



Title	Layered Implantation of Myoblast Sheets Attenuates Adverse Cardiac Remodeling of the Infarcted Heart
Author(s)	関谷, 直純
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54134
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏名	関谷直純
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23344 号
学位授与年月日	平成21年9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臨床医学専攻
学位論文名	Layered Implantation of Myoblast Sheets Attenuates Adverse Cardiac Remodeling of the Infarcted Heart (重層化筋芽細胞シート移植による梗塞心リモデリング抑制効果の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 澤 芳樹 (副査) 教授 吉川 秀樹 教授 奥村明之進

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

虚血性心疾患に対する細胞治療はこれまで針による心筋注入が主流であったが、筋芽細胞を用いた最近の臨床試験では、不整脈等の副作用が報告されている。これまで我々は、針注入よりもより効果的な細胞移植法として、組織工学を用いた筋芽細胞シート移植の有効性について報告してきた。従来の研究では、2層の筋芽細胞シート移植の有効性を示したが、その移植枚数増加による増幅効果については未知である。そこで、本研究では梗塞心に対する筋芽細胞シート治療を最適化すべく、重層化移植によりその治療効果が用量依存性に増幅されるかについて検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

温度応答性培養皿 (UpCell™, CellSeed Inc.) (3.5cm dish) を用いて Lewis ラット由来の筋芽細胞を培養し、細胞シートを作成した (細胞数: 3.0×10^6 個/dish)。Lewis ラット (8週令) の心筋梗塞モデル60頭に対して、梗塞後2週間後に筋芽細胞シートを移植した。シートは梗塞巣の表面に1枚、3枚、5枚移植し、Sham手術を含め、4群 (それぞれS1, S3, S5, Sham群, 各n=15) を作成した。心機能はエコーやカテーテルにて移植前、4週後、8週後に評価し、組織学的評価は、左室前壁厚、線維化、血管新生、心筋細胞径、弾性繊維についてH.E.および免疫染色等を用いて行った。また、移植部位における増殖因子等のmRNA発現をリアルタイム RT-PCR法にて定量化した。成績は、エコーによる心機能評価において、S5およびS3群で左室駆出率 (LVEF) が他の2群に比して有意に改善し (4, 8週後)、特に4週後ではS5がS3群よりも有意に改善を示した。左室拡張末期面積 (LVEDA) では、S5がSham, S1群に比して有意に拡張が抑制された (4週後)。カテーテル評価による圧-容量曲線から算出される収縮末期圧容積関係値 (ESPVR) ではS3, S5群が他の2群に比して有意に高値を示した (8週後)。組織学的評価では、H.E.染色における左室前壁厚がS3, S5群が他の2群に比して高値を示し、シート3枚以上で有意な壁厚増加を認めた。梗塞部位の血管新生数 (Factor VIII染色) は、S3, S5群が他の2群に比して有意に高値を示し、Picro-Sirius Red染色から算出した非梗塞部の線維化率はS5群が最も抑制されていた。PAS染色による心筋細胞径の計測ではS3, S5群が他の2群に比して有意に拡大が抑制されていた。細胞シート移植部位の増殖因子の発現では、Hepatocyte growth factor (HGF),

Vascular endothelial growth factor (VEGF), Stromal-derived factor-1 (SDF-1) が移植枚数の増加に伴って用量依存的に増加した。HGFではS1, S3, S5群がSham群に比して有意に発現が増加し、SDF-1ではS5群がS1, Sham群に比して有意に発現が増加した ($p < 0.05$)。また、Masson's elastic染色において、S5, S3群の移植細胞シートおよび梗塞層に弾性繊維 (elastic fiber) の増生を認め、特にS5群では、シート移植部位におけるTropoelastin (elastinの前駆体) のmRNA発現が有意に増加していた (vs S1, Sham群, $p < 0.05$)。

〔 総 括 〕

梗塞心筋に対して、筋芽細胞シートの移植枚数を増加させることにより用量依存性に心収縮能の改善および心拡大の抑制が得られた。組織学的には、3枚以上の移植において血管新生、線維化抑制、心筋肥大抑制がみられ、増殖因子発現を伴った用量依存的な梗塞心のリモデリング抑制効果が証明された。さらに、移植部位のシートおよび心筋内に弾性繊維の増生がみられ、筋芽細胞シート移植によるリモデリング抑制効果の1つのメカニズムであると考えられた。以上により、3および5枚の筋芽細胞シート移植が梗塞心への治療として最適である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

審査論文は虚血性心疾患に対する細胞治療の効果を高めるべく、骨格筋筋芽細胞を細胞シート化しさらに重層化して心臓表面へ移植することの再生効果について検討したものである。ラットの心筋梗塞モデルを用いて筋芽細胞シートを1, 3, 5枚と重層化移植することで、3枚および5枚の移植群に有意な心機能改善、心拡大抑制、血管新生、線維化抑制、心筋肥大抑制、弾性繊維増生がみられた。また、肝細胞増殖因子 (HGF) などの増殖因子やエラスチンの遺伝子発現が移植枚数の増加に伴って用量依存的におこることが証明され、虚血心筋のリモデリングを抑制する効果がシート重層化により増幅されることが明らかとなった。

以上のように、本論文の成果は自己筋芽細胞を用いた細胞シート移植の最適化につながり、今後の心臓再生治療の指標となる業績と考えられ、学位の授与に値すると考えられる。