

特集

骨髄細胞移植による心臓再生
—左室補助人工心臓離脱を目指して—

五 條 理 志*

はじめに

末期心不全に関する治療としての心臓移植もしくは補助人工心臓 (VAS) の施行数は少なく、その恩恵は限定的である。心臓移植は、1997 年の臓器移植法施行により再開されてはいるものの、年間施行数は 5 例前後で推移している。世界的に見てもドナー不足は深刻であり、1994 年をピークに漸減傾向が続いている。VAS 治療は、その役割を Bridge to Transplantation のみから Destination Therapy および Bridge to Recovery へと広げている。多くの新しい Device が長期間の循環サポートを保障し、Destination Therapy を可能とした。また、LV unloading のみによる Bridge to Recovery だけでなく、VAS からの離脱率を向上させるために、Cardiac Resynchronization Therapy や β_2 agonist 投与が行われ有望な結果が報告されている。更に近年、再生医療の可能性が大きく語られ、心不全の治療に関しても、多くの Clinical Trial が報告され始めている。特に、骨髄由来細胞を用いた細胞移植では、全ての研究で、その安全性は極めて高いことが報告されている。また、有用性に関しても心機能改善効果が多くの研究で確認されている。しかしながら、心臓移植の適応となる末期心不全を対象とした細胞移植の Clinical Trial は報告されていない。我々は、VAS 治療における Bridge to Recovery の Supporting protocol としての細胞移植の可能性を検討する Clinical Trial を始めている。現在までに、LVAS 装着患者 3 症例において細胞移植を行い、1 例の離脱が達成され、2 例でも心機能が改善し、離脱の可能性を検討中である。本稿で

は、VAS 治療の現状を概観し、我々の新しい試みである細胞移植の成績を報告する。

世界における VAS 治療

既存の内科的あるいは外科的治療によってポンプとしての機能を回復し得ない重症心不全に対して、補助人工心臓 (VAS) は確実な循環サポートを達成できる。このような疾患群に対しては VAS 以外に、Dor 手術、Batista 手術、SAVE 手術等の左室形成術が心機能改善に寄与すると報告されているが、これらの適応と治療効果に関する Evidence 確立のための Clinical trial (NIH-sponsored Surgical Treatment of Ischemic Heart Failure (STICH): <http://www.stichtrial.org/disclaimer/index.cfm>) が行われている。

しかしながら、いずれの左室形成術も、ポンプ不全の結果として生じた多臓器不全の回復を期待できるほどの効果はないが、VAS 治療は多臓器不全を治癒させるポテンシャルを持っている。VAS の開発当初は、1978 年に Cooley により報告されたように、心臓移植へのブリッジとして (Bridge to Transplantation: BTTx) 使用され始めたが、心臓移植に適応のない患者群に対する半永久使用 (Destination Therapy: DT) が、内科治療に有意に優れていることが報告されて以来¹⁾、VAS 治療における DT が徐々に増加傾向にある。また、割合としては少数ではあるが、自己心機能の回復 (Bridge to Recovery: BTR) による VAS 離脱を可能とするプロトコルが報告され始めている。

国際心肺移植学会による 2002 年より 2004 年までのレジストリー (MCSDB: Mechanical Circulatory Support Device Databases) では²⁾、BTTx: 78.3%、DT: 11.9%、BTR: 5.3%、Not Specified: 4.4%であつ

*埼玉医科大学総合医療センター心臓血管外科

た。これら Overall の VAS 装着後の 1 年生存率は約 50%であった。しかしながら、死亡数の 34.8% は多臓器不全で、術前より存在した多臓器不全を克服できなかった結果である。これは、病態が重篤化し過ぎてからの紹介による成績不良であり、欧米では VAS 治療の啓蒙が盛んに行われている。また、全死亡の約 3 分の 1 がドライブライン感染・出血・脳梗塞によるものであり、デバイス関連の問題が依然として解消されていないことを示しているが、最近使用され始めた新しいデバイスでは、それらの Adverse event の発生率は極めて低くなり、1 年生存率は 61%にまで向上したとの報告もある³⁾。

このような背景を下に、アメリカでは VAS 治療の適応を含めた適切な治療指針の策定を目標に INTERMACS (Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support, <http://www.uab.edu/ctsresearch/intermacs/description.htm>) というプロジェクトが進行中である。新しいデバイスの登場、より早期に VAS 治療が開始され始めていることも反映し、INTERMACS の昨年のデータでは VAS 装着後 (緊急装着を除く) の 1 年生存率は約 80%であったことが報告されている (ISHLT, 7th Education Meeting, Dallas, 2005)。

