

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590873
 研究課題名（和文） 治療不応性虚血性心疾患に対しての逆行性冠静脈骨髓単核細胞移植治療
 研究課題名（英文） Retrograde bone marrow mono nuclear cells implantation via coronary vein for the patients with no-option angina pectoris
 研究代表者
 高山 忠輝（TAKAYAMA TADATERU）
 日本大学・医学部・助教
 研究者番号：10366601

研究成果の概要：

慢性虚血性心疾患に対し経冠静脈カテーテルを用い骨髓単核球移植治療を行った。自覚症状は、大部分の症例に改善が認められた。骨髓単核球の細胞数の少ない1例では、心筋シンチでの改善は認めなかった。また CD34 陽性細胞数と虚血改善効果は心筋シンチの結果では相関することが明らかとなった。治療不応性慢性心筋虚血に対する虚血改善効果が示唆された。しかし治療効果が長期に維持されるのか、予後は改善するかなどについては今後も継続的に検討が必要である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：再生医療・経冠静脈による骨髓細胞移植・カテーテル治療・心筋 SPECT

慢性虚血性心疾患・no-option angina・虚血性心不全

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患治療の歴史は、冠動脈バイパス手術にはじまり、既に20数年が経過し、現在では、薬剤溶出性ステントが登場し、外科的・内科的に積極的な治療が行われている。しかしながら、そのような今日にあってもなお、治療困難な症例も少なくない、そのような難治性虚血性心疾患の多くは、微小な血管の障害が心筋の機能障害を引き起こしていると考えられ、現在の epicardial vessel に対する治療の限界とも考えられる。

一方、近年の再生医療の研究により、骨髓幹

細胞の血管内皮への分化という事実が報告され、注目されている。

幹細胞は、細胞回転が極めて遅く、その集団の一部が細胞周期に入った後に高い増殖能を持ち、細胞の系統を越えた分化(分化転換)が有りえる。骨髓などに存在する間葉系幹細胞は、心筋細胞、血管平滑筋細胞、骨細胞などに分化可能で、また、骨髓、臍帯血に存在するヘマンジオブラストは造血幹細胞、血管内皮前駆細胞に分化する。従って、臨床的にはこれらの多機能性幹細胞を用いた再生医

療が、治療抵抗性の虚血性心疾患、閉塞性動脈硬化症に対する新たな治療法として注目されている。近年では、骨髓液・末梢血等より採取される単核球分画に含まれる細胞が様々な細胞へ分化可能であるとの報告を受け（体性幹細胞の多分化能）、ここ数年の間に移植実施例が急激に増加している。特に、我が国では世界に先駆けて下肢動脈閉塞性疾患に対しての細胞移植の有効性が、日本大学の斎藤穎らのグループも参画した TACT study として Lancet に報告された。（Lancet vol360, Ang, 2002, 427-435）

虚血性心疾患での血管新生療法の臨床研究は国内では、ほんのごく一部の施設で始まったばかりで、依然として骨髓幹細胞を心筋に投与する場合、投与方法と心筋への生着が問題である。これまで報告されている動物実験では開胸やカテーテルでの心筋への直接注入であるが、これでは臨床的には患者へ侵襲が大きく、合併症の発生や、長時間に渡る術時間、さらに高額な医療機器の購入などによる医療経済の問題点が残る。そこで、非侵襲的投与方法の開発が必要であると考え、これまで治療抵抗性および治療不可能な虚血性心不全および下肢切断を余儀なくされていた閉塞性動脈硬化症への新しい細胞遺伝子移植治療を確立してきた。同様に心疾患に関連しても、その再生医療の有効性は世界的に示唆されている。平成15-17年度 大学発事業創出実用化研究開発事業費助成金交付申請書（中小企業事業創出実用化研究開発等事業費補助金）大学発事業創出実用化研究開発事業「虚血性心疾患に対する細胞移植治療とそれに関わるデバイスの研究開発」を用いて我々は、経皮経冠状静脈的注入用カテーテルの開発／試作と検討を繰り返し、試作品の完成をさせた。さらにそれらを用いた動物実験による継続的観察と評価を続け、動物実験における安全性の確認、さらに製品化し厚生労働省からの医事承認を得て、保険償還が取得され、株式会社 Goodman より市販されている。市販後の臨床における試験においては重篤な合併症は一例も認められず、安全性に問題となるような所見は認めなかった。カテーテルは頸静脈、もしくは肘静脈の6-8frサイズのイントロデューサーから挿入され、右心房を経て冠静脈入口部へ至り、0.014-0.035インチガイドワイヤー下に目標部位へと到達させる。到達した後にバルーンで閉鎖し、調整された自己細胞を注入する。細胞の調整方法は、まず、骨髓液を全身麻酔下に400-800ml (10⁹個以上) 採取、採取された細胞は骨髓バンクで用いられている遠

