

心筋再生治療の現状と将来

澤 芳 樹*

はじめに

最近、重症心不全治療の解決策として新しい再生型治療法の展開が不可欠と考えられており、既に自己骨格筋芽細胞による臨床応用が欧米で開始されている。我々も、自己骨格筋芽細胞と骨髄単核球細胞移植を併用すると、単独より心機能改善効果が高いことを証明し、大阪大学医学部付属病院未来医療センターにおいて臨床研究をすすめている。さらに、我々は、温度感応性培養皿を用いた細胞シート工学の技術により、細胞間接合を保持した細胞シート作製技術を開発し、従来法である needle injection 法と比較して、組織、心機能改善効果が高いことを証明した。これらの結果をもとに、骨格筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の臨床研究も同センターにて開始した。

本稿では、今、注目を集めている iPS 細胞を用いた心筋再生治療をふくめて、末期心不全患者への心筋再生治療の現状と将来について概説する。

自己筋芽細胞による心筋再生治療

骨髄細胞は、今日の細胞移植治療において最も注目され、既にその利便性から早期の臨床応用が開始され、現在までに多くの報告がなされている。これら臨床治験では治療としての安全性とともに、可能性には一定の評価が得られ、効果としては症状の改善、心筋組織への血液灌流改善が認められている。特に、最近、REPAIR-AMI と呼ばれるドイツの多施設臨床試験で、急性心筋梗塞患者に対する、骨髄細胞冠動脈注入が、有意に術後心機能を改善させることを明らかにし、骨髄細胞の有用性が EBM として証明された。しかし、骨髄から

採取した細胞中、心筋細胞に分化し得る細胞は 0.02% 程度であり、現段階では骨髄細胞移植による治療効果は、細胞からの血管新生因子等の分泌 (paracrine effect) における局所部位の血液灌流改善が本体であると考えるのが妥当と思われる。

一方、近年、骨格筋由来細胞を細胞移植に用いる研究が盛んに行われて、細胞移植において臨床応用可能な細胞源として注目を集めてきた。最近、ヨーロッパでは Menache の臨床試験の流れを汲んで Genzyme 社とメドトロニック社が 100 例以上の大規模試験を行った。これが MAGIC (Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy) とよばれる臨床試験で、ランダム割付け、プラセボ対照、二重盲検、多施設 (欧州の 24 施設) で 97 例を対象に行われた。一次エンドポイントである心臓の局所壁運動 (細胞注入場所)、心臓全般の機能において細胞移植群のプラセボ群を凌ぐ有効性が認められなかったため試験は早期に終了し、見直しの段階のようである。一方、アリゾナハートセンターの Dr. Dib らは FDA の承認の元、Phase II 臨床試験を開始しつつあり、その結果が期待されている。本邦において大阪大学では、世界的にも初めてとなる自己筋芽細胞と骨髄細胞を併用する再生治療法を 4 例の虚血性心筋症の患者さんに補助人工心臓下に施行し、心機能の回復と BNP 値の低下を確認した。一方、経過中、致死的な不整脈の発生は認めていない。

重症拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植

一方、従来の一般的な細胞移植方法としての direct needle injection 法は移植作業中の細胞損失、注入局所における炎症反応の惹起、移植範囲の局限などの問題点があり、心筋細胞を心臓へ効率よ

