岡山医学会雑誌　第132巻　April 2020, pp. 4-6

受賞対象論文

Sano T, Ousaka D, Goto T, Ishigami S, Hirai K, Kasahara S, Ohtsuki S, Sano S, Oh H : Impact of Cardiac Progenitor Cells on Heart Failure and Survival in Single Ventricle Congenital Heart Disease. Circ Res (2018) 122, 994-1005.

ハイライト

・2011年から2015年にかけ，岡山大学病院で小児単心室症に対する心臓内幹細胞自家移植療法を実施した．
・今回は心臓内幹細胞自家移植療法を，標準治療のみを行った症例と比較した．
・治療効果を心機能のみでなく，死亡率，合併症回避率の側面でも検討することができた．

佐　野　俊　和
Toshikazu Sano

カリフォルニア大学サンフランシスコ校　小児心臓外科
Department of Surgery, Division of Pediatric Cardiothoracic Surgery, University of California San Francisco

<プロフィール>

平成22年４月　岡山大学医学部・歯学部附属病院　初期研修医
平成23年５月　三豊総合病院　初期研修医
平成24年２月　近森病院　心臓血管外科　後期研修医
平成27年４月　岡山大学病院　心臓血管外科　医員
平成30年５月　カリフォルニア大学サンフランシスコ校　小児心臓外科　主任研究員
平成30年９月　岡山大学医歯薬総合研究科博士課程修了
現在に至る

研究の背景と経緯

機能的単心室症というのは先天性心疾患の中でも死亡率の高い疾患でありますが，近年の先天性心疾患に対する内科的・外科的治療の進歩により治療成績は大きく向上してきています．治療成績が不良であった左心定型生症候群の患児でさえも50～70％前後の患者さんが成人期を迎えられる時代となりました．しかし，慢性期の心不全患者は増加しているのが現状であり，Fontan 手術などの段階的手術を経ても長期的な心不全，合併症のリスクは依然として残っています．このような背景の中，近年新たな治療法として，様々な細胞を用いた再生医療が注目されてきました．特に2002年に Hierlihy らによって心臓内幹細胞（cardiac stem cells：CSCs）の存在が示唆されて以降，心筋再生療法に向けての臨床研究が加速しており[1)]，心臓内幹細胞移植により心筋線維化領域の縮小と心機能の改善効果が報告されていますが，これまで機能的単心室症に対する報告はほとんどありませんでした（図）．

研究成果の内容

2011年から岡山大学病院では機能的単心室症を対象に心臓内幹細胞（cardiosphere-derived cells：CDCs）を用いた自家移植療法の臨床研究を行いました．第１相臨床研究（TICAP 試験），第２相臨床研究（PERSEUS 試験）で計48症例（2.8±1.4歳）の機能的単心室症を対象に細胞移植療法を行い，その安全性と有効性が確認されてきました．今回は冠動脈内細胞注入における安全性と治療有効性に関して細胞移植後２年間の追跡調査を行い，細胞治療効果を様々な因子で検討しました．

１．細胞移植群と非移植群との比較

24症例で手術後１ヶ月目に冠動脈注入にて心臓内幹細胞移植（3.0×10^5個/kg）を行い，非移植群の24症例のうち，17症例では手術後４ヶ月目に細胞移植を行いました．また同期間内において，当院で手術した機能的単心室症のうち，非移植群の連続60症例（標準手術単独群）とも比較し，安全性・有効性に関する後ろ向きコホート調査を行いました．

