

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成23年12月22日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591645

研究課題名（和文） 末期重症心不全に対する左室補助装置下の人工心再生への挑戦

研究課題名（英文） Key factors for cardiac recovery in patients with left ventricular assist device for end stage heart failure

研究代表者

藤田 知之（FUJITA TOMOYUKI）

独立行政法人国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師

研究者番号：10457012

研究成果の概要（和文）：末期心不全患者にbridge to transplantationにてLVAD（左心補助人工心臓）を装着するも、一部の症例ではLVADによるunloadingによるreverse remodeling作用により自己心機能が回復する症例が存在する。すべての症例において自己心は回復することはなく、responderとnon-responderが存在することが明らかになってきた。LVAD装着後、心機能が回復しLVAD離脱に至った症例は、原疾患にかかわらず病歴が短く、心筋組織においては残存心筋量が多く、線維化が軽度のものであることが示された。LVAD離脱に至らずとも、超音波検査上、LVDd/Ds（左室拡張末期径/収縮末期径）を観察するに、線維化が軽度のは早期に縮小し、正常に近づく傾向があった。

末期心不全を呈した虚血性心筋症の症例に対して、LVAD装着と自己骨格筋筋芽細胞と骨髄単核球を用いた再生治療を施行した患者を観察するに、やはりresponderとnon-responderが存在することが明らかとなり、細胞治療される心筋の領域に残存心筋が存在するかどうか大きな違いであった。細胞移植では、実際には、生着する細胞は少なく、心収縮力を回復させるような心筋に分化するものほとんどなく、心機能の回復はparacrine effectが中心であることが推察された。Responderにおいては、収縮力のみならず、拡張能も改善されており、動物実験の結果から鑑みて、血管新生をうながすVEGF、HGFなどの因子の増加が推察されている。

これらのことから、remodelingという心不全悪化の負のスパイラルからいかに早い段階で脱却するかが、心不全を食い止めるためのポイントとなる。

LVAD装着は、末期心不全治療の最後の砦であるが、同時に強力なreverse remodelingをもたらすものであり、早期の適応が自己心回復の鍵となるものである。

研究成果の概要（英文）：Left ventricular assist device (LVAD) confers mechanical unloading to the patients in end stage heart failure to recover their own cardiac function. The mechanical unloading leads reverse remodeling which decreases LV diastolic and systolic diameter and increases LV ejection fraction. However, we found there are responders and non-responders. Among 34 patients who underwent LVAD-off test, 9 patients successfully recovered their own cardiac function and was weaned off from LVAD. The pathological examination revealed that less fibrosis and smaller cell size in these 9 patients. Therefore, we concluded that Cardiac fibrosis and myocyte size at the time of LVAD implantation were significant predictors of degree of improvement of cardiac function and the sustained recovery after the LVAD explantation.

Next, we examined cell transplantation to the patients who were unlikely recovered their own cardiac function because of their etiology of heart failure.

Simultaneous injection of autologous bone marrow cells and skeletal myoblasts has been demonstrated to improve cardiac function in animal models. We evaluated the potential application of this combination cell therapy in patients with severe ischemic cardiomyopathy who required left ventricular assist device (LVAD) implantation.

Four patients (age range, 43-69 years) who required LVAD implantation due to severe

ischemic cardiomyopathy were studied. Skeletal myoblasts were obtained from the thigh, while bone marrow mononuclear cells were collected and purified at the time of the operation. These cells were directly injected in a serial manner into the damaged myocardium.

No fatal arrhythmias or major complications were observed. The number of injected skeletal myoblasts ranged from 2.7×10^7 to 3.0×10^8 , and their purity ranged from 25% to 96%. Two patients showed decreased brain natriuretic peptide levels and echocardiographic improvements in the transplanted areas, as well as increased perfusion revealed by H(2)(15)O positron emission tomography, of whom one was successfully weaned from LVAD. Histological findings at autopsy of the other patient showed a small amount of skeletal muscle in the injected area. Only marginal improvements were observed in the other two patients.