*大阪大学医学系研究科外科学講座心臓血管外科学

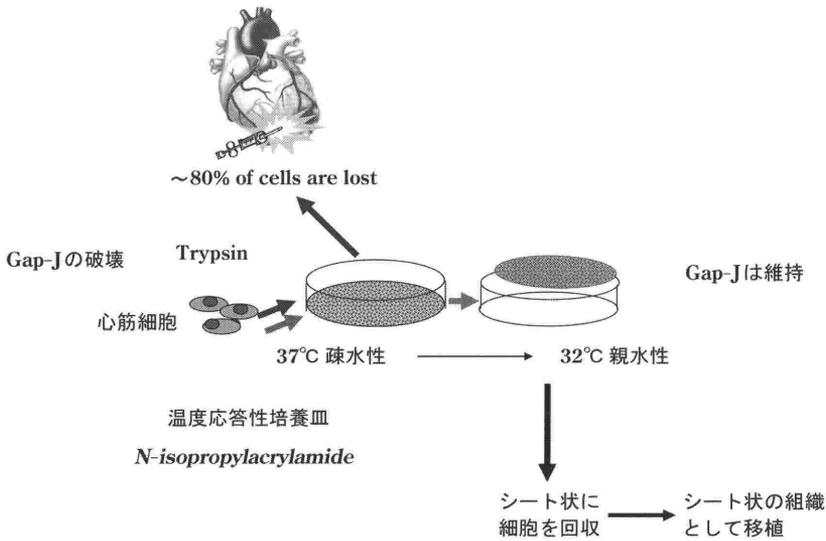


図1 組織工学を応用した心筋再生治療法の開発

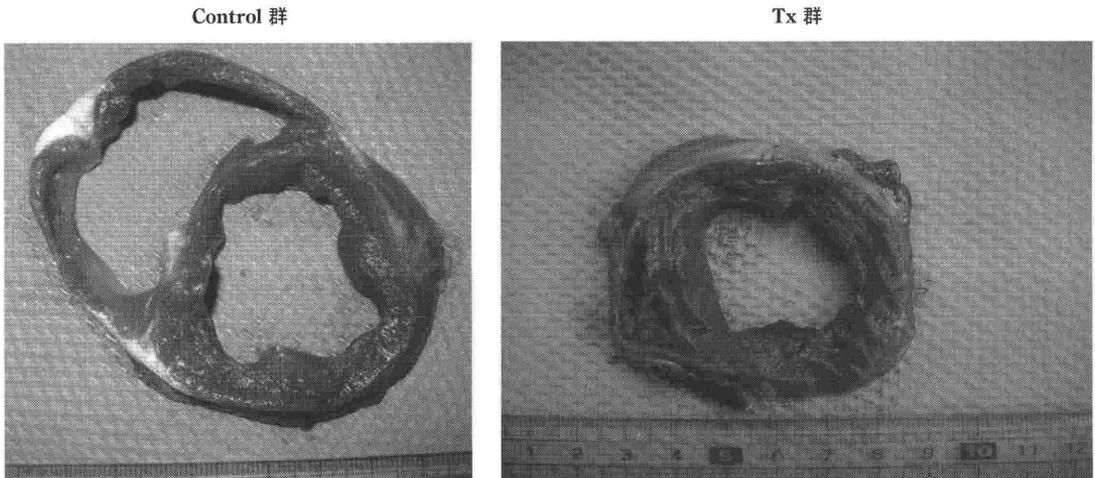


図2 拡張型心筋症モデルに対する自己筋芽細胞シート移植

拡張型心筋症のような全体に薄くなった心筋壁が厚くなり、心機能が改善する。

(2006.7 大阪大学医学倫理委員会で承認)

く移植し生着させるためには、細胞移植技術も重要となる。

Shimizu, Okano らは、上述の温度感受性培養皿から温度降下処理のみで回収した細胞シートを積層化することで、スキャホールドを用いないで3次元組織を構築することを可能にした(図1)。ヌードラットの皮下に、3層の心筋細胞シートを積層し10回移植を行うと、積層化した心筋細胞シートは *in vitro* で一年以上拍動を維持し¹⁶⁾、心筋梗塞部に移植すると心機能を改善することも報告されている。

我々は、この細胞シート化技術を用いて筋芽細胞シートを作成し、細胞移植を行い、心機能改善効果について検討を重ねりモデリングを抑制することを明らかにした(図2)。ラット心筋梗塞モデルに対しての検討では、心機能が有意に改善し、移植した心筋内の HGF や VEGF の発現が上昇していた。さらには、骨髄由来幹細胞に対するケモカインである SDF-1 やそのレセプターも高値であることが判明した。さらに、これらの幹細胞由来の因子である c-kit や Sca-1 陽性細胞が多数集積していることがわかった。このように筋芽細胞シート

