

令和元年5月27日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09427

研究課題名(和文)急性心筋梗塞患者におけるMuse細胞動員の動態と左室リモデリングへの関与

研究課題名(英文) Mobilization of endogenous Muse cells and left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction

研究代表者

田中 俊樹 (takaka, toshiki)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40623426

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：急性心筋梗塞を発症し、心筋に重篤な虚血性のダメージが出現すると、そのダメージをシグナルとして、内因性のMuse細胞は増加する。また、ダメージが大きい程、Muse細胞数は増加も大きく、Muse細胞の自己修復能力としての働きが示唆される。S1P濃度とMuse細胞数が正の相関関係を示しており、Muse細胞はS1Pのシグナルで増加する可能性がある。

慢性期において、左室収縮能が悪化したり、左室リモデリングの進行を認める症例では急性期のMuse細胞の動員が少なかった。このような症例では、内因性のMuse細胞が十分動員できていない可能性があり、急性心筋梗塞に対するMuse細胞の再生療法の可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内因性Muse細胞が急性心筋梗塞により末梢血液中に動員され、その数が患者の心機能の予後予測因子になることを明らかにした。また、Muse細胞により左室収縮能が改善され、左室リモデリングが抑制される可能性が示された。本知見は急性心筋梗塞におけるMuse細胞動員の動態解明と、Muse細胞による心筋再生医療の可能性を明示した点で循環器学に少なからず寄与する。

研究成果の概要(英文)：Endogenous Muse cells in the peripheral blood were substantially increased after the onset of acute myocardial infarction. When the infarct size is extensive, the damages to the heart cause LV functional deterioration and LV remodelling, leading to heart failure. The larger the infarct size, the higher the extent of Muse cell mobilisation might be a consequence of the body's protective reaction to tissue damage.

Measurements of the increase in peripheral blood Muse cells after AMI in the acute phase might allow physicians to predict the prognosis of LV function and LV remodelling in the chronic phase. Endogenous Muse cells may not be sufficient to deliver robust recovery in some patients. In this case, administering exogenous Muse cells could be a practical strategy for treating AMI. In addition, the development of new drugs to enhance the mobilisation of endogenous Muse cells could be a novel therapeutic target for AMI.

研究分野：循環器内科

キーワード：Muse細胞 急性心筋梗塞 再生医療 心筋リモデリング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、動物実験にて心筋梗塞後に骨髄単核細胞を静脈内投与することにより、心筋組織修復、血管再生、心筋再生により左室リモデリング改善、心機能改善をもたらすこと(1)、さらに、心筋梗塞後にサイトカインの G-CSF、エリスロポエチン投与が、内因性前駆細胞を動員あるいは心筋保護的シグナル伝達を介して梗塞心筋組織を修復・再生し左室リモデリングと心機能が改善することを報告している(2,3,4,5,6)。臨床研究として、G-CSF を用いて骨髄幹細胞を動員することにより、心筋梗塞後の心機能が改善し、下肢閉塞性動脈硬化症の下肢虚血を改善することを発表した(7,8)。一方、出澤らは再生医療の細胞ソースとしての ES 細胞、iPS 細胞に次ぐ第3の多能性幹細胞である Muse 細胞 (Multilineage-differentiating stress-enduring cells) を発見した(9)。Muse 細胞は間葉系幹細胞 (MSC) の中のいわばエリートであり、再生医療の治療効率を飛躍的に上げることができる。Muse 細胞は、ES 細胞、iPS 細胞と違って腫瘍化しないのが特徴であり、静注した Muse 細胞は炎症部位に集積し種々の細胞に分化する(9)。我々は既に、ウサギ心筋梗塞モデルを用いて Muse 細胞を心筋梗塞発症後に経静脈的に投与した場合、Muse 細胞が心筋梗塞部位に集積し、“場の論理”によって心筋細胞と血管に分化することを報告している(ESC2015)。そこで、急性心筋梗塞患者では急性期に自己の内因性 Muse 細胞が動員されて、動員された Muse 細胞が梗塞心筋組織にホーミングし、心筋細胞、血管に分化して梗塞組織を修復することにより慢性期の左室リモデリングを改善することができる、自己修復システムが存在する可能性がある。Muse 細胞に関する臨床的な研究は循環器領域では国内・国外において未だ発表されておらず、世界初の研究となる。申請者らの施設では、急性心筋梗塞の治療経験が豊富で、長年にわたって心筋梗塞・心不全など循環器疾患の動物モデルを用いた基礎研究の経験も豊富に有するため(1,2,3,4,5)急性心筋梗塞患者において、Muse 細胞が自己修復システムの役割を果たしている可能性解明のための臨床研究を着実に推進できる。

