

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：32650

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09096

研究課題名(和文) 拡張型心筋症の新規根治療法に対するバイオマーカー確立

研究課題名(英文) Biomarker establishment for novel cure therapy for dilated cardiomyopathy

研究代表者

馬場 彰泰 (Baba, Akiyasu)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：60296572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：拡張型心筋症患者さんへの新規根治療法として免疫吸着療法が期待されているが、その治療を効率的に行うための血液検査について研究した。先進医療Bで治療を受けた患者さんの血液を用いて、心臓に対する自己抗体を複数の方法で測定した。心臓の動きを直接抑制するような心臓に対する自己抗体(心抑制性抗心筋自己抗体)を治療前後に測定することで、最適な治療を行うことができることが分かった。さらにELISAという簡便な測定法でも、複数の自己抗原に対して同時に組み合わせることで、この心抑制性抗心筋自己抗体の測定結果を推定しうることも明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Immunoabsorption therapy is expected as a novel cure therapy for patients with dilated cardiomyopathy, so present study was performed in order to establish blood tests to efficiently treat those patients by this therapy. Autoantibodies against heart were measured in multiple ways using the blood of patients treated with "Advanced Medical Care B (MHLW)". It was found that optimal treatment can be performed by measuring the autoantibody which could directly suppress heart function (Cardio-depressant autoantibody) before and after the immunoabsorption therapy against heart failure. Furthermore, it was also clarified that simple ELISA method can estimate the cardio-depressant autoantibody by simultaneously combining multiple autoantigens.

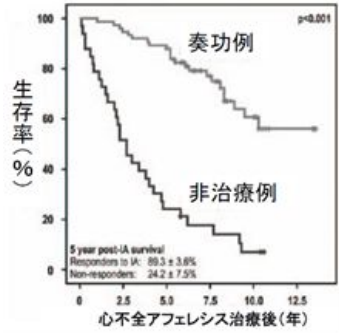
研究分野：循環器内科

キーワード：拡張型心筋症 重症心不全 免疫吸着療法 アフェレシス 心筋自己抗体 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

心筋自己抗体を患者体内より除去して治療しようとする試みは約15年以上前から主にドイツで行われており、少なくとも現在までに500例以上の実施例が報告されている。急性期には血行動態が改善し、亜急性期には血漿BNP値が減少し、治療3ヶ月後から有意な左室駆出率の改善が観察される。欧米での偽カラムを使用した多施設前向きランダム化試験も終了間際であり、2012年末には過去100例以上の重症心不全例(NYHA心機能分類3度以上)にお

ける10年以上の予後改善効果が報告された【右図】
Dandel M, Wallukat G, et al. Eur J Heart Fail. 2012 Dec; 14: 1374-1388。



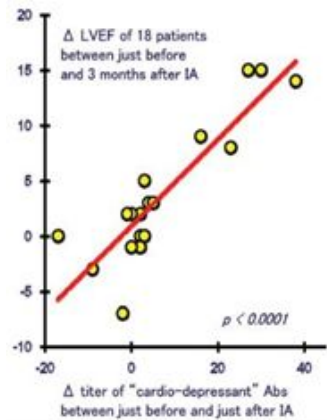
心筋自己抗体に関する基礎研究が継続されているが、本邦においても多施設臨床試験(治験)が開始され、平成24年末に終了した。本治験では治療安全性と一部症例における臨床効果は観察されたものの、バイオマーカー測定が発展途上のため奏功例を差別化する標的抗体測定が不十分であったことから、医薬品医療機器総合機構(PMDA)による薬事申請承認には、非臨床試験の継続が必要と判断された。【下図】厚労省ホームページより抜粋、本治療法に関する先進医療Bのロードマップ。



治験後に承認された先進医療Bの結果により、欧米同様に約6割の奏功例(特にほぼ根治と判断されるまでに回復する超奏功例およそ2割)が観察されたが、さらに治療機序ならびに治療奏功例判別を臨床的に確立するためのバイオマーカー検索がPMDAより求められている。

なお、本治験ならびに先進医療Bの前に臨床試験が実施されており、バイオマーカー検索がすでに行われている。この18例の治療結果では、治療奏功例の標的自己抗体として「心抑制性心筋抗体」が想定された。治療前後の本抗体価変化量(グラフ横軸)と治療3

