The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Myocardial Regeneration Therapy for Heart Failure : Hepatocyte Growth Factor Enhances the Effect of Cellular Cardiomyoplasty
Author(s)	宮川, 繁
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43712
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【92】

氏　　名	宮川　繁（みやかわ しげる）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16889　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Myocardial Regeneration Therapy for Heart Failure: Hepatocyte Growth Factor Enhances the Effect of Cellular Cardiomyoplasty （肝細胞増殖因子 HGF の遺伝子導入と心筋細胞移植による重症心不全における心筋再生効果）
論文審査委員	（主査） 教授　松田　暉 （副査） 教授　中村　敏一　　教授　荻原　俊男

論文内容の要旨

【目的】

重症心不全に対する現状の治療法としては、補助人工心臓や、心臓移植などの置換型治療であり、これまでその有用性が報告されてきたが、現段階では前者はその耐久性や合併症に、後者はドナーの確保や免疫抑制剤等の種々の解決すべき問題がある。

一方、このような重症心不全に対し、遺伝子工学や細胞組織工学、再生医学等を応用した再生型治療が新しい治療法として注目されている。特に、「細胞移植法」の研究の発展は目覚しく、移植した心筋細胞、非心筋細胞の不全心への生着、及び機能向上が数多く報告され、今後様々な心不全を呈する疾患に対する効果的な治療法となることが期待されている。しかし、細胞移植法においては、アポトーシス、拒絶による移植細胞の脱落、移植細胞の生着環境、移植細胞への血液供給の問題等により、減少した心筋細胞を補填しても、臨床応用が可能なほどの不全心の再生及び機能回復は不可能であると思われる。

HGF（hepatocyte growth factor；肝細胞増殖因子）は、培養肝細胞に対する増殖促進活性を指標に発見・単離およびクローニングされた蛋白であるが、肝細胞のみならず、c-Met/HGF レセプターを発現した多くの細胞に対して、抗アポトーシス効果、血管新生、抗線維化効果、及び細胞－細胞間接着蛋白強発現など多才な生物活性を発揮することが知られており、細胞移植法に併用した場合に、その効果を向上させうることが期待される。

本研究においては、ラット心筋梗塞モデルを用いて、HGF の遺伝子導入法を心筋細胞移植に併用することによる不全心の組織再生及び機能回復の可能性を検討した。

【方法】

1）ラット心筋梗塞モデルへの心筋細胞移植と HGF 遺伝子導入による心機能解析

Lewis rat 300g の左前下行枝を ligation し、梗塞モデルを作成した。新生仔 Lewis rat 心筋細胞を単離し、心筋細胞1×10^6個を0.2ml の serum-freeDMEM に混入した。梗塞モデル作成 2 週後 scar に心筋細胞溶液を注入した群（n=11、T-群）、心筋細胞溶液に hHGFcDNA を含む HVJ-liposome 0.2ml を注入した群（n=10、T-H 群）、hHGFcDNA を含む HVJ-liposome を注入した群（n=10、H群）、無治療のコントロール群（n=13、C群）を作成した。梗塞モデル作成 2 週後、心筋細胞移植後 4、8 週目に、心臓超音波にて、左室駆出率（LVEF）、左室短縮率（FS）、左室収縮末期断面積（LVESA）、左室前壁厚を測定した。移植心筋細胞への血液供給の指標として、コント

ラストエコーを行った。

2）ラット心筋梗塞モデルへの心筋細胞移植とHGF遺伝子導入による組織解析

処置後8週に、HE染色、マツリン－トリクローム染色を行った。また、血管新生を評価するために、FactorⅧ免疫染色を行った。移植細胞－移植細胞間及び移植細胞－細胞外マトリックス間の接着蛋白を評価するために、α、β-dystroglycan、β1-integrin、laminin免疫染色を行った。

【成績】

処置4、8週後、心エコー検査を行ったところ、T-H群におけるLVEF、およびFSは、他の3つの群と比較して有意な改善を示した。これらの機能改善は、移植後8週まで維持された。左室収縮末期断面積は、移植4週、8週後において、T-H群では他の群よりも有意に縮小した。移植の4週後、左室前壁は、T-H群では有意に増加し、移植後8週まで維持された。コントラストエコーにおいて、T-H群についての時間－強度曲線は、ピークを伴った山型の曲線を示し、梗塞巣における血液灌流が良好であった。他方、H群、T群およびC群は、平坦な時間－強度曲線を示し、血液灌流は不良であった。

T群およびT-H群において、移植心筋細胞は、梗塞巣に層状に生着した。左室前壁は、T-H群において顕著な増大を認めた。さらに、T-H群において、移植した心筋細胞は、著明に重合したサルコメアを形成した。移植細胞の周囲に発達した血管新生を認めた。マッソン－トリクローム染色法により、非梗塞領域での線維化率は、他の群と比較して、T-H群において有意に減少した。移植の8週後、T-H群において、心筋細胞表面にてβ1-integrinおよびβ-dystroglycanは強く濃染された。T群では、β1-integrinおよびβ-dystroglycanの発現を認めたが、T-H群と比較して、発現は顕著に弱く、そして、H群およびC群においては、発現を認めなかった。α-dystroglycanおよびlaminin の発現は、T-H群において、基底膜に強い濃染性を認めた。T群においては、極めて弱い発現を認めた。H群およびコントロール群において染色性を認めなかった。

血管密度は、T-H群において、他の群と比較して有意に高値であった。

【総括】

1．心筋細胞移植にHGF遺伝子導入を併用することにより、心収縮及び拡張機能の改善、左室収縮末期断面積の減少、左室前壁厚の増大、梗塞巣の血流の増加を認めた。

2．心筋細胞移植にHGF遺伝子導入を併用することにより、血管新生の増幅、線維化の抑制、移植細胞間、移植細胞－細胞外マトリックス間の接着蛋白の発現増強を認めた。

3．以上よりHGF遺伝子導入と心筋細胞移植を併用することにより、心筋を再生しうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

細胞移植法は、今後様々な心不全を呈する疾患に対する効果的な治療法となることが期待されている。しかし、細胞移植法においては、アポトーシス、拒絶による移植細胞の脱落、移植細胞の生着環境、移植細胞への血液供給の問題等により、減少した心筋細胞を補填しても、臨床応用が可能なほどの不全心の再生及び機能回復は不可能であると思われる。

本論文では、抗アポトーシス効果、血管新生、抗線維化効果、及び細胞－細胞間接着蛋白強発現など多才な生物活性を発揮することが知られているHGF（肝細胞増殖因子）を、細胞移植法に併用した場合、著明な心機能の向上及び障害心の組織再生が起こることを報告している。

細胞移植法にHGFを併用した場合、血管新生、接着蛋白の発現が増強し、組織機能再生が起こったという報告は、この研究が初めてであり、新しい心不全治療法としての可能性を示唆するものとして非常に意義深く、学位に値するものと考える。