心分離装置を用い、単核球分画として調整される。（実際に臨床応用されている方法を踏襲する）。今回の臨床研究は、開発されたこのカテーテルを用いて、冠静脈から心臓への細胞移植を行い、虚血の改善、心機能改善を目指すものである。

2. 研究の目的

依然として骨髓幹細胞を心筋に投与する場合、投与方法と心筋への生着が問題である。これまで報告されている動物実験では開胸やカテーテルでの心筋への直接注入であるが、これでは臨床的には患者へ侵襲が大きく、合併症の発生や、長時間に渡る術時間、さらに高額な医療機器の購入などによる医療経済の問題点が残る。そこで、非侵襲的投与方法の経皮経冠状静脈的注入用カテーテルを用い、これまで治療抵抗性および治療不可能な虚血性心不全の患者を対象に冠静脈から心臓への細胞移植を行い、虚血の改善、心機能改善を目指すものである。

3. 研究の方法

対象者は、虚血性心疾患を有し既に薬物治療、カテーテル治療、バイパス治療を十分に行っているが、狭心症による症状を有しているか、心機能低下に伴う心不全症状を有する患者で、現存する治療にても症状の改善が得られない症例。さらに、治療前、後、追跡調査時（Restudy、6ヶ月～9ヶ月を目安）に同意を取得できる患者。

カテーテルは頸静脈、もしくは肘静脈の6-8frサイズのイントロデューサーから挿入され、右心房を経て冠静脈入口部へ至り、0.014-0.035インチガイドワイヤー下に目標部位へと到達させる。到達した後にバルーンで閉鎖し、調整された自己細胞を注入する。細胞の調整方法は、まず、骨髓液を全身麻酔下に400-800ml (10⁹個以上) 採取、採取された細胞は骨髓バンクで用いられている遠心分離装置を用い、単核球分画として調整される。（実際に臨床応用されている方法を踏襲する）。

（1）選択基準：

- ①狭心症症状か心不全症状を有している虚血性心疾患患者
- ②既に既知の治療法が行われており、それにおいても①が認められる患者
- ③年齢は80歳以下
- ④冠動脈の状態は開存、閉塞、狭窄を問わない

(2) 除外基準

- ①心原性ショック
- ②進行した腎肝障害 (Cre \geq 2, T-Bil \geq 3)、
- ③悪性新生物、末期患者
- ④抗血小板療法、抗凝固療法の禁忌患者
- ⑤妊娠・妊娠している可能性のある患者
- ⑥同意が得られない患者
- ⑦血液像に異常のある患者
- ⑧その他医師が不適切と判断した患者

(3) 評価方法

- ①主項目：細胞移植の安全性と心筋シンチによる新機能の改善度、梗塞範囲や虚血範囲の評価

②副次項目

- 副次項目 1：心エコーや左室造影法による心機能の改善度
- 副次項目 2：冠動脈再狭窄率
- 副次項目 3：心室性期外収縮、致死的不整脈の出現頻度、Late potential 検出の有無
- 副次項目 4：BNP の改善度

