh H, Ichiba S, Ujike Y, Arai S, Kasahara S, Sano S Development of simple pulsatile flow ECMO System. 22nd Annual ELSO conference. (平成23年9月16-18日 Scottsdale)
 35. 笠原真悟、佐野俊二 Ebstein奇形に対する cone reconstruction手術 第59回日本心臓病学会学術集会 (平成23年9月23 - 25日 神戸)
 36. 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? - Two Hands Club (平成23年10月11日 名古屋)
 37. 佐野俊二 小児の心臓再生医療 シンポジウム 再生医療の新展開 (平成23年12月17日 東京)
 38. Sano S Surgical repair of DORV 2nd International Conogenital Heart Forum. (平成24年2月10-11日 Hanoi)
 39. Sano S Hybrid procedure in the management of CHD. 2nd International Conogenital Heart Forum. (平成24年2月10-11日 Hanoi)
 40. Sano S Arterial switch associated with CoA/IAA. 2nd International Conogenital Heart Forum. (平成24年2月10-11日 Hanoi)
 41. Sano S. Imagination and innovation cross the ocean -from Sano Operation to stem cell therapy. The 22nd Annual Robert E. Gross Memorial Lecture.
 42. Sano S. Hybrid procedure in congenital heart disease. China Heart Congress 2012.
 43. Sano S. RV-PA shunt as a first stage palliation for hypoplastic left heart syndrome -Recent Evolution-. The 4th Congress of Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society.
 44. Sano S. Hypoplastic Left Heart Syndrome: from stem cell therapy to new clinical pathways. Grand Rounds UW Pediatric Cardiac Surgery.
 45. Sano S. Repair of ebstein's anomaly in neonates and small infants: impact of right ventricle exclusion. 26th EACTS Annual Meeting.
 46. Sano S. Management of atrioventricular valve regurgitation in single ventricle repair. 22nd Annual Congress of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of ASIA.
 47. Sano S. Recent development of neonatal heart surgery. The 4th National Congress of Cardiovascular and Thoracic Surgery.
 48. Sano S. Hypoplastic Left Heart Syndrome: from stem cell therapy to new clinical pathways. Seminar at Wisconsin Pediatric Hospital.
 49. Sano S. My concept in postoperative care for pediatric cardiac surgical patient: Milrinone as a sole cardiac drug. The

Society of Thoracic Surgeons of Thailand
27th Annual Meeting.

50. Sano S. Sano Operation. The 9th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery.
51. Sano S. Surgical treatment of congenital mitral valve disease. 2012 AATS MITRAL CONCLALVE WORK SHOP.

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。

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業
(総合)研究報告書

直接リプログラミング法による人工心筋細胞の作製

研究代表者 王 英正 岡山大学病院教授

研究要旨

近年報告された特定諸因子群による線維芽細胞の人工多能性幹(iPS)細胞及び人工心筋(iCM)細胞への直接再プログラミングの研究成果から、次世代の心筋再生医療法として、未分化な前駆・幹細胞からさらに細胞分化系統を制御した高純度の成熟心血管細胞の移植法や複数遺伝子群の導入による心筋再生医療が可能となった。本研究目的は、心臓内幹細胞から直接リプログラミング法を用いてヒト成熟心筋細胞を作製することで新たな心筋再生医療を開発することである。

研究分担者：

伊藤 浩

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
循環器内科教授

30%前後と極めて低く、かつ、死亡までの平均生存期間も6か月と大変厳しい状況である。一方、本邦では重度小児心不全に対する心臓移植事業は進んでいなく、代替医療として心臓内幹細胞自家移植法が大いに期待されている。

A. 研究目的

重症心不全に対する治療法として、機械的人工心臓の埋め込みが目下のところ主流の先端医療であるが、高額な医療費と長期間の抗凝固療法が問題視されている。

社会的背景として、我が国での小児心臓移植の適応症例は毎年約50例程度といわれている。しかしながら、厚生労働省による統計調査では、status1で申請後に心臓移植適応と判断されてからの1年生存率は、成人の約70%に比べ小児では

直接心筋リプログラミング法による線維芽細胞から人工的心筋細胞への系統誘導に関する研究が、2010年にマウス由来の細胞で初めて成功したこと(3因子法)が発表され、2013年に入り、ヒトでも有効な誘導法(6因子法)が報告されるようになった。しかしながら、再生医療実用化に向けて心筋細胞への直接リプログラミング法は、より心筋細胞系統の高い細胞種を用いて特異性の高い因子群で誘導することが必須不可欠であり、最もヒト心筋細胞に分化しうるポテンシャルを持つ

心臓内幹細胞から心筋細胞への直接リプログラミングする方法はいまだ確立されていない。

具体的に近年の研究から、マウス心臓内線維芽細胞は GATA4, Tbx5, Mef2c, Hand2 の転写因子群により直接心筋細胞に形質変換できることが報告されたが、標的細胞への遺伝子導入効率によりその心筋誘導効率が左右されることが問題となっている (*Cell*.142: 375;2010, *Nature*. 485: 599;2012, *Nature*. 485: 593;2012, *Circ Res*. 111: 50;2012)。

一方、最近ヒト心筋細胞へ直接誘導する転写因子群は microRNA (mir-1, mir-133) を含む 6 因子を必要とする誘導法が報告されているが、再生医療への臨床実用化に際し、より特異性の高い因子群に絞り込むことと in vivo での実証が必須不可欠である(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*;2013)。

これらの画期的な研究成果により、複数の心筋に必須な転写因子群を細胞内に導入することによって、異なった細胞系統から直接心筋細胞にリプログラミングできることが明らかにされた。しかしながら、再生医療に用いることが可能な人工ヒト心筋細胞の作成はいまだ報告がない。

本研究では、最も心筋細胞への系統譜に近いヒト心臓幹細胞を用いて、上記の 3 因子に加え、成熟心筋細胞の作製に必要な直接心筋リプログラミング法の確立をめざす。

B. 研究方法

1. ヒト心臓内幹細胞から成熟心筋細胞への直接リプログラミング

成熟心筋細胞への直接リプログラミング法は、従来報告された GATA4, Tbx5, Mef2C の遺伝子導入法を用いて検討し、対象とする細胞をより心筋細胞の系譜に近い心臓内幹細胞を用いる。導

入前の幹細胞を経時的に可視化するためリポーター遺伝子として、eGFP をレンチウイルスシステムにて細胞内に導入する。細胞の分化後の特性判定に対応して、リポーター遺伝子を制御するプロモーターとして、全細胞を可視化する PGK と心筋細胞のみを選択的に判別する alpha-MHC プロモーターの 2 種類を使い分ける。

心筋細胞への分化誘導の効率を向上させるため、ラット新生児心筋細胞との共培養実験も同時に進める。また、共培養後の細胞間融合による心筋分化の判定を容易にするため、ラット心筋細胞培養液を 10% に希釈した培養血清で、3 因子導入した心臓内幹細胞を一定期間培養し効果判定を行う。

人工心筋細胞の分化および成熟性については、各種心筋構造タンパクの定量的 RT-PCR や免疫組織染色で判定し、さらに細胞機能評価として、カルシウムの取り込みや各種イオンチャンネルの遺伝子発現形態について定量的に検証する。

2. 複合多因子群の遺伝子導入による系統誘導の効率化

GATA4, Tbx5, Mef2C 以外の直接リプログラミング因子群の候補として、近年マウスの実験や本研究室での疾患特異的 iPS 細胞用いた網羅的遺伝子解析として、Myocardin, Hand2, mir-1, mir-133 が挙げられている。当初 3 因子法による心筋系統誘導実験が進まないときには、上記の 4 因子群を併用した合計 7 因子群を用いた細胞性質改変法に切り替えて実験を進めていく。

3. 生体内での心筋細胞への再プログラム化

ヒト培養細胞系において、上記の候補 7 因子群で心筋分化誘導できることを確認したのち、候補因子群を用いた心筋梗塞モデルへの遺伝子導入による心筋系統誘導を行う。一方、既に報告され

ている4因子群を用いたヒト人工心筋細胞を心筋梗塞ヌードマウスに移植し心筋再生能を検討する。

(倫理面への配慮)

1. 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、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。同意した文書は体組織の採取直前まで患者さんの意思によって任意撤回できるよう、患者さんの人権尊重を第一とする。
2. 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、遺伝子解析等をはじめとする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。
3. 遺伝子組み換え実験(承認9068号)やレトロウイルスの感染はP2レベルの実験室で行い、移植された動物は隔離した遺伝子操作動物管理施設にて飼育を行う。
4. 動物実験計画書(承認389号)に従い、動物施設への実験動物の導入に当たっては、必要に応じて適切な検疫、隔離飼育等を行うことにより、実験実施者、飼養者及び他の実験動物の健康を損ねることのないように講じる。
5. マウス及びラットの使用実験は、動物愛護の条約精神に則り、動物を適切な麻酔下で手術及び移植行為を行う。心標本の取り出し等の状況においても、動物の安楽死を最重要事項として守り、動物の虐待を避ける。