細胞移植群では非移植群に比べ，移植後３ヶ月目において心駆出率（$P<0.01$）及び心筋局所壁運動の指標

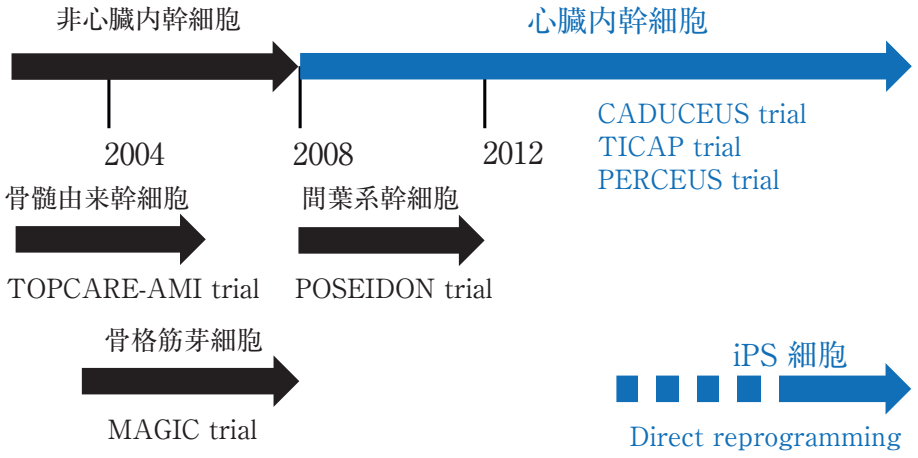

図　心筋再生医療の変遷

である circumferential strain で有意な改善を認めました（$P=0.049$）．合計41症例の細胞移植群において，移植後30日間での有害事象は認められず，２年間における腫瘍形成症例も認めませんでした．後ろ向きコホート調査を行い，非移植群の連続60症例と比較したところ，移植後２年において細胞移植群では術後合併症を有意に回避できましたが（$P=0.01$），総死亡数においては有意な減少は認めませんでした．単心室の段階的手術別（Stage2，Stage3）に比較すると，Stage2，Stage3のどちらの段階での手術においても細胞移植群で心駆出率の改善（Stage2：$P=0.03$，Stage3：$P<0.01$），小児心不全の特徴である身体発育障害の改善（Stage2，Stage3：$P<0.01$），小児心不全の指標として用いられる NYUPHFI（New York University Pediatric Heart Failure Index）の改善（Stage2，Stage3：$P<0.01$）を認めました．

重回帰分析を用いて心臓内幹細胞自家移植における治療有効性を評価したところ，移植前の心駆出率が保たれていない群（HFrEF 群：heart failure with reduced ejection fraction）でより細胞移植による心機能改善率が高いことが示されました（$P=0.02$）．さらに HFrEF 群では非移植群と比較して細胞移植により心駆出率の改善のみでなく，死亡回避率（$P=0.04$），合併症回避率（$P=0.046$）の改善も認め，細胞治療効果が顕著に認められました．一方，移植前の心駆出率が保たれている群（HFpEF 群：heart failure with preserved ejection fraction）では非移植群と比較し心駆出率の改善効果は高かったですが（$P=0.04$），死亡回避率，合併症回避率では有意差を認めませんでした．

２．右心不全ラットモデルを用いての病態比較

小児単心室症に対する心臓内幹細胞自家移植療法後の治療効果をさらに評価するため，右心不全ラットモデルを用いて HFpEF 群，HFrEF 群における細胞移植による病態を比較しました．４週齢のメス Sprague-Dawley rat に対し，胸骨正中切開の上で20G 針の径となるよう肺動脈を絞扼し，右心不全モデルを作成しました．肺動脈絞扼後４週でラットを心機能別に分け，EF≧40% を HFpEF，EF＜40% を HFrEF と定義しています．上行大動脈経由で計3.0×10^5個/kgの CDCs を投与（CDC 群）または medium のみを投与（control 群）し，心機能の改善を比較しました．

HFpEF 群においては細胞治療による心機能改善効果は軽度でしたが，control 群と比較すると心筋 elastance の有意な改善を認めました．HFrEF 群では，細胞治療群で心機能改善を認め，end-systolic volume の減少，心拍出量の増加など，control 群と比べて細胞治療効果は顕著でした．治療後４週での PicroSirius red 染色では HFpEF 群，HFrEF 群ともに細胞治療による右室繊維化心筋の減少を認め，遺伝子発現では炎症・繊維化リモデリングマーカーが有意に減少しており，特に HFpEF 群で顕著でした．

研究成果の意義

我々が行ってきた小児機能的単心室症に対する心臓内自家移植療法は，移植後１年での安全性と有効性を示してきました．TICAP 試験では移植後３年での有効性維持効果を示しましたが，左心低形成患者におけ

