

Title	Sirtuin1 Regulates the Stem Cell Therapeutic Effects on Regenerative Capability for Treating Severe Heart Failure in a Juvenile Animal Model
Author(s)	小澤, 秀登
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72526">https://hdl.handle.net/11094/72526</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;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)				小澤 香登	
論文審査担当者		(職)	氏	名	
	主査	大阪大学教授	澤	芳樹	
	副査	大阪大学教授	坂田	泰史	
	副査	大阪大学教授	奥山	宏臣	
論文審査の結果の要旨					
<p>重症心不全が原因による死亡は世界的にみても主要な死亡原因の一つであり、内科的治療が困難な症例では、機械的補助および心臓移植のみが治療方法となる。体格の小さい小児に於いては、心臓移植の絶対的ドナー不足の状況は成人と比して悪く、補助人工心臓においても国内で使用可能なデバイスが承認されたものの、その成績は満足できるものではない。このような背景の中で、本研究では、すでに成人の重症心不全に対しての有用性が報告されている自己骨格筋芽細胞シート移植の小児重症心不全に対する有用性を明らかにしたものである。また、本研究では、小児に対する自己骨格筋芽細胞シート移植の有用性を示すとともに、その有効性に関して、Sirtuin 1タンパクに注目し、筋芽細胞シート移植において同じ幼若動物由来の筋芽細胞においてもSirtuin1タンパクの発現の低い場合は、心機能改善効果が低いことを示している。この結果は、Sirtuin1タンパクの発現を高めることでシート移植によるより高い心機能改善効果を認める可能性を示しており、成人の重症心不全治療においてもさらなる発展が期待できると考える。</p> <p>以上の観点から、本研究は、小児重症心不全領域の治療において重要性および発展性にすぐれたものと考えられ、学位に値するものと認める。</p>					

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏 名 Name	小澤 秀登
論文題名 Title	Sirtuin1 Regulates the Stem Cell Therapeutic Effects on Regenerative Capability for Treating Severe Heart Failure in a Juvenile Animal Model ( 幼若重症心不全動物モデルに対する幹細胞を用いた再生治療において、Sirtuin1は治療効果に影響を与える )

### 論文内容の要旨

#### 〔目的(Purpose)〕

自己骨格筋芽細胞シート移植は成人の重症心不全に対する新たな治療法として保険償還されているが、その治療効果は移植される細胞から分泌される様々なサイトカインによるパラクライン効果とされており、この移植細胞の性質は治療効果に大きく影響を与えることが考えられる。今回、我々は、幼若細胞にて多く発現し、細胞シート移植において要となるサイトカインの分泌を制御していることが報告されているsirtuin1に着目した。本研究は、SIRT1蛋白を多く発現する幼若動物心不全モデルでは、成熟動物に比べ、自己骨格筋芽細胞シート移植による心機能改善効果が高いことを仮説とし、幼若動物虚血性心疾患モデルにおける自己骨格筋芽細胞シート移植の有用性を明らかにし、SIRT1発現が治療効果に与える影響を検討することを目的とした。

#### 〔方法(Methods)〕

まず、幼若ブタ虚血性心疾患モデルにおける自己骨格筋芽細胞シート移植の有用性を、成熟ブタ虚血性心疾患モデルと比較検討した。動物モデルはミニブタを用いた冠動脈閉塞モデルにより作成し、骨格筋芽細胞を幼若、成熟ミニブタより分離培養し作成した。この細胞より細胞シートを作成、幼若、成熟ミニブタの重症心不全モデルの心臓に自己細胞シート移植を行い、その効果を検討した。検討項目としては、心臓超音波検査およびMRI検査における、心機能の改善効果の比較検討を行い、組織学的評価として、梗塞範囲、梗塞境界領域における心筋細胞径、血管密度に関して比較検討した。また、幼若および成熟ミニブタ由来骨格筋芽細胞におけるSIRT1の発現、サイトカイン分泌能、細胞の分裂能に関し、比較検討した。次に、SIRT1の knock down(KD)細胞シートをSIRT1 SiRNAを用いて作成し、SIRT1KD細胞が骨格筋芽細胞におけるサイトカイン分泌能、生存率および分裂能に与える影響を検討し、rat虚血性心疾患モデルに移植し、SIRT1KDが治療効果に与える影響を検討した。

#### 〔成績(Results)〕

幼若ミニブタ虚血性心疾患モデルに対する自己骨格筋芽細胞シート移植は、成熟ミニブタ虚血性心疾患モデルと比べ、心臓超音波検査、MRI検査において、EF、%strain、およびstrain rateの改善を認めた。また、組織学的検討において、移植後における梗塞範囲、梗塞境界領域の心筋細胞径は有意に低く、また血管密度は有意に高かった。また、幼若ミニブタ由来骨格筋芽細胞では、成熟ミニブタ由来骨格筋芽細胞と比べ高いSIRT1遺伝子および蛋白の発現を認め、高い増殖能を有した。また、培養上清中のVEGFの濃度は有意に高く、RT-PCRではHIF1 $\alpha$ 、HGFおよびSDF-1 遺伝子の発現が有意に高かった。次にSIRT1KDを用いた検討では、VEGF、HGF、及びSDF-1 遺伝子の発現はSIRT1 KD骨格筋芽細胞において、Controlおよびwild骨格筋芽細胞に比べ有意に低下していた。また、SIRT1 KD骨格筋芽細胞では、低酸素培養における細胞のアポトーシスの割合が有意に高く、移植後のシート内の細胞の分裂数の割合は有意に低かった。rat虚血性心疾患モデルにおけるシート移植における心機能改善効果の検討では、移植後の心臓超音波検査におけるEFの改善効果はSIRT1 KD骨格筋芽細胞シート移植群において有意に低かった。また、組織学的検討において、移植後における心筋の線維化率、梗塞境界領域の心筋細胞径は有意に高く、また血管密度は有意に低かった。

#### 〔総括(Conclusion)〕

幼若動物虚血性心疾患モデルに対する自己骨格筋芽細胞シート移植は、Sirtuin 1の高い発現により、心機能改善効果が高いことが示唆された。