

平成27年度

再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業

(再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発)

事業報告書

事業名	再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業 (再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発)
研究開発課題名	重症心不全
研究開発担当者 所属 役職 氏名	大阪大学医学部附属病院 心臓血管外科 教授 澤 芳樹

## 目次

1. 事業の目的	P. 3
2. 実施内容及び結果	P. 3
3. 評価手法等の開発・製造工程合理化のための検討内容	P. 14
4. まとめ	P. 15

## 1. 事業の目的

心不全の生命予後は悪く、最終的な治療手段である心臓移植におけるドナー不足を勘案すると、重症心不全に対する心筋再生治療法の研究開発は急務である。我々は、自家骨格筋芽細胞シート移植によって拡張型心筋症患者での左室補助人工心臓 LVAD 離脱成功例を世界で初めて報告した。この結果から、大阪大学では、拡張型心筋症に対する医師主導治験の準備を進め、また、大阪大学の共同研究先であるテルモは虚血性重症心不全での治験を終了して昨年承認申請まで進めている。さらに大阪大学では、より重度な心不全を治療するために、京都大学 CiRA と連携して iPS 細胞由来心筋細胞シートの研究開発を進めている。本研究開発の課題は、重症心不全の臨床的有効性指標が世界的に未定であること、また、iPS 細胞に関しては、その治験に必要な GLP 基準下での非臨床評価手法が定まっていないことにある。

このような問題点を解決するために、本事業においては、ヒト細胞加工製品（自家骨格筋芽細胞シートと iPS 細胞由来心筋細胞シート）について評価基盤技術の開発を行う。i) 重症心不全の新しい臨床評価指標となる Japan Heart Failure Model を完成させる。ii) 生物由来原料基準に則した薬剤による分化誘導法を開発する。また、iii) 新しい心不全評価手法の開発を行い、同手法を医師主導型治験のプロトコールに設定する。さらに、薬事戦略相談を行いながらこれらの指標の標準化を目的とする。

## 2. 実施内容及び結果

### 2-1. Respiratory stability index (RSI) の測定と各種心不全パラメーターとの相関

心不全患者に対して、呼吸様式の変動から測定する Respiratory stability index (RSI) の測定を行い、同時に、心機能、MIBG による交感神経活性を検証した。RSI の測定値は BNP、肺動脈楔入圧と有意に負の相関を示し、左室収縮率と有意な正の相関を示した。また、MIBG シンチのパラメータである early HMR、late HMR は RSI と有意な正の相関を示すと同時に、尿中カテコラミンは、RSI と有意な正の相関を認めた。また筋芽細胞シートを施行した 5 例中 4 例において、術後 RSI の改善を認めた。

上記の結果により RSI は心不全重症度を示す重要な因子であると同時に、同因子は筋芽細胞シート移植により改善する可能性があることが示唆された。

RSI は単なる心不全の重症度を評価するパラメータだけではなく、自宅で測定器を備え付け、簡易に測定しうる因子であり、心不全が日常の生活で緩和されているか、心不全重症度をリアルワールドで測定できるツールであると考えられた。

本項目は、心不全の重症度を的確に評価できる可能性があり、臨床研究、治験のエンドポイントになりうる可能性が示唆された。

### 2-2. 患者情報収集のための症例選定とデータ収集

慢性重症心不全患者における新しい臨床評価指標としての予後予測式構築に向けた患者情報を収集するための症例選定ならびに該当症例からのデータ収集を行った。

症例選定は、まず大阪大学学内の重症心不全コホートとして、2008 年 4 月から 2012 年 10 月に大阪大学医学部附属病院の心臓移植検討会にて検討した症例 158 例、および 2008 年から 2012 年の阪大にて施行した左室駆出率 40%以下の CABG 施行症例 67 例を選定した。前者の心臓移植検討会での検討症例は最重症で心臓移植の優先順位が最も高い Status1 が 44 例、次に優先順位が高い Status2 が 24 例、何らか

の理由で適応外となった90例という内訳であった。

また、症例選定の第2段階として、疾患レジストリーおよび研究分担機関からの症例選定およびデータ収集を行った(図1)。疾患レジストリーとして、大阪大学を中心とした全国26施設の多施設共同心臓血管外科手術症例レジストリーであるOSCARレジストリー(Osaka Cardiovascular Surgery Research)ならびに大阪地区25施設が参加する急性心筋梗塞レジストリーであるOACISレジストリーを選定しそこから左室駆出率40%以下の症例(213症例)を選定しデータ収集を実施した。