6. 実験動物の生理、生態、習性等に応じ、かつ、実験等の目的の達成に支障を及ぼさない範囲で、適切に給餌及び給水を行うこと。

C. 研究結果

最もヒト成熟心筋細胞の系譜に近いヒト心臓内幹細胞にGATA4, Tbx5, Mef2Cの3因子を遺伝子導入後、2~4週目にかけて細胞の心筋分化形態について心筋構造タンパクであるalpha-MHCプロモーター制御下でのeGFPの蛍光発色度に関してFACSで定量した。3因子導入後2週目より約5%のヒト心筋細胞分化が観察され、この現象は4週目にかけて徐々に増加し、最大で10%前後のヒト心筋細胞分化を確認した。

マイクロアレイによる包括的遺伝子解析では、3因子による直接リプログラミング法では、心筋分化過程においてMyH6, actinin, MyL7, NPPA, TPM1, TNNTといった心筋構造タンパクの発現上昇を有意に認めた。一方、心筋収縮に重要なカルシウムの取り込みの指標であるPLN, CASQ2, ATP2A2, RYR2といったカルシウム動態に関する調節タンパクは成熟心筋細胞に比べ、基準レベルまで到達していないことが明らかとなった。

また、心臓組織由来の全細胞のうち、成熟心筋細胞は酵素消化により死滅するが、初期培養のうち、生存しうる細胞種として、心臓内幹細胞と心臓内線維芽細胞でその多くを占めていた。そこで、心臓内幹細胞を幹細胞特異的認識抗原であるSIRPA、心臓内線維芽細胞を線維芽細胞固有の表面抗原であるDDR2でそれぞれFACSを用いて純化精製し、3因子の遺伝子導入後における心筋細胞分化度について比較検討した。

ヒト心臓内幹細胞はDDR2陰性でSIRPA陽性

細胞であり、心臓内のDDR2陽性細胞はすべて線維芽細胞で構成され、心筋前駆細胞の特徴である各種心筋固有の転写因子（Nkx2.5, GATA4, Hand1, Hand2, Tbx5, Mef2C）はDDR2陰性でかつSIRPA陽性の心臓内幹細胞において、強く発現していることを確認した。

このように心筋細胞に分化しうるエリート細胞である心臓内幹細胞は心臓内線維芽細胞に比べ、3因子導入後における心筋細胞分化効率において、約5倍高く心筋細胞へ分化するポテンシャルを持っていることが判明した。

D. 考察

心臓は心筋細胞、線維芽細胞、血管平滑筋細胞、血管内皮細胞、ペースメーカー細胞ならびに交感・副交感神経支配により成り立つ複雑な臓器である。重度な障害を受けた心筋および付随細胞は心不全疾患を生じるが、最も作業心筋の実質的機能を反映するのは個々における心筋細胞の駆動力と絶対細胞数である。

従来マウスで報告されたきた心臓内線維芽細胞への複合遺伝子導入法による直接心筋リプログラミングに比べ、より心筋細胞に近い系譜を持つ心臓内幹細胞に同一遺伝子群を導入した方が、高率に人工的ヒト心筋細胞を作製することができることが明らかとなった。

一方、ヒト心臓内幹細胞に対して、GATA4, Tbx5, Mef2Cの3因子導入により、マウスに見られた機能的な作業心筋細胞までの直接再プログラミングまで完全には至っていないものの、複数の成熟心筋細胞で発現がみられる構造タンパクの遺伝子プロファイルが上昇していることから、前駆細胞から心筋細胞に系統誘導が進んでいることが確実である。

しかし、成熟心筋細胞として機能するために必要なカルシウム調節タンパクの発現量は十分でなく、今後、ヒト心臓内幹細胞に対して、Myocardin, Hand2, mir-1, mir-133を取り入れた合計7因子群を用いたヒト心筋細胞への直接リプログラミング法に取り組んでいく予定である。

E. 結論

臨床的には心不全疾患の治療は心筋細胞再生のみに依存するわけでないため、血管新生作用やドナー細胞より分泌されるサイトカイン効果などにより、障害を受けた心筋組織に修復が行われ、結果的に機能改善につながっている臨床試験成果が多く報告されている。

最新の心筋細胞再生法として、マウスでは心臓内線維芽細胞にGATA4, Tbx5, Mef2Cの3因子を導入することにより、機能的な心筋細胞に誘導することは可能であるが、ヒト組織では、心臓内線維芽細胞に比べ、心筋前駆細胞の方が、同一の3因子群導入法において、高率に心筋細胞への誘導が可能であった。

しかしながら、人工的ヒト心筋細胞の誘導過程は、マウスより制御機構が複雑で、Myocardin, Hand2, mir-1, mir-133といった候補因子群の追加によるより成熟度の高い心筋細胞に誘導する必要性があることが示唆された。今後、既報の6因子法以外の新規リプログラミング因子群による最適化が機能的ヒト作業心筋細胞の作成に必須不可欠である (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*;2013)。

臨床の現場では重篤な心不全疾患が多く存在し、より多くの実質的心筋細胞再生をもたらす技術開発が、より広い領域において心機能改善をもたらす、救命率の高い治療法につながると考え

られている。この問題を解決すべく、本研究はiPS細胞作製技術を応用した直接リプログラミング法による心筋細胞再生法であり、今後の臨床応用に向けた継続的な研究開発が期待される。

F. 研究発表

論文発表

1. Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, Ito H. Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol*. 2011 Mar 3.
2. Take Y, Morita H, Wu J, Nagase S, Morita S, Toh N, Nishii N, Nakamura K, Kusano KF, Ohe T, Ito H, Zipes DP. Spontaneous electrocardiogram alterations predict ventricular fibrillation in Brugada syndrome. *Heart Rhythm*. 2011 Feb 10.
3. Ogawa A, Nakamura K, Mizoguchi H, Fujii N, Fujio H, Kusano KF, Ohe T, Ito H. Prednisolone ameliorates idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Jan 1;183(1):139-40
4. Nishii N, Ogawa M, Morita H, Nakamura K, Banba K, Miura D, Kumagai N, Matsunaga A, Kawamura H, Urakawa S, Miyaji K, Nagai M, Satoh K, Nakagawa K, Tanaka M, Hiramatsu S, Tada T, Murakami M, Nagase S, Kohno K, Kusano KF, Saku K, Ohe T, Ito H. SCN5A mutation is associated with early and frequent recurrence of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome. *Circ J*. 2010 Nov 25;74(12):2572-8.
5. Kijima Y, Taniguchi M, Akagi T, Nakagawa K, Kusano K, Ito H, Sano S. Torn atrial septum during transcatheter closure of atrial septal defect visualized by real-time three-dimensional transesophageal echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010 Nov;23(11):1222.e5-8.
6. Nagase S, Hiramatsu S, Morita H, Nishii N, Murakami M, Nakamura K, Kusano KF, Ito H, Ohe T. Electroanatomical correlation of repolarization abnormalities in Brugada syndrome: detection of type 1 electrocardiogram in the right ventricular outflow tract. *J Am Coll Cardiol*. Dec 14;56(25):2143-5 (2010).
7. Miura A, Nakamura K, Kusano KF, Matsubara H, Ogawa A, Akagi S, Oto T, Murakami T, Ohtsuka A, Yutani C, Ohe T, Ito H. Three-dimensional structure of pulmonary capillary vessels in patients with pulmonary hypertension. *Circulation*. May 18;121(19):2151-3 (2010).
8. Toh N, Kanzaki H, Nakatani S, Ohara T, Kim J, Kusano KF, Hashimura K, Ohe T, Ito H, Kitakaze M. Left atrial volume combined with atrial pump function identifies hypertensive patients with a history of paroxysmal atrial fibrillation. *Hypertension*. May;55(5):1150-6 (2010).
9. Tanaka M, Nakamura K, Kusano KF, Morita H, Ohta-Ogo K, Miura D, Miura A, Nakagawa K, Tada T, Murakami M, Nishii

- N, Nagase S, Hata Y, Kohno K, Ouchida M, Shimizu K, Yutani C, Ohe T, Ito H. Elevated oxidative stress is associated with ventricular fibrillation episodes in patients with Brugada-type electrocardiogram without SCN5A mutation. *Cardiovasc Pathol*. 2011 Jan-Feb;20(1):e37-42.
10. Yamanaka R, Otsuka F, Nakamura K, Yamashita M, Otani H, Takeda M, Matsumoto Y, Kusano KF, Ito H, Makino H. Involvement of the bone morphogenetic protein system in endothelin- and aldosterone-induced cell proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells isolated from human patients with pulmonary arterial hypertension. *Hypertens Res*. 2010 May;33(5):435-45.
 11. Toh N, Morita H, Nagase S, Taniguchi M, Miura D, Nishii N, Nakamura K, Ohe T, Kusano KF, Ito H. Atrial electrophysiological and structural remodeling in high-risk patients with Brugada syndrome: assessment with electrophysiology and echocardiography. *Heart Rhythm*. 2010;7(2):218-24.
 12. Ikeda T, Nakamura K, Akagi S, Kusano KF, Matsubara H, Fujio H, Ogawa A, Miura A, Miura D, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Date H, Ohe T, Ito H. Inhibitory effects of simvastatin on platelet-derived growth factor signaling in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2010 Jan;55(1):39-48.
 13. The no-reflow phenomenon associated with percutaneous coronary intervention: its mechanisms and treatment. Hiroshi Ito *Cardiovasc Interv and Ther* 26; 2-11, 2011
 14. Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, Ito H. *Int J Cardiol*. 2011 Mar 3. [Epub ahead of print]
 15. Prednisolone ameliorates idiopathic pulmonary arterial hypertension. Ogawa A, Nakamura K, Mizoguchi H, Fujii N, Fujio H, Kusano KF, Ohe T, Ito H. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Jan 1;183(1):139-40.
 16. Elevated oxidative stress is associated with ventricular fibrillation episodes in patients with Brugada-type electrocardiogram without SCN5A mutation. Tanaka M, Nakamura K, Kusano KF, Morita H, Ohta-Ogo K, Miura D, Miura A, Nakagawa K, Tada T, Murakami M, Nishii N, Nagase S, Hata Y, Kohno K, Ouchida M, Shimizu K, Yutani C, Ohe T, Ito H. *Cardiovasc Pathol*. 2011 Jan-Feb;20(1):e37-42. Epub 2010 Mar 12.
 17. Circulating KCNH2 Current-Activating Factor in Patients with Heart Failure and Ventricular Tachyarrhythmia. Sugiyama H, Nakamura K, Morita H, Akagi S, Tani Y, Katayama Y, Nishii N, Miyoshi T, Nagase S, Kohno K, Kusano KF, Ohe T, Kurokawa J, Furukawa T, Ito H. *PLoS One*. 2011;6(5):e19897. Epub 2011 May 19.