ヶ月後の左室駆出率変化量(グラフ縦軸)には有意な相関関係を認め、2010年に日本循環



器学会誌に掲載された全277論文の中で最優秀臨床論文賞(2010 CJ award)を受賞するなど学会での認知度も少しずつ上がってきた【左図】Circ J. Vol. 74. 1372-1378. (2010)。

本抗体測定は、単施設でしか行われていない(特許第5243148号)ため、治験では測定不能であったが、現在進行中の先進医療Bでは継続して測定している。一方で、今後の薬事承認前後には本バイオアッセイよりも、より簡便で臨床的に流布されるバイオマーカーを確立することが急務となっている。

2. 研究の目的

心臓移植や人工心臓治療が日常医療として定着し、再生医療開発も進歩しつつある現状においても、治療恩恵に預かれない心不全患者は数多く存在する。しかし近年、拡張型心筋症をはじめとする重症心不全患者に対するアフェレシス治療が有効な治療法として国内外で認知されつつあり、従来は難病で根治不可能と考えられていた本症がほぼ根治と判断されるまでに回復する超奏功例も観察されている。本申請では、この新規心不全アフェレシス治療が心臓移植の代替医療として薬事承認をうけるために、非臨床試験の継続(バイオマーカー確立)を目的とした。

3. 研究の方法

橋渡しの位置にあたる介入試験(先進医療B)の臨床サンプル(血清)を使用して、治療の超奏功例および奏功例の心筋自己抗体を解析する。(1)自己抗原種的全特定,(2)IgGサブクラスによる心抑制性作用の差異,(3)ELISA等の非バイオアッセイによる代替マーカーの確立を行う。あわせて引き続き「心抑制性心筋抗体」の測定を継続することで、先進医療B対象患者や、治験終了後に再治療が必要となった症例に対する、アフェレシス治療を考慮する。特に治療奏功例と考えられた症例に対しては、高度医療Bとして臨床研究を実施する(本申請研究費は基礎研究に限定し、この介入試験の費用には一切使用しない)。上記の基礎検討は、薬事承認が取得された後も、市販後調査等でも継続して実施する予定である。

4. 研究成果

本邦多施設共同治験(DCM レスキュー研究)の直後、平成 24 年 12 月から平成 28 年 9 月にかけて先進医療 B として、この企業治験を補完する結果が得られた。この先進医療 B に参加された被験者のべ 25 名の血清を用いた基礎研究が本助成研究である。治療バイオマーカーとしての「心抑制性抗心筋自己抗体」の意義が再確認され、以下の総括となった。『当該療法の対象となる慢性心不全(心筋自己抗体を有るもの)の実施回数は、一連につき月 5 回を限度とするが、最短 3 か月ごとに(心筋自己抗体が消失するまで)同回数を繰り返かえて算定する。』

【主要観察項目である左室駆出率】

全 25 例の治療前の左室駆出率(心筋シンチ QGS 法)は、 19 ± 8 %であったが、FAS23 例では 20 ± 8 %であった。治療前の心抑制性抗心筋自己抗体(CD Abs 抗体)の力価にて 3 群に分け、治療前・治療 3 ヶ月後・治療 6 ヶ月後の 3 点のデータをまとめた。CD Abs 抗体価 4 以下が CD Ab 陰性のため、全例で抗体力価は 5 以上となる。抗体力価が 10 を超える 11 例では、初回治療 3 ヶ月・6 ヶ月ともに治療前よりも増加していた($p < 0.01$ vs. 治療前)。抗体価が 6~10 の 6 例、ならびに抗体価 5 の 6 例では、これら 3 データに有意差は観察されなかった。

CD Abs 抗体力価	治療前	3ヵ月後	6ヵ月後
>10 (n=11)	21 ± 8 %	28 ± 10 %*	27 ± 10 %*
6-10 (n=6)	20 ± 5 %	19 ± 5 %	20 ± 8 %
5 (n=6)	20 ± 5 %	19 ± 5 %	20 ± 8 %
合計	20 ± 8 %	23 ± 10 %	23 ± 13 %