As a conclusion, the key is a viable myocytes to respond any kind of treatment such as mechanical unloading and cell transplantation. In addition, cell stability is another important factor for successful cell therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計			

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：心不全・LVAD・細胞治療・線維化・リモデリング

1. 研究開始当初の背景

末期的重症心不全の患者では不可逆的であることが多く、LVAS (left ventricular assist system) の装着が余儀なくされることが多い。その組織像は心筋の腫大や空胞化などのダメージとともに、組織の繊維化がみられ、心筋の再生などは考えられもしなかった。LVAS は機械的に左心室のポンプ作用を代償するもので、その目的は Bridge to transplantation (心移植) である。しかし、本邦の現況ではなかなか心移植にいたる例は少なく、待機中に LVAS に関わる合併症など (主に脳梗塞や感染) で死亡する例が後をたたない。また、LVAS 装着そのものが非常に患者の QOL を低下させる。その中で、2000 年ごろより、LVAS 装着中に心機能の改善する例もあることがわかってきた (文献 1、2)。現在までに大阪大学で LVAS 装着術を受けた 105 例中、16 例に LVAS 離脱を施行し、11 例の長期離脱成功例を得ている。我々は国内において最も末期的重症心不全に対し LVAS 植え込み術を施行

している施設のひとつであり、LVAS 離脱に関してはパイオニア的存在である。臨床的なデータの蓄積があるため、長期離脱の可能性の予測因子や薬物療法に関する臨床研究は行っているが (文献 3)、まだ途上であり、肝心のメカニズムに関する究明はなされていない。

心不全患者の数は非常に多く、今なお増加傾向である。心不全研究は心臓病のなかで最も研究の盛んな分野で、非常にコンペティティブである。欧米の主要な心不全センターである、ドイツのベルリンハートやイギリスのフェアフィールド、アメリカのテキサスハートもわれわれと時を同じくして末期心不全の LVAS 治療ならびに離脱に関する臨床的研究を施行しており、わが国においても遅れをとるわけにはいかない。

文献

1 Dandel M et al. Long term results in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy after weaning from left

ventricular assist devices. *Circulation* 2005

2 Khan T et al. Dobutamine stress echocardiography predicts myocardial improvement in patients supported by assist devices: hemodynamic and histologic evidence of improvement before LVAD explantation. *J Heart Lung Transplant*. 2003

3 Matsumiya G et al. Who would be a candidate for bridge to recovery during prolonged mechanical left ventricular support in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005

2. 研究の目的

本来不可逆性と考えられていた LVAS (左室補助人工心臓) を要する末期的重症心不全患者を対象に、画像的、血行動態的な変化を研究し、さらに心機能の回復のメカニズムを分子生物学的に解明することを目的とし、ひいては心不全患者の LVAS 離脱の一助となるのみならず、心不全そのものの予防に役立てたい。

3. 研究の方法

研究はまず、LVAS 離脱テストを施行した 34 例の LVAS 植込み時の左室心筋の組織学的研究を行い、また、オフテスト時の左心室径や収縮率を計測した。それにより LVAS による unloading による reverse remodeling の効果を見るとともに responder の特徴を調べた。次に、虚血性心筋症の患者 4 名を対象に LVAS 埋め込み術と細胞移植を組み合わせた治療を行い、その治療効果を見るとともに、responder の特徴を精査した。

虚血性心筋症によって末期心不全となり LVAD (左心補助人工心臓) の装着を要する 4 例 (年齢 43 ~ 69 歳) を対象に、筋芽細胞と骨髄単核球を同時に injection により対象心筋内に移植した。筋芽細胞は大腿より採取し、Cell Processing Center (CPC) で 300×10^6 個以上になるまで培養され、骨髄単核球は移植当日に腸骨より骨髄を採取し単核球を抽出した (100×10^6 個以上)。細胞移植後 6 か月の観察期間を設けた。本臨床研究の Primary end point は、主に不整脈のモニタリングによる Safety and Feasibility であり、Second endpoint は心機能の推移の観察である。Second end point の観察項目として、1. 心臓超音波検査による心機能評価 (拡張能を含む)。

2. 組織学的評価。3. PET による局所血流量の評価。4. BNP 値を指標とした。

4. 研究成果

LVAS 装着患者で LVAS オフテストを施行した 34 例中、9 例に LVAS 離脱に成功した。術前の背景は年齢、性別、LVAS 装着期間、β ブロッカーの内服には有意差はなかったが、離脱成功群では拡張型心筋症の症例が有意に多く、心不全罹患期間が有意に短かった。LVAS 装着により、両群 (離脱成功群と非成功群) とともに左室径は収縮期、拡張期とも有意に縮小したが、収縮率は有意に成功群で改善し、肺動脈圧、肺動脈楔入圧とも有意に低かった。

このことより、末期心不全と考えられた症例の中でも拡張型心筋症の病歴の短い患者を中心に LVAS による mechanical unloading の効果により、自然に心機能の回復する症例があり、LVAS 離脱という結果に結びつくことがあるということが分かった。