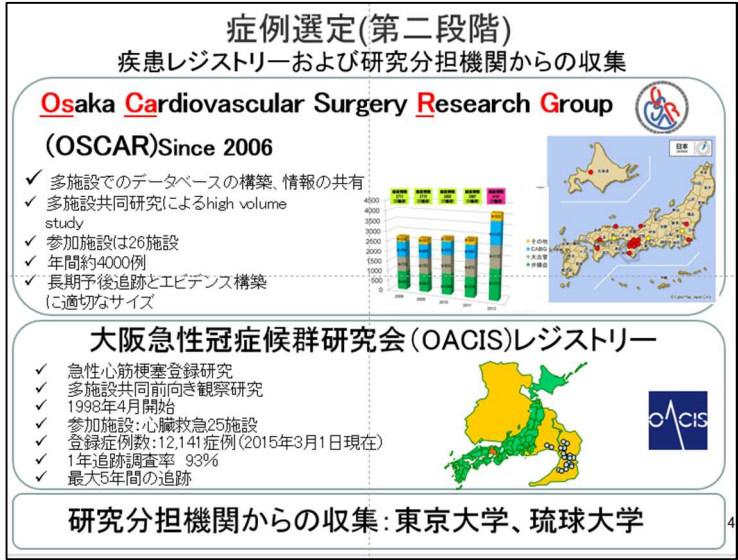


図1

さらに、研究分担機関である東京大学(250例)、琉球大学(534例)においても心不全患者の選定データ、データ収集を実施した。

合計すると、本年度において、997症例のデータ収集を実施した。

データ収集項目は155項目であり、被験者背景、既往歴、家族歴、各種検査所見、治療内容、予後情報などである。

データ収集項目の決定に当たっては、まずは約700項目に及ぶ広範囲のデータ項目を設定し、大阪大学における60症例でパイロット的にデータ収集を実施、そのデータを北里大学にて

解析して予後と関連しそうな因子として155項目を抽出するというプロセスで決定した。

2-3. 生物由来原料基準に則した薬剤による分化誘導法の開発

iPS細胞から心筋細胞への分化誘導に用いる原材料のうち、リコンビナント蛋白(ActivinA、BMP-4、bFGF、VEGF)は全て生物由来原材料基準に対応していないため、生物由来原材料基準に適合した原材料への置換が必要である(Table1)。

Table1. 心筋分化誘導に使用する原材料(従来品)

試薬名	材料としての用途	製造者	カタログ番号
Activin A	分化誘導成長因子	R and D systems	338-AC
BMP-4	分化誘導成長因子	R and D systems	314-BP
bFGF	分化誘導成長因子	R and D systems	233-FB
VEGF	分化誘導成長因子	R and D systems	293-VE
Wnt Inhibitor IWP3	分化誘導低分子	STEMGENT	04-0035
SB431542	分化誘導低分子	SIGMA-Aldrich	S4317-5MG
Dorsomorphin	分化誘導低分子	SIGMA-Aldrich	P5499-25MG

生物由来原料基準への対応が必要

生物由来原料を含まない

全てのリコンビナントタンパク(ActivinA、BMP-4、bFGF、VEGF)について、生物由来原材料基準に適合した原材料への置換を検討した。

ActivinA は、R&D 社の生物由来原材料に適合した別の製品に置換することができた。BMP-4 については、生物由来原材料適合製品での置換が困難なため、用いる原材料のウイルス安全性を確保する方策（ウイルス試験、ウイルスクリアランス）を検討する予定である。

#### 2-4. 日本人における重症心不全の生命予後予測モデル（Japan Heart Failure Model）の作成

2-4-1. 大阪大学により集積された 1,013 例の重症心不全患者データを用いて、日本人における重症心不全の生命予後予測モデル（Japan Heart Failure Model）の作成を行った。予測モデルの作成にあたり、評価指標を「死亡のみ」とする場合と、「死亡または LVAD 移植」とする場合の 2 つのパターンの予後予測モデル構築を行った。

作成した生命予後予測モデルに、203 例の独立データを当てはめ、予測モデルのバリデーションを実施し、Seattle Heart Failure Model との予測精度の比較検証を行った。

#### 2-4-2. Japan Heart Failure Model 構築の解析対象データ

生命予後予測モデルの作成には、平成 28 年 3 月 1 日までに大阪大学で集積された 1,013 例の重症心不全患者を用いた。1,013 例のうち 2 名は最終追跡日が欠測していたため、予測モデル構築の解析対象は 1,011 例とした。これらの患者データのうち、候補となるリスク因子は 424 種類であった。図 1、図 2 には、予測モデル構築に用いた 1,011 例について、エンドポイントを死亡のみとした場合と、エンドポイントを死亡または LVAD 移植とする場合それぞれの Kaplan-Meier 曲線を示す。

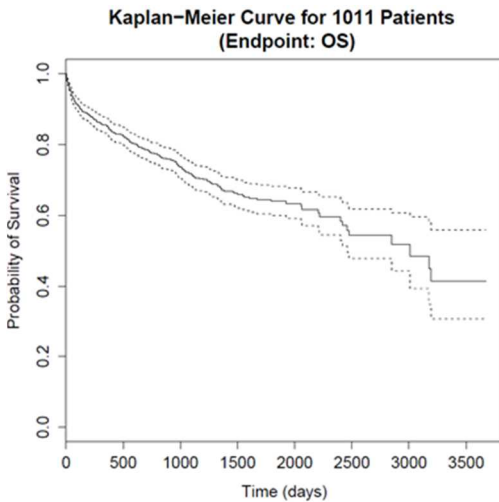


図 2-4-1. Japan Heart Failure Model の構築対象 1,011 例の Kaplan-Meier 曲線（エンドポイント：死亡のみ）

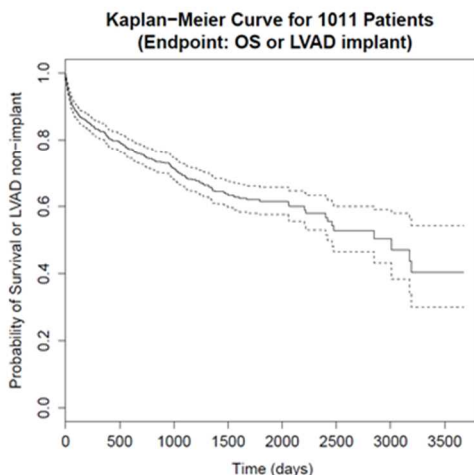


図 2-4-2. Japan Heart Failure Model の構築対象 1,011 例の Kaplan-Meier 曲線（エンドポイント：死亡または LVAD 移植）

