

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03017

研究課題名(和文) 急性心筋炎に対する羊膜間葉系幹細胞を用いた抗炎症型再生医療の開発

研究課題名(英文) Development of Anti-inflammation Regenerative Therapy for Acute Myocarditis Using Amnion-Derived Stromal Cells

研究代表者

福島 五月 (Fukushima, Satsuki)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号：80596867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：急性心筋炎において心筋の炎症反応と組織障害との関連を解明し、羊膜間葉系幹細胞(aMSC)移植による抗炎症型再生治療の可能性を探索することを目的とした。当院にて機械的補助循環治療を行った70例を検討し、その予後は炎症の程度により決定することが明らかとなった。また機械的補助循環治療を行ったCOVID19関連心筋傷害による重症心不全4例を検討し、病理学的には免疫反応を含めた急性炎症反応は関連が少くないことを示した。また、ヒトaMSCを急性心筋炎ラットモデルに移植することで、急性炎症の消退と心機能の回復をもたらすことが示された。急性炎症の程度を減弱させることが劇症型心筋炎の予後を改善させると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

劇症型心筋炎は、年齢を問わず発症する予後が極めて不良な急性疾患である。機械的補助循環により心機能の回復を待つ、心機能が回復しない場合には植込み型人工心臓治療を行うのが標準的治療であった。今回の研究では、劇症型心筋炎における心筋の炎症像が心機能の回復と予後に大きく関係することが臨床検体を用いて解明され、またヒトaMSCという臨床応用可能な治療製品を用いて積極的に炎症反応を抑制させる治療の効果が明らかになった。また、大きな社会的問題となったCOVID19関連心筋傷害のメカニズムや治療法を示唆した。以上、劇症型心筋炎やCOVID関連心筋傷害の治療成績を向上させることに貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the relationship between myocardial inflammatory response and tissue damage in acute myocarditis and to explore the possibility of anti-inflammatory regenerative therapy using amniotic mesenchymal stem cell (aMSC) transplantation. We studied 70 patients who underwent mechanically assisted circulatory therapy at our hospital, and found that the prognosis was determined by the degree of inflammation. We also studied 4 cases of severe heart failure due to COVID19-related myocardial injury treated with mechanically assisted circulation, and pathology showed that acute inflammatory reactions, including immune reactions, were less relevant. In addition, transplantation of human aMSCs into a rat model of acute myocarditis was shown to result in the resolution of acute inflammation and recovery of cardiac function. Attenuation of the degree of acute inflammation would improve the prognosis of acute myocarditis.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：心臓血管外科

キーワード：劇症型心筋炎 COVID19 機械的補助循環 羊膜由来間葉系幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性心筋炎による心筋組織の急性炎症反応は、自然経過にて消退し、心機能も正常にまで回復することが多い一方で、激しい炎症反応が不可逆的な心筋組織傷害を惹起したり、炎症反応が遷延し慢性心筋炎に移行することで、慢性重症心不全を呈することもしばしばである。劇症型を呈した急性心筋炎の治療成績は改善傾向にあるものの満足できるものとはいえ、多施設における160例のうち30%程度は心機能が回復しなかったと報告された (Ammirati et al. J Am Coll Cardiol. 2019;74:299-311.)。

急性心筋炎において自己免疫機序の関与が示唆されてきた。マクロファージは、自己免疫疾患において中心的な役割を果たす抗原提示細胞であり、組織の炎症と修復を制御している。心筋内に分布するマクロファージは、心筋梗塞において、炎症性マクロファージと修復型マクロファージに形質を転換しながら心筋組織を再構築することが知られているが、急性心筋炎におけるそれぞれの分布や役割は明らかでない。一方、急性心筋炎においては、炎症の質と程度が心筋傷害の程度を決定することから、急性炎症を抑制する治療により心筋障害を軽減し心筋を保護できると考えられる。羊膜間葉系幹細胞(amnion-derived mesenchymal stem cell; aMSC)は、胎盤に付随する胎児由来組織である羊膜に分布する幹細胞であり、母体と胎児を分ける絨毛膜に接して胎児環境を安定化させる羊膜の恒常性を維持する役割を果たしている。aMSCは、in vitroに培養・増殖させることが容易であり、生体に移植することで強力な抗炎症作用を発揮することが、様々な動物モデルにて実証されてきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「急性心筋炎において心筋内に局在する免疫細胞・炎症細胞のスペクトラムと心筋組織障害との関連を解明し、羊膜間葉系幹細胞(aMSC)移植による抗炎症型再生治療の可能性を探索する。」ことであった。