③評価方法

- a)アデノシン負荷心筋シンチ (退院直前、6ヶ月後)：Tc と Tl の2核種を用い、左室拡張末期容量係数、左室収縮末期容量係数、駆出率 (左室全体・左室局所) を検出する
- b)左室造影と冠動脈造影 (治療前、治療時と6ヶ月後)
- c)ホルター心電図 (退院直前、3ヶ月後、6ヶ月後)
- d)ECG & 加算平均心電図の評価 (退院直前、3ヶ月後、6ヶ月後)
- e)BNP (退院直前、3ヶ月後、6ヶ月後)

(4) 患者登録、観察時期

- ①患者背景
その患者が本試験の患者適格基準を満し、除外基準に抵触しないことを確認したうえで、症例登録番号 (登録 ID)、性別、診断名、症例区分、現病歴、冠危険因子、その他疾患をケースカードに記録する。

②術前記録

診察、心電図所見、骨髄所見などを症例報告書に記録する。

③術中記録

手術日、カテーテル治療内容、合併症・不具合の有無をケースカードに記録する。

④追跡調査 (術後1日～退院時)

調査日 (術後1日～退院時は退院日を記載する)、狭心症、心電図、冠動脈造影の有無、合併症・不具合の有無を症例報告書に記録する。

⑤追跡調査 (術後約6ヶ月および12ヶ月)

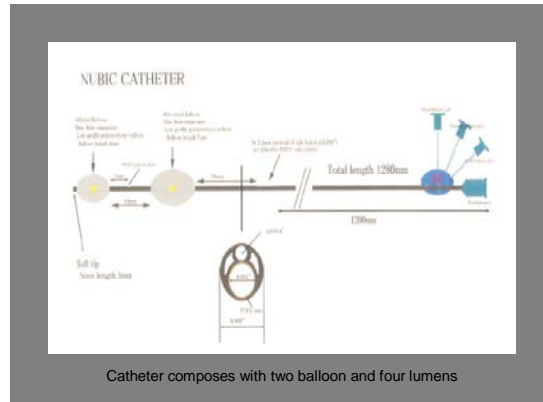
調査日、狭心症分類、心電図、併用薬、合併症・不具合の有無を症例報告書に記録する。

⑥血管造影及び血管超音波法

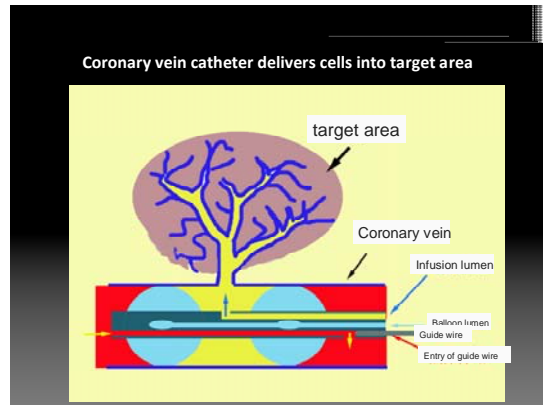
症例のベースライン、カテーテル治療時及び追跡造影時の冠動脈造影及びそのほかの画像データは、登録 ID で管理される。画像を指定した撮影方法に則りデータを集積する。

⑦合併症・不具合の有無

合併症 (本治療法に起因しない有害事象)・不具合 (本治療法との因果関係が否定できない有害事象) が発現した場合には、発現時期、症状、処置及び転帰、本治療法との因果関係を当該ケースカードに記録する。