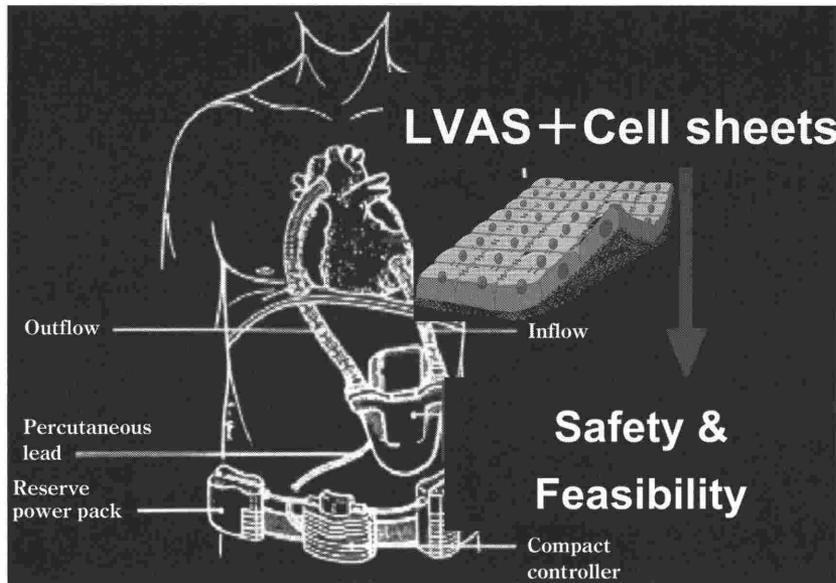


図3 左室補助人工心臓装着患者に対する筋芽細胞シートによる心筋再生治療

目的：左室補助人工心臓装着した末期的拡張型心筋症に対し、自己筋芽細胞シートを移植することにより、細胞シート移植の安全性を検討するとともに、心機能の改善の可能性を検討することを目的とする。

エンドポイント：本治療による有害事象の種類と発現率を検討し、本治療法における安全性を評価する。被験者の心機能の経過を観察する。

予定症例数：6例 予定研究実施期間 2年間

移植により、直接的な girdling effect に加え、増殖因子やケモカインが関与し、幹細胞をも誘導することによって、自己修復機転が心機能改善に関与するのではないかということが示唆された。心筋症ハムスターにおいても、筋芽細胞シートによる再生治療は注入療法に比し、その寿命を延長した。

症例提示：筋芽細胞シートによる LVAS 離脱症例

2006年7月に倫理委員会の承認を得て、左室補助人工心臓を必要とするような末期的拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植を計画し(図3)、2007年5月に第1例目に対しての臨床試験を開始した。患者は55歳の男性。2004年より心拡大を指摘されていたが、2006年に心不全が増悪し、左室補助人工心臓(LVAS)を装着した。しかし、自己心機能の回復がLVASを離脱するほどには及ばず、本人の同意のもと、臨床試験に登録し治療を開始するに至った。2007年3月に大腿部より筋肉を採取し約1ヵ月間の培養後、凍結。同年5月に再培養・シート化して、開胸下に細胞移植を行った。その後の患者の心機能はLVASを離脱できるほどに回復しBNPも正常化し、同年9月に

LVASから離脱、12月には退院となった。細胞シート移植後において、致死的不整脈をふくむ合併症は発生しなかった。退院後半年が経過したが、現在のところ心不全の再発を認めていない。以後3例の患者に同様の治療法を実施した。今後、これらの症例で安全性および有効性を検討する予定である。

iPS細胞への期待

シート化する細胞源として筋芽細胞では、Responderは限られてくる。この治療効果のメカニズムは、あくまでも筋芽細胞から分泌される成長因子等の影響が大きく、自己の組織修復能を賦活化し、心機能が改善したと推測される。失われた心筋組織を修復・再生するためには、やはり心筋細胞を補充することが必要で、これこそ“真”の心筋再生治療と呼べるのではないかと考える。

