

2. 冠動脈 重症虚血性心筋症に対する骨格筋筋芽細胞および 骨髄単核球細胞を用いた細胞治療

福井 伸哉 松宮 護郎 宮川 繁 澤 芳樹

要 旨：重症虚血性心筋症の53歳の男性に対し，骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞移植を行った。細胞移植後，心拡張能の改善，BNPの減少，心筋血流の改善を認め，左室補助人工心臓からの離脱を試みたが，PCWPの上昇のため離脱することはできず，移植後466日目に，敗血症にて失った。剖検所見では，細胞移植により，移植部位の血管新生，線維化および心筋細胞肥大の抑制が確認された。(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 247-251)

Key words: ischemic cardiomyopathy, skeletal myoblast, bone marrow nuclear cell

はじめに

近年，わが国の死亡率第2位を占める心臓病のうち虚血性心疾患は，食生活の欧米化や社会的ストレスの増大，運動不足などの危険因子の増加により年々比例し，罹患者数も年間100万人以上にのぼるともいわれている。これに伴い，虚血性心疾患の診断・治療は著しく進歩し，経皮的冠動脈形成術(percutaneous coronary intervention: PCI)や冠動脈バイパス術(coronary artery bypass grafting: CABG)等の内科的・外科的治療体系がほぼ確立されている。その治療患者数もPCIで年間13万人以上，CABGで年間1万人以上にのぼり，日常医療として定着してきている。しかしながら，虚血性心疾患における治療対象患者は年々重症化しており，特にPCIやCABGによっても血行再建が不可能な重症例では，心筋障害が高度に進行し虚血性心筋症(ischemic cardiomyopathy)として，最終的に心臓移植や補助人工心臓以外に救命手段がない。しかし，高齢のため移植適応とならなかつたり，ドナー不足の問題から移植に到達しないまま，補助人工心臓の感染，脳梗塞，出血などの合併症のため，失う症例も少なくない。大阪大

大阪大学大学院医学系研究科外科学講座心臓血管・呼吸器外科

学では，これらの補助人工心臓を必要とする重症虚血性心筋症の患者に対し，骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞を心筋内に直接移植することで，補助人工心臓からの離脱を試みており，すでに3例に実施した。これらのうち，1例を敗血症で失い，1例が補助人工心臓から離脱できず，残りの1例の離脱に成功した。

今回，重症虚血性心筋症に対する骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞移植を行い，敗血症にて失った症例を呈示し，若干の考察を加えて検討する。

骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞移植

症例

患者：53歳，男性

現病歴：

急性前壁心筋梗塞を発症し，近医にてPCI施行。3年後に，前・側壁心筋梗塞を発症し，経皮的心肺補助装置(percutaneous cardiopulmonary support: PCPS)を装着され，当院へ搬送された。

入院経過：

局麻下骨格筋採取，骨格筋筋芽細胞培養開始。筋芽細胞培養中に，全身状態の悪化のため，左心補助人工心臓(left ventricular assist system: LVAS)装着 + 左室縫縮

2007年4月3日受理

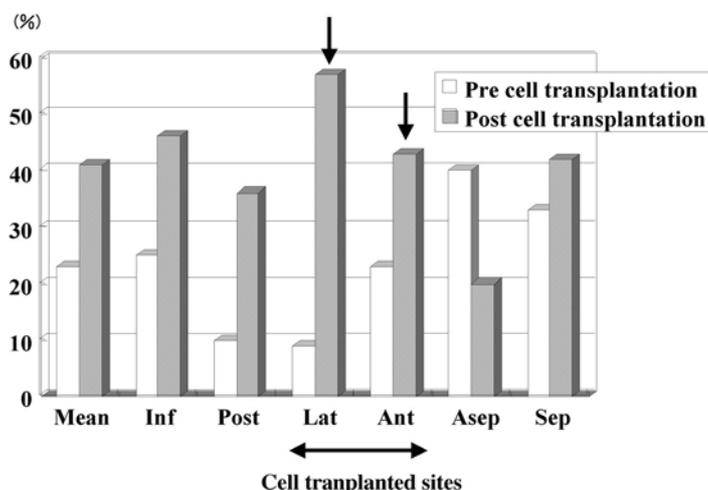


Figure 1 The Color Kinesis index revealed restoration of the regional diastolic function in the transplanted lesion (anterior and lateral wall) after cell transplantation. Arrows indicate the improvement of regional diastolic function in the lesion post-transplantation compared with the same lesion pre-transplantation.