3. 研究の方法

1) 劇症型心筋炎の予後決定因子の同定

当院にて2006年から2020年までに機械的補助循環を行った70例の臨床経過と予後を検討するとともに、心機能の回復に関する予測因子について統計学的に解析した。

2) COVID-19関連急性心筋傷害

当院にて機械的補助循環による治療を行ったCOVID19関連急性心筋傷害の4例の臨床経過を検討するとともに、心筋組織を免疫組織染色にて検討し、組織学的所見と心機能の推移の関連を検討した。

3) 急性心筋炎に対するaMSC移植の治療効果の検討

Lewisラットにブタミオシンおよび免疫活性アジュバントを皮下注射することで急性心筋炎モデルを作成した。心機能が低下する注射後8週間にヒト由来aMSCによる治療群とSham群に分けて、その2週後、4週後の心機能を心エコー検査にて検討した。また2群の心筋の組織学的検討を行った。

4. 研究成果

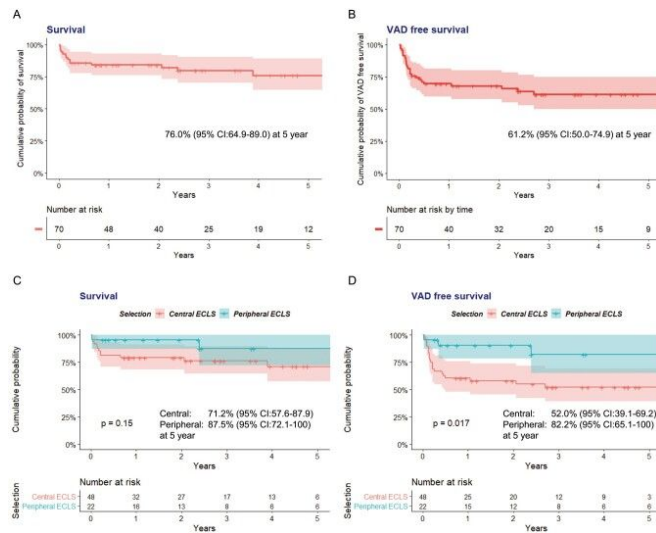
1) 劇症型心筋炎の予後決定因子の同定

機械的補助循環による治療を行った70例の劇症型心筋炎のうち、中心型補助循環を行った症例が48例、末梢型補助循環のみであった症例が22例であった。中心型補助循環の症例の内、6例が術後に死亡、30例が補助循環を離脱、10例が植込み型補助循環に移行した。末梢型補助循環の症例の内、出血による死亡の1例以外は補助循環の離脱に至った。

5年生存率は76%であり、VAD-Free生存率は61%であった。機械的補助循環の様式毎に5年生存率に有意差はないものの、VAD-Free生存率は末梢型補助循環群で良好であった(右図)より心筋傷害

の強い症例に中心型補助循環が行われていたことが示唆され、また侵襲度の高い中心型補助循環を行うことで心筋傷害の強い症例でも救命が可能であることが示唆された。機械的補助循環離脱後に、5例の死亡例が見られた。2例は急性心不全の再発、1例は壊死性膵炎、1例は敗血症、1例は不明であった。

