

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18390375

研究課題名 (和文) 脂肪組織由来間葉系幹細胞による重症心不全治療法の開発

研究課題名 (英文) Development of a new therapeutic method for severe heart failure by transplantation of adipose tissue derived mesenchymal stem cells.

研究代表者

佐地 嘉章 (SAJI YOSHIAKI)

京都大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：60307915

研究成果の概要：ラット心筋梗塞モデルに対して、脂肪組織から採取した間葉系幹細胞を局所注入により移植し、心機能、病理組織学適評価、分子生物学的評価を行った。細胞移植群ではコントロールと比べ、心機能、血管新生増殖因子の発現に有意な差は認められなかった。これは移植細胞の生着率が低いことに起因すると考えられ、今後はより効率の高い細胞移植方法として、幹細胞による細胞シートを用いた移植実験を行う予定である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
18年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
19年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
20年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：心臓血管外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：間葉系幹細胞、細胞移植、慢性心筋梗塞

1. 研究開始当初の背景

重症心不全に対する心筋再生治療の細胞源として多能性を持つ胎性幹 (ES) 細胞が注目されていたが、免疫拒絶、倫理面などの問題点を有していた。自己体性幹細胞はこれらの問題点を有しない多能性細胞として注目されていた。当時、脂肪組織内にも骨髄幹細胞とほぼ同様の分可能を有する脂肪組織由来間葉系幹細胞 (ASC) の存在が明らかとなり、血管内皮細胞、心筋細胞へと分化しうることが証明された。また、ASC は低酸素下の培養において種々の血管新生増殖因子を分泌することも明らかとなった。これらのことから ASC は心筋虚血に対する再生治療の細胞源と

して適していると考え、今回の研究に至った。

2. 研究の目的

虚血心筋において脂肪組織由来間葉系幹細胞移植による心血管再生効果を証明し、その機序を分子生物学的手法を用いて解明することを目的とする。さらに、骨髄幹細胞移植との治療効果の比較検討を行い、脂肪組織由来間葉系幹細胞移植の臨床的有効性を明らかにする。

3. 研究の方法

ラットの左冠動脈前下行枝結紮による慢性心筋梗塞モデルを用い、自己皮下脂肪組織か

ら採取した Stromal Vascular Fraction (SVF) を梗塞巣に注射してその効果を見た。

当初は同一個体の皮下脂肪組織から採取した SVF を用いる予定であったが、細胞移植に必要な 10^6 個の細胞を採取することが困難であった。従って無胸腺ラット (F344/N Jcl-rnu/rnu) を用い、同系ラット他個体より採取した SVF を用いることとした。

鼠径部脂肪組織より SVF を採取し、PKH26 にて細胞ラベリングした。左前下行枝結紮により心筋梗塞を誘導した同系ラットモデルに対して、梗塞部に Needle injection により 0.4×10^6 および 1.0×10^6 細胞移植した。移植後 4 週目に生理学的な心機能評価、病理組織学的評価、分子生物学的評価を行った。

4. 研究成果

心臓超音波および心臓カテーテル検査では細胞移植群においてコントロール群と比較して明らかな心機能の改善は認めなかった。組織学的評価においては生着した移植細胞は梗塞部周囲の移植部位に強拡大で数視野に数個認められ、生着効率は 1% 未満であった。梗塞部周囲組織における、VEGF, bFGF などの増殖因子の発現には細胞移植群とコントロール群で差は無かった。

これまでに、胎児心筋細胞、骨格筋芽細胞、ES 細胞由来心筋細胞などを用いて同様の細胞移植実験を行ってきたが、一貫して細胞の生着効率が不十分であり、期待したような結果を得ることができていない。従来行ってきた needle injection による組織への局所注入では移植した幹細胞の生着率が低く、明らかな心機能の改善や組織学的な心筋再生を得ることは困難であることが推察される。Needle injection に代わる移植法として、最近では細胞シートを用いた方法が主流となりつつあり、今後は本実験においても、採取した幹細胞を温度感受性培養皿を用いてシート化し、梗塞部局所に貼付する方法により細胞移植を行う方針である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 3 件)

① Saji Y., Nishina T, Shimamoto T, Marui A, Nishioka M, Tambara K., Ikeda T., Komeda M. Left ventricle restoration (LVR) for ischemic cardiomyopathy (ICM). Oral presentation, 14th Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular Surgery. 2006 Osaka, Japan

② 丹原圭一、丸井晃、仁科豪、佐地嘉章、笹橋望、山本雅哉、田畑泰彦、小島伸介、福島雅典、池田義、米田正始。非遺伝子・時間的

空間的局所治療を原則とする心臓血管外科領域の再生医療の臨床的試み。要望演題、第 37 回日本心臓血管外科学会総会。2007. 2. 23 東京都

③ Marui A., Tambara K., Nishina T, Yamamoto M, Hirose K, Saji Y., Sasahashi N, Ikeda T., Tabata Y, Komeda M. Towards new era for regenerative medicine in cardiovascular area. 第 71 回日本循環器学会総会。2007. 3. 17 神戸市。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

2006 年度

丹原 圭一 (TAMBARA KEIICHI)

現 順天堂大学・医学研究科・准教授

研究者番号: 30402845

2007~2008 年度

佐地 嘉章 (SAJI YOSHIAKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号: 60307915

(2) 研究分担者

2006~2008 年度

片岡文代 (KATAOKA FUMIYO)

京都大学・医学研究科・技術補佐員

研究者番号: 40422943

2006~2007 年度

伊藤 裕 (ITOH HIROSHI)

現 慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号: 40252457

2007~2008 年度

池田 義 (IKEDA TADASHI)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号: 40281092

2006 年度

佐地 嘉章 (SAJI YOSHIAKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号: 60307915

(3) 連携研究者

2008 年度

伊藤 裕 (ITOH HIROSHI)

現 慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号: 40252457