



Title	High-mobility group box 1 fragment suppresses adverse post-infarction remodeling by recruiting PDGFR α -positive bone marrow cells
Author(s)	後藤, 隆純
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77553
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	後藤 隆純
論文題名 Title	High-mobility group box 1 fragment suppresses adverse post-infarction remodeling by recruiting PDGFR α -positive bone marrow cells (HMGB1による自己骨髄間葉系幹細胞誘導療法の、梗塞後心筋リモデリング抑制に対する有用性の検討)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 近年、間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell; MSC)を障害組織へ誘導し自己再生能を促進させる因子としてHigh mobility group box1 (HMGB1)が注目されている。我々は、HMGB1のMSC誘導ドメインを元に、HMGB1製剤を開発した。本剤は骨髄由来MSC(bone marrow derived MSC; BM-MSC)を障害組織へ誘導させ、組織修復を促進させる。そこで今回、心筋梗塞心不全モデルラット(myocardial infarction model; MI model)に対しHMGB1製剤を静注する事により、梗塞後心筋リモデリングが抑制され、心機能が改善する事を仮説とし、検証した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 方法： 実験① HMGB1製剤のMI modelに対する有効性の検証 SD rat(♂, 7w)でMI modelを作成、梗塞2週後 HMGB1(3mg/kg; n=14)、またはPBS(3ml/kg; n=12, as control)を4日連続で静脈投与した。心エコーによる心機能評価(投薬前、投薬1, 4週後)を行い、投薬4週後に心臓摘出しRT-PCR、病理組織により心筋リモデリングを評価した。 実験② HMGB1製剤による、心筋梗塞部へのBM-MSCs誘導効果の検証 Wister rat(♂, 5w)に致死量照射 (8-10Gy)し、翌日GFP-Wister ratから採取したCD4negGFP陽性骨髄(1×10^6 ml)を尾静脈から骨髄移植(bone marrow transplantation; BMT)し、GFP陽性骨髄細胞移植モデルラット(GFP-BMT model)を作成する。BMT 5週後、実験①と同様にMI modelを作成し、HMGB1を投与(HMGB1群; n=8, PBS群; n=7)した。投薬4週後に心臓摘出し、RT-PCR、病理組織学的に、障害心筋へのBM-MSC誘導効果を評価した。また、障害心筋へ誘導されたBM-MSCのparacrine効果、及び分化能について、病理組織学的に評価した。 実験③ リアルタイムイメージング法 (intravital imaging)による、BM-MSCの障害心筋への集積評価 実験②のGFP-BMT model (梗塞2週後)を新たに作成し、HMGB1静注による骨髄細胞の心筋梗塞部への誘導を、多光子顕微鏡を用いたintravital imaging systemにて real timeで観察した(HMGB1静注後 0-12時間)。また、障害心筋におけるMSC誘導因子の発現を評価するため、代表的なhoming factorであるSDF1の障害心筋での発現量を、RT-PCR及び病理組織学的手法を用いて評価した。 結果： 実験① 投薬4週後の心機能評価では、HMGB1群の方がcontrol群に比較して、LVEFが有意に高値であった(HMGB1 vs. control; $48.6 \pm 5.5\%$ vs. $33.9 \pm 5.3\%$, $p < 0.01$)。病理組織評価では、HMGB1群において、有意な心筋組織の線維化抑制、心筋細胞の肥大化抑制、血管新生亢進を認めた。HMGB1群では障害心筋におけるVEGF-A mRNA発現量が有意に高値(1.63 ± 0.64 vs. 1.18 ± 0.25, $p < 0.05$)であり、また、TGF-β mRNA発現量は有意に低値(1.13 ± 0.25 vs. 1.66 ± 0.75, $p < 0.01$)であった。 実験② 障害心筋におけるGFP mRNA発現量はHMGB1群で有意に高値(1.8 ± 0.5 vs. 0.9 ± 0.2, $p = 0.017$)であり、障害心筋のGFP$^+$/PDGFR$\alpha$$^+$細胞数はHMGB1群で有意に高値であった($1418.7 \pm 243.7$ vs. $589.8 \pm 66.5/\text{mm}^2$, $p < 0.01$)。障害心筋に集積したBM-MSCsの周囲にVEGF-Aが高発現していた。また、障害心筋に集積したBM-MSCsの中には血管内皮細胞マーカーが発現し、一部の細胞は障害心筋において血管構造を形成した。 実験③ 心拍動下intravital imagingにて、障害心筋にGFP$^+$/PDGFR$\alpha$$^+$細胞が継続的に、有意に増加する事を確認した。正常心筋と比較し、梗塞2週後の障害心筋では、SDF1 mRNA発現量が有意に高値(障害心筋 vs 正常心筋; 2.2 ± 0.5 vs. 0.9 ± 0.2, $p < 0.01$)であり、SDF1が高発現する障害心筋辺縁部にBM-MSCが有意に集積していた。 〔総括(Conclusion)〕 MI model ratにおいて、HMGB1静注により、自己BM-MSCsが障害心筋へ誘導され、心機能改善効果を認めた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 後藤 隆純

	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授 澤 芳 樹
	副 査 大阪大学教授 新 谷 康
	副 査 大阪大学教授 石 井 優

論文審査の結果の要旨

本研究は、障害組織への骨髄間葉系幹細胞 誘導を促進する因子であるHigh mobility group box1 (HMGB1)に注目し、心筋梗塞後の組織修復に対するHMGB1ペプチドの有効性、その詳細な機序について検証した。ラット心筋梗塞モデルに対しHMGB1ペプチドを静注した結果、心筋リモデリング(心筋線維化・心筋細胞肥大化)が抑制され、心機能改善を認めた。GFP骨髄移植ラットを用いた同様の試験では、GFP⁺(骨髄由来)間葉系幹細胞の障害心筋への集積が増強され、その細胞周囲にVEGFが有意に高発現し、一部の間葉系幹細胞は、障害心筋において内皮細胞へ分化して血管構造を形成した。In vivo imagingシステムを用いてリアルタイムで心筋組織を観察し、HMGB1静注後に血行性に骨髄間葉系幹細胞が遊走し障害心筋間質に移動する事を確認した。更にその障害心筋では、幹細胞のhoming factorであるSDF1が有意に発現していた。本研究により、HMGB1は自己内因性の骨髄間葉系幹細胞を障害心筋へ誘導し、心筋梗塞後の心筋障害修復に関与し得る事を報告した。以上の研究結果を踏まえ、申請者は学位の授与に値するものと認める。