18. Association of increased plasma adipocyte fatty acid-binding protein with coronary artery disease in non-elderly men. Doi M, Miyoshi T, Hirohata S, Nakamura K, Usui S, Takeda K, Iwamoto M, Kusachi S, Kusano K, Ito H. *Cardiovasc Diabetol*. 2011 May 23;10:44.
19. Ezetimibe improves postprandial hyperlipemia and its induced endothelial dysfunction. Yunoki K, Nakamura K, Miyoshi T, Enko K, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Ito H. *Atherosclerosis*. 2011 Apr 22. [Epub ahead of print]
20. Impact of hypertriglyceridemia on endothelial dysfunction during statin ± ezetimibe therapy in patients with coronary heart disease. Yunoki K, Nakamura K, Miyoshi T, Enko K, Kubo M, Murakami M, Hata Y, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Ito H. *Am J Cardiol*. 2011 Aug 1;108(3):333-9. Epub 2011 May 3.
21. Optimal treatment for coronary artery disease in patients with diabetes: percutaneous coronary intervention, coronary artery bypass graft, and medications. Ito H. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2011 Jan;59(1):6-13. Epub 2011 Jan 12. Review.
22. The Role of Echocardiography in Predicting Responders to Cardiac Resynchronization Therapy –Results From the Japan Cardiac Resynchronization Therapy Registry Trial (J-CRT)-Yoshihiro Seo, Hiroshi Ito, Satoshi Nakatani, Mitsuaki Takami, Shigeto Naito, Tsuyoshi Shiga, Kenji Ando, Yuji Wakayama, Kazutaka Aonuma, the J-CRT in vestigators *Circulation Journal* 75(5); 1156-1163, 2011
23. Adding thiazide to a renin-angiotensin blocker improves left ventricular relaxation and improves heart failure in patients with hypertension Hiroshi Ito, Katsuhisa Ishii, Hajime Kihara, Noriaki Kasayuki, Fumiaki Nakamura, Kenei Shimada, Shota Fukuda, Katsuomi Iwakura, Junichi Yoshikawa for Effect of ARB/Diuretics on Diastolic Function in Patients with Hypertension (EDEN) trial investigators Hypertension Research 2011
24. Intermittent arm ischemia induces vasodilatation of the contralateral upper limb Kenki Enko, Kazufumi Nakamura, Kei Yunoki, Toru Miyoshi, Satoshi Akagi, Masashi Yoshida, Norihia Toh, Mutsuko Sangawa, Nobuhiro Nishii, Satoshi Nagase, Kunihisa Kohno, Hiroshi Morita, Kengo F. Kusano, Hiroshi Ito *J Physiol Sci* 61; 507-513, 2011
25. Transcatheter Closure of a Large Atrial Septal Defect under Microprobe Transesophageal Echocardiographic Guidance. Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, Ito H, Sano S. *Echocardiography*. 2011 Dec 9. doi: 10.1111/j.1540-8175.2011.01600.x. [Epub ahead of print]
26. Gender Differences in Age-Related Changes in Left and Right Ventricular Geometries and Functions. Daimon M, Watanabe H, Abe Y, Hirata K, Hozumi T, Ishii K, Ito H, Iwakura K, Izumi C, Matsuzaki M, Minagoe S, Abe H, Murata K, Nakatani S, Negishi K, Yoshida K, Tanabe K, Tanaka N, Tokai K, Yoshikawa J; The Japanese Normal Values for Echocardiographic

- Measurements Project (JAMP) Study Investigators. *Circ J*. 2011 Nov 25;75(12):2840-2846. Epub 2011 Sep 23.
27. Four-year clinical outcomes of the OLIVUS-Ex (impact of Olmesartan on progression of coronary atherosclerosis: Evaluation by intravascular ultrasound) extension trial. Hirohata A, Yamamoto K, Miyoshi T, Hatanaka K, Hirohata S, Yamawaki H, Komatsubara I, Hirose E, Kobayashi Y, Ohkawa K, Ohara M, Takafuji H, Sano F, Toyama Y, Kusachi S, Ohe T, Ito H. *Atherosclerosis*. 2012 Jan;220(1):134-8. Epub 2011 Nov 9.
 28. Hirohata A, Yamamoto K, Miyoshi T, Hatanaka K, Hirohata S, Yamawaki H, Komatsubara I, Hirose E, Kobayashi Y, Ohkawa K, Ohara M, Takafuji H, Sano F, Toyama Y, Kusachi S, Ohe T, Ito H: Four-year clinical outcomes of the OLIVUS-Ex (impact of Olmesartan on progression of coronary atherosclerosis: evaluation by intravascular ultrasound) extension trial. *Atherosclerosis*. 2012 Jan;220(1):134-8.
 29. Ohta-Ogo K, Hao H, Ishibashi-Ueda H, Hirota S, Nakamura K, Ohe T, Ito H: CD44 expression in plexiform lesions of idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Pathology International*. 2012 Apr;62(4):219-25.
 30. Ogawa A, Miyaji K, Yamadori I, Shinno Y, Miura A, Kusano KF, Ito H, Date H, Matsubara H: Safety and efficacy of epoprostenol therapy in pulmonary veno-occlusive disease and pulmonary capillary hemangiomatosis. *Circulation Journal*. 2012 Jun 25;76(7):1729-36.
 31. Fukuda S, Watanabe H, Daimon M, Abe Y, Hirashiki A, Hirata K, Ito H, Iwai-Takano M, Iwakura K, Izumi C, Hidaka T, Yuasa T, Murata K, Nakatani S, Negishi K, Nishigami K, Nishikage T, Ota T, Hayashida A, Sakata K, Tanaka N, Yamada S, Yamamoto K, Yoshikawa J: Normal values of real-time 3-dimensional echocardiographic parameters in a healthy Japanese population: the JAMP-3D Study. *Circulation Journal*. 2012 Apr 25;76(5):1177-81.
 32. Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, Ito H, Koide N, Sano S: Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography. *Journal of the American Society Echocardiography*. 2012 Apr;25(4):376-82.
 33. Mizoguchi H, Ogawa A, Munemasa M, Mikouchi H, Ito H, Matsubara H: Refined Balloon Pulmonary Angioplasty for Inoperable Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Circ Cardiovasc Interv*. 2012 Nov 27. [Epub ahead of print]
 34. 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.* 2012 Nov 19. [Epub ahead of print]
35. Tanabe Y, Oe H, Miyoshi A, Toh N, Ugawa S, Watanabe N, Takagaki M, Sano S, Ito H: Combined Subaortic and Mid-ventricular Obstruction With Significant Aortic Stenosis Diagnosed by Triphasic Doppler Flow Pattern: Multiple Levels of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction. *J Am Coll Cardiol.* 2012 Nov 20;60(21):2252.
 36. Saito Y, Nakamura K, Miyaji K, Akagi S, Mizoguchi H, Ogawa A, Fuke S, Fujio H, Kiyooka T, Nagase S, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Matsubara H, Ohe T, Ito H: Acute vasoreactivity testing with nicardipine in patients with pulmonary arterial hypertension. *J Pharmacol Sci.* 2012 Nov 16;120(3):206-12.
 37. Osawa K, Miyoshi T, Sato S, Akagi N, Morimitsu Y, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Kanazawa S, Ito H: Safety and Efficacy of a Bolus Injection of Landiolol Hydrochloride as a Premedication for Multidetector-Row Computed Tomography Coronary Angiography. *Circ J.* 2012 Oct 3. [Epub ahead of print]
 38. Toh N, Nishii N, Nakamura K, Tada T, Oe H, Nagase S, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Ito H: Cardiac dysfunction and prolonged hemodynamic deterioration after implantable cardioverter-defibrillator shock in patients with systolic heart failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012 Oct 1;5(5):898-905.
 39. Dan K, Miyoshi T, Ueeda M, Ohtsuka H, Ugawa S, Ohnishi N, Takaishi A, Nakamura K, Kusano K, Ito H: Impact of chronic kidney disease on left main coronary artery disease and prognosis in Japanese patients. *Circ J.* 2012;76(9):2266-72.
 40. Iwamoto M, Miyoshi T, Doi M, Takeda K, Kajiya M, Nosaka K, Nakayama R, Hirohata S, Usui S, Kusachi S, Sakane K, Nakamura K, Ito H: Elevated serum adipocyte fatty acid-binding protein concentrations are independently associated with renal dysfunction in patients with stable angina pectoris. *Cardiovasc Diabetol.* 2012 Mar 21;11:26.
 41. Takaya Y, Taniguchi M, Sugawara M, Nobusada S, Kusano K, Akagi T, Ito H: Evaluation of exercise capacity using wave intensity in chronic heart failure with normal ejection fraction. *Heart Vessels.* 2012 Feb 4. [Epub ahead of print]
 42. Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, Ito H, Koide N, Sano S: Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2012 Apr;25(4):376-82.
 43. Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, Ito H, Sano S: Transcatheter closure of a large atrial septal defect under microprobe transesophageal echocardiographic guidance. *Echocardiography.* 2012 Apr;29(4):E94-6.
 44. Take Y, Morita H, Toh N, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kusano KF, Ohe T, Ito H: Identification of high-risk syncope related

to ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome. Heart Rhythm. 2012 May;9(5):752-9.

45. Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, Ito H: Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Int J Cardiol. 2012 Aug 23;159(2):100-6.
46. Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, Ito H: Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Int J Cardiol. 2012 Aug 23;159(2):100-6.

学会発表

1. 永瀬 聡、村上正人、多田 毅、田中正道、中川晃志、西井伸洋、中村一文、幡 芳樹、森田 宏、河野晋久、草野研吾、伊藤 浩 Prevalence and Clinical Significance of Apical Aneurysm in Hypertrophic Cardiomyopathy-Low Prevalence but High Risk of Sustained Ventricular Tachycardia. Heart Rhythm 2010
2. 草野研吾、森 藍子、森田 宏、寒川睦子、野坂和正、大江 透、伊藤 浩 ECG Changes During Japanese Style Hot-Bathing in

Patients with Brugada Syndrome Heart Rhythm 2010

3. 永瀬 聡、村上正人、多田 毅、田中正道、中川晃志、三浦大志、西井伸洋、中村一文、幡 芳樹、森田 宏、河野晋久、草野研吾、伊藤 浩 Early Repolarization at Left Ventricular Epicardial Potential is Associated with Fatal Arrhythmic Events in Brugada Syndrome Heart Rhythm 2010
4. 森田 宏、Douglas P. Zipes, 永瀬 聡、西井伸洋、草野研吾、大江 透、伊藤 浩、Jiashin Wu Mapping of Polymorphic Ventricular Tachycardia in Patients and an Experimental Model of Brugada Syndrome Heart Rhythm 2010
5. 杜 徳尚、西井伸洋、森田 宏、谷口 学、永瀬 聡、中村一文、草野研吾、伊藤 浩 Defibrillation Threshold Testing During Implantable Cardioverter-Defibrillator Implantation Causes Transient Impairment of Cardiac Function Heart Rhythm 2010
6. 西井伸洋、森田 宏、永瀬 聡、中村一文、幡 芳樹、河野晋久、草野研吾、伊藤 浩 Two Cases of Inappropriate ICD Therapies due to T Wave Oversensing Induced by Body Twisting Heart Rhythm 2010
7. 森田 宏、永瀬 聡、西井伸洋、中村一文、草野研吾、大江 透、伊藤 浩 Exercise Aggregates Fragmented QRS in Patients with Brugada Syndrome Heart Rhythm 2010
8. 杜 徳尚、伊藤 浩 Transient Deterioration of Left Ventricular Diastolic Function Caused by Defibrillation Threshold Testing During Implantable-Cardioverter

- Defibrillator Implantation: Its Impact on Ca²⁺ Transient and Clinical Evidence 第 83 回米国心臓学会
9. 中村一文、伊藤 浩 Imatinib in the Presence of Platelet-derived Growth Factor Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells from Patients with Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension 第 83 回米国心臓学会
 10. 三好 亨、伊藤 浩 Cd44 Contributes to the Development of Abdominal Aortic Aneurysm in Mice Through the Interaction With Hyaluronic Acid and the Recruitment of Macrophages 第 83 回米国心臓学会
 11. 三好 亨、伊藤 浩 Serum Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein is Associated With Coronary Lesion Complexity in Patients With Coronary Artery Disease 第 83 回米国心臓学会
 12. 中村一文、伊藤 浩 Increased Cardiomyocyte Stiffness in the Transverse Direction and Incomplete Relaxation in Hypertrophied Rat Hearts Induced by Chronic β -adrenergic Stimulation 第 83 回米国心臓学会
 13. 赤木 達、伊藤 浩 Prostaglandin 12 Induced Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells Apoptosis via Upregulation of Fas Ligand in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension 第 83 回米国心臓学会
 14. 福家聡一郎、伊藤 浩 Difference in Right Ventricular Loading Between Patients With Pulmonary Hypertension and Patients With Left Sided Heart Failure 第 83 回米国心臓学会
 15. 小川愛子、伊藤 浩 Bosentan Inhibits Proliferation of Cells Isolated from Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension 第 83 回米国心臓学会
 16. 三浦 綾、伊藤 浩 Differences of Diameter of Pulmonary Capillary Vessels in Patients with Pulmonary Hypertension Using Scanning Electron Microscope 第 83 回米国心臓学会
 17. Catheter Closure of Atrial Septal Defect in Patients with Multiple Rim Deficiencies Yasufumi Kijima, Manabu Taniguchi, Koji Nakagawa, Kengo Kusano, Hiroshi Ito, Shunji Sano, Teiji Akagi, *American College of Cardiology*, 2011
 18. Impact of Increased Arterial Stiffness and Wave Reflection on the Prevalence of Paroxysmal Atrial Fibrillation Toru Miyoshi, Masayuki Doi, Satoshi Hirohata, Shozo Kusachi, Kazufumi Nakamura, Satoshi Nagase, Kunihisa Kono, Hiroshi Morita, Kengo Kusano, Hiroshi Ito, *American College of Cardiology*, 2011
 19. Defibrillation Threshold Testing During Implantable Cardioverter-Defibrillator Implantation Impairs Cardiac Systolic and Diastolic Function and Prolongs Blood Pressure Recovery in Patients With Heart Failure Norihisa Toh, Nobuhiro Nishii, Kazufumi Nakamura, Satoshi Nagase, Kunihisa Kohno, Hiroshi Morita, Kengo F. Kusano, Hiroshi Ito *American College of Cardiology*, 2011
 20. Impact of Hybrid Approach Involving Pulmonary Vein Isolation and

- Transcatheter Device Closure for Patients with Atrial Septal Defect Having Paroxysmal and Persistent Atrial Fibrillation. Manabu Taniguchi, Satoshi Nagase, Teiji Akagi, Koji Nakagawa, Yasufumi Kijima, Yoshihito Hata, Kengo Kusano, Hiroshi Ito, Shunji Sano. *American College of Cardiology*, 2011
21. Anti-inflammatory Effect of Olmesartan on Coronary Plaque Progression, Finding from the Impact of Olmesartan on Progression of Coronary Atherosclerosis: Evaluation By Intravascular Ultrasound (OLIVUS) Trial. Toru Miyoshi, Atsushi Hirohata, Shozo Kusachi, Satoshi Hirohata, Kazufumi Nakamura, Hiroshi Morita, Kengo Kusano, Hiroshi Ito *American College of Cardiology*, 2011
 22. Impact of Chronic Kidney Disease on Left Main Coronary Artery Disease in Patients with Stable Angina Pectoris. Kazuhiro Dan, Toru Miyoshi, Kengo Kusano, Hiroshi Ito, Masayuki Ueda. *American College of Cardiology*, 2011
 23. Nicorandil Further Improve Microvascular Function in Patients With STEMI Undergoing Anti-embolic Therapy Yusuke Kawai, Hironobu Toda, Atsuyuki Watanabe, Katsushi Hashimoto, Makoto Nakahama, Hiroshi Ito *American College of Cardiology*, 2011
 24. Pro-apoptotic Effects of Imatinib on Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells from Patients with Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension -Role of Akt-中村一文、赤木 達、小川愛子、三浦 綾、三浦大志、西井伸洋、永瀬 聡、森田 宏、河野晋久、松原広己、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 (横浜市)
 25. Tachycardia Zone Setting to Avoid Inappropriate Shock in Brugada Syndrome Patients with Implantable Cardioverter Defibrillator 西井伸洋、久保元基、中川晃志、田中正道、杜 徳尚、吉田賢司、村上正人、三好 亨、永瀬 聡、中村一文、河野晋久、森田 宏、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 (横浜市)
 26. Transient Impaired Calcium Handling Induced by Defibrillation Shock Causes Diastolic Dysfunction of Left Ventricle in Patients with Fatal Ventricular Arrhythmias 杜 徳尚、中村一文、西井伸洋、永瀬 聡、河野晋久、森田 宏、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 (横浜市)
 27. Circulating KCNH2 Current Activating Factor in Patients with Heart Failure and Ventricular Tachyarrhythmia 杉山洋樹、中村一文、森田 宏、赤木 達、草野研吾、大江 透、黒川詢子、古川哲史、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会(横浜市)
 28. Clinical Aspects of Unsuccessful Device Closure in Patients with Atrial Septal Defect 木島康文、赤木禎治、谷口 学、中川晃志、岡本吉生、大月審一、草野研吾、伊藤 浩、佐野俊二 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 (横浜市)
 29. Influence of Adiposity on Carotid Wave Reflection and Arterial Stiffness: a Longitudinal Study in Healthy Children 櫻木 悟、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本