### 2-4-3. Japan Heart Failure Model 構築の手順

予測モデルに組み込むリスク因子の候補 424 種類について、Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析を行い、算出された p 値が 0.05 以下となるリスク因子を抽出した。これらの統計的に有意となったリスク因子のうち、観測確率が 80%以上のリスク因子を予測モデルに組み込む候補となるリスク因子とした。以上より抽出されたリスク因子を、表 1-1、1-2 に示す。

モデル構築に用いたデータへの過適合を防ぐために抽出されたリスク因子の中から、7~20 変数の組み合わせの予測モデルを構築し、Cox 比例ハザードモデルの多変量解析を行った。これらの変数の組み合わせは総当り法で作成された。ただし、肥満と BMI など臨床的に明らかな共線性が認められる組み合わせは候補モデルから除外した。リスク因子数別に、Cross validated 5-year ROC-AUC (C 統計量) が最大となるモデルを候補モデルとした。Cross validation 回数は 100 回とした。

このとき、Cross validated 5-year ROC-AUC は欠測データを含まないデータセット (Complete case) より算出される。同一なデータセットで Cross validated 5-year ROC-AUC を比較するために、結果の項目には、上記手順により候補となったモデルに使用された全てのリスク因子の Complete case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC、欠測データをリスク因子と応答変数を用いて多重補完 (補完回数 50 回) を行った 1,011 例のデータから Cross validated 5-year ROC-AUC を示す。

表 1-1. Cox 単変量解析の結果 p 値が 0.05 以下となり、観測確率が 80%以上のリスク因子（エンドポイント：死亡のみ） 【全 34 種類】

リスク因子	N	NA's	Mean	SD	Median	25%	75%	Min	Max
年齢	1011	9	63.2	15.8	66.0	54.0	75.0	15.0	100.0
身長	1011	11	161.8	9.5	162.7	155.7	168.6	133.0	191.5
体重	1011	9	61.2	14.4	59.8	51.7	68.5	29.4	187.0
肥満	1011	15	1.3					1.0	2.0
BMI	1011	15	23.2	4.4	22.8	20.2	25.6	11.9	60.4
BSA	1011	15	1.6	0.2	1.6	1.5	1.8	1.1	2.8
強心薬点滴歴	1011	135	1.2					1.0	2.0
RVAD	1011	85	1.0					1.0	2.0
心不全再発再入院回数	1011	70	2.4	2.3	2.0	1.0	3.0	1.0	18.0
入院緊急性	1011	14	1.3					1.0	18.0
心移植登録	1011	33	2.8	0.6	3.0	3.0	3.0	1.0	3.0
腎機能障害の既往	1011	8	1.3					1.0	2.0
脳血管障害の既往	1011	67	1.3	0.7	1.0	1.0	1.0	1.0	3.0
以前の心臓手術の既往	1011	9	1.1					1.0	2.0
既往歴その他	1011	70	1.7					1.0	2.0
糖尿病	1011	3	1.6					1.0	2.0
慢性透析	1011	9	1.1					1.0	2.0
クレアチニン値	1011	2	1.8	2.2	1.1	0.8	1.6	0.0	16.4
肺炎	1011	75	1.1					1.0	2.0
特殊合併疾患_肝硬変(Child B以上)	1011	0	0.0					0.0	1.0
Alb	1011	103	3.9	9.3	3.7	3.3	4.0	0.6	283.0
NYHA	1011	89	2.5	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	4.0
静注強心薬	1011	156	1.1					1.0	2.0
LVEF	1011	26	28.4	8.6	30.0	22.0	35.0	1.0	71.0
Ht	1011	12	38.1	7.0	38.4	33.6	42.8	3.0	94.8
Hb	1011	8	12.9	4.9	12.7	11.0	14.2	5.5	113.0
ALP	1011	200	267.2	119.0	246.0	195.5	313.0	14.0	1176.0
BUN	1011	25	27.3	18.0	21.2	16.0	33.0	5.0	174.0
Na	1011	33	137.5	7.3	138.0	136.0	141.0	4.3	151.0
サイアザイド利尿薬	1011	13	1.1					1.0	2.0
経口強心薬	1011	13	1.2					1.0	2.0
抗アルドステロン薬	1011	0	0.4					0.0	1.0
ループ利尿薬投与量	1011	2	21.7	30.2	10.0	0.0	40.0	0.0	240.0

表 1-2. Cox 単変量解析の結果 p 値が 0.05 以下となり、観測確率が 80%以上のリスク因子  
(エンドポイント：死亡または LVAD 移植) 【全 40 種類】