我々は既に、心筋細胞シートの移植のほうが、筋芽細胞シート移植より、さらに有効性が高いことを証明している。その点からも、より効果の高い細胞源の開発が必要で、特に、細胞シート技術により心筋細胞移植の場合 Gap-junction を温存し

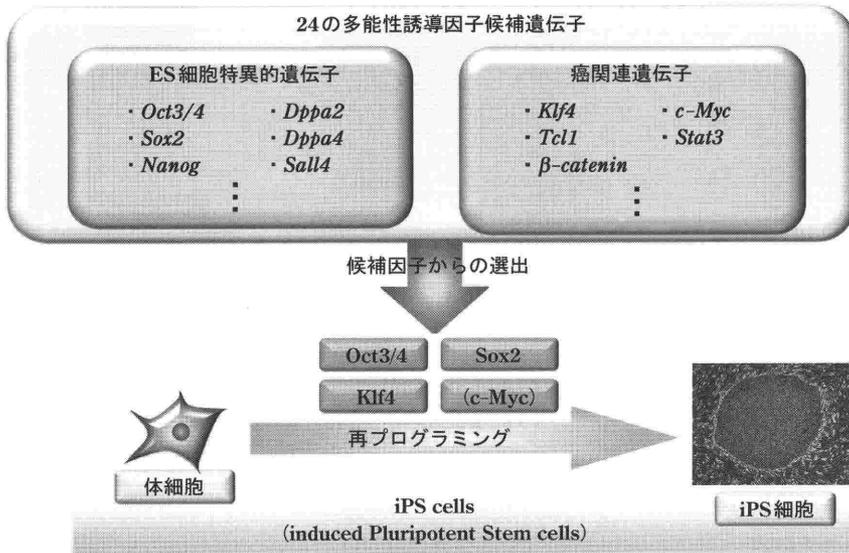


図4 多能性誘導因子の同定(Yamanaka group) (Yamanaka S, et al: Cell 2006)