A. Bridge to Recovery

BTTx としての VAS の使用という治療の過程において、自己心機能が極めて良好に改善する患者がいることが明らかとなってきた⁴⁾。この現象は、BTR と呼ばれ、左室 Unloading が Reverse Remodeling をもたらしている事が明らかとなり始めている。Force-frequency relationship の正常化や β -adrenergic responsiveness の改善は一致したと報告がなされているが、Extracellular Matrix に関しては、一致した見解が見られておらず、発現している Gene profile も Reverse Remodeling のメカニズムを説明するには到っていない。BTR が報告されて、既に 10 年を経過しながらも、メカニズムに関しては不明瞭な状態であるが、BTR の Supporting protocol として β_2 adrenergic receptor agonist の投与が報告 (Harefield Protocol) されている⁵⁾。15 例の拡張型心筋症の患者に対して行われて 11 例 (70%) が LVAS から離脱しており、1 例のみが増悪した。更に、3 年後の追跡調査でも EF は 60 から 65 と安

定した結果であったという。そのメカニズムの 1 つとして、Atrophy や Apoptosis の抑制に關与する Insulin-like growth factor I (IGF-I) の発現増強が挙げられている。現在、Multicenter Trial (Harefield Recovery Protocol Study) が進行中である。

埼玉医科大学の VAS 治療

A. 治療成績

埼玉医科大学では、現在のところ大学病院と総合医療センターの 2 つの施設で 17 症例の LVAS 装着術を施行した患者様を治療している。VAS 治療を継続している患者様に、Post-Cardiotomy の症例はなく、劇症型心筋炎や左主幹部病変の急性心筋梗塞から急性循環不全となり PCPS 離脱不能となった急性心不全と虚血性および拡張型心筋症からの慢性心不全の両疾患が含まれている。2000 年より 2005 年 9 月までの Post-Cardiotomy を除く LVAS 患者は、45 例であり、離脱が 9 例、心臓移植が 5 例 (内 4 例は渡航移植) であり、1 年生存率は約 50%であった。非虚血性症例 32 例に関しては、7 例 (21.8%) が離脱が可能であった。一方、虚血性症例 12 例に関しては、補助継続の 1 例と後述する細胞移植を行った症例を除いて、全例を失っている。

B. 劇症型心筋炎

心筋炎の中に、その炎症が広範囲に急激かつ重篤に起こってくる劇症型心筋炎と呼ばれる疾患は、PCPS/IABP という循環サポートが導入されることにより、救命率が著しく向上した。この循環補助においても多臓器不全が進行してくる症例、もしくはサポートが長期間におよび Coagulopathy を呈してくる症例において、数例の VAS 治療を行っている。本疾患の本態は炎症であることより、炎症が沈静化することによる心機能の改善が期待される。PCPS/IABP からの離脱も含め、心機能が改善することは確実である。ここに、劇症型心筋炎から LVAS/RVAS-ECMO となり 1 ヶ月後に VAS から離脱しえた症例を示す⁶⁾。VAS 治療になるような心筋炎の場合は、両心室が侵されている場合がほとんどで、右に関しては、一時的にロータリーポンプを用いた RVAS-ECMO という補助形態をとり、離脱を目指すということを標準としている。この症例は、離脱後 3 年を経過しているが、EF: 60%台を維持している。興味深いのは、VAS 装着術の際

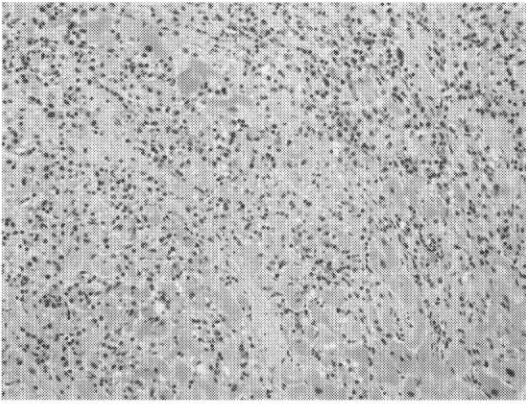


図1 劇症型心筋炎にて LVAS/RVAS-ECMO 装着となり、VAS からの離脱が可能となった症例における LVAS implantation 手術の左室心尖部の病理写真