リスク因子	N	NA's	Mean	SD	Median	25%	75%	Min	Max
年齢	1011	9	63.2	15.8	66.0	54.0	75.0	15.0	100.0
身長	1011	11	161.8	9.5	162.7	155.7	168.6	133.0	191.5
体重	1011	9	61.2	14.4	59.8	51.7	68.5	29.4	187.0
肥満	1011	15	1.3						
BMI	1011	15	23.2	4.4	22.8	20.2	25.6	11.9	60.4
BSA	1011	15	1.6	0.2	1.6	1.5	1.8	1.1	2.8
ペースメーカー等の植込みの有無	1011	7	1.5	1.2	1.0	1.0	1.0	1.0	5.0
強心薬点滴歴	1011	135	1.2						
RVAD	1011	85	1.0						
心不全再発再入院回数	1011	70	2.4	2.3	2.0	1.0	3.0	1.0	18.0
入院緊急性	1011	14	1.3						
心移植登録	1011	33	2.8	0.6	3.0	3.0	3.0	1.0	3.0
腎機能障害の既往	1011	8	1.3						
脳血管障害の既往	1011	67	1.3	0.7	1.0	1.0	1.0	1.0	3.0
以前の心臓手術の既往	1011	9	1.1						
既往歴その他	1011	70	1.7						
慢性透析	1011	9	1.1						
クレアチニン値	1011	2	1.8	2.2	1.1	0.8	1.6	0.0	16.4
肺炎	1011	75	1.1						
特殊合併疾患_ベーチェット	1011	0	0.0						
Alb	1011	103	3.9	9.3	3.7	3.3	4.0	0.6	283.0
NYHA	1011	89	2.5	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	4.0
ペーシング	1011	118	1.1						
機械的循環補助_なし	1011	20	0.2						
機械的循環補助_IABP	1011	20	0.0						
静注強心薬	1011	156	1.1						
LVEF	1011	26	28.4	8.6	30.0	22.0	35.0	1.0	71.0
Ht	1011	12	38.1	7.0	38.4	33.6	42.8	3.0	94.8
Hb	1011	8	12.9	4.9	12.7	11.0	14.2	5.5	113.0
ALT	1011	32	42.5	95.5	21.0	14.0	35.5	2.0	1420.0
GTP	1011	197	76.4	102.2	44.0	24.0	87.8	8.0	1039.0
ALP	1011	200	267.2	119.0	246.0	195.5	313.0	14.0	1176.0
BUN	1011	25	27.3	18.0	21.2	16.0	33.0	5.0	174.0
Na	1011	33	137.5	7.3	138.0	136.0	141.0	4.3	151.0
ループ利尿薬	1011	14	1.5						
サイアザイド利尿薬	1011	13	1.1						
経口強心薬	1011	13	1.2						
抗不整脈薬	1011	13	1.1						
ループ利尿薬投与量	1011	2	21.7	30.2	10.0	0.0	40.0	0.0	240.0

#### 2-4-4. 結果

7~20 種の共変量の組み合わせから、リスク因子数別に 5-year ROC-AUC が最大となった予測モデルを候補モデルとした。2つのエンドポイントの場合で、それぞれ 14 種ずつの候補モデルが構築された。表 2-1、2-2 それぞれに、エンドポイントが死亡のみの場合、エンドポイントが死亡または LVAD 移植の場合に候補モデルとなった、リスク因子の数と種類、リスク因子ごとの Complete Case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (\*1)、候補となったモデルに使用された全てのリスク因子の Complete case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (\*2)、多重補完により算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC(\*3) に示す。



表 2-1. Japan Heart Failure Model の候補モデル (エンドポイント: 死亡のみ)

リスク因子数	リスク因子	Cross validated 5-year ROC-AUC (*1) (95% 信頼区間)	Cross validated 5-year ROC-AUC (*2) (95% 信頼区間)	Cross validated 5-year ROC-AUC (*3)
7	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往	<b>0.759</b> (0.720 - 0.799)	<b>0.776</b> (0.735 - 0.818)	<b>0.722</b>
8	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, ALP, BUN	<b>0.768</b> (0.728 - 0.809)	<b>0.771</b> (0.727 - 0.816)	<b>0.724</b>
9	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN	<b>0.777</b> (0.738 - 0.816)	<b>0.781</b> (0.738 - 0.824)	<b>0.728</b>
10	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, Alb	<b>0.781</b> (0.741 - 0.822)	<b>0.782</b> (0.739 - 0.826)	<b>0.728</b>
11	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病	<b>0.787</b> (0.749 - 0.824)	<b>0.785</b> (0.744 - 0.826)	<b>0.735</b>
12	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, 経口強心薬	<b>0.789</b> (0.750 - 0.828)	<b>0.787</b> (0.744 - 0.830)	<b>0.737</b>
13	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬	<b>0.791</b> (0.748 - 0.834)	<b>0.788</b> (0.746 - 0.831)	<b>0.738</b>
14	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性	<b>0.794</b> (0.751 - 0.838)	<b>0.791</b> (0.747 - 0.835)	<b>0.738</b>
15	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, サイアザイド利尿薬	<b>0.795</b> (0.752 - 0.837)	<b>0.792</b> (0.747 - 0.838)	<b>0.738</b>
16	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, サイアザイド利尿薬, 経口強心薬	<b>0.797</b> (0.752 - 0.841)	<b>0.793</b> (0.748 - 0.839)	<b>0.740</b>
17	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, 経口強心薬, ループ利尿薬投与量, 体重	<b>0.800</b> (0.756 - 0.843)	<b>0.800</b> (0.753 - 0.847)	<b>0.741</b>
18	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, 経口強心薬, ループ利尿薬投与量, 体重, サイアザイド利尿薬	<b>0.801</b> (0.757 - 0.844)	<b>0.801</b> (0.756 - 0.846)	<b>0.741</b>
19	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, 経口強心薬, ループ利尿薬投与量, 体重, サイアザイド利尿薬, Na	<b>0.801</b> (0.757 - 0.845)	<b>0.801</b> (0.756 - 0.847)	<b>0.740</b>
20	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, ALP, BUN, 以前の心臓手術の既往, 糖尿病, Alb, 抗アルドステロン薬, 入院緊急性, 経口強心薬, ループ利尿薬投与量, 体重, サイアザイド利尿薬, Na, 肺炎	<b>0.801</b> (0.759 - 0.843)	<b>0.801</b> (0.755 - 0.847)	<b>0.740</b>