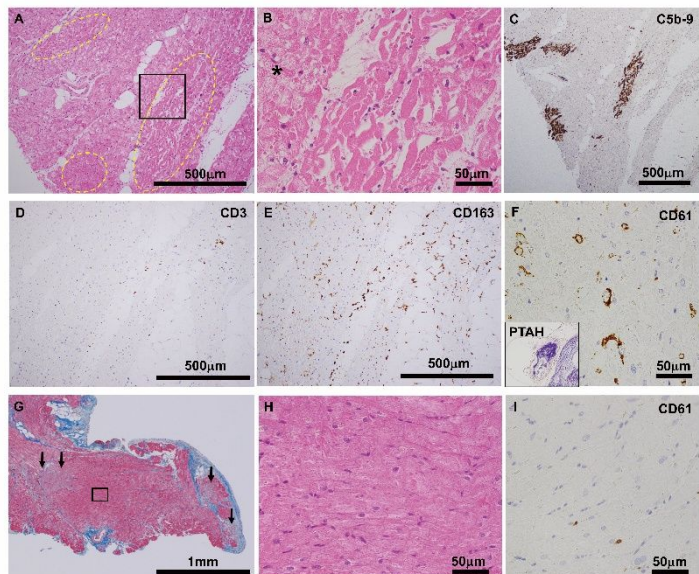
劇症型心筋炎で心機能の回復が得られなかった症例は18例であり、その独立した予測因子はPeak CKMB値、リズム障害、中心型補助循環時の大動脈弁閉鎖、であり、いずれも広範囲心筋傷害を示唆する所見であった。



2) COVID-19 関連急性心筋傷害

機械的補助循環による治療を行った4例のCOVID関連急性心筋傷害は、いずれも末梢型補助循環による治療が限界となるほどの重症心不全であったが、中心型補助循環装着術後それぞれ12日、8日、8日、9日の経過で補助循環の離脱に至り、いずれも心機能はほぼ正常にまで回復し、生存退院された。

心筋組織の所見は、劇症型心筋炎とは大きく異なり、微小血栓塞栓による心筋細胞壊死がみられたが、SARS-CoV-2のゲノムが検出されなかった。一方、劇症型心筋炎において見られるリンパ球、好酸球、巨細胞などはほとんど見られなかった(右図)従って、COVID関連急性心筋傷害の主体は、微小血栓であ



り、免疫反応による急性炎症ではないと考えられた。一方で、血栓による心筋細胞壊死により心機能が大きく低下した心筋の機能がほぼ正常にまで回復するメカニズムについては、今後の検討が必要である。

3) 急性心筋炎に対する aMSC 移植の治療効果の検討

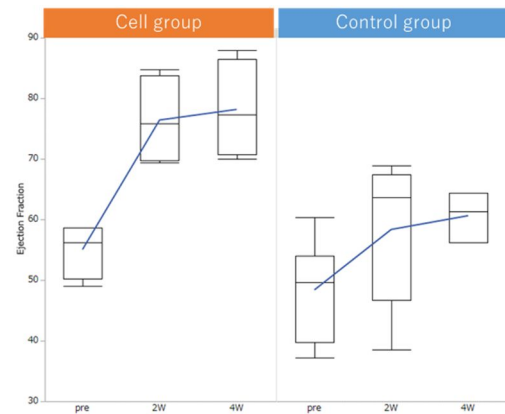
ブタミオシンおよび免疫活性アジュバントの皮下注射 8 週後に、左室駆出率が 60%以下にまで低下したラットを使用した(正常ラットの EF は 80%程度)。

対照群が 2 週後、4 週後に心機能に有意な差が見られなかったのに対して、aMSC 治療群は 2 週後に左室駆出率が有意に向上し、その効果は 4 週間後まで維持された(右図)。aMSC 治療群の左室駆出率はほぼ正常まで回復した。