循環器学会総会・学術集会（横浜市）

30. Impact of Infero/Lateral Early Repolarization Pattern in Patients with Brugada Syndrome 時岡浩二、草野研吾、森田 宏、永瀬 聡、河野晋久、中村一文、西井伸洋、谷山真規子、三浦大志、大江 透、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会（横浜市）
31. Fragmented QRS is Associated with Torsades de Pointes in Patients with Acquired Long QT Syndrome 原岡佳代、森田 宏、杜 徳尚、三好 亨、西井伸洋、永瀬 聡、中村一文、河野晋久、草野研吾、大江 透、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会（横浜市）
32. Prostaglandin I₂ induces Apoptosis via Upregulation of Fas Ligand in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells of Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension 赤木達、中村一文、松原広己、三浦 綾、小川愛子、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会（横浜市）
33. Depression in Patients with Cardiovascular Disease: Evaluation with the Patient the 9 item Patient Health Questionnaire (PHQ-9) 久保元基、三好亨、西井伸洋、森田 宏、中村一文、河野晋久、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会（横浜市）
34. The Risk of ECG Type Alterations and Appearance of Type-0 ECG for the Occurrence of Ventricular Fibrillation in Brugada Syndrome 森田 宏、武 寛、Douglas Zipes, 杜 徳尚、吉田賢司、西井伸洋、永瀬 聡、中村一文、河野晋久、草野研吾、大江 透, Jiashin Wu、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会
35. Delayed Gadolinium-Enhancement with Cardiac Magnetic Resonance and Early Repolarization of Inferolateral Leads in Patients with Brugada Syndrome 村上正人、永瀬 聡、田中正道、中川晃志、西井伸洋、中村一文、河野晋久、森田 宏、草野研吾、伊藤 浩 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会（横浜市）
36. 草野研吾、永瀬 聡、森田 宏、中村一文、西井伸洋、田中正道、中川晃志、三浦大治、伊藤 浩：電気的ストームの実態と対処。Brugada 症候群における植込み型除細動器頻回作動に対する抗不整脈薬の長期的効果。第 27 回日本不整脈学会シンポジウム，横浜，2012
37. 草野研吾、永瀬 聡、森田 宏、中村一文、伊藤 浩、大江 透：器質的心疾患に伴う心室性不整脈の特徴と対策。第 60 回日本心臓病学会学術集会シンポジウム，金沢，2012
38. 久保元基、西井伸洋、永瀬 聡、草野研吾、伊藤 浩、竹中祐樹、森田 宏：チームで運用するリモートモニタリングの利点、問題点について。第 27 回日本不整脈学会，横浜，2012
39. Miyoshi T, Nakamura K, Morita H, Kusano K, Ito H: Significance of imidapril in the direct inhibition of matrix metalloproteases in experimental abdominal aortic aneurysm; comparison with losartan. 61th Annual Meeting of American College of Cardiology, Chicago, 2012
40. Nakagawa K, Kijima Y, Kusano K, Ito H, Akagi T: Balloon occlusion test overestimates the risk of acute pulmonary congestion after the transcatheter closure

- of atrial septal defect in adults. 61th Annual Meeting of American College of Cardiology, Chicago, 2012
41. Morita H, Take Y, Nagase S, Nishii N, Kusano KF, Ohe T, Ito H: Risk stratification by point scoring system based on 12-lead ECG in patients with Brugada syndrome. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 42. Takenaka Y, Nishii N, Kubo M, Nakagawa K, Tanaka M, Nagase S, Morita H, Kusano KF, Ito H: A case of induced ventricular tachycardia by ventricular pacing on T wave due to unusual double blanking. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 43. Kusano KF, Morita H, Nagase S, Nakamura K, Ito H: Clinical characteristics and efficacy of oral pharmacological therapy in Brugada syndrome with repeated episodes of ventricular fibrillation. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 44. Nagase S, Tanaka M, Nakagawa K, Morita H, Nishii N, Nakamura K, Kohno K, Kusano KF, Ohe T, Ito H: Prominent J wave or ST-segment elevation in left ventricular epicardium in patients with Brugada syndrome. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 45. Tokioka K, Kusano K, Morita H, Miyoshi T, Nishii N, Hashimoto K, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Ito H: Inferolateral J wave and fragmented QRS are the independent predictors of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 46. Nakagawa K, Nagase S, Tanaka M, Nishii N, Nakamura K, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Ohe T, Ito H: Amelioration of inter-ventricular conduction delay of right ventricle improves electrocardiogram from type-1 to type-2 in patients with Brugada syndrome. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012
 47. Nosaka, K, Nakamura K, Kusano KF, Tada, T, Miyoshi, I, Doi, M, Kohno K, Ito H: Serum cystatin C as a biomaker of cardiac diastolic dysfunction in patients with cardiac disease and preserved ejection fraction, European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 48. Osawa K, Miyoshi T, Sato WS, Morita H, Hashimoto K, Nagase S, Kohno K, Nakamura K, Kusano K, Ito H: Impact of visceral abdominal adipose tissue on unstable coronary plaque formation detected by multidetector computed tomography in non-diabetic patients. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 49. Akagi S, Matsubara H, Miyaji K, Ogawa A, Kusano K, Ito H: Impact of dopamine and dobutamine support at the initiation of epoprostenol on short and long-term survival in patients with pulmonary arterial hypertension. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 50. Kubo M, Miyoshi T, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Morita H, Kohno K, Kusano K, Ito H: Endothelial dysfunction in the brachial artery predicts clinical outcome in patients with coronary artery disease

- undergoing successful percutaneous coronary intervention. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
51. Miyoshi T, Yonezawa T, Doi M, Aoki A, Nakamura K, Hirohata S, Kusachi S, Ninomiya Y, Kusano K, Ito H: Hyaluronic acid metabolism is increased in human abdominal aortic aneurysm. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 52. Tanaka M, Nakamura K, Miura D, Nakagawa K, Nishii N, Nagase S, Morita H, Kusano K, Yutani C, Ito H: Lymphocytic cell infiltration of myocardium is associated with the episode of ventricular fibrillation in patients with brugada syndrome. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 53. Noda Y, Miyoshi T, Oe H, Nakamura K, Morita H, Kohno K, Toh N, Kusano K, Ito H: A dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, alogliptin, improves postprandial triglycfemia and postprandial endothelial dysfunction. European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 54. Fuke S, Kusano KF, Akagi S, Tanaka M, Ogawa A, Nagase S, Nakamura K, Sato T, Ito H: Assessment of right ventriculo-pulmonary arterial coupling in patients with pulmonary hypertension, European Society of Cardiology Congress, Munich, 2012
 55. Tanaka M, Nagase S, Nishii N, Nakamura K, Morita H, Kohno K, Kusano K, Yutani C, Ito H: Autopsy case of a patient with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy after failed endo-and epicardial radiofrequency ablation of ventricular arrhythmias originated in RV epicardium. 5th Scientific Session of Asia Pacific Heart Rhythm Society, Taipei, 2012
 56. Kubo M, Nishii N, Wada T, Tanaka M, Nakagawa K, Nagase S, Morita H, Kusano K, Ito H: Observation of extracellular water excess in woman with PMS by using implantable device. A case report. 5th Scientific Session of Asia Pacific Heart Rhythm Society, Taipei, 2012
 57. Nishii N, Miyoshi A, Kubo M, Nakagawa K, Tanaka M, Nagase S, Morita H, Kusano K, Ito H: Rising upper limit of ventricular tachycardia zone is useful to avoid inappropriate therapy due to rapid atrial fibrillation, but not due to paroxysmal supra ventricular tachycardia. 5th Scientific Session of Asia Pacific Heart Rhythm Society, Taipei, 2012
 58. Nagase S, Tanaka M, Nakagawa K, Morita H, Nishii N, Nakamura K, Kohno K, Kusano KF, Ito H: Left ventricular epicardial recordings in patients with J wave syndrome-substrate of arrhythmogenic early repolarization. 5th Scientific Session of Asia Pacific Heart Rhythm Society, Taipei, 2012
- 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。

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
王 英正	小児心不全への細胞治療の現状と展望	福田恵一	呼吸と循環	医学書院	東京	2012	S1-S4
樽井 俊、 佐野俊二、 王 英正	小児心不全への細胞治療 Medical Science Digest	福田恵一	Medical Science Digest	北隆館	東京	2012	492-442
小林純子、 佐野俊二、 王 英正	先天性心疾患に対する心筋再生医療	福田恵一	循環器内科	科学評論社	東京	2012	360-368
王 英正	テロメア生物学から心筋再生医療の実用化へ	山田雅夫	岡山医学会雑誌	岡山医学会	岡山	2012	27-34

雑誌 (王 英正)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Isodono K, Takahashi T, Imoto H, Nakaniishi N, Ogata T, Asada S, Adachi A, Ueyama T, <u>Oh H.</u> , Matsubara H.	PARM-1 is an Endoplasmic Reticulum Molecule Involved in Endoplasmic Reticulum Stress-induced Apoptosis in Rat Cardiac Myocytes.	<i>PLoS ONE</i>	18	e9746	2010
Yoshida M, <u>Oh H.</u>	Stem Cell Engineering for Cardiac Tissue Regeneration.	<i>Cardiology</i>	115	191-193	2010