術 + 僧帽弁形成術を先行した。筋芽細胞数が目標細胞数に到達後、骨格筋筋芽細胞、骨髄単核球細胞移植を施行した。術後153日目に、LVAS off testを施行したものの、肺動脈楔入圧(pulmonary capillary wedge pressure: PCWP)の上昇を認め離脱は不可能と判断した。さらに、術後203日目に、LVAS off testを施行したが、PCWPの上昇を認め離脱は不可能と判断した。術後466日目に、敗血症による多臓器不全のため死亡した。

骨格筋筋芽細胞培養：

局所麻酔下に、大腿縫工筋から筋肉を約5g採取した。筋肉をコラーゲン処理した後、骨格筋筋芽細胞を約4週間かけて培養した。目標細胞数に到達後、骨格筋筋芽細胞を手術日まで凍結保存した。計4回培地交換を行ったが、無菌検査で細菌およびエンドトキシンは検出されなかった。

細胞移植：

細胞移植は、全身麻酔下に、腸骨から骨髄液約300mlを採取し、その後、骨髄単核球細胞を単離した。骨髄液採取後、胸骨正中切開を行い、心拍動下に、前壁、側壁に計30箇所、骨格筋筋芽細胞、骨髄単核球細胞、それぞれ 3×10^8 個、 3×10^7 個を移植した。

術後検査成績：

心臓超音波検査では、細胞移植領域に一致して、拡張能の改善がみられた(Fig. 1)。また、脳性ナトリウム

利尿ペプチド(brain natriuretic peptide: BNP)は、細胞移植後から低下傾向を示した(Fig. 2)。また、水PET試験では、細胞移植後の血流改善像を認めた(Fig. 3)。剖検所見では、血管数の増加傾向、心筋線維化の減少、心筋細胞径の縮小がみられた(Table 1)。細胞移植後、骨格筋筋芽細胞移植による致死性不整脈は検出されなかった。

考 察

重症虚血性心筋症患者に対する骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞移植において、血管新生、心機能改善効果がみられた。しかしながら、敗血症にて失い、LVAS離脱までに至らなかった。しかし、BNPの減少、左室拡張能の改善がみられたことは、骨格筋筋芽細胞移植により梗塞壁の壁心力が増し、さらに、血管新生により梗塞壁周辺部の虚血状態にある心筋細胞が救命された結果、心筋細胞径の縮小や心筋線維化の減少といった左室リモデリングの抑制に起因していると考えられる。

LVAS離脱まで至らなかった原因としては、本症例のように広範な心筋梗塞による障害心には、血管新生を起こすだけでなく、心筋細胞あるいはそれを代用するような十分な細胞の生着が必要と思われる。われわれは、そのために骨格筋筋芽細胞を用いたが、LVAS

