

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語) Research Project for Practical Application of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) グレリン徐放性心臓内幹細胞移植による小児拡張型心筋症に対するハイブリッド再生医療の臨床研究
(英語) Ghrelin-mediated hybrid cardiac progenitor cell therapy to treat the patients with pediatric dilated cardiomyopathy

研究開発担当者 (日本語) 王 英正
所属 役職 氏名： (英語) Okayama University Hospital, Professor, Hidemasa Oh

実施期間： 平成 28 年 11 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 小児拡張型心筋症に対するハイブリッド細胞治療の臨床研究の実施
開発課題名： (英語) Hybrid stem cell therapy for pediatric dilated cardiomyopathy

研究開発分担者 (日本語) 大月 審一
所属 役職 氏名： (英語) Okayama University Hospital, Professor, Shinichi Ohtsuki

II. 成果の概要

拡張型心筋症に対する代替医療法は確立されていない。本研究では、これまで岡山大学病院で実施してきた心臓内幹細胞単自家移植法の第 1/2 相臨床研究 (TICAP 試験及び PERSEUS 試験) の実施経験を踏まえ、拡張型心筋症モデルに対する冠動脈注入法による心臓内幹細胞移植の非臨床研究を実施することで非臨床 proof-of-concept (POC) を確立し、小児拡張型心筋症疾患への革新的な心筋再生医療法を創出する。

非臨床 POC 取得として、拡張型心筋症を疑似化した大型動物モデルの構築に取り組み、以下の 3 つアプローチで拡張型心筋症ブタモデルを作成した。(1) ドキソルビシンの冠動脈内注入法による心不全モデル、(2) 心室持続ペーシングによる頻脈性心不全モデル、(3) マイクロ粒子の冠動脈注入法による微小血管塞栓モデル。上記 3 つのモデル構築法において、(3) の微小粒子用いた末梢血管塞栓法が最も安定的にモデルを作成でき、心臓内幹細胞移植の安全性・有効性に関する検討実験として用いた。

直径 10 micron の微小塞栓子を 3 本の冠動脈内に注入し、3 週間目に微小循環塞栓による全周性の壁運動低下モデル (心駆出率 50%以下) が構築された。本動物モデルはドキソルビシン注入モデルや心室ペーシングモデルに見られたような急激な心機能低下やペーシング停止による自然な機能改善を伴うことなく安定したモデル作成ができた。冠動脈内への細胞注入に伴う催不整脈、虚血の誘発や血圧の低下等の有害事象はいずれも一過性で細胞注入終了後速やかに回復した。一般薬理・安全性試験を検証し、*in vitro* 及び *in vivo* での毒性試験を実施した。注入した細胞における全身分布と造腫瘍作用についても病理組織学的検討により詳細に解析した。また、治療有効性の検討については、移植細胞数の容量依存性に機能改善と認め、体重あたりの至適注入細胞数を決定した。

上記の拡張型心筋症モデルを用いた非臨床 POC のデータを踏まえ、小児拡張型心筋症症例に対する冠動脈内注入法による細胞治療法の第 1 相臨床研究に関する実施計画書をプロトコル作成委員会開いて策定し、特定認定再生医療等委員会に実施承認申請を行なった。合計 3 回にわたる集中審議の末、平成 29 年 3 月に実施承認を受け、同月に中国四国厚生局長に提供計画書を提出した。

平成 29 年度より 18 歳未満でかつ心駆出率が 40%以下の拡張型心筋症を適応症例とする細胞治療の第 1 相臨床研究(TICAP-DCM 試験)を実施するにあたり、岡山大学病院及び関連病院からなる実施体制を構築し、臨床研究担当医の教育訓練や実地指導も完了している。今後、本第 1 相臨床研究終了後に開始予定の医師主導臨床治験に向けて、企業との交渉を進めている。