## 2. 研究の目的

最近、ES 細胞、iPS 細胞に次ぐ第3の多能性幹細胞 Muse 細胞(Multi-lineage stress enduring cell)が発見された。Muse 細胞は間葉系幹細胞のエリートであり腫瘍化しない特性から再生医療の切り札として期待されているが、同時に内因性の自己修復細胞 (auto-repairing cell) として、組織障害が起こった場合に修復するための自己防衛システムの役割を果たしている可能性が考えられる。申請者は以下の研究を進め、世界に先駆けて Muse 細胞が内因性自己修復細胞であることを急性心筋梗塞患者に示すことを目的とする。

1) 急性心筋梗塞患者では、発症後早期に流血中の Muse 細胞 (SSEA3 陽性かつ CD105 陽性細胞) 数が、有意に増加することを明らかにする。

2) 急性心筋梗塞により増加した Muse 細胞が多ければ、慢性期 (発症後6ヶ月) の左室リモデリングを軽減させることを明らかにする。

## 3. 研究の方法

当院へ救急搬送された急性心筋梗塞患者 79 症例(AMI 群)を含め、心臓カテーテル検査にて75%以上の狭窄病変を有する冠動脈硬化性心疾患患者 44 症例(CAD 群)、狭心症を疑い心臓カテーテル検査を行ったが、75%以上の有意狭窄を認めなかった正常者 64 症例(Control 群)を対象とし、末梢血にて FACS を用いて Muse 細胞数の測定を行った。AMI 群に関しては、発症当日、発症翌日、7日後、14日後、21日後に測定を行った。経過中の最大 Muse 細胞数を MAX Muse、最小 Muse 細胞数を MIN Muse として、その差を  $\Delta$ Muse (MAX Muse-MIN Muse) とした。

同時に、Muse 細胞を動員することが知られている Sphingosine-1-phosphate(S1P)濃度の測定も行った。

また 発症急性期(7日以内)と慢性期(6カ月後)に心臓超音波検査を行い、左室駆出率(LVEF)と左室拡張末期径(LVDd)の測定を行った。79名の急性心筋梗塞患者の内、慢性期まで経過観察できた症例は55症例であった。

#### 4. 研究成果

##### 【結果】

AMI 発症当日の末梢血液中の Muse 細胞数( $149 \pm 98$  cells/100 $\mu$ L)は Control 群( $164 \pm 125$  cells/100 $\mu$ L)と比較し有意な差は認めなかったが、AMI 発症1日目( $229 \pm 147$  cells/100 $\mu$ L)より有意に増加し、7日目( $217 \pm 109$  cells/100 $\mu$ L)でピークとなった。その後、21日目には Control 群と同様の値に復した。

Control 群( $164 \pm 125$  cells/100 $\mu$ L)、CAD 群( $167 \pm 89$  cells/100 $\mu$ L)と比較し、AMI 群において MAX Muse 細胞数は有意に増加( $276 \pm 137$  cells/100 $\mu$ L)していた。