以上より、心不全アフェレシス治療において最良なバイオマーカーは心抑制性抗心筋自己抗体であることが、先進医療 B 研究において再確認された。

(1) 血液サンプル保存による自己抗体測定に対するデータ再現性

臨床研究(先進医療 B)実施中は採血後すみやかに、鶏有精卵を用いたバイオアッセイによってその都度、心抑制性抗心筋自己抗体を測定していた。このため全症例において測定日はことなり、全症例を同時にバイオアッセイする必要性が生じた。このため、平成 28 年度と平成 29 年度にそれぞれ、改めて一括測定を行った。長期間にわたる血清保存にかかわらず測定値に再現性を認めた。なお ELISA 測定も、最終年度に全サンプルを同時測定したが、同様な結果であった。

(2) ELISA による複数自己抗体の同時測定

複数の自己抗原種に対して ELISA による同

時測定を行った。抗ヒト免疫グロブリン G 抗体のサブクラスは、全サブクラスならびにサブクラス 3 特異的の 2 種とした。自己抗原 5 種は、ミオシン、1 アドレナリン受容体、M2 ムスカリン受容体、細胞膜 Na-K-ATPase、ならびに心筋トロポニン I とした。全被験者 25 名分の治療前抗体の陽性率は、いずれの抗原においても、全サブクラスで 25~35%、サブクラス 3 特異的で 15~25%であった。心抑制性抗心筋自己抗体の出現(陽性)とは、いずれの自己抗原・IgG サブクラスともに、単独で関連するものは存在しなかった。これまでに心筋抗体として、プロテインアクティブアレイによる titin 自己抗体や、免疫沈降法による Kv1.4 チャネルに対する自己抗体が認められていたが、今回あらたにカルニチントランスポート OCTN2 に対する自己抗体が確認された。本 OCTN2 自己抗体は拡張型心筋症例の約 20%に認められ、陽性例では血漿カルニチン濃度はむしろ基準値以上に増加し、左室駆出率は低下する傾向が観察された。

(3) 国内治験でも採用された ELISA スコアの検証

上記の自己抗原 5 種の ELISA 結果(吸光度)を対数化したものの総和を計算した。このスコアの算出方法は、本邦多施設治験と同一とした。算出スコアを中央値で 2 群比較することで、先進医療 B の治療成績を解析した。

全サブクラス 5 種の ELISA スコアにおいては、その高スコア群では低スコア群は、心抑制性抗心筋自己抗体の抗体価と関連は認めなかった。また先進医療 B の治療成績では、心筋シンチ QGS 法で測定した左室駆出率と本 ELISA スコアとの間に有意差は認めなかったが、心エコー Simpson 法で測定した左室駆出率では有意差を認めた。すなわち、ELISA 高スコア群で低スコア群よりも、治療後の左室駆出率(Simpson 法)が有意に上昇した。

サブクラス 3 特異的の ELISA スコアにおいては、その高スコア群では低スコア群は、心抑制性抗心筋自己抗体の抗体価と関連を認めた。高スコア群のほぼ全例(12 例中 11 例)が、心抑制性抗心筋自己抗体の抗体価が 10 以上であった。さらに先進医療 B の治療成績では、心筋シンチ QGS 法で測定した左室駆出率と本 ELISA スコアとの間に有意差を認めしたが、心エコー Simpson 法で測定した左室駆出率では有意な差は観察されなかった。

(4) 総括(先進医療 B 結果とあわせて)

先進医療 B の最終結果は厚生労働省 HP にて評価公表予定である。今回の基礎実験においては、心不全アフェレシス治療における心抑制性抗心筋自己抗体の測定意義について、改めて確認された。同時に、複数自己抗原(ミ

オシン、1 アドレナリン受容体、M2 ムスカリン受容体、細胞膜 Na-K-ATPase、ならびに心筋トロポニン I) に対する ELISA 測定結果を組み合わせることで、国内治験結果と同様に、心不全アフェレシス治療の奏功例を治療前に判定できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Yoshikawa T, Baba A, Akaishi M, Wakabayashi Y, Monkawa T, Kitakaze M, Izumi T, Tomoike H. Immunoabsorption therapy for dilated cardiomyopathy using tryptophan column-A prospective, multicenter, randomized, within-patient and parallel-group comparative study to evaluate efficacy and safety. J Clin Apher. 31, 2016; 141-150.