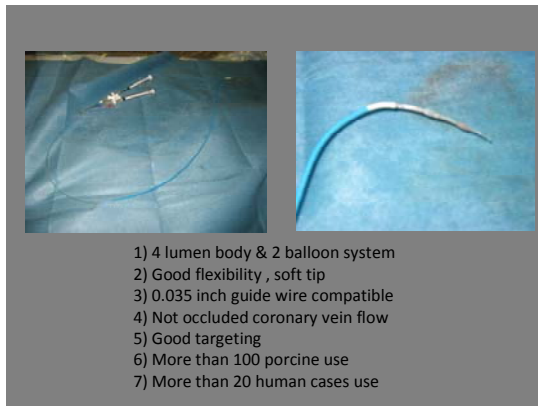


上図は、新しく開発した GENT カテーテルの設計図である。4ルーメンがあり、バルーンルーメン2、パーフュージョンルーメン、細胞投与ルーメンの4つがある。



上図はカテーテル使用時の作用機序のシェ

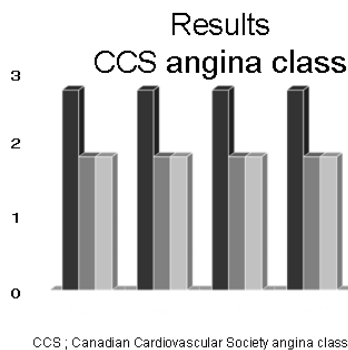
ーマである。



実際のカテーテル写真 (上)

4. 研究成果

慢性虚血性心疾患に対する逆行性冠静脈経路による骨髄単核球移植治療による、治療不応性慢性心筋虚血に対する虚血改善効果が示唆された。自覚症状は、大部分の症例に改善が認められた。骨髄単核球の細胞数の少なかつた1例では、心筋シンチでの改善は認めなかつた。また、CD34陽性細胞数と虚血改善効果は心筋シンチの結果では相関することが明らかとなった。しかし、治療効果が長期に維持されるのか、予後は改善しているのかなどについては、今後も継続的に検討が必要である。治療効果が一定期間で減弱することが明らかになれば、このカテーテルを用いた細胞移植を繰り返し行うことで効果を維持したり、また繰り返すことによるBoost効果も期待される。今後これらの虚血性心疾患に対する再生医療として実用化に向け症例の蓄積を行いno-optionの虚血性心筋症患者さんで心臓移植が受けられない虚血性心疾患患者さんの治療法として確立していく。



上図は、CCSクラス分類の変化について記載したもので、どの症例においても症状の改善を認めた。今後の血管新生を目的とした再生医療のさ

きがけとなり、細胞移植治療は再生医療としては最も容易に可能な現実的な方法であり、また、今回開発されたカテーテルは、その治療を繰り返し行うことにより、その効果を持続することを可能とすると考えられ、今後の遺伝子治療、心筋再生につながる研究となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

①Hagikura k, Fukuda N, Yokoyama S, Yuxin L, Kusumi Y, Matsumoto T, Ikeda Y, Kunimoto S, Takayama T, Jumabay M, Mitsumata M, Saito s, Hirayama A, Mugishima H.

Low invasive angiogenic therapy for myocardial infarction by retrograde transplantation of mononuclear cells expressing the VEGF gene.

Int J Cardiol. 2009 Jan 22. [Epub ahead of print] 査読有り

[学会発表] (計 2 件)

①高山忠輝 心臓再生医療の臨床応用-血管新生療法- 第22回日本冠疾患学会学術集会 2008年12月13日 京王プラザホテル

②渡辺康夫(代表) The Efficacy of cell therapy for ischemic cardiomyopathy using a retrograde injection method through coronary vein with a novel catheter 第72回日本循環器学会総会・学術集会 2008年3月28日 福岡国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高山 忠輝 (TAKAYAMA TADATERU)

日本大学・医学部・助教

研究者番号: 10366601

(2) 研究分担者

本江 純子 (HONYE JUNKO)

日本大学・医学部・講師

研究者番号: 80256841

平山 篤志 (HIRAYAMA ATSUSHI)

日本大学・医学部・教授

研究者番号: 50459880

齋藤 穎 (SAITO SATOSHI)

日本大学・医学部・特任教授

研究者番号: 10130501

(3) 連携研究者

なし