S1P 濃度は Muse 細胞数と正の相関関係を示した。

AMI 発症後の最大 creatinine kinase(CK)値を 1000IU/L を境にして比べた場合、末梢血液中の MAX Muse 及び $\Delta$ Muse は共に CK 値が高値である程増加することを示した(MAX Muse; peak CK<1000 vs peak CK $\geq$ 1000;  $233 \pm 91$  vs  $291 \pm 147$  cells/100 $\mu$ L,  $\Delta$ Muse;  $116 \pm 72$  vs  $180 \pm 132$  cells/100 $\mu$ L)。

AMI 発症時と6か月経過後の心臓超音波検査所見を比較すると、駆出率が回復する群( $\Delta$ EF $\geq$ 0)は悪化する群( $\Delta$ EF<0)と比較し、 $\Delta$ Muse が有意に高値であった( $196 \pm 153$  vs  $118 \pm 59$  cells/100 $\mu$ L)。また、左室拡張末期径が縮小する群( $\Delta$ LVDd $\leq$ 0)は拡大する群( $\Delta$ LVDd>0)と比べ、 $\Delta$ Muse が有意に高値であった( $210 \pm 157$  vs  $117 \pm 65$  cells/100 $\mu$ L)。

##### 【考察】

AMI 発症により心筋に重篤な虚血性のダメージが出現した後より Muse 細胞は増加傾向を示し7日目にピークを迎えることがわかった。

Muse 細胞は AMI 群にて増加し、CAD 群では Control 群と有意な差がないことを示した。このことは、Muse 細胞は AMI による虚血ダメージをシグナルとして増加するものであり、冠動脈に75%以上の有意な狭窄病変があるのみではそのシグナルが出ないことを示唆している。

AMI 発症後の peak CK 値はその梗塞範囲の広さを反映すると報告されているが、大きな梗塞である程、Muse 細胞数は増加することがわかった。大きな梗塞であるほど、左室収縮能の低下が著明であり、リモデリングも進む可能性が高く、Muse 細胞の自己修復能力が心機能を改善しリモデリングを抑制するように働くことが示唆される。

S1P 濃度と Muse 細胞数が正の相関関係を示していたことから、Muse 細胞は S1P のシグナルで増加する可能性がある。

慢性期の評価では、左室収縮能が改善する症例や左室リモデリングが抑制される群では AMI 発症急性期において動員される Muse 細胞数が有意に多かった。反対に左室収縮能の悪化や左室リモデリングを認める症例では Muse 細胞の動員が少なかった。このような症例では、内因性の Muse 細胞が十分動員できていない可能性があり、Muse 細胞の投与による AMI 治療の可能性が示された。

##### 【結論】

急性心筋梗塞発症後、末梢循環血液中に内因性の Muse 細胞が動員されることが明らかとなった。動員された Muse 細胞数は、急性心筋梗塞患者における心機能の予後予測因子となることが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. 10.1253/circj.CJ-17-0552 Circulation Journal 561~571 2018年 82 査読あり  
Mobilized Muse Cells After Acute Myocardial Infarction Predict Cardiac Function and Remodeling in the Chronic Phase  
Tanaka Toshiki, Nishigaki Kazuhiko, Minatoguchi Shingo, Nawa Takahide, Yamada Yoshihisa, Kanamori Hiromitsu, Mikami Atsushi, Ushikoshi Hiroaki, Kawasaki Masanori, Dezawa Mari, Minatoguchi Shinya

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 日本再生医学学会総会 2017.3.7-2017.3.9 仙台国際センター  
急性心筋梗塞患者における Muse 細胞動員の動態と左室リモデリングへの関与  
2. ESC Congress (国際学会) 2016.8.27-2016.8.31 ローマ  
Endogenous pluripotent Muse cells mobilized into peripheral circulating blood improve left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等; <https://www1.gifu-u.ac.jp/~gi2nai/>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：湊口 信也

ローマ字氏名：Minatoguchi Shinya

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：特任教授

研究者番号(8桁): 20190697

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。