OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	The Improvement Effect of Cardiac Function of the Novel Peptide SVVYGLR-Secreting Myoblast Sheets on Cardiac Failure
Author(s)	内仲, 彩子
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34303
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論　文　内　容　の　要　旨

〔　題　　名　〕

The Improvement Effect of Cardiac Function of the Novel Peptide SVVYGLR-Secreting Myoblast Sheets on cardiac failure

（SVVYGLRペプチド分泌性筋芽細胞シート移植の心不全に対する心機能改善効果）

学位申請者　　内仲　彩子

重症心不全は根本的な治療法がなく、予後不良な疾患であることから、新規治療が求められており、失われた心筋細胞を補充することにより心機能を回復させる心筋再生医療が期待されてきた。その中で、自己の骨格筋由来の筋芽細胞を用いたシート治療は既に臨床応用も行われており、その有用性が示されてきたが、長期間にわたる十分な治療効果の持続が得られていない。移植細胞を高機能化させることは、長期成績を向上させ、治療効果を高めるために重要である。そこで、私たちは、これまでの自己筋芽細胞シート移植の成果を踏まえ，移植細胞へ遺伝子導入を行い、機能分子を付与することにより長期成績を向上させ，治療効果を高める方法を考えた。本研究では血管新生促進作用を持つオステオポンチン由来の7つのアミノ酸から構成されたペプチドSer-Val-Val-Tyr-Gly-Leu-Arg; SVVYGLR(SVペプチド)に着目し、SVペプチドを分泌する機能を付与した機能性筋芽細胞シートを作製し、虚血性心筋症モデルラットを用いてその長期治療効果を検討した。左冠状動脈前下行枝を結紮することで作成した心筋梗塞モデルラットに対して、結紮二週間後に再開胸し、梗塞部位にSVペプチドを産生･分泌する筋芽細胞シート(SV-rSkM)を移植し、従来の筋芽細胞シート(WT-rSkM)、再開胸したのみのコントロールと比較検討した。移植後、組織学的変化の検討、transforming growth factor-β (TGF-β)/Smadシグナル系を介したSVのsmooth muscle actin (SMA)発現の検討を行った。

SVペプチドを産生・分泌する機能を付与した筋芽細胞シート移植では、心エコーによる心機能評価でこれまでの筋芽細胞シート移植でみられていた心機能改善効果の漸減も認められず、より持続的な治療効果を示した。さらに梗塞境界部の虚血心筋組織に対する血管新生誘導だけでなく、梗塞領域にSMA陽性筋線維芽細胞の集積が観察された。また、SVの効果のメカニズムをin vitro で検討したところ、SVを添加した心線維芽細胞においてSMAの発現増加が認められた。さらにSVペプチドはTGF-β type2受容体に結合し、その下流のTGF-β type1 受容体やSmad2、Smad3のリン酸化を引き起こした。このことよりSVペプチドはTGF-β/Smadシグナルを介して心筋組織中の線維芽細胞を収縮性を有する筋線維芽細胞へ分化を誘導したと考えられる。以上の結果よりSV分泌性筋芽細胞シート移植は長期的な心機能改善効果を示し、そのメカニズムとして移植早期には筋芽細胞シート移植によるパラクライン作用、後期にはSVペプチドによる血管新生作用や筋線維芽細胞への分化誘導が働いたと示唆される。また、本研究の結果よりSVペプチドを用いることで、筋細胞の移植を行うことなく、梗塞領域に筋肉様細胞を誘導することができたことから、今後、SVペプチドの心臓移植までのブッリジとしてや、心筋再生治療への臨床応用が期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　内仲　彩子　）

	(職)	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授	松浦　成昭
	副 査　教授	中谷　敏
	副 査　教授	木原　進士

論文審査の結果の要旨

虚血性心疾患などに起因する心不全患者が増加してるが、薬物療法が困難になった重症心不全患者には心移植しか根治的な治療は残されておらず、移植を受けるまでの期間に人工心臓で待機しながら、ドナーの出るのを待っているのが現状である。しかし、世界的にドナーが不足しているので、心移植に代わる治療法として心筋の再生医療に期待が集まってきた。心筋を再生することは容易ではないので、自己の骨格筋に由来する筋芽細胞を取り出しシート状にして移植を行う方法が数年前から臨床応用されるようになり有効例も出ており。期待が高まっているが、長期的な治療効果は不十分であり、さらなる改善が求められている。そこで、これまでの自己筋芽細胞シート移植の成果を踏まえ、移植細胞自身へ機能付加を施すことにより長期成績を向上させ、治療効果を高める方法として、アポトーシス抑制因子や増殖因子を用いた研究等が行われてきた。しかしながら、これらに用いられている増殖因子や血管新生因子は分子量が大きく、感染症や副作用の問題も懸念されている。一方、ペプチドはこれらの因子と比較して分子量が小さく代謝されやすいため，抗原性の点から副作用が少なく，デザインが簡便で高効率な合成法や検定法が確立しているという利点がある。本研究では血管新生促進作用を有しているオステオポンチン由来のペプチド
Ser-Val-Val-Tyr-Gry-Leu-Arg; SVVYGLR (SV)の分泌能を付与した筋芽細胞シートを作製、移植し、心不全モデルに対する心機能改善効果を検討した。その結果、SVペプチド分泌性筋芽細胞シート移植は、心エコーによる心機能評価で有意かつ持続的な心機能の改善が見られ、組織学的検討でリモデリングの抑制が認められた。さらに免疫組織学的に検討した所、梗塞領域に筋線維芽細胞の集積が観察された。SVの効果のメカニズムをin vitroで検討したところSVを添加した心線維芽細胞は平滑筋様の形質の獲得が認められるとともに、SVのTGF-β受容体への結合およびその下流のTGF-β/Smadシグナルが活性化が見られた。以上の結果より、SV分泌性筋芽細胞シート移植は長期的な心機能改善効果を示し、そのメカニズムとしてSVによるTGF-β/Smadシグナルを介した心線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化誘導が考えられた。今後、SV分泌性筋芽細胞シートの臨床応用が期待されるとともに、SVペプチドの導入方法、移植媒体を検討することにより新たなSVペプチドの心筋における再生医療分野への利用も考えられる。
以上の結果より本論文は、博士(保健学)を授与するに値するものと認める。