

平成27年1月

大月優貴 学位論文審査要旨

主査 山本 一 博
副主査 久留 一 郎
同 西村 元 延

主論文

Adipose stem cell sheets improved cardiac function in the rat myocardial infarction, but did not alter cardiac contractile responses to β -adrenergic stimulation

(脂肪幹細胞シートはラット心筋梗塞における心機能を改善するが、 β 受容体刺激への収縮反応性を変化させない)

(著者：大月優貴、中村嘉伸、原田真吾、山本康孝、荻野和秀、森川久美、二宮治明、宮川繁、澤芳樹、久留一郎、西村元延)

平成27年 Biomedical Research 掲載予定

参考論文

1. 胸部解離性大動脈瘤と両側総腸骨動脈閉塞の合併に対しステントグラフトを用いたハイブリッド治療を施行した1治験例

(著者：岸本祐一郎、佐伯宗弘、中村嘉伸、藤原義和、白谷卓、大野原岳史、大月優貴、岸本諭、西村元延)

平成24年 日本心臓血管外科学会雑誌 41巻 323頁～326頁

学 位 論 文 要 旨

Adipose stem cell sheets improved cardiac function in the rat myocardial infarction, but did not alter cardiac contractile responses to β -adrenergic stimulation
(脂肪幹細胞シートはラット心筋梗塞における心機能を改善するが、 β 受容体刺激への収縮反応性を変化させない)

心筋梗塞後には、血管新生の低下により、心筋肥大・線維化などの心筋リモデリングが起こる。また、 β 受容体刺激の反応性低下により、リモデリングは促進され、末期心不全の原因となる。治療として、補助人工心臓や心臓移植が行われているが、合併症、ドナー確保等の問題がある。近年、再生型治療が行われ、心筋へ細胞を移植することにより、HGFやVEGF等のサイトカインを分泌 (paracrine effect)、心筋の血流を改善、梗塞範囲の縮小、リモデリング抑制が起こり、心機能を改善させることが報告されている。細胞を心筋に注入する方法は、生着率が低く、細胞シートを用いることにより、生着率が向上でき、paracrine effectの持続が期待できる。すでに骨格筋芽細胞(Myoblast)シートによる重症心不全患者の心機能の改善が報告されている。しかし、Myoblastは骨格筋より採取する必要があり、患者への負担が大きい。

脂肪幹細胞 (Adipose Stem Cell : ASC) は、移植治療の細胞ソースとして注目されている。血管新生因子を多く分泌することが報告されており、ASCシート移植により、虚血部位への血流の改善が認められている。しかし、ASCとMyoblastの心機能改善効果、 β 受容体の反応性を比較した報告はない。

方 法

Lewis ラットを用い、ASC・Myoblast を分離培養、シートを作成。通常・低酸素状態での血管新生因子の分泌、細胞の生存率について検討した。

前下行枝を結紮し心筋梗塞モデルを作成、ASC・Myoblast シートを移植、control 群には sham operation を行った。術後 2 週目にエコー、術後 4 週目にエコー、ANP 測定、ランゲンドルフ灌流、組織学的検討 (線維化、血管新生、心筋肥大) を行い、心機能改善効果を評価した。

結 果

ASCはin vitroでの正常酸素下及び低酸素下ともに、Myoblastと比較し、有意に血管新生因子（bFGF・HGF・VEGF）の分泌が多く、生存率も良好であった。

シート移植実験ではcontrol群に比較してASC・Myoblast群ともに心エコーにおいて心機能の有意な改善を認めた。血液中ANPにおいても、ASC・Myoblast群でcontrol群に比べ有意に低下した。しかし、シート群間で有意差は認めなかった。

組織学的検討では、線維化の割合、血管新生、心筋肥大ともに、control群と比較してASC・Myoblast群で有意に改善し、心臓リモデリングの改善効果を認めたが、シート群間では差は認めなかった。

ランゲンドルフ灌流による心機能評価でも、control群と比較してASC・Myoblast群で収縮能・拡張能改善が認められたが、両群間での有意差は認めなかった。 β 受容体刺激（isoproterenol、pimobendan、dibutyryl c-AMP）に対する反応性は正常心臓に比べ、全群で有意に低下しており、シート群間での有意差は認めなかった。

考 察

ASCはMyoblastに比べ、in vitroで血管新生因子を多く分泌し、より高いparacrine effectが期待できると考えられた。ASCシート移植により、血管新生の増加、線維化・心筋肥大の抑制等の心筋リモデリング抑制と心収縮能・ANPの改善が認められたが、Myoblastシートとの差は認められなかった。Myoblastシートによる心機能改善機序はparacrine effectの他に、hematopoietic stem cell recruitment、relief of myocytes stretching、formation of myotubules等も報告されており、ASCシートに関してさらなる検討が必要と考えられた。

また、 β 受容体刺激に対する反応性はcontrol群のみならずシート群でも低下を認めた。心筋梗塞後の β 受容体の反応性低下機序は、 β 受容体数の減少、adenylate cyclase活性の低下によるcAMPの減少、protein kinase A (PKA)より下流でのシグナル伝達障害等が報告されている。本研究では、isoproterenol、pimobendan、c-AMPのいずれに対しても反応性の低下があり、PKAより下流でのシグナル伝達障害が原因であると考えられた。

結 論

ASCシートは、myoblastシートと同等に、心筋リモデリング抑制効果、心機能改善効果を認めた。両シート群間に有意差は認めなかったものの、ASCは低侵襲で多くの細胞が採取可能という利点があり、有用な治療の一つである。一方で、 β 受容体刺激に対する反応性はシート移植により改善は認めないことより、これを改善するさらなる研究が必要である。