Although the preclinical studies of dilated cardiomyopathy (DCM) have been conducted to elucidate the therapeutic efficacy of somatic stem/progenitor cells by using genetically manipulated or chemically induced cardiomyopathy models in small animal experiments, limited efforts have been made to conduct preclinical proof-of-concept (POC) studies in large animals. Based on our initial results of first-in-human clinical studies with cardiac progenitor cell (CPC) infusion, including TICAP phase 1 and PERSEUS phase 2 trials in 48 patients with single ventricle physiology, this research proposal aims to determine whether intracoronary infusion of CPCs may be feasible, safe, and effective in a pig model of DCM as a preclinical POC study. The goal of this research is to conduct the first phase 1 clinical trial (TICAP-DCM study) followed by physician-led clinical phase 2 trial to evaluate the procedural safety and therapeutic efficacy of CPC infusion, leading to this manufactured CPCs to be approved by pharmaceutical affairs to treat the patients with DCM.

We generated 3 types of DCM animal models in pigs as follows: (1), anthracycline-induced cardiomyopathy; (2), tachycardia-induced heart failure model by persistent cardiac-pacing; (3) microembolization of distal coronary blood flow by intracoronary injection of micro beads. Our results have shown that the microembolization was the most reproducible approach to apply in nonclinical safety studies. We have verified the following issues related to CPCs in response to specific regulatory or statutory requirements needed to proceed to phase 1 clinical study. (1) biodistribution information, (2) mechanisms of action, (3) pharmacokinetics, (4) pharmacological effects, (5) single-dose toxicity, (6) general toxicity/genotoxicity *in vitro* and *in vivo*, (7) local tolerance, (8) dose-escalation study. The most of the data were obtained from Good Laboratory Practice-complaint facility.

Following these critical steps in preclinical research, the phase 1 clinical trial (TICAP-DCM study) to treat the patients with pediatric DCM by intracoronary infusion of CPCs was planned and finalized for ethical committee approval. The study design is to register 31 patients with DCM, aged under 18 years old. The cardiac function before enrollment must be under 40% estimated by ejection fraction using echocardiogram. This study composed of 2 phases that include phase 1a to evaluated procedural safety followed by phase 1b to determine the preliminary efficacy of the protocol intervention.

The trial implementation system in Okayama University Hospital was sufficiently established to recruit the eligible participants. The primary education for study investigators with respect to CPC manufacturing and validation was completed. Industry-sponsored CPC manufacturing and sale trader, as a general practice, are under negotiation.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4 件、国際誌 3 件）

1. **Oh H.** Cell Therapy Trials in Congenital Heart Disease *Circ Res.* 2017;120:1353-1366.
2. Ishigami S, Ohtsuki S, Eitoku T, Ousaka D, Kondo M, Kurita Y, Hirai K, Fukushima Y, Baba K, Goto T, Horio N, Kobayashi J, Kuroko Y, Kotani Y, Arai S, Iwasaki T, Sato S, Kasahara S, Sano S, **Oh H.** Intracoronary Cardiac Progenitors in Single Ventricle Physiology: The PERSEUS Randomized Phase 2 Trial. *Circ Res.* 2017;120:1162-1173.
3. **Oh H,** Ito H, Sano S. Challenges to success in heart failure: Cardiac cell therapy to treat patients with heart disease. *Journal of Cardiology*, 2016;68:361-367.
4. 佐野俊和、大月審一、佐野俊二、**王 英正** 心臓内幹細胞による心不全疾患の治療 *BIO Clinica* 31(10)29-33 北隆館
5. 平井健太、大月審一、佐野俊二、**王 英正** 心臓内幹細胞を用いた心臓再生医療 *心臓* Vol 48(12):1334-1339 株式会社日本医学出版
6. 石神修大、大月審一、笠原真悟、佐野俊二、**王 英正** 先天性心疾患に対する心筋再生医療 *Heart View* メディカルビュー社 5:547-551, 2017
7. 石神修大、大月審一、笠原真悟、佐野俊二、**王 英正** 体性幹細胞を用いた心臓再生医療の最前線 *臨床医薬*33巻4号 臨床医薬研究協会 2017

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

シンポジウム

1. **王 英正** 先天性心疾患における心筋再生医療の実用化研究 第119回小児科学会シンポジウム 札幌 (5.13, 2016)
2. **Hidemasa Oh** Cardiac progenitor cell therapy for congenital heart diseases 3rd Munich Conference on Cardiac Development 1-3 June, 2016, Munich
3. **Hidemasa Oh** Cell Therapy Trials in Congenital Heart Disease. Pediatric Heart Disease Symposium. 20 Jan., 2017, San Francisco.