(\*1) リスク因子ごとの Complete Case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC

(\*2) 候補となったモデルに使用された全リスク因子の Complete case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (n=601)

(\*3) 多重補完(補完回数 50 回)により算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (n=1,011)

表 2-2. Japan Heart Failure Model の候補モデル (エンドポイント:死亡または LVAD 移植)

リスク因子数	リスク因子	Cross validated 5-year ROC-AUC (*1) (95% 信頼区間)	Cross validated 5-year ROC-AUC (*2) (95% 信頼区間)	Cross validated 5-year ROC-AUC (*3)
7	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往	<b>0.749</b> (0.715 - 0.784)	<b>0.768</b> (0.723 - 0.814)	<b>0.712</b>
8	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP	<b>0.758</b> (0.722 - 0.795)	<b>0.771</b> (0.725 - 0.818)	<b>0.713</b>
9	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP	<b>0.771</b> (0.729 - 0.813)	<b>0.777</b> (0.733 - 0.822)	<b>0.714</b>
10	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN	<b>0.779</b> (0.739 - 0.820)	<b>0.784</b> (0.740 - 0.828)	<b>0.717</b>
11	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録	<b>0.784</b> (0.741 - 0.828)	<b>0.790</b> (0.748 - 0.833)	<b>0.726</b>
12	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往	<b>0.790</b> (0.748 - 0.832)	<b>0.790</b> (0.748 - 0.833)	<b>0.733</b>
13	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, サイアザイド利尿薬	<b>0.791</b> (0.750 - 0.832)	<b>0.790</b> (0.746 - 0.835)	<b>0.733</b>
14	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, 身長	<b>0.793</b> (0.751 - 0.835)	<b>0.792</b> (0.749 - 0.836)	<b>0.733</b>
15	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, ベースメーカー等の植込みの有無	<b>0.794</b> (0.752 - 0.836)	<b>0.795</b> (0.750 - 0.840)	<b>0.733</b>
16	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, 肥満, ALT	<b>0.796</b> (0.752 - 0.841)	<b>0.795</b> (0.751 - 0.840)	<b>0.734</b>
17	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, ALT, ベースメーカー等の植込みの有無, 身長	<b>0.797</b> (0.752 - 0.842)	<b>0.795</b> (0.754 - 0.840)	<b>0.734</b>
18	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, ALT, ベースメーカー等の植込みの有無, 肥満, クレアチニン値	<b>0.800</b> (0.753 - 0.847)	<b>0.799</b> (0.754 - 0.844)	<b>0.734</b>
19	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, ALT, ベースメーカー等の植込みの有無, 肥満, クレアチニン値, Ht	<b>0.800</b> (0.756 - 0.844)	<b>0.800</b> (0.758 - 0.842)	<b>0.734</b>
20	NYHA, LVEF, 年齢, 腎機能障害の既往, 強心薬点滴歴, Hb, 脳血管障害の既往, GTP, ALP, BUN, 心移植登録, 以前の心臓手術の既往, ループ利尿薬, ベーシング, ALT, ベースメーカー等の植込みの有無, 肥満, クレアチニン値, Ht, Na	<b>0.800</b> (0.755 - 0.844)	<b>0.800</b> (0.755 - 0.845)	<b>0.734</b>

(\*1) リスク因子ごとの Complete Case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC

(\*2) 候補となったモデルに使用された全リスク因子の Complete case から算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (n=499)

(\*3) 多重補完(補完回数 50 回)により算出された Cross-validated 5-year ROC-AUC (n=1,011)

#### 2-4-5. Japan Heart Failure Model のバリデーション

平成 28 年 3 月 17 日までに大阪大学により集積された 203 例の重症心不全患者 (Japan Heart Failure Model 構築用の 1,011 例とは異なる) データを、構築された 7~20 共変量の Japan Heart Failure Model の候補モデルのバリデーションに用いた。

上記 203 症例について、Japan Heart Failure Model の候補モデル（7～20 共変量モデル）を当てはめた場合、実際に観測された 1 年、3 年、5 年生存確率と各モデルから予測された 1 年、3 年、5 年生存確率の Calibration plot の描画を行った（図 2-1、2-2）。また、各モデルの Calibration plot の相関係数、5-year ROC-AUC を算出し、表 3-1、3-2 に示す。