4 週後の心筋組織を組織学的に検討した。

Picro-Sirius Red 染色による線維化の検討においては、対照群が両心室に広範囲にわたって強く線維化を呈していたのに対して、aMSC 治療群の線維化は軽減されていた。また、Haematoxylin-Eosin 染色においては、炎症細胞浸潤はいずれの群も乏しく、心筋細胞の大きさに関する検討では、aMSC 治療群は対照群と比較して心筋細胞サイズが小さい傾向が見られた。

以上から、急性心筋炎においては炎症細胞浸潤を伴う心筋傷害の程度が予後を決定すると考えられた。抗炎症効果を有する aMSC 移植による治療効果が期待できると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koga-Ikuta Ayumi, Fukushima Satsuki, Ishibashi-Ueda Hatsue, Tadokoro Naoki, Kakuta Takashi, Watanabe Takurya, Fukushima Norihide, Suzuki Ken, Fukui Toshihiro, Fujita Tomoyuki	4. 巻 70
2. 論文標題 Immunocompetent cells in durable ventricular assist device-implanted non-ischaemic dilated cardiomyopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 685 ~ 693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-022-01773-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Tetsuya, Fukushima Satsuki, Yamasaki Takuma, Kawamoto Naonori, Tadokoro Naoki, Kakuta Takashi, Ikuta Ayumi, Minami Kimito, Ohta Yasutoshi, Fujita Tomoyuki	4. 巻 70
2. 論文標題 Pericardiectomy for constrictive pericarditis at a single Japanese center: 20?years of experience	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 430 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-021-01718-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tonai Kohei, Fukushima Satsuki, Tadokoro Naoki, Kainuma Satoshi, Kawamoto Naonori, Kakuta Takashi, Koga-Ikuta Ayumi, Watanabe Takuya, Seguchi Osamu, Tsukamoto Yasumasa, Fukushima Norihide, Fujita Tomoyuki	4. 巻 34
2. 論文標題 Impact of the HeartMate 3 continuous-flow left ventricular assist device in patients with small body size	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 902 ~ 908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/icvts/ivac012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kumai Yuto, Seguchi Osamu, Mochizuki Hiroki, Kimura Yuki, Iwasaki Keiichiro, Kuroda Kensuke, Nakajima Seiko, Matsumoto Yorihiro, Watanabe Takuya, Yanase Masanobu, Sata Makoto, Fukushima Satsuki, Fujita Tomoyuki, Chikamori Taishiro, Kobayashi Junjiro, Fukushima Norihide	4. 巻 25
2. 論文標題 Impact of sleep-disordered breathing on ventricular tachyarrhythmias after left ventricular assist device implantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Artificial Organs	6. 最初と最後の頁 223 ~ 230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10047-021-01307-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tadokoro Naoki, Fukushima Satsuki, Minami Kimito, Taguchi Takura, Saito Tetsuya, Kawamoto Naonori, Kakuta Takashi, Seguchi Osamu, Watanabe Takuya, Nakajima Doi Seiko, Kuroda Kensuke, Suzuki Keisuke, Yanase Masanobu, Asami Yasuhide, Shimizu Hideyuki, Fukushima Norihide, Fujita Tomoyuki	4. 巻 60
2. 論文標題 Efficacy of central extracorporeal life support for patients with fulminant myocarditis and cardiogenic shock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Cardio-Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 1184 ~ 1192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezab231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Tomoyuki, Fukushima Satsuki	4. 巻 61
2. 論文標題 Challenges to rescuing patients in cardiogenic shock	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Cardio-Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 950 ~ 951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezac005	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	藤田 知之 (Fujita Tomoyuki) (10457012)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・客員研究員 (84404)	
研究分担者	池田 善彦 (Ikeda Yoshihiko) (30393242)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長 (84404)	
研究分担者	大谷 健太郎 (Ootani Kentaro) (50470191)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長 (84404)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	生田 亜由美 (Ikuta Ayumi) (50818424)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・非常勤 医師 (84404)	
研究分担者	南 公人 (Minami Kimito) (90509811)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医師 (84404)	

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