

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18177

研究課題名(和文)先天性心疾患合併重症心不全に対する自家骨格筋由来筋芽細胞シートの有効性評価

研究課題名(英文) Evaluation of autologous skeletal myoblast cell sheet on heart failure with congenital heart disease

研究代表者

荒木 幹太 (Araki, Kanta)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90768144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ミニブタに対して、主肺動脈絞扼(PAB)及び骨格筋採取を施行。PAB2か月後に、自家骨格筋より単離、培養した筋芽細胞シートを右室前面に移植。コントロール(C)群、シート移植(S)群で検討を行った。シート移植2か月後の心機能検査では、C群に比べS群で右室機能不全の悪化が有意に制御されていた。PET検査では、移植前後で右室心筋の酸化代謝予備能、及び心筋血流予備能の改善をS群で認めた。病理組織においてもC群に比べS群で血管新生の向上が示され、PCRではVEGFのmRNA発現量が高かった。圧負荷右心不全豚モデルにおいて、自家骨格筋由来筋芽細胞シートは右室心筋の虚血を改善し、右心不全の進行を抑制し得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

圧負荷右心不全豚モデルにおいて、自家骨格筋由来筋芽細胞シートは右室心筋の虚血を改善し、右心不全の進行を抑制し得た本研究の結果により、自家骨格筋由来筋芽細胞シート治療が今後さらに増加する先天性心疾患を有する重症心不全患者の治療選択肢となりえる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Mini-pigs underwent pulmonary artery banding. Two months after banding, autologous skeletal myoblast sheets were placed on RV free wall. Groups were as follows: control (C), sheet implantation (S). Cardiac function analysis and C11-Acetate PET were performed before and two months after sheet implantation. Hearts were dissected for histologic and real-time PCR analysis.

Two months after sheet implantation, RV dysfunction was significantly ameliorated in group S than group C. PET revealed the deterioration of myocardial oxidative metabolism was suppressed in group S than group C. In histologic analysis, group S presented more angiogenesis in CD31 expression. In PCR analysis, mRNA expression of vascular endothelial growth factor was upregulated, and NOX2 was downregulated in group S than group C. Autologous skeletal myoblast sheet transplantation ameliorated metabolic and functional dysfunction in a porcine model of pressure-overloaded right heart by alleviation of MI.

研究分野：再生医療

キーワード：先天性心疾患合併心不全 圧負荷右心不全 心筋再生療法 血管新生 自家骨格筋由来筋芽細胞シート

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎えている本邦において、その医療費は増大の一途を辿っている。中でも高血圧を除く心疾患の医療費に占める割合は平成 26 年度の 40 兆円を超える医療費の中で 6.1%を占め、心疾患に対する、より効果的な医療に対するニーズが叫ばれている。その中で、先天性心疾患に対する治療成績は診断技術、内科的、外科的治療、および周術期管理の進歩により年々向上し、成人期に達する先天性心疾患患者数は 2020 年までに 760,000 人を超えるとされ、今後無視できない患者数となることは明らかである。従って、先天性心疾患患者への治療対策は早急に行うべき課題の一つであると考えられる。特に、日常の QOL を低下させる要因の一つである入院イベントについてみるとその数は年々増加の一途を辿っており、入院理由では心不全が最も多くその数は総数の約 1/3 にあたる約 250,000 人が中等度以上の心不全を認めるとされている。さらに、複雑先天性心疾患の遠隔期管理の向上により遺残病変を持つ先天性患者の術後経過年数は増加し、高齢化による後天性心疾患が加わることで、先天性心疾患患者の心不全コントロールに視点を当て対策することの重要性が浮かび上がってくる。