Seattle Heart Failure Model についても同じ 203 症例を用いて同様の解析を行い、Japan Heart Failure Model との予測性能の比較を行った。

図 2-1. 実際に観測された生存確率とモデルから予測された生存確率の Calibration plot (エンドポイント: 死亡のみ) ※SHFM: Seattle Heart Failure Model

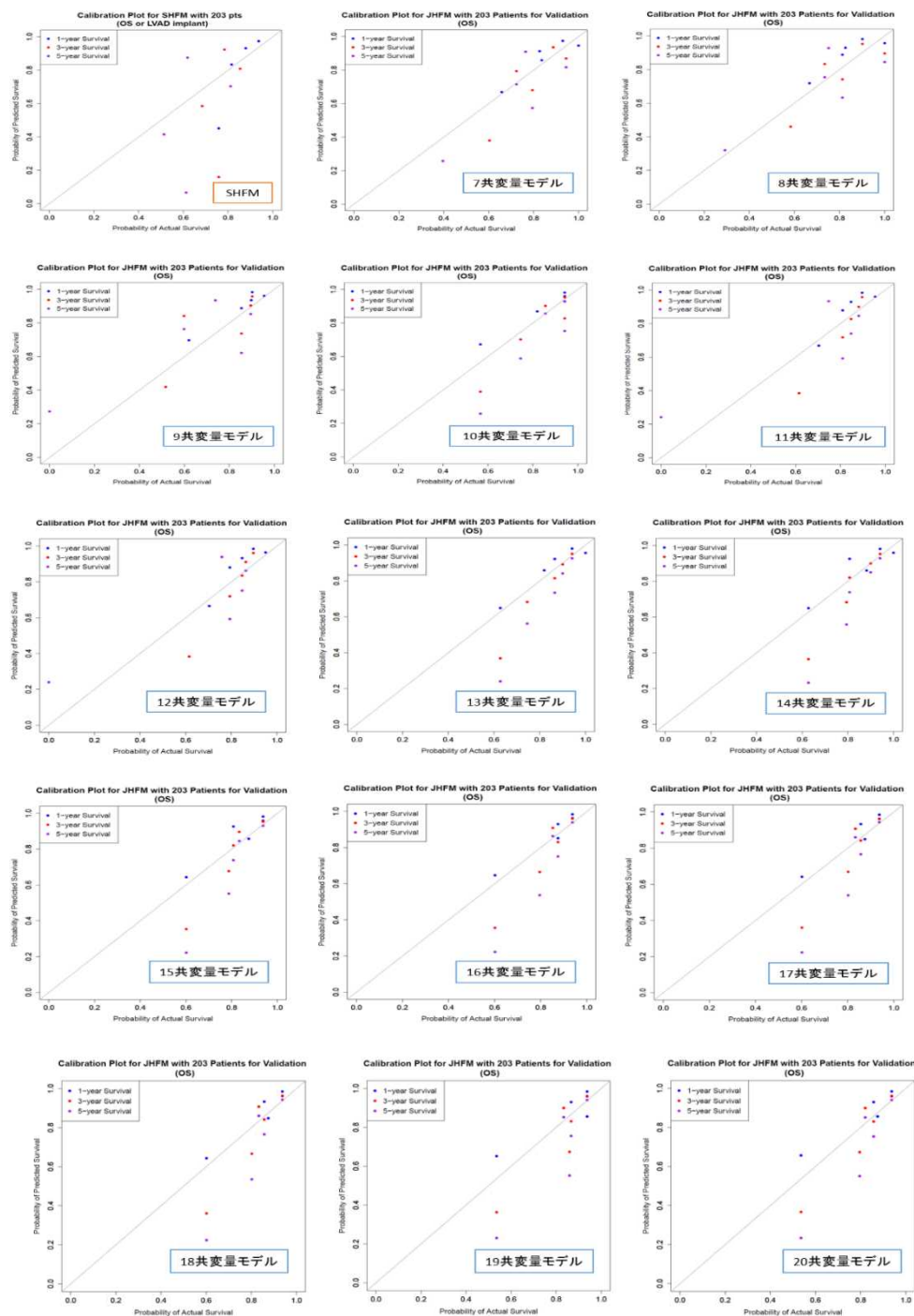
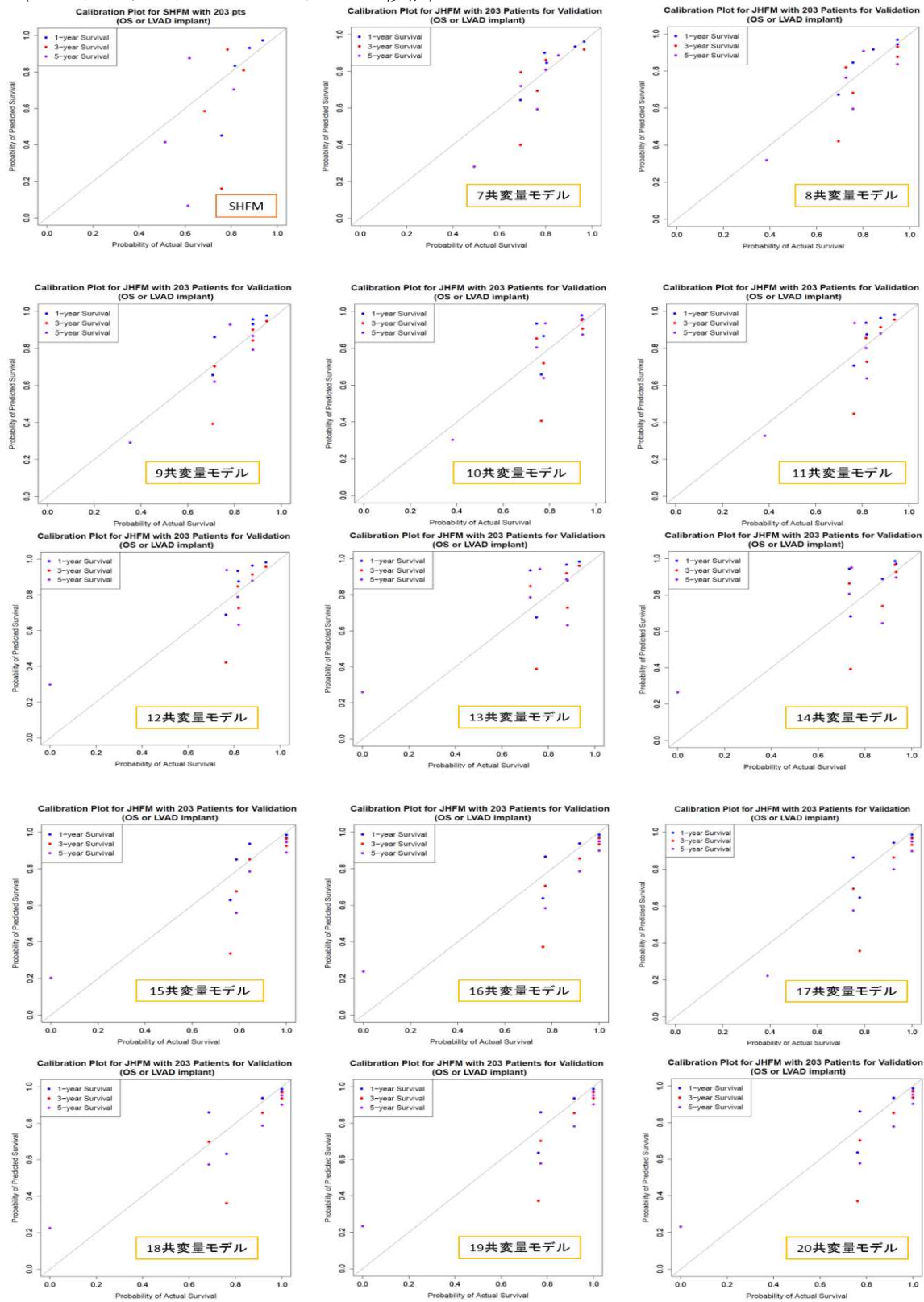