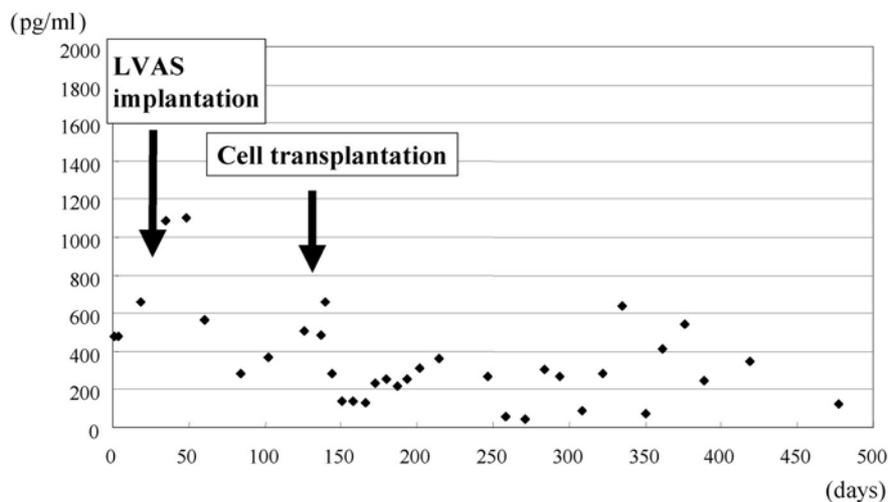


Figure 2 The value of BNP is shown before and after cell transplantation. BNP had a tendency to decrease after cell transplantation

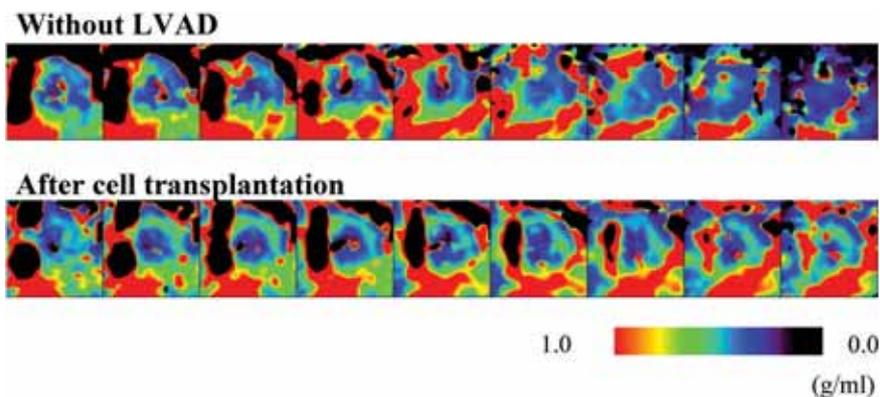


Figure 3 Vessel flow imaging is shown before and after cell transplantation by H₂O PET.

Table 1 Effects of cell therapy on vascular density, % fibrosis, and cellular hypertrophy

| | Before cell transplantation | Autopsy | p |
|--------------------------------------|-----------------------------|-------------|------|
| Vascular density (/mm ²) | 52.8 ± 22.1 | 40.5 ± 18.7 | 0.06 |
| % fibrosis (%) | 3.8 ± 1.1 | 3.1 ± 1.3 | 0.04 |
| Cell diameter (μm) | 20.5 ± 5.4 | 18.8 ± 3.9 | 0.04 |

Data are shown as mean ± SD

を離脱するまでの心機能には改善しなかった。骨格筋筋芽細胞は、その移植により心機能が改善したという報告があるが、これらの報告では、LVASを要するほどの重症例ではなかった^{1,2)}。

一方、骨髄単核球細胞は、*in vitro*では、心筋細胞へ

の分化が示されているが、本症例のような広範な心筋梗塞患者には、移植細胞のごく一部が心筋細胞に分化したとしても、LVASの離脱は難しい³⁾。本症例では、移植部における心筋細胞の分化は確認していないが、LVASを離脱できるほどの分化はなかったと考えられ

