



Title	Improvement of Cardiac Stem Cell-Sheet Therapy for Chronic Ischemic Injury by Adding Endothelial Progenitor Cell Transplantation : Analysis of Layer-Specific Regional Cardiac Function
Author(s)	Kamata, Sokichi
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26296">https://hdl.handle.net/11094/26296</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

[論文題名: Thesis Title]

Improvement of Cardiac Stem Cell-Sheet Therapy for Chronic Ischemic Injury by Adding Endothelial Progenitor Cell Transplantation: Analysis of Layer-Specific Regional Cardiac Function  
(虚血性心筋症に対する心筋幹細胞シート及び血管内皮前駆細胞併用療法の有用性の検討: 心筋層別機能解析)

専攻名 : 外科系臨床医学  
Division

学位申請者 : 鎌田 創吉  
Name

[目的(Purpose)]

近年心筋梗塞後の不全心に対しさまざまな細胞治療が行われ、心臓幹細胞は自家移植が可能な上、心筋・血管系への直接分化が期待できるポテンシャルの高い細胞源と考えられる。我々は細胞シート工学を駆使したC-kit陽性心筋幹細胞シートを開発し、すでに血管新生・線維化抑制効果が誘導され、不全心の機能的改善を促がされることを報告した。しかし移植細胞の生着率、心筋・血管系細胞への分化効率が乏しいことも確認しており、より効率的なデリバリー法の探求が必要と考えられる。そこで、血管内皮前駆細胞の心筋内投与を併用することで、虚血状態に陥った細胞シートと宿主心筋との間に血管網が形成され、治療効果が増強することを仮説とした。本研究の目的は、虚血性心筋症モデル豚を用いて心筋幹細胞シート移植および血管内皮前駆細胞併用療法の治療効果を心臓生理学的・病理組織学的・分子生物学的手法を用いて包括的に評価することである。また生体心臓は、Epicardium・Endocardium・Contractile myocardiumの3層で構成され、それぞれ心筋パフォーマンスや生物学的特性が異なることが知られており、今回細胞移植の治療効果を心筋層別に解析した。

[方法(Methods)]

ヒトC-kit陽性心筋幹細胞シートは右心房由来の心臓幹細胞をC-kitにてFACSソーティング後、温度感応性培養皿(Up Cell, Inc)を用いて作成した。虚血性心筋症モデルブタは全身麻酔・左開胸下で左冠状動脈前下行枝近位にアメロイドリングを装着して作成した。心筋症モデル作成4週間後に、免疫抑制剤投与下で梗塞部位心外膜側への心筋幹細胞シート移植 ( $1 \times 10^8$  cells/pig) (CSC-only group)、血管内皮前駆細胞心筋内投与 ( $2.5 \times 10^6$  cells/pig) (EPC-only group)、心筋幹細胞シート・血管内皮前駆細胞併用投与(CSC-EPC group)、Sham手術 (Sham group) (各群n=6) を実施した。移植8週間後に治療効果を判定、ストレインエコー解析を用いて梗塞部位での局所心機能を心筋層別(外膜側・内膜側)に定量評価(Radial strain (RS) (%))した。

[成績(Results)]

ストレインエコーを用いた前壁梗塞領域での局所心機能評価上、心筋幹細胞シート単独群では心外膜側のみで機能的改善が認められた(心外膜側RS: Sham,  $7 \pm 1$ ; CSC-only,  $19 \pm 5$ ; CSC-EPC,  $20 \pm 5$  %;  $P < 0.001$  for CSC-EPC and CSC-only vs. sham)。一方、心筋幹細胞シート+血管内皮前駆細胞併用では全層性に局所収縮能の改善が認められた(心内膜側RS: Sham,  $9 \pm 1$ ; CSC-only,  $11 \pm 1$ ; CSC-EPC,  $15 \pm 1$  %;  $P < 0.001$  for CSC-EPC vs. CSC-only and sham)。本所見に一致して、心筋幹細胞シート単独群では心外膜側での血管新生効果・線維化抑制効果(心外膜側Capillary density: Sham,  $112 \pm 23$ ; CSC-only,  $257 \pm 43$ ; CSC-EPC,  $251 \pm 84$  /mm<sup>2</sup>;  $P = 0.001$  for CSC-EPC and CSC-only vs. sham)、心筋幹細胞シート+血管内皮前駆細胞併用では全層性に同効果が認められた(心内膜側Capillary density: Sham,  $74 \pm 38$ ; CSC-only,  $108 \pm 30$ ; CSC-EPC,  $269 \pm 11$  /mm<sup>2</sup>;  $P < 0.001$  for CSC-EPC vs. CSC-only and sham)。移植21日目の病理組織学的検討では、心筋幹細胞シート単独群では移植心筋幹細胞が心外膜側に限局していたのに対し、血管内皮前駆細胞併用群では全層性の局在を認め、より効果的な障害心筋への移行が確認された。移植8週後のFISH法を用いた移植細胞の心筋・血管系への分化の検討では、移植細胞の直接的分化は認められず、本治療効果はパラクラインを介した血管新生・線維化抑制が主と考えられた。

[総括(Conclusion)]

心筋幹細胞シート及び血管内皮前駆細胞併用療法は虚血性心筋症モデルブタにおいてパラクラインを介した血管新生・線維化抑制効果を有し、貫壁性の機能的改善を誘導した。本治療法はヒト虚血性心筋症において有効な治療法となる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 鎌田 創吉	
論文審査担当者	<p style="text-align: center;">(職) 氏名</p> <p style="text-align: center;">主査大阪大学教授 澤 芳子</p> <p style="text-align: center;">副査大阪大学教授 藤野 裕士</p> <p style="text-align: center;">副査大阪大学教授 藤野 裕士</p>
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>本検討では虚血性心筋症モデルブタ作成4週間後、Sham群、心筋幹細胞シート単独群、血管内前駆細胞単独群、併用群の計4群にわけて細胞移植を実施、8週間後に治療効果の判定を行った。心筋幹細胞シートは心外膜上、血管内皮前駆細胞は心筋内と異なる心筋層への細胞移植を実施しているが、一方で生体心臓は、Epicardium・Endocardium・Contractile myocardiumの3層で構成され、それぞれ心筋パフォーマンスや生物学的特性が異なることが知られている。したがって細胞移植後の効果を心筋層別に評価することは重要と考えられ、本検討ではストレインエコー解析を行った。本検討のような心筋層別評価を実施した研究は極めて稀であり、学位に値すると考える。心筋幹細胞シート単独治療では移植心筋幹細胞は心外膜側に限局しており、心外膜側のみで血管新生・線維化抑制を介した局所心機能改善効果が認められた。一方で血管内皮前駆細胞移植を併用することにより心筋幹細胞のより効果的な障害心筋への移行が確認され、全層性に局所心機能改善効果が認められた。これまで血管内皮前駆細胞の心筋幹細胞に対する作用の報告はほとんどなく、本研究において血管内皮前駆細胞移植が心筋幹細胞の心筋・血管系への分化に寄与しないが、心筋幹細胞の生着または遊走に寄与し、それらを介して心筋幹細胞移植の治療効果を増強することを明らかにした。したがってそのような観点においても本研究は意義があると考えられる。</p>	