表 3-1. 相関係数と 5-year ROC-AUC (エンドポイント：死亡のみ)

モデル	相関係数			5-year ROC-AUC
	1-year Survival	3-year Survival	5-year Survival	
SHFM	-	-	-	-
7 共変量	0.918	0.870	0.830	0.658
8 共変量	0.887	0.861	0.829	0.649
9 共変量	0.975	0.743	0.832	0.650
10 共変量	0.988	0.946	0.941	0.754
11 共変量	0.921	0.994	0.860	0.626
12 共変量	0.915	0.996	0.872	0.630
13 共変量	0.962	0.985	0.993	0.731
14 共変量	0.903	0.977	0.980	0.724
15 共変量	0.936	0.964	0.963	0.728
16 共変量	0.974	0.975	0.964	0.713
17 共変量	0.964	0.962	0.951	0.722
18 共変量	0.963	0.961	0.949	0.721
19 共変量	0.920	0.918	0.894	0.744
20 共変量	0.966	0.957	0.944	0.743

※ SHFM: Seattle Heart Failure Model

図 2-2. 実際に観測された生存確率とモデルから予測された生存確率の Calibration plot (エンドポイント：死亡またはLVAD移植)



※ SHFM: Seattle Heart Failure Model

表 3-2. 相関係数と 5-year ROC-AUC (エンドポイント：死亡または LVAD 移植)

モデル	相関係数			5-year ROC-AUC
	1-year Survival	3-year Survival	5-year Survival	
SHFM	0.899	0.401	0.374	0.585
7 共変量	0.892	0.673	0.931	0.645
8 共変量	0.916	0.778	0.886	0.646
9 共変量	0.838	0.756	0.925	0.609
10 共変量	0.584	0.627	0.888	0.596
11 共変量	0.834	0.857	0.858	0.579
12 共変量	0.833	0.860	0.881	0.571
13 共変量	0.550	0.559	0.856	0.560
14 共変量	0.634	0.644	0.860	0.595
15 共変量	0.797	0.839	0.952	0.809
16 共変量	0.832	0.880	0.960	0.822
17 共変量	0.783	0.831	0.993	0.842
18 共変量	0.711	0.770	0.977	0.841
19 共変量	0.843	0.886	0.956	0.841
20 共変量	0.842	0.885	0.957	0.836