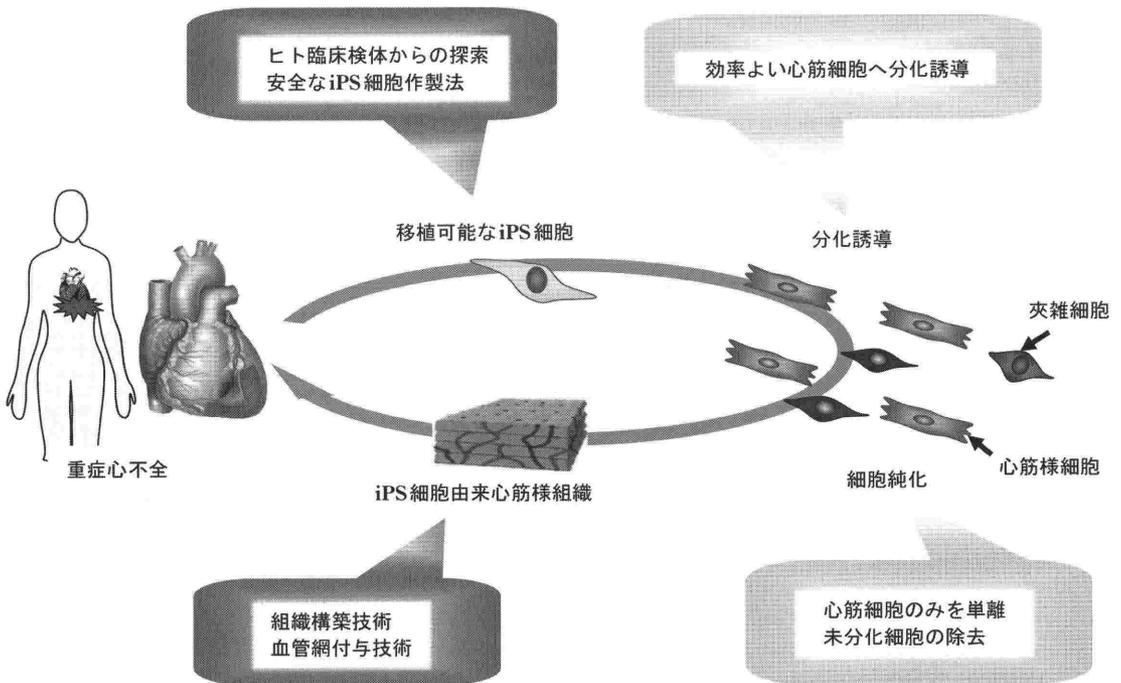


図5 臨床応用を目指したiPS細胞から心筋分化系の開発

た状態で移植が可能であることより、この Gap-junction を発現する細胞の開発が必要とされてきた。

一方、2007年11月、日本の山中らとアメリカの Thomson らのグループがヒト iPS 細胞の樹立に成功したニュースは世界中を駆け巡り、再生医療実現化に対する期待は大いに高まっている。実際

に、ヒト iPS 細胞の樹立が報道され、山中教授らが報告した雑誌「Cell」のオンラインサイトで閲覧できる、iPS 細胞から作製された心筋細胞が拍動している動画を見たときの衝撃は記憶に新しく、再生医療の新たなブレイクスルーを目の当たりにした瞬間でもあった(図4)。

iPS 由来細胞シートは機序的に、心筋細胞シートと同様に電氣的につながって、直接は駆動を伝え、心機能改善をもたらす可能性があるだけに、iPS 細胞への期待は大きく、京都大学山中教授との共同研究において iPS 細胞からの高効率の心筋細胞の分化誘導と Teratoma の発生抑制および、そのシート化と心不全モデルへの移植による成果が期待される(図5)。心筋再生については、iPS から拍動する治療用ヒト心筋細胞様細胞の100%の分化誘導に成功すれば、細胞シートによる治療も大きく変わると考えている。しかし、iPS 細胞も ES 細胞と同様、目的の細胞へ分化・誘導する技術の確立は必須であり、iPS 細胞による実用化は、未だ遠い。

まとめ

以上のように、心機能の低下した不全心筋も、骨格筋芽細胞や骨髄細胞などの自己細胞移植や遺伝子治療により、また組織工学的技術を駆使することにより、そして、病態に応じて再生治療が可能になると思われる。特に拡張型心筋症のような広範囲の心筋障害を呈する心不全においては、細胞移植や遺伝子治療による局所的治療よりも、組織工学により心筋組織片ともいえる細胞シートを移植することにより、治療は可能になると思われる。

さらに、iPS 細胞を用いた心血管再生治療の実現には、超えなくてはならないハードルがたくさん存在するが、iPS 細胞の樹立をきっかけとして、世界中で幹細胞研究が活性化されることで、近い

将来、iPS 細胞を用いた心血管再生医療が現実的なものとなることを確信している。

文献

- 1) Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al: Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763-76.
- 2) Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al: Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 12313-8.
- 3) Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al: Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113: 1287-94.
- 4) Miyagawa S, Sawa Y, Taketani S, et al: Myocardial regeneration therapy for heart failure: hepatocyte growth factor enhances the effect of cellular cardiomyoplasty. *Circulation* 2002; 105: 2556-61.
- 5) Memon IA, Sawa Y, Miyagawa S, et al: Combined autologous cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts and bone marrow cells in the canine hearts for ischemic cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 646-53.
- 6) Kondoh H, Sawa Y, Fukushima N, et al: Reorganization of cytoskeletal proteins and prolonged life expectancy caused by hepatocyte growth factor in a hamster model of late-phase dilated cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 295-302.
- 7) Takahashi K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-76.