Satomi-Kobayashi S, Ueyama T, Mueller S, Toh R, Masano T, Sakoda T, Rikitake Y, Miyoshi J, Matsubara H, <u>Oh H</u> , Kawahima S, Hirata K, Takai Y.	Deficiency of nectin-2 leads to cardiac fibrosis and dysfunction under chronic pressure overload.	<i>Hypertension</i>	54	825-831	2009
Rodriguez G, Ueyama T, Ogata T, Czernuszewicz G, Tan Y, Dorn GW 2nd, Bogaev R, Amano K, <u>Oh H</u> , Matsubara H, Wilerson JT, Marian AJ.	Molecular Genetic and Functional Characterization Implicate Muscle-Restricted Coiled-Coil Gene (MURC) as a Causal Gene for Familial Dilated Cardiomyopathy.	<i>Circ Cardiovasc Genet</i>	4	349-358	2012

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
樽井 俊、 <u>佐野俊二</u> 、王 英正	小児心不全への細胞治療 Medical Science Digest	福田恵一	Medical Science Digest	北隆館	東京	2012	492-442
笠原真悟、 <u>佐野俊二</u>	先天性心疾患患者における導管による右室流出路再建術の検討	鄭忠和	日本循環器学会専門医誌	社団法人日本循環器学会	京都	2011	291-295

藤井泰宏、赤木禎治、谷口学、中川晃志、木島康文、大月審一、富井奉子、岩崎達雄、五藤恵次、戸田雄一郎、岡本吉生、新井禎彦、笠原真悟、佐野俊二	成人期心房中隔欠損に対するカテーテル閉鎖術と外科的閉鎖術の臨床成績比較：単一施設における後方視的非ランダムマイズ化検討	加藤木利行	日本小児循環器学会雑誌	特定非営利活動法人小児循環器学会	京都	2011	23-30
佐野俊二、笠原真悟、新井禎彦、岩崎達雄、森田 潔、伊藤英史	心臓手術の実際	許俊鋭、山田芳嗣	Clinical Engineering			2012	151-159
佐野俊二	先天性心疾患		日本外科学会雑誌			2012	288-291
小林純子、佐野俊二、王 英正	先天性心疾患に対する心筋再生医療	福田恵一	循環器内科	科学評論社		2012	360-368
佐野俊二、笠原真悟、藤井泰宏	先天性心疾患の最新治療	永井良三、許俊鋭、鄭忠和、澤芳樹	循環器疾患の最新医療	先端医療技術研究所		2012	137-139
佐野俊二	世界における循環器専門医		循環器専門医			2012	162-166
笠原真悟、佐野俊二	先天性心疾患に対するステント		ICUとCCU	医学図書出版株式会社		2012	725-730
佐野俊二	成人期の先天性心疾患の治療		新・心臓病診療プラクティス	文光堂		2012	74-76
黒子洋介、佐野俊二	先天性心疾患完全大血管転位症	井上 博、許俊鋭、檜垣實男、代田浩之、筒井裕之	今日の循環器疾患	医学書院		2012	531-532

黒子洋介、 佐野俊二	先天性心疾患 完全大血管転 位症	井上 博、 許 俊鋭、 檜垣實男、 代田浩之、 筒井裕之	今日の循環 器疾患	医学書 院		2012	532-53 4
---------------	------------------------	--	--------------	----------	--	------	-------------

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
Itoh H, <u>Sano S</u> , Pouard P	Pediatric perfusion in Japan	<i>Perfusion</i>	27	72-77	2012
Fujii Y, Ishino K, Tomii T, Kanamitsu H, Fujita Y, Mitsui H, <u>Sano S</u>	Atrionatriuretic Peptide improves left ventricular function after myocardial global ischemia-reperfusion in hypoxic hearts	<i>Artificial Organs</i>	36	379-386	2012
Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, Ito H, <u>Sano S</u>	Transcatheter Closure of a Large Atrial Septal Defect under Microprobe Transesophageal Echocardiographic Guidance	<i>Echocardiography</i>	29	E94-96	2012
Nakagawa K, Akagi T, Taniguchi M, Kijima Y, Goto K, Kusano KF, Itoh H, <u>Sano S</u>	Transcatheter closure of atrial septal defect in a geriatric population	<i>Catheterization and Cardiovascular Interventions</i>	80	84-90	2012
Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, Ito H, Koide N, <u>Sano S</u>	Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography	<i>Journal of the American Society of Echocardiography</i>	25	376-382	2012

<u>Sano S</u> , Fujii Y, Arai S, Kasahara S, Tateishi A	Atrioventricular valve repair for patient with heterotaxy syndrome and a functional single ventricle	<i>Seminars in thoracic and cardiovascular surgery, Pediatric cardiac surgery annual</i>	15	88-95	2012
<u>Sano S</u>	Editorial Comment: Does the shunt type determine midterm outcomes after a Norwood operation?	<i>European Journal of Cardio-thoracic Surgery</i>	42	216-217	2012
Fujii Y, <u>Sano S</u> , Asou T, Imoto Y, Oshima Y, Kawasaki S, Kishimoto H, Sakamoto K, Maeda M, Yamagishi M, Matsuo K	Outcomes of one-lung fontan operation: a retrospective multicenter study in Japan	<i>Annals of Thoracic Surgery</i>	94	1275-1280	2012
<u>Sano S</u>	Japanese congenital heart surgery is almost the same level of Europe and North America	<i>Nihon Geka Gakkai Zasshi</i>	113	288-291	2012
Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sata Y, Mizuno M, Kamiya A, Shishido T, Inagaki M, Shirai M, <u>Sano S</u> , Sugimachi M	Medetomidine, an α_2 -adrenergic agonist, activates cardiac vagal nerve through modulation of baroreflex control	<i>Circulation Journal</i>	76	152-159	2012
Itoh H, Ichiba S, Ujike Y, Kasahara S, Arai S, <u>Sano S</u>	Extracorporeal membrane oxygenation following pediatric cardiac surgery: development and outcomes from a single-center experience.	<i>Perfusion</i>	27	225-9	2012

Kotani Y, Ishino K, Honjo O, <u>Sano S.</u>	Fontan completion in patient with pulmonary artery sling associated with hypoplastic left heart syndrome.	<i>J Thorac Cardiovasc Surg.</i>	140	e12-13	2010
Miyahara Y, Kasahara S, Ishino K, Sakurai S, <u>Sano S.</u>	Successful Fontan completion in a patient with noncompaction myocardium.	<i>J Thorac Cardiovasc Surg.</i>	139	e85-87	2010
Ugaki S, Kasahara S, Kotani Y, Nakakura M, Douguchi T, Itoh H, Arai S, <u>Sano S.</u>	Extracorporeal membrane oxygenation following Norwood stage 1 procedures at a single institution.	<i>Artif Organs.</i>	34	898-903	2010
Fujii Y, Kasahara S, Kotani Y, Takagaki M, Arai S, Otsuki S, <u>Sano S.</u>	Double-barrel Damus-Kaye-Stansel operation is better than end-to-side Damus-Kaye-Stansel operation for preserving the pulmonary valve function: the importance of preserving the shape of the pulmonary sinus.	<i>J Thorac Cardiovasc Surg.</i>	141	193-199	2010
Ugaki S, Kasahara S, Arai S, Takagaki M, <u>Sano S.</u>	Combination of continuous irrigation and vacuum-assisted closure is effective for mediastinitis after cardiac surgery in small	<i>Interact Cardiovasc Thorac Surg.</i>	11	247-251	2010
Ugaki S, Kasahara S, Fujii Y, <u>Sano S.</u>	Anatomical repair of a persistent left superior vena cava into the left atrium.	<i>Interact Cardiovasc Thorac Surg.</i>	11	199-201	2010
Kijima Y, Taniguchi M, Akagi T, Nakagawa K, Kusano K, Ito H, <u>Sano S.</u>	Torn atrial septum during transcatheter closure of atrial septal defect visualized by real-time three-dimensional	<i>J Am Soc Echocardiogr.</i>	23	e5-8	2010

Fujii Y, Kotani Y, Takagaki M, Arai S, Kasahara S, Otsuki S, <u>Sano S.</u>	Growth of the lateral tunnel in patients who underwent a total cavopulmonary connection at less than 5 years of age.	<i>Eur J Cardiothorac Surg.</i>	38	66-70	2010
Tomii T, Honjo O, Matsumoto T, Tachibana H, Fujii Y, Ishino K, Ogasawara Y, <u>Sano S</u>	Impact of chronic cyanosis and reoxygenation on the microheterogeneity of the myocardial blood flow: digital radiographic study in neonatal rats	<i>Gen Thorac Cardiovasc Surg.</i>	25	823-830	2011
Kawabata T, Kasahara S, Arai S, <u>Sano S</u>	Right ventricular exclusion for a neonatal patient with Ebstein anomaly: A free wall resection of the right ventricle	<i>Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery</i>	142	1582-1584	2011
Shimizu S, Une D, Shishido T, Kamiya A, Kawada T, <u>Sano S</u> , Sugimachi M	Norwood procedure with non-valved right ventricle to pulmonary artery shunt improves ventricular energetics despite the presence of diastolic regurgitation: a theoretical analysis	<i>J Physiol Sci</i>	61	457-465	2011
<u>Sano S</u>	Invited commentary	<i>Annals of Thoracic Surgery</i>	92	1740-1741	2011