のバイオプシーでは、高度リンパ球浸潤に加えて、筋組織の変性は著しく空胞変性、Contraction Band, Muscle Fiber Atrophy を呈し、ほとんどの心筋細胞は脱落している(図1)。数例の経験ではあるが、一様に図1に示す病理学的所見を示している。このような廃絶された筋組織が、炎症が消退しただけで、心機能がほぼ正常化するという現象は、心臓に恒常性維持のメカニズムが存在することを示唆しているようにも思える。

C. 拡張型心筋症

拡張型心筋症は、多くの Etiology を持っているために、その治療成績を一つのグループとしてまとめることは不適切であるが、DCM という診断された疾患群には、VAS 治療の LV unloading によって心機能が改善するサブグループが存在することは、多くの報告の一致した見解である⁷⁾。一方、右室にも病変が関与している場合は、右心に対しても長期間の補助が必要であり、補助形態は BVAS となるが、現在使用可能な東洋紡 VAS での治療成績は極めて不良である。世界的には5%前後で推移している BTR であるが、Cardiac Resynchronization Therapy を併用するようになったこともあり、離脱の成功率は向上した。更なる向上を目指して、我々は、間葉系細胞移植による LVAS 離脱に向けた臨床研究を計画しており、大学倫理委員会からは承認を得ており、患者登録を進めているところである。

D. 虚血性心疾患

左主幹部病変からの急性心筋梗塞に対して PCI は成功したが、心機能が改善せず、PCPS/IABP を導入するも、多臓器不全もしくは Coagulopathy となったとのことで、Refer を受けることが多い。上記の2つの疾患と異なり、右心機能が障害されている事は少なく、周術期管理の上で有利ではあるが、VAS 治療だけでは Recovery する可能性はほとんどない。2004 年までの我々の経験でも、本疾患に対する VAS 治療では病院内での延命以上の効果は有り得なかった。このような背景を下に、我々は、本疾患に対して BTR を可能とするための Supporting Protocol を作ることを目標に、幹細胞生物学を基礎にした再生医療の可能性を研究し⁸⁾、下記に示すように臨床研究を行う段階に到っている。

再生医療

骨髄移植から始まった細胞移植が、心臓病への適応について研究が行われ始めて10年以上が経過している。その間に、幹細胞生物学の著しい進歩があり、移植ドナー細胞として多くの候補が上げられるようになり、実験レベルでは細胞移植による不全心の機能改善が数多く発表されてきた。現在では、そのいくつかの細胞においては、臨床のランダム化試験が行われるまでになっている。しかしながら、細胞移植による心機能改善のメカニズムは明らかになっておらず、この方法論への懐疑的見解も完全には払拭されていない。移植細胞ドナーとしては、大きく体性幹細胞と胚性幹細胞の2種類に分けられるが、ヒト胚性幹細胞は倫理上の問題が存在し、まだ臨床に使用できる状態にはない。体性幹細胞には、骨髄および末梢血由来の単核球・有核球細胞・特殊なマーカー・性質を有する幹細胞・前駆細胞、骨髄および脂肪組織由来の間葉系幹細胞、骨格筋芽細胞、心臓幹細胞が上げられる。本稿では、骨髄由来細胞に焦点を当てる。

A. 骨髄由来細胞

血液幹細胞や神経幹細胞の研究から体性幹細胞に関する多くの知見が蓄積され、幹細胞がその存在する臓器以外の機能細胞へ分化(可塑性)することが報告されるや⁹⁾、体性幹細胞を用いた治療(細胞移植)が多くの臓器で研究され始めた¹⁰⁾。心臓病

を治療する目的には、骨髄に存在する候補となる細胞群は、単核球・有核球、間葉系幹細胞、CD133(+) Cells, MAPC(Multipotent Adult Progenitor Cell), SP Cells(Side Population Cells)等があるが、それぞれに利点・欠点・制約が存在し、複数の臨床研究へと移行されているのは、単核球・有核球である。この細胞移植にG-CSFを加えた臨床研究も行われたが、合併症のリスクが高く中止されている。CD133(+)細胞は1つのTrialが報告されているが、単核球・有核球を用いた場合との差異はないようである。間葉系幹細胞は、学会レベルでは複数の施設より発表され始めているが、論文としては1つのTrialがあるに留まっている¹¹⁾。