さらに組織学的研究では成功群の組織では心筋細胞の肥大と、線維化が軽度であることが分かった。

このことより、心不全を繰り返し、remodeling が進行し、線維化が起こり不可逆性の変化をもたらした症例は reverse remodeling しにくく、逆に急激に心不全に陥った症例は回復の余地があることがわかった。今後の治療法に関しては、より早期の LVAS の導入を行い、残存心筋が多く、ダメージが少ない状態での LVAS の mechanical unloading に期待したい。

しかしながら、reverse remodeling しにくい虚血性心筋症においては心筋の再生がないのか、という問いに対しては細胞治療にて治療を試みた。

(結果)

1. 骨格筋芽細胞は 20 ~ 23 日間の培養の後、目標細胞数が得られたが、purity は 20 ~ 89% とばらつき、若年者でその純度は高かった。2. 観察期間中、心室頻拍は認めなかった。3. 全例観察期間後、死亡したものの当治療との関連死はなかった。4. 若年の 2 例に LVEF (left ventricular ejection fraction) の改善を認め、また、diastolic color kinesis index (拡張能) の改善が

細胞移植部位を中心に認められた。同2例ではBNP値の低下を認めた。そのうち1例はLVADから離脱しえた。5. 心機能の改善した症例でのH₂O PETでは、細胞移植部位の血流の改善がみられた。Autopsyによる組織学的検討においては、myosin heavy chainの染色でわずかながらも細胞移植部位に骨格筋芽細胞の生着が確認され、factor VIIIの染色では、血管床の増加を認めた。6. 治療効果がなかった2例では治療対象心筋領域にviableな心筋が少なかった。

〔総括〕

1. 自己骨格筋由来の筋芽細胞と骨髄単核球の二つの細胞の組み合わせたfirst-in manの心筋への再生治療を行った。2. 筋芽細胞の採取および培養においては、厚生労働省の定めるgood manufacturing practices (GMP)省令に基づき、目標細胞数に達成し、安全に移植しうる細胞を得ることができた。3. 観察期間中は、重篤な合併症を認めず、その後も、危惧されたSustained VTやVf不整脈は認めなかった。4. 年齢、移植細胞の比率、治療対象領域のviabilityなどの因子により、responder, Non-responderがあると思われるが、2例に心機能の改善を認め、1例はLVAS離脱しえた。5. 筋芽細胞と骨髄単核球を組み合わせた細胞治療は安全でかつ有用である可能性が示唆された。以上のことから、細胞治療はreverse remodelingが期待できない虚血性心筋症患者においても一部の症例で心機能の回復をもたらすことができる可能性が示唆された。しかし、やはり残存心筋や筋芽細胞の絶対数に結果は左右される傾向があることがわかった。

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2件)

① Clinical impact of combined transplantation of autologous skeletal myoblasts and bone marrow mononuclear cells in patients with severely deteriorated ischemic cardiomyopathy.

Fujita T, Sakaguchi T, Miyagawa S, Saito A, Sekiya N, Izutani H, Sawa Y.

Surg Today. 2011 Aug;41(8):1029-36. Epub 2011 Jul 20

② Cardiac fibrosis and cellular hypertrophy decrease the degree of reverse remodeling and improvement in cardiac function during left ventricular assist. Saito S, Matsumiya G, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yamauchi T, Kuratani T, Sawa Y.

J Heart Lung Transplant. 2010 Jun;29(6):672-9. Epub 2010 Feb 25.

〔学会発表〕(計1件)

①藤田知之 LVAS装着患者における脳出血の発生原因とその対策 第48回人工臓器学会 仙台 2010.11.9

〔図書〕(計1件)

①藤田知之、小林順二郎 心不全急性期の非薬物療法に親しむ、弁修復・弁置換 (著書) 循環器臨床サピア8 心不全の急性期対応 中山書店 2010 Jun 4 p176-184 [産業財産権]

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤田 知之 (FUJITA TOMOYUKI)

独立行政法人国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師

研究者番号:10457012

(2)研究分担者

澤 芳樹 (SAWA YOSHIKI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：00243220

市川 肇 (ICHIKAWA HAJIME)
独立行政法人国立循環器病研究センター
一・小児心臓外科・医長
研究者番号：60303939

松宮 護郎 (MATSUMIYA GORO)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：20314312

倉谷 徹 (KURATANI TORU)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：90448035

上野 高義 (UENO TAKAYOSHI)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：60437316

坂口 太一 (SAKAGUCHI TAICHI)
大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授
研究者番号：10467574

白川 幸俊 (SHIRAKAWA YUKITOSHI)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：20457013

(3)連携研究者

()

研究者番号：