る合計14名での比較であり，小規模の報告でしかありませんでした．今回合計101人でのコホート研究を行い，平均38ヶ月の追跡による小児機能的単心室症細胞移植効果を検討することでCDCs移植による治療効果を心機能のみでなく，死亡率，合併症回避率の側面でも比較することができました．

Stage2で細胞移植を行った症例では，観察期間中にStage3の手術へと達しえた症例は細胞治療群，非移植群で有意差はありませんでしたが，細胞治療群では心機能，身体発育障害の改善を認めており，Stage3手術後の血行動態はよりよいものになると考えられました．また，細胞治療の効果が移植前の心機能に起因することがわかり，移植前心機能が低いHFrEF群では細胞移植後の観察期間内で死亡例はなく，非移植群と比較しても死亡回避率，合併症回避率の有意な改善を認めました．

さらに，合併症回避率に対してCox回帰分析を行い，リスク因子を検討したところ，術前の心不全が強い症例は高率で合併症をきたすことがわかりました．ですが何よりも重要なのは細胞移植を行うことで合併症のリスクを0.4倍へと減らせうることであり，やはり細胞移植による治療効果は心機能のみでなく，死亡回避率，合併症回避率にも寄与していることが示唆されました．

小児単心室症における細胞治療効果のメカニズムを検討するため動物実験を行ったところ，細胞治療を行うことで抗炎症作用や繊維化改善作用が励起され，心筋elastanceや繊維化心筋の改善が見られるのではないかと思われました．今回の結果は，肥大心筋や虚血心筋でもCDCs投与により拡張能を改善するという報告と一致し，今後さらなるメカニズムの解明の一助となるかと思われます．近年ではT1 mappingによる心臓MRIにより繊維化心筋の程度がより詳細にわかることも報告されており，単心室症や細胞治療による繊維化改善を継時的に評価することができ，今後さらなる病態解明が可能になるかと思われます．

今後の展開や展望

幹細胞を用いた心筋再生医療は，現在に至るまでのさまざまな知見の蓄積によりその効果が実証されてきていますが，その効果発現の機序には不明な点がまだ多く残されています．当初考えられていた，幹細胞が心筋へと分化し，心筋細胞が増えることで心機能改善効果がもたらされる，という考えは否定的であり，むしろ移植された細胞が分泌するサイトカインによるパラクライン効果や新生血管の関与などが心機能改善に関与している，という見解が主流です．幹細胞治療の効果が実証されてきている今，治療機序の解明は重要な課題となっています．

成長ホルモン（GH）とその刺激で分泌されるインスリン様成長因子（IGF-1）などは，心筋の成長や機能改善に寄与していることが解明されてきました．近年では，成長ホルモンのみならず，各種成長ホルモン放出ペプチドにも心保護作用があることがわかってきており，これらは細胞増殖，細胞アポトーシス抑制など移植後の幹細胞やホスト心筋の機能に関わっている可能性があり，今後のさらなる研究が期待されています．

幹細胞治療のもう一つの課題として幹細胞自体のポテンシャルを高める方法があります．成人よりも小児の心臓内幹細胞の方が，成長ホルモンの分泌，幹細胞増殖率，心筋分化能が高いと言われています．現在様々な研究グループが幹細胞としてのポテンシャルを高めるための方法を模索しており，幹細胞を低酸素や薬剤投与などでpreconditioningすることでより成長ホルモンを分泌する状態にして投与する方法や，遺伝子編集によって幹細胞のポテンシャルを増強する方法や心筋細胞への分化効率を促進する事も可能となりました．多くのハードルが存在するのも事実ですが，再生医療の持つポテンシャルは高く，心筋再生医療のさらなる発展のためにこれからも基礎的な研究を進めていく必要があります．

文　献

1）Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA：The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. FEBS lett（2002）530，239-343.

令和元年12月17日受稿
Department of Surgery, Division of Pediatric Cardiothoracic Surgery, University of California San Francisco, San Francisco, CA, 94158, USA
電話：＋1-415-860-8802　FAX：＋1-415-476-5365
E-mail：Toshikazu.Sano2@ucsf.edu