る。しかし、血管数の増加が確認でき、この結果、梗塞周辺部の虚血状態にある心筋細胞は救命できた可能性があると考えられる。

今後これらの細胞がいかにして十分生着するかを追求していく必要がある。移植細胞の脱落には、移植時の細胞ロスと移植細胞の拒絶、虚血による脱落が報告されている⁴⁾。移植時の細胞ロスに関しては、さまざまな工夫がなされているが、われわれは、骨格筋筋芽細胞を細胞シート化することで、針による移植より、細胞ロスが少なく、有効な心機能改善がみられることを報告してきた⁵⁻⁸⁾。また、自己細胞であるため拒絶は起こらないが、虚血に対しては、血管新生因子を同時に注入したり、本症例のように血管内皮細胞に分化する細胞の同時移植、transmyocardial laser revascularization (TMLR) などの血管新生を促すような手技の併用が考えられる^{9,10)}。

まとめ

今回、重症虚血性心筋症に対する骨格筋筋芽細胞および骨髄単核球細胞移植を行った症例を呈示した。LVAS離脱の前に敗血症にて失ったものの、心拡張能改善、血流改善、BNP減少といった細胞移植の効果を認めた。今後、さらなる臨床経験を積んだうえで、その効果の可否を検討していくことが急務である。

文 献

- 1) Memon IA, Sawa Y, Miyagawa S et al: Combined autologous cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts and bone marrow cells in canine hearts for ischemic cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, **130**: 646-653.
- 2) Menasche P, Hagege AA, Scorsin M et al: Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*, 2001, **357**: 279-280.
- 3) Fukuda K, Yuasa S: Stem cells as a source of regenerative cardiomyocytes. *Circ Res*, 2006, **98**: 1002-1013.
- 4) Teng CJ, Luo J, Chiu RC et al: Massive mechanical loss of microspheres with direct intramyocardial injection in the beating heart: implications for cellular cardiomyoplasty. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006, **132**: 628-632.
- 5) Memon IA, Sawa Y, Fukushima N et al: Repair of impaired myocardium by means of implantation of engineered autologous myoblast sheets. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, **130**: 1333-1341.
- 6) Miyagawa S, Sawa Y, Sakakida S et al: Tissue cardiomyoplasty using bioengineered contractile cardiomyocyte sheets to repair damaged myocardium: their integration with recipient myocardium. *Transplantation*, 2005, **80**: 1586-1595.
- 7) Kondoh H, Sawa Y, Miyagawa S et al: Longer preservation of cardiac performance by sheet-shaped myoblast implantation in dilated cardiomyopathic hamsters. *Cardiovasc Res*, 2006, **69**: 466-475.
- 8) Hata H, Matsumiya G, Miyagawa S et al: Grafted skeletal myoblast sheets attenuate myocardial remodeling in pacing-induced canine heart failure model. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006, **132**: 918-924.
- 9) Yau TM, Kim C, Ng D et al: Increasing transplanted cell survival with cell-based angiogenic gene therapy. *Ann Thorac Surg*, 2005, **80**: 1779-1786.
- 10) Horvath KA, Chiu E, Maun DC et al: Up-regulation of vascular endothelial growth factor mRNA and angiogenesis after transmyocardial laser revascularization. *Ann Thorac Surg*, 1999, **68**: 825-829.

Combined Autologous Cellular Cardiomyoplasty with Skeletal Myoblasts and Bone Marrow Cells for Severe Ischemic Cardiomyopathy

Shinya Fukui, Goro Matsumiya, Shigeru Miyagawa, and Yoshiki Sawa

Division of Cardiovascular Surgery, Department of Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

Key words: ischemic cardiomyopathy, skeletal myoblast, bone marrow nuclear cell

We transplanted autologous skeletal myoblasts and bone marrow nuclear cells to a 53-year-old man with severe ischemic cardiomyopathy requiring a ventricular assist device. The follow-up examinations showed a remarkable decrease in BNP, an increase in the left ventricular ejection fraction, an improvement in regional diastolic function, and an increased perfusion in the cell transplanted area. However, this patient died at 466 days after surgery of bacterial sepsis. At necropsy, angiogenesis were detected in the treated heart. Furthermore, left ventricular remodeling was attenuated due to fibrosis and cellular hypertrophy. (J Jpn Coll Angiol, 2007, **47**: 247–251)