Kawano H, Tanaka H, Yamashita T, Hirata KI, Ishii S, Suzuki T, Wakahashi K, Kawano Y, Sada A, Minagawa K, Kawakami F, Itoh T, Baba A, Matsui T, Katayama Y. Very late-onset reversible cardiomyopathy in patients with chronic GvHD. Bone Marrow Transplant. 50, 2015; 870-872

Moriguchi T, Koizumi K, Matsuda K, Harii N, Goto J, Harada D, Sugawara H, Hoshiai M, Kise H, Baba A. Plasma exchange for the patients with dilated cardiomyopathy in children is safe and effective in improving both cardiac function and daily activities. J Artif Organs. doi: 10.1007/s10047-017-0956-7

〔学会発表〕(計 10 件)

馬場彰泰. ミートザエクスパート、心筋炎を再考する、心筋炎と抗心筋抗体. 第 80 回日本循環器学会(招待講演). 2016 年 03 月 20. 仙台国際センター(宮城県仙台市)

Baba A, Yoshizawa T, Kosugi R, Takahashi M, Shimada M, and Akaishi M. Cardiac apheresis therapy against heart failure of cardiomyopathy under the guide of various biomarkers. 第 80 回日本循環器学会. 2016 年 03 月 18 日. 仙台国際センター(宮城県仙台市)

森田弘之, 馬場彰泰. 拡張型心筋症に対する免疫吸着療法. 第 19 回日本アフェレシス学会中部地方会. 2015 年 12 月 12 日. 安保センター(愛知県名古屋市)

馬場彰泰. 心不全アフェレシス治療の展望. 第 2 回日本心筋症研究会(招待講演). 2016 年 05 月 14 日. まつもと市民芸術会館(長野県松本市)

馬場彰泰. 教育講演 3 心不全におけるアフェレシス治療の現況. 第 37 回日本アフェレシス学会学術集会(招待講演). 2016 年 11 月 27 日. 神奈川県横浜市

馬場彰泰, 島田恵, 小杉理恵, 前川恵美, 吉澤智治, 赤石誠. Late Breaking Clinical Trials 2-4: Clinical Examination about Immunoabsorption Therapy for Anti-Myocardial Autoantibodies-Positive Heart Failure under the Standard Treatment. 第 81 回日本循環器学会学術集会. 2017 年 03 月 17 日. 石川県金沢市

馬場彰泰, 眞野恵範, 助川博章, 大木貴博. シンポジウム 6 心筋症と炎症: 心筋症の液性免疫異常. 第 3 回日本心筋症研究会(招待講演). 2017 年 04 月 22 日. 岐阜県岐阜市

森田弘之, 馬場彰泰. 免疫吸着療法に抵抗性の再発拡張型心筋症に血漿交換を施行した 1 例. 第 21 回日本アフェレシス学会中部地方会. 2017 年 12 月 9 日. 愛知県名古屋

馬場彰泰, 奥山由美, 平井暁男, 山本翔一, 助川博章, 眞野恵範, 大木貴博. Novel organic carnitine transporter autoantibodies in myocardial and renal failure with intracellular carnitine deficiency. 第 82 回日本循環器学会学術集会. 2018 年 3 月 23 日. 大阪府大阪市

馬場彰泰, 大木貴博, 島田恵, 小杉理恵, 前川恵美, 長友祐司, 吉川勉, 友池仁暢, 赤石誠. 血中バイオマーカーによって奏功例予測と至適治療選択が可能となった心不全アフェレシス療法-国内治験と先進医療 B の総括-. 第 65 回日本心臓病学会学術集会. 2017 年 9 月 29 日. 大阪府大阪市

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称:
心不全アフェレシス治療の効果の予測方法
発明者:馬場彰泰
権利者:馬場彰泰
種類:特許出願
番号:2008-218033
出願年月日:2008年8月27日
国内外の別:日本

6. 研究組織

(1)研究代表者

馬場彰泰(BABA AKIYASU)
東京歯科大学・歯学部・講師
研究者番号:60296572