B. 単核球細胞移植

最も早くに急性心筋梗塞に細胞移植を行った報告では¹²⁾、梗塞後5~9日後に経冠状動脈に 10^7 オーダーの単核球移植が行われた。ランダムイズコントロールはなく、EFに変化を認めなかったが、核医学検査にて虚血の改善を認めた。TOP-CAREのTrial名で、急性心筋梗塞だけでなく慢性心不全にも単核球移植を行っているグループの報告によると、29例の急性心筋梗塞の患者に 10^8 オーダーの単核球移植が施行された¹³⁾。また、11例には末梢血前駆細胞移植を行い、マッチドコントロールを取って検討を行っている。EFは8%程度改善し、虚血の程度が改善した。ランダムイズコントロールを取ったTrialは、BOOST Trialと名付けられ、 10^9 オーダーの有核球細胞移植が行われた¹⁴⁾。30例の心筋梗塞に対して、経冠状動脈的に細胞移植され、EFの改善は6%程度で、移植領域での局所壁運動も改善したと報告された。しかしながら、いずれのTrialにおいても左室拡張期容量は減少していない。安全性に関しては、骨格筋芽細胞移植に見られた不整脈の問題は、どのTrialにおいても報告されていない。また、実験レベルで有害事象として懸念されていた細胞移植に伴う梗塞や異所性分化(特に骨化)もなかった。

この細胞種は、もともとは下肢の虚血への細胞移植として普及し始め¹⁵⁾、その取り扱いの簡便さから心臓病に対しても応用され始めており、安全性と実施可能性に関しては、多くの施設において実証されている。

効果の作用メカニズムは、血管新生が主なものであると考えられてきたが、ドナー細胞自身が、新たな血管を構築している割合は極めて少ないことが解ってきた。また、サイトカインを介したパラクライン作用や心臓幹細胞・前駆細胞への作用も検討され始めている¹⁶⁾。

LVAS 患者への骨髄由来単核球細胞移植： 第一例目¹⁷⁾

61歳の男性で、糖尿病性腎症にて血液透析導入を控えていた時に、左前下行枝#6閉塞を原因とする急性心筋梗塞にて当院に搬送された。右冠状動脈領域は、陈旧性心筋梗塞であった。カテーテル治療を試みるもワイヤーが通過せず断念された。翌日、心室性頻脈を生じ血行動態が悪化し、PCPSによる補助循環を開始された。その後も、呼吸不全・肝不全が進行してくるために、LVAS装着術・CABG x2(SVG-LAD, SVG-RCA)を行った。バイパスを施行した領域は、既に梗塞巣が完成された領域であったが、その後の細胞移植のアクセスルートとして確保するためにも行われた。

術後経過は順調であったが、LVAS on supportの状態でのUCGによるEFは13%しかなく、自己の心機能の改善は認められなかった。また、バイパスされた領域は核医学検査によって完全な梗塞巣であることが確認された。骨髄の検査が行われ、十分なValidationを行った。各種検査を行い、自己心臓再生検討会を開催し適応を確認した後、血液内科・輸血部・心臓内科と協力して細胞移植を行った。全身麻酔下に、伏臥位にて両側腸骨より600mlの骨髄液を採取した。COBE Spectraを用いた遠心分離にて単核球分画50mlに濃縮した。細胞数は、 1.79×10^9 個を回収することが出来た。この内、CD34陽性細胞は 3.76×10^7 個であり、Methylcellulose assayにて幹細胞・前駆細胞は5倍に濃縮されていた。この細胞浮遊液25mlをSVGよりSlow infusionして細胞移植とした。この間にECGの変化はなく、週術期にCK, Troponinの変化もなかった。

術後1週間のLVAS on supportの状態でのUCGによるEFは35%と著しい改善を認めた(図2)。細胞移植1ヵ月後の核医学検査では、PerfusionおよびWall thicknessが改善した。我々のLVAS weaning

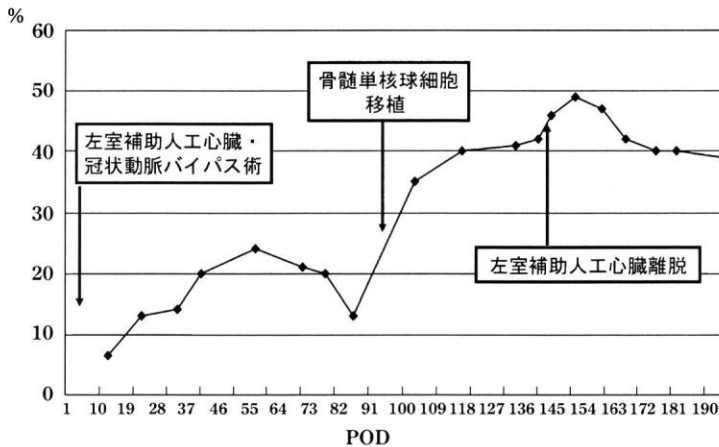


図2 骨髄由来単核球細胞移植を施行した LVAS 装着患者の EF の経時的変化

	Perfusion	Thickening	Motion
Septal	→ ↑ → →	→ ↑ → ↓	→ → → →
Anterior	→ → → →	→ ↑ → ↓	→ ↑ → ↓
Lateral	→ → → →	→ → → →	→ ↑ → →
Inferior	→ ↑ → ↑	→ ↑ → ↑	→ ↑ → →
Apex	→ ↑ → →	→ ↑ → →	→ ↑ → ↑