海外学会発表

1. Takuya Goto, Shuta Ishigami, Daiki Ousaka, Takahashi Sho, Hirai Kenta, Shingo Kasahara, Shunji Sano, **Hidemasa Oh** Single chamber circulation enhances cell engraftment after intravenous delivery of cardiac progenitor cells in rat models of univentricular heart disease *European Society of Cardiology* (29. Aug, 2016) Rome.
2. Daiki Ousaka, Takuya Goto, Shuta Ishigami, Shinichi Ohtsuki, Shingo Kasahara, Shunji Sano, **Hidemasa Oh** Cardiac progenitor cell therapy in right heart failure with preserved ejection fraction **Best Poster Award, European Society of Cardiology** (29. Aug, 2016) Rome.
3. Daiki Ousaka, Takuya Goto, Shuta Ishigami, Shinichi Ohtsuki, Shingo Kasahara, Shunji Sano, **Hidemasa Oh** Cardiac Progenitor Cell Therapy In Right Heart Failure With Preserved Ejection Fraction *American Heart Association*. (Nov. 13, 2016). New Orleans.

国内学会発表

1. 逢坂 大樹、後藤 拓弥、石神 修大、大月 審一、笠原 真悟、佐野 俊二、王 英正
HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction)における心臓内幹細胞移植の治療効果
と機序解明 日本小児循環器学会 (6 Jul, 2016) 東京
2. 後藤 拓弥、逢坂 大樹、石神 修大、高橋 生、平井 健太、王 英正 単心室循環の血行動
態に着目した経静脈的幹細胞投与による心筋再生医療の新たな可能性 日本小児循環器学会 (6
Jul, 2016) 東京
3. 石神修大、後藤拓弥、逢坂大樹、大月審一、笠原真悟、佐野俊二、王 英正 小児単心室症に対
する心筋再生医療における治療反応予測因子の検討と5年間に及ぶ長期追跡調査報告 **会長賞**
日本小児循環器学会 (6 Jul, 2016) 東京
4. 逢坂 大樹、後藤 拓弥、石神 修大、大月 審一、笠原 真悟、佐野 俊二、王 英正
HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction)に対する心臓内幹細胞移植の有効性
第81回 日本循環器学会総会学術集会 *Circulation Journal* (17, 3, 2016) 金沢
5. 後藤 拓弥、逢坂 大樹、石神 修大、高橋 生、平井 健太、王 英正 Single chamber
circulation enhances cell engraftment after intravenous delivery of cardiac progenitor cells in
piglet models of univentricular heart disease 第81回 日本循環器学会総会学術集会
Circulation Journal (17, 3, 2016) 金沢
6. 後藤 拓弥、逢坂 大樹、石神 修大、高橋 生、平井 健太、王 英正 単心室循環の血行動
態に着目した心臓内幹細胞静脈投与療法 日本再生医療学会 (7, March, 2017) 仙台
7. 逢坂 大樹、後藤 拓弥、石神 修大、高橋 生、平井 健太、王 英正 HFpEF (heart
failure with preserved ejection fraction)における心臓内幹細胞移植の治療効果と機序解明 日
本再生医療学会 (7, March, 2017) 仙台

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 王 英正 革新的医療技術創出プロジェクト 先駆け審査制度での成功事例 自家心臓内幹細胞
/小児心不全に対する心筋再生医療法の企業主導多施設共同臨床治験 3, Mar, 2017, 東京

(4) 特許出願

1. Pluripotent stem cell derived from cardiac tissue
EP2295541 (欧州特許 Hidemasa Oh (2016/4/27))