※ SHFM: Seattle Heart Failure Model

#### 2-4-6. 統計解析結果の総括

今回、Japan Heart Failure Model のエンドポイントとしては、死亡のみの場合と、死亡または LVAD 移植の場合の 2 つが考慮された。一方で、Seattle Heart Failure Model では、エンドポイントと死亡または LVAD 移植または心臓移植と定義されている。今後、どちらのエンドポイントのモデルを採用すべきかについては、重症心不全患者に対する臨床的重要度によって選択されると考えられる。

日本人重症心不全患者 1,011 症例を用いた Japan Heart Failure Model の候補モデルとして、各エンドポイントの場合について、リスク因子数の異なる 14 種類が挙げられた。予測モデルの構築に用いられたデータとは異なる、203 症例の患者データを用いてバリデーションを行った結果、各候補モデルにおいて、観測された生存確率と予測生存確率の相関は高い場合が多く、5-year ROC-AUC についても Seattle Heart Failure Model よりも大きな値をとるモデルが多かった。しかし 203 例はバリデーションデータとしては多くないため、推定値のばらつきは大きいことが予想される。今後、更なる外部データによるバリデーションを要することが示唆される。

### 3. 評価手法等の開発・製造工程合理化のための検討内容

#### 3-1. 心不全の重症度を示す因子としての RSI のポテンシャル

RSI は心不全重症度を示す重要な因子であると同時に、同因子は筋芽細胞シート移植により改善する可能性があることが示唆された。RSI は単なる心不全の重症度を評価するパラメータだけではなく、自宅で測定器を備え付け、簡易に測定しうる因子であり、心不全が日常の生活で緩和されているか、心不全重症度をリアルワールドで測定できるツールであると考えられた。

本項目は、心不全の重症度を的確に評価できる可能性があり、臨床研究、治験のエンドポイントになりうる可能性が示唆された。今後 PMDA での事前面談、対面助言を受ける計画である。



### 3-2. 生物由来原料基準非適合の薬剤について

生物由来原料について、PMDA と事前面談、対面助言を行い、BMP-4 以外の培養用試薬、分化誘導試薬については、生物由来原料基準に適合していることが認められた。

生物由来原料基準に適合していない BMP-4 については、一連のウイルス否定試験を行うこと、さらにその後ウイルス不活化を行うことも必要とされた。これについては、不活化に適切なガンマ線の照射強度を決めるウイルスクリアランス試験を H27 年度中に実施した。

## 4. まとめ

重症心不全患者に対する新しい評価指標として、呼吸様式の変動から測定する Respiratory stability index (RSI) の測定を行い、同時に、心機能、MIBG による交感神経活性を検証した。RSI の測定値は BNP、肺動脈楔入圧と有意に負の相関を示し、左室収縮率と有意な正の相関を示し、さらに MIBG シンチのパラメータである early HMR、late HMR は RSI と有意な正の相関を示すことにより、RSI は心不全の重症度を評価する上で有用なパラメータであり、臨床研究及び治験のエンドポイントになりうることを示された。本測定法は、自宅で測定器を備え付け、簡易に測定しうる因子であり、心不全が日常生活で緩和されているかを live で測定できる。来院が身体的負担となる重症心不全患者、あるいは医療過疎の地域においても、リアルタイムのデータ収集が可能な本システムは、在宅・遠隔医療の普及に貢献しうるツールであり、今後の高齢化社会を見据えた応用性、市場性が期待できる。

これまで、心不全治療デバイス、もしくは薬剤の開発を行っていく上で、一番障害となっていたことは、心不全が癒されたことを証明する明確なパラメータがないために、適正な評価を受けずに、有効性がないとして、数多くの製品の開発、市販が中止されてきた点である。このような状況の中、真の心不全に対する有効性を検証するパラメータの開発が望まれていた。本プロジェクトで検証した心不全のエンドポイントは、心不全が治癒していることを明確に表現する、プラセボ効果のない指標であり、今後市場に出てくる製品の適格な有効性を評価することが可能であると考えている。このパラメータの発見により、これまで有効性があるにも関わらず、適格なパラメータが存在しないため、質の良い製品が市場に出てこない状況を是正するものと思われる。

再生医療等製品としてのアロ iPS 細胞由来心筋細胞シートの製造については、ほぼ臨床使用可能な原材料と製造工程、および安全性試験の項目がほぼ固まりつつあり、生物由来原料基準に適合しない試薬に対しても、対応の道筋が示された。このうち、リコンビナントタンパクの供給はほぼ国外の企業に依存しているが、今後、国内生産が可能となるならば、入手についての時間的、経費的ハードルが下げられると考えられる。

日本人の生命予後を予測しうる Japan Heart Failure Model は、関連するパラメータを選ぶことにより、正確に心不全患者の生命予後を予測しうることを示唆された。同モデルを使用することにより、筋芽細胞シート治療が心不全患者の生命予後を改善しうるかを検証できる可能性が示唆された。今後、本 model を使用することにより、筋芽細胞シートだけではなく、難治性疾患を対象とする製品において、単群で有効性が予測しうる可能性があり、オーファン対象の製品の開発、市販の加速化が起るものと思われる。