書籍（伊藤 浩）

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
河野晋久、 <u>伊藤 浩</u>	虚血性心疾患総論	監修 吉川純一	循環器専門医 研修テキスト			2011	194-195
村上正人、 <u>伊藤 浩</u>	急性虚血性心疾患 (急性冠症候群)	監修 吉川純一	循環器専門医 研修テキスト			2011	195-208
櫻木 悟、 <u>伊藤 浩</u>	慢性虚血性心疾患 (狭心症)	監修 吉川純一	循環器専門医 研修テキスト			2011	208-214

柚木 佳、 伊藤 浩	使用頻度の高い循環器治療薬	監修 吉川純一	循環器専門医 研修テキスト			2011	400-403
齋藤幸弘、 河野晋久、 伊藤 浩	適応判定に必要な臨床検査（非侵襲的診断を含む）	監修 松田 暉	心臓移植			2011	121-124
伊藤 浩	今日の心臓手術の適応と至適時期	監修 吉川純一	内科医からの提言			2011	2-3
三好 亨、 伊藤 浩	心不全をどう治療するか？	主編集 野出孝一	心不全 日常診療Q&A			2011	188-189 195-196
麻植浩樹、 伊藤 浩	心エコー図法による診断（ポータブルエコーを含む）	編集 高野 照夫	新しい診断と治療のABC 急性心筋梗塞			2011	2
伊藤 浩	冠循環の病理・病態 虚血心筋の病理・病態 再灌流障害と no reflow 現象		日本臨床			2011	142-146
河合勇介、 中濱 一、 橋本克史、 渡邊敦之、 戸田洋伸、 伊藤 浩	STEMI におけるニコランジルの心筋保護効果についての検討		Therapeutic Research			2011	289-290
麻植浩樹、 伊藤 浩	FMD の測定方法と冠動脈疾患との関連		心エコー			2011	326-334
谷口 学、 伊藤 浩	心エコーが果たす役割		心エコー			2011	502-511
伊藤 浩	虚血再灌流時の微小循環保護:現状と展望		CARDIAC PRACTICE			2011	161-165
小室一成、 伊藤 浩、 坂田泰史、 中村一文	メタボサルタンの臨床的意義はどこにあるか？		Pharma Medica			2011	121-127

麻植浩樹、 伊藤 浩	心エコーの最前線		CIRCULATION Up-to-Date			2011	34-47
---------------	----------	--	------------------------	--	--	------	-------

雑誌（伊藤 浩）

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hirohata A, Yamamoto K, Miyoshi T, Hatanaka K, Hirohata S, Yamawaki H, Komatsubara I, Hirose E, Kobayashi Y, Ohkawa K, Ohara M, Takafuji H, Sano F, Toyama Y, Kusachi S, Ohe T, <u>Ito H</u>	Four-year clinical outcomes of the OLIVUS-Ex (impact of Olmesartan on progression of coronary atherosclerosis: evaluation by intravascular ultrasound) extension trial.	<i>Atherosclerosis</i>	220	134-8	2012
Ohta-Ogo K, Hao H, Ishibashi-Ueda H, Hirota S, Nakamura K, Ohe T, <u>Ito H</u>	CD44 expression in plexiform lesions of idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Pathology International</i>	62	219-25	2012
Ogawa A, Miyaji K, Yamadori I, Shinno Y, Miura A, Kusano KF, <u>Ito H</u> , Date H, Matsubara H	Safety and efficacy of epoprostenol therapy in pulmonary veno-occlusive disease and pulmonary capillary hemangiomatosis.	<i>Circulation Journal</i> .	25	1729-36	2012

Fukuda S, Watanabe H, Daimon M, Abe Y, Hirashiki A, Hirata K, <u>Ito H</u> , Iwai-Takano M, Iwakura K, Izumi C, Hidaka T, Yuasa T, Murata K, Nakatani S, Negishi K, Nishigami K, Nishikage T, Ota T, Hayashida A, Sakata K, Tanaka N, Yamada S, Yamamoto K, Yoshikawa J	Normal values of real-time 3-dimensional echocardiographic parameters in a healthy Japanese population: the JAMP-3D Study.	<i>Circulation Journal</i>	25	1177-81	2012
Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, <u>Ito H</u> , Koide N, Sano S	Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography.	<i>Journal of the American Society Echocardiography.</i>	25	376-82	2012
Mizoguchi H, Ogawa A, Munemasa M, Mikouchi H, <u>Ito H</u> , Matsubara H	Refined Balloon Pulmonary Angioplasty for Inoperable Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension.	<i>Circ Cardiovasc Interv.</i>	5	748-755	2012
Takaya Y, Taniguchi M, Akagi T, Nobusada S, Kusano K, <u>Ito H</u> , 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.	<i>J Interv Cardiol</i>	26	195-199	2012

Tanabe Y, Oe H, Miyoshi A, Toh N, Ugawa S, Watanabe N, Takagaki M, Sano S, <u>Ito H</u>	Combined Subaortic and Mid-ventricular Obstruction With Significant Aortic Stenosis Diagnosed by Triphasic Doppler Flow Pattern: Multiple Levels of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction.	<i>J Am Coll Cardiol</i>	20	2252-2256	2012
Saito Y, Nakamura K, Miyaji K, Akagi S, Mizoguchi H, Ogawa A, Fuke S, Fujio H, Kiyooka T, Nagase S, Kohno K, Morita H, Kusano KF, Matsubara H, Ohe T, <u>Ito H</u>	Acute vasoreactivity testing with nicardipine in patients with pulmonary arterial hypertension.	<i>J Pharmacol Sci.</i>	16	206-12	2012
Osawa K, Miyoshi T, Sato S, Akagi N, Morimitsu Y, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Kanazawa S, <u>Ito H</u>	Safety and Efficacy of a Bolus Injection of Landiolol Hydrochloride as a Premedication for Multidetector-Row Computed Tomography Coronary Angiography.	<i>Circ J.</i>	77	146-152	2012
Toh N, Nishii N, Nakamura K, Tada T, Oe H, Nagase S, Kohno K, Morita H, Kusano KF, <u>Ito H</u> :	Cardiac dysfunction and prolonged hemodynamic deterioration after implantable cardioverter-defibrillator shock in patients with systolic heart failure	<i>Circ Arrhythm Electrophysiol</i>	5	898-905	2012

Dan K, Miyoshi T, Ueeda M, Ohtsuka H, Ugawa S, Ohnishi N, Takaishi A, Nakamura K, Kusano K, <u>Ito H</u>	Impact of chronic kidney disease on left main coronary artery disease and prognosis in Japanese patients.	<i>Circ J.</i>	76	2266-72	2012
Iwamoto M, Miyoshi T, Doi M, Takeda K, Kajiya M, Nosaka K, Nakayama R, Hirohata S, Usui S, Kusachi S, Sakane K, Nakamura K, <u>Ito H</u>	Elevated serum adipocyte fatty acid-binding protein concentrations are independently associated with renal dysfunction in patients with stable angina pectoris.	<i>Cardiovas c Diabetol</i>	21	26-29	2012
Takaya Y, Taniguchi M, Sugawara M, Nobusada S, Kusano K, Akagi T, <u>Ito H</u>	Evaluation of exercise capacity using wave intensity in chronic heart failure with normal ejection fraction.	<i>Heart Vessels.</i>	28	179-187	2012
Watanabe N, Taniguchi M, Akagi T, Tanabe Y, Toh N, Kusano K, <u>Ito H</u> , Koide N, Sano S:	Usefulness of the right parasternal approach to evaluate the morphology of atrial septal defect for transcatheter closure using two-dimensional and three-dimensional transthoracic echocardiography.	<i>J Am Soc Echocardiogr.</i>	25	376-82	2012
Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, <u>Ito H</u> , Sano S	Transcatheter closure of a large atrial septal defect under microprobe transesophageal echocardiographic guidance.	<i>Echocardiography.</i>	29	E 94-96	2012

Take Y, Morita H, Toh N, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kusano KF, Ohe T, <u>Ito H</u>	Identification of high-risk syncope related to ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome.	<i>Heart Rhythm</i>	9	752-9	2012
Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, <u>Ito H</u>	Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Int J Cardiol.</i>	23	100-6	2012
Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Int J Car diol.</i>	159	100-6	2010
Take Y, Morita H, Wu J, Nagase S, Morita S, Toh N, Nishii N, Nakamura K, Kusano KF, Ohe T, <u>Ito H</u> , Zipes DP.	Spontaneous electrocardiogram alterations predict ventricular fibrillation in Brugada syndrome.	<i>Heart Rhy thm.</i>	8	1014-21	2010
Ogawa A, Nakamura K, Mizoguchi H, Fujii N, Fujio H, Kusano KF, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Prednisolone ameliorates idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Am J Res pir Crit C are Med.</i>	183	139-140	2010