図3 骨髄由来単核球細胞移植を施行した LVAS 装着患者の核医学検査の推移

LVAS implantation 後の検査結果から細胞移植後の変化, 細胞移植後から離脱後の変化を Perfusion/Wall Thickness/Motion のパラメーターで比較した。

の条件は, Dd < 65mm, EF > 20%, CTR < 60% (Pulmonary congestion(-)), BNP < 100ng/ml としてきたが, BNP に関しては透析患者であり, 明確な意義付けが現時点では難しいため基準とすることはせず, Dd < 55, EF > 40% という欧米の多くの施設で使われている基準を用いることとした。厳しい欧米の基準をも満たしたので, LVAS rate を 40/min にまで漸減して, 細胞移植後 40 日目に LVAS 離脱手術を行った。

離脱術後も, 心機能は安定しており, 細胞移植後 56 日目に退院することが出来た。術後の核医学検査では, Perfusion は変化なく, Wall thickness は心臓の Dimension が拡大したことも反映して前壁中隔でやや減少していたが, 下壁は Perfusion/Wall thickness/Motion が揃って改善していた(図3)。現在, 離脱後 1 年にて心臓カテーテル検査を行ったが, 心機能は安定しており, グラフトは Patent で,

スワンガンツデータも異常を示すものはなかった。

現在のところ, 3 症例に対して細胞移植を行っており, 移植直後より心機能の改善を認めている。この短時間での効果は, 幹細胞の血管新生によるものではなく, サイトカインを介したメカニズムを想定しやすいデータである。

また, 報告されているカテーテル治療に細胞移植が Add on されている臨床研究よりも, 我々の心機能改善の程度は著しく良好である。これは, 動物実験にて LV unloading を行っている中での細胞移植は, 細胞の生着率が向上するデータを得ており, そのことが心機能改善の差異に影響しているのではないかと考えている。まだまだ, 少数例であり多くを語る事が出来るような段階ではないが, 今後も症例を重ねることで, 重症心不全に対する人工心臓と細胞移植の Combination therapy の可能性を検証していきたいと考えている。

文 献

- 1) Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al: Long-term mechanical left ventricular assistance for end-stage heart failure. *N Engl J Med* 2001; 345: 1435-43.
- 2) Deng MC, Edwards LB, Hertz MI, et al: Mechanical circulatory support device database of the International Society for Heart and Lung Transplantation: third annual report—2005. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1182-7.
- 3) Long JW, Kfoury AG, Slaughter MS, et al: Long-term destination therapy with the HeartMate XVE left ventricular assist device: improved outcomes since the REMATCH study. *Congest Heart Fail* 2005; 11: 133-8.
- 4) Frazier OH: First use of an untethered, vented electric left ventricular assist device for long-term support. *Circulation* 1994; 89: 2908-14.
- 5) Hon JK, Yacoub MH: Bridge to recovery with the use of left ventricular assist device and clenbuterol. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: S36-41.
- 6) Gojo S, Kyo S, Sato H, et al: Successful LVAS and RVAS-ECMO support in a patient with fulminant myocarditis who failed to recover from ventricular fibrillation with PCPS and IABP. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 885-6.
- 7) Hetzer R, Muller J, Weng Y, et al: Cardiac recovery in dilated cardiomyopathy by unloading with a left ventricular assist device. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 742-9.
- 8) Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al: In vivo cardiogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2003; 288: 51-9.
- 9) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
- 10) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
- 11) Chen SL, Fang WW, Ye F, et al: Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 94: 92-5.
- 12) Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al: Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-8.
- 13) Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al: Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-17.
- 14) Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al: Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141-8.
- 15) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 427-35.
- 16) Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, et al: Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11474-9.
- 17) Gojo S, Kyo S, Nishimura S, et al: Cardiac Resurrection following Bone Marrow-derived Mononuclear Cell Transplantation during Left Ventricular Assist Device Support. *Ann Thorac Surg* 2006; In Press.