

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19390364
 研究課題名(和文) 自己幹細胞由来心筋細胞シートによる移植医療にかわる重症心不全治療法の開発
 研究課題名(英文) Myocardial Regeneration Therapy Using Autologous Cell Sheet
 研究代表者
 松宮 護郎 (MATSUMIYA GORO)
 大阪大学・医学系研究科・准教授
 研究者番号：20314312

研究成果の概要：自己骨格筋由来筋芽細胞を用いたシート移植について、基礎実験およびラットを用いた動物実験によりその効果を検証するとともに、それによる心機能改善のメカニズムの解析を組織学的および遺伝子学的に行った。さらに、それらの結果に基づき、当治療法の臨床応用を開始した。臨床治験の第一例目は末期重症心不全の患者に施行され、左室補助人工心臓からの離脱に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,400,000	2,520,000	10,920,000
2008年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
年度			
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：医歯薬学

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：シート移植、自己骨格筋芽由来筋芽細胞

1. 研究開始当初の背景

重症心不全に対する治療は現在のところ心臓移植あるいは人工心臓装着といった治療が有効とされている。しかし、移植数の伸び悩みや免疫抑制剤の服用、人工心臓装着状態

での合併症の問題等、いずれも完全なる治療とはいえない。そこで、移植や人工心臓に代わりうる新たな心不全治療法としての再生医療について、我々はこれまで細胞をシート化する技術を用いることでより効果的な細

胞治療を行うことを検証してきた。

2. 研究の目的

自己筋芽細胞を用いたシート移植の効果を検証するとともに、細胞シート移植による心機能改善のメカニズムの解析を行う。さらには、当治療法の臨床応用を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1)3週齢のLewisラットを用いて、大腿より採取した骨格筋から骨格筋由来筋芽細胞の培養を行い、温度応答性培養皿を用いて筋芽細胞シートを作成した。

(2)8週齢のLewisラットを用いて慢性期心筋梗塞モデルを作成し、梗塞部位に筋芽細胞シート移植を行い、移植したシートの枚数による心機能改善効果