Nishii N, Ogawa M, Morita H, Nakamura K, Banba K, Miura D, Kumagai N, Matsunaga A, Kawamura H, Urakawa S, Miyaji K, Nagai M, Sato K, Nakagawa K, Tanaka M, Hiramatsu S, Tada T, Murakami M, Nagase S, Kohno K, Kusano KF, Saku K, Ohe T, Ito H.	SCN5A mutation is associated with early and frequent recurrence of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome.	<i>Circ J.</i>	74	2572-2578	2010
Kijima Y, Taniguchi M, Akagi T, Nakagawa K, Kusano K, Ito H, Sano S.	Torn atrial septum during transcatheter closure of atrial septal defect visualized by real-time three-dimensional transesophageal echocardiography.	<i>J Am Soc Echocardiogr.</i>	23	e5-8	2010
Nagase S, Hiramatsu S, Morita H, Nishii N, Murakami M, Nakamura K, Kusano KF, Ito H, Ohe T.	Electroanatomical correlation of repolarization abnormalities in Brugada syndrome: detection of type 1 electrocardiogram in the right ventricular outflow tract.	<i>J Am Coll Cardiol.</i>	56	2143-2145	2010
Miura A, Nakamura K, Kusano KF, Matsubara H, Ogawa A, Akagi S, Oto T, Murakami T, Ohtsuka A, Yutani C, Ohe T, Ito H.	Three-dimensional structure of pulmonary capillary vessels in patients with pulmonary hypertension.	<i>Circulation.</i>	121	2151-2153	2010

Toh N, Kanzaki H, Nakatani S, Ohara T, Kim J, Kusano KF, Hashimura K, Ohe T, <u>Ito H</u> , Kitakaze M.	Left atrial volume combined with atrial pump function identifies hypertensive patients with a history of paroxysmal atrial fibrillation.	<i>Hypertension.</i>	55	1150-1156	2010
Tanaka M, Nakamura K, Kusano KF, Morita H, Ohta-Ogo K, Miura D, Miura A, Nakagawa K, Tada T, Murakami M, Nishii N, Nagase S, Hata Y, Kohno K, Ouchida M, Shimizu K, Yutani C, Ohe T, <u>Ito H</u> .	Elevated oxidative stress is associated with ventricular fibrillation episodes in patients with Brugada-type electrocardiogram without SCN5A mutation.	<i>Cardiovasc Pathol.</i>	20	e37-42	2010
Yamanaka R, Otsuka F, Nakamura K, Yamashita M, Otani H, Takeda M, Matsumoto Y, Kusano KF, <u>Ito H</u> , Makino H.	Involvement of the bone morphogenetic protein system in endothelin- and aldosterone-induced cell proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells isolated from human patients with pulmonary arterial hypertension.	<i>Hypertens Res.</i>	33	435-445	2010
Toh N, Morita H, Nagase S, Taniguchi M, Miura D, Nishii N, Nakamura K, Ohe T, Kusano KF, <u>Ito H</u> .	Atrial electrophysiological and structural remodeling in high-risk patients with Brugada syndrome: assessment with electrophysiology and echocardiography.	<i>Heart Rhythm.</i>	7	218-224	2010

Ikeda T, Nakamura K, Akagi S, Kusano KF, Matsubara H, Fujio H, Ogawa A, Miura A, Miura D, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Date H, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Inhibitory effects of simvastatin on platelet-derived growth factor signaling in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>J Cardiovasc Pharmacol</i>	55	39-48	2010
<u>Hiroshi Ito</u>	The no-reflow phenomenon associated with percutaneous coronary intervention: its mechanisms and treatment.	<i>Cardiovasc Interv and Ther</i>	26	2-11	2011
Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, Kusano KF, Matsubara H, Miura D, Fuke S, Nishii N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Miura A, Yutani C, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Int J Cardiol.</i>		[Epub ahead of print]	2012
Ogawa A, Nakamura K, Mizoguchi H, Fujii N, Fujio H, Kusano KF, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Prednisolone ameliorates idiopathic pulmonary arterial hypertension.	<i>Am J Respir Crit Care Med.</i>	183	139-140	2011

Tanaka M, Nakamura K, Kusano KF, Morita H, Ohta-Ogo K, Miura D, Miura A, Nakagawa K, Tada T, Murakami M, Nishii N, Nagase S, Hata Y, Kohno K, Ouchida M, Shimizu K, Yutani C, Ohe T, <u>Ito H.</u>	Elevated oxidative stress is associated with ventricular fibrillation episodes in patients with Brugada-type electrocardiogram without SCN5A mutation.	<i>Cardiovasc Pathol.</i>	20	e37-42	2011
Sugiyama H, Nakamura K, Morita H, Akagi S, Tani Y, Katayama Y, Nishii N, Miyoshi T, Nagase S, Kohno K, Kusano KF, Ohe T, Kurokawa J, Furukawa T, <u>Ito H.</u>	Circulating KCNH2 Current-Activating Factor in Patients with Heart Failure and Ventricular Tachyarrhythmia.	<i>PLoS One.</i>	6	e19897	2011
Doi M, Miyoshi T, Hirohata S, Nakamura K, Usui S, Takeda K, Iwamoto M, Kusachi S, Kusano K, <u>Ito H.</u>	Association of increased plasma adipocyte fatty acid-binding protein with coronary artery disease in non-elderly men.	<i>Cardiovasc Diabetol.</i>	10	44	2011
Yunoki K, Nakamura K, Miyoshi T, Enko K, Kohno K, Morita H, Kusano KF, <u>Ito H.</u>	Ezetimibe improves postprandial hyperlipemia and its induced endothelial dysfunction.	<i>Atherosclerosis.</i>	217	486-91	2011

Yunoki K, Nakamura K, Miyoshi T, Enko K, Kubo M, Murakami M, Hata Y, Kohno K, Morita H, Kusano KF, <u>Ito H.</u>	Impact of hypertriglyceridemia on endothelial dysfunction during statin ± ezetimibe therapy in patients with coronary heart disease.	<i>Am J Cardiol.</i>	108	333-9	2011
<u>Ito H.</u>	Optimal treatment for coronary artery disease in patients with diabetes: percutaneous coronary intervention, coronary artery bypass graft, and medications.	<i>Gen Thorac Cardiovasc Surg.</i>	59	6-13	2011
Yoshihiro Seo, <u>Hiroshi Ito</u> , Satoshi Nakatani, Mitsuaki Takami, Shigeto Naito, Tsuyoshi Shiga, Kenji Ando, Yuji Wakayama, Kazutaka Aonuma, the J-CRT investigators	The Role of Echocardiography in Predicting Responders to Cardiac Resynchronization Therapy -Results From the Japan Cardiac Resynchronization Therapy Registry Trial (J-CRT)-	<i>Circulation Journal</i>	75	1156-1163	2011

<p><u>Hiroshi Ito</u>, Katsuhisa Ishii, Hajime Kihara, Noriaki Kasayuki, Fumiaki Nakamura, Kenei Shimada, Shota Fukuda, Katsuomi Iwakura, Junichi Yoshikawa for Effect of ARB/Diuretic s on Diastolic Function in Patients with Hypertension (EDEN) trial investigators</p>	<p>Adding thiazide to a renin-angiotensin blocker improves left ventricular relaxation and improves heart failure in patients with hypertension</p>	<p><i>Hypertensio n Research</i></p>	<p>35</p>	<p>93-99</p>	<p>2012</p>
<p>Kenki Enko, Kazufumi Nakamura, Kei Yunoki, Toru Miyoshi, Satoshi Akagi, Masashi Yoshida, Noriehisa Toh, Mutsuko Sangawa, Nobuhiro Nishii, Satoshi Nagase, Kunihisa Kohno, Hiroshi Morita, Kengo F. Kusano, <u>Hiroshi Ito</u></p>	<p>Intermittent arm ischemia induces vasodilatation of the contralateral upper limb</p>	<p><i>J Physiol Sci</i></p>	<p>61</p>	<p>507-513</p>	<p>2011</p>
<p>Taniguchi M, Akagi T, Kijima Y, <u>Ito</u> <u>H</u>, Sano S.</p>	<p>Transcatheter Closure of a Large Atrial Septal Defect under Microprobe Transesophageal Echocardiographic Guidance.</p>	<p><i>Echocardiogr aphy.</i></p>	<p>29</p>	<p>E94-6</p>	<p>2012</p>

<p>Daimon M, Watanabe H, Abe Y, Hirata K, Hozumi T, Ishii K, <u>Ito H</u>, Iwakura K, Izumi C, Matsuzaki M, Minagoe S, Abe H, Murata K, Nakatani S, Negishi K, Yoshida K, Tanabe K, Tanaka N, Tokai K, Yoshikawa J; The Japanese Normal Values for Echocardiographic Measurements Project (JAMP) Study Investigators.</p>	<p>Gender Differences in Age-Related Changes in Left and Right Ventricular Geometries and Functions.</p>	<p><i>Circ J.</i></p>	<p>75</p>	<p>2840-2846</p>	<p>2011</p>
<p>Hirohata A, Yamamoto K, Miyoshi T, Hatanaka K, Hirohata S, Yamawaki H, Komatsubara I, Hirose E, Kobayashi Y, Ohkawa K, Ohara M, Takafuji H, Sano F, Toyama Y, Kusachi S, Ohe T, <u>Ito H</u>.</p>	<p>Four-year clinical outcomes of the OLIVUS-Ex (impact of Olmesartan on progression of coronary atherosclerosis: Evaluation by intravascular ultrasound) extension trial.</p>	<p><i>Atherosclerosis</i></p>	<p>220</p>	<p>134-8</p>	<p>2012</p>