先天性心疾患を有する患者が末期重症心不全に陥り内科的・外科的治療に抵抗性である場合、現在の最終的治療法としては先天性心疾患以外の疾患群と同様に心臓移植となる。非常に長期の心臓移植待機期間となっている本邦においては、安全に心臓移植に到達するには機械的補助を行わなくてはならない症例がほとんどで、実際、最近 2 年間の心臓移植症例ではすべての症例で補助人工心臓植込後に心臓移植が行われている。世界的にみても機械的循環補助は bridge-to-transplantation として有用な成績が収められているが、こと先天性心疾患合併重症心不全症例ではその複雑な病態から頻りに適応されているとは言えない。特に、Fontan 循環を有する単心室合併重症心不全症例では、機械的循環補助は未だ challenging な治療といっても過言ではない。さらに、機械的循環補助や心臓移植は、現在の 4 年にせまる心臓移植待機期間から考えると医療費の面からみても費用対効果は十分ではない。このような背景から、特に先天性心疾患を有する重症心不全患者に対する新たな治療法を開発し、それを臨床応用することは喫緊な課題である。

近年、先天性心疾患合併重症心不全症例に対する幹細胞等を用いた再生医療が臨床応用されるようになっており注目を集めている。しかしながら、それら報告の治療効果は未だ限定的であり、これまでの報告ではそのメカニズムまで詳細に言及されていない。

大阪大学心臓血管外科では左心室不全を主病態とする虚血性心筋症や拡張型心筋症疾患に注目し、自家骨格筋由来筋芽細胞シートによる血管新生作用、抗線維化作用、心機能改善作用を証明してきており、その作用機序まで詳細に検討されているが、先天性心疾患合併における重症心不全は、他疾患の心不全と異なり右心不全の割合が多いことや解剖学的特異性を有することなどの理由で、これまでにハートシートを用いた治療として承認されていない。しかし、そのメカニズムから鑑みるに、先天性心疾患合併重症心不全に特徴的な体心室右室、右心系単心室疾患などで問題となる重症右心室不全に対しても自家骨格筋由来筋芽細胞シート治療は十分有効性があると考えられる。我々はこれまでに先天性心疾患合併重症心不全モデルとして圧負荷右心不全小動物モデルでの非臨床試験で自家骨格筋由来筋芽細胞シートの有効性を既に証明しているが、ヒトでの実臨床に近い大動物(ブタ)での実験が今後の臨床応用に向けて必要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、圧負荷右心不全ブタモデルを用いて、自家骨格筋由来筋芽細胞シート移植の右心不全に対する有効性を示すことで、先天性心疾患合併重症心不全に対する自家骨格筋由来筋芽細胞シート移植治療の安全性、および有効性を証明し、先天性心疾患を有する重症心不全患者の治療選択肢となることである。

3. 研究の方法

5 ヶ月齢のミニブタに対して、主肺動脈絞扼術(PAB)及び骨格筋採取術を施行。PAB2 か月後に、自家骨格筋より単離、培養した筋芽細胞シートを右室前面に移植。シート移植前、シート移植 2 か月後に心臓超音波検査、及び心臓 CT 検査による心機能検査、及び C11-酢酸 PET を施行し、移植 2 か月後に心臓を摘出し病理組織学的評価、real time-PCR を施行。コントロール群(C 群)、シート移植群(S 群)で比較検討を行った。

4. 研究成果

シート移植 2 か月後の心機能検査では、C 群に比べ S 群で右室機能不全の悪化が有意に制御されていた。PET 検査では、移植前後で右室心筋の酸化代謝予備能、及び心筋血流予備能の改善を S 群で認め、C 群との間に有意差を認めた。病理組織学的評価においても C 群に比べ S 群で血管新生、及び血管成熟度の向上が示され、real time-PCR では C 群に比べ S 群で血管新生関連因子の mRNA 発現量が高く、酸化ストレス関連因子の mRNA 発現量が低かった。圧負荷右心不全豚モデルにおいて、自家骨格筋由来筋芽細胞シート移植は右室心筋の虚血を改善し、右心不全の進行を

抑制し得た。

上記の内容を、国内外の学術会議で発表し、論文化し科学雑誌への掲載に至った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 : Kanta Araki
2. 発表標題 The administration of Autologous skeletal myoblast sheet prevents deterioration of a pressure-overloaded right heart in a porcine model
3. 学会等名 American Heart Association scientific session 2019(Philadelphia, PA, USA) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------