OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cardiomyoblast-like Cells Differentiated from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Improve Left Ventricular Dysfunction and Survival in a Rat Myocardial Infarction Model
Author(s)	大倉, 華雪
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54188
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

【129】

氏名	大倉華雪（おおくらはなゆき）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第　23698　号
学位授与年月日	平成22年3月23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	Cardiomyoblast-Like Cells Differentiated from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Improve Left Ventricular Dysfunction and Survival in a Rat Myocardial Infarction Model. （脂肪組織由来再生心筋芽様細胞の慢性心筋梗塞モデルラットに対する心機能改善効果に関する検討）
論文審査委員	（主査） 教授　澤　芳樹 （副査） 教授　小室　一成　　教授　下村伊一郎

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

本邦において、生活習慣の欧米化や急速な高齢化社会の進行に伴い虚血性心疾患やその終末像である心不全症の罹患率が増加しており、総死亡数に占める心疾患による死亡数は近年増加傾向にあり、その解決法の開発は喫緊の課題である。特に内科的治療に抵抗性の難治性心不全症においては補助型人工心臓の装着や心移植が現状では唯一残された治療法であるが、これらの治療法では合併症やドナー不足など種々の課題が多く、新規治療法の開発が希求されている。近年、これらの難治性心不全に対する新規治療法の一つとして再生医療が注目されており、当研究室では自己骨格筋芽細胞シート移植法を開発してきた。しかし、移植後骨格筋芽細胞は心筋細胞へと分化せず、中長期にわたって心機能向上を維持させるためには、心筋細胞へと分化する細胞源を用い、心筋を再生させることが肝要であると考えた。近年、間葉系幹細胞は心筋細胞へ分化する可能性があると報告されている。難治性重症心不全における再生医療の実現に向け、我々は間葉系組織の中でも採取が容易で低侵襲性であり、重症心不全を増悪させることなく採取可能である脂肪組織に着目、難治性心不全に対する再生医療で幹細胞供給源として用いることを考えた。そこで本研究においては、ヒト脂肪組織より心筋細胞への分化能を有する幹細胞を高い純度・回収率にて採取する手法を開発し、当該幹細胞より心筋芽細胞、心筋細胞への分化誘導法を確立、分化誘導後に疾患モデル動物に移植することで、重症心不全に対する有効な治療法となりうるかについて検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

インフォームドコンセント取得後、手術時余剰ヒト脂肪組織より、新規幹細胞として未分化マーカーであり、かつ心筋前駆マーカーでもあるisl-1を発現しているヒト脂肪組織由来幹細胞（hADMSC）を単離培養しえた。ADMPCは、細胞表面抗原解析において、CD105、CD166、SSEA-4などが陽性を示した。このADMSCに対し、in vitroにおいて、これらの細胞に0.1% dimethysulfoxside（DMSO）を添加して培養し、心筋関連遺伝子を発現させ、心筋芽細胞へと分化方向付けした脂肪組織由来心筋芽様細胞（cardiomyoblast loke cells；CLCs）と未誘導ADMPCを温度感受性培養皿上で培養してシート化させ、F344/NJcl-rnu/rnu免疫不全ラット梗塞モデルに移植して心機能・生存率をに関する検討を行った。また犠牲死させた個体に関し組織学的検討を行った。

移植前、梗塞モデルラットの心駆出率（EF）は30.5%であったが、hADMSC（未誘導）移植群では、移植後4週目においてEFが55.1%と心機能は一過性には改善したものの移植後8週以降では低下、移植後16週目においてEFは梗塞対照群と同程度の37.2%にまで悪化した。一方、hCLC移植群では移植後4週目におけるEFが55.0%、移植後16週目にけるEFが58.7%と16週にわたり心機能が維持された。移植後16週における生存率は、hADMSC移植群において80%であるのに対しhCLC移植群では100%であり、hCLC移植群はhADMSC移植群に比し長期生存率は有意に良好であった。移植16週後の組織学的検索において、hADMSC移植群では左室壁厚の改善を認めなかったのに対しhCLC移植群では移植部位で改善を認め、hCLCがin vivoでhTroponinI・alpha-cardiac actin・myosin heavy chainを発現していることから、これら改善効果は心筋細胞への分化とそれに伴う心筋組織の新生によることが示された。

〔　総　　括　〕

ヒト脂肪組織由来心筋芽様細胞は、難治性心不全に対する臨床応用可能な再生医療の細胞源の候補として適当であり、今後更なる検討を重ねる事で、実際の医療現場において使用可能な再生医療への展開を目指したい。

論文審査の結果の要旨

本邦において末期的重症心不全の発症頻度が増加しており、その治療法確立は急務である。このような問題意識のもと、再生医療によりこれまで救命しえなかった重症心不全患者への新規治療法開発として、重症心不全患者からでも低侵襲低負荷にて採取しうる皮下脂肪組織に着目、未分化性が高く肝細胞、膵島細胞にも分化しうるヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞の培養に成功、その安全性の高い培養条件に検討を加えてきた。ついで、当該細胞が心筋前駆細胞マーカーであるGATA-4・islet-1を発現していることに着目、ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞を心筋芽様細胞へ分化誘導しうる条件を見出し、組織工学的手法によりシート化した当該心筋芽様細胞移植の有効性を心筋梗塞ラットモデルにて証明し報告した。これら一貫した研究により、脳死ドナーの少ない日本において心移植以外に根本的な治療法の

ない末期的重症心不全患者に対する次世代治療法を示しえた。これら研究業績は博士（医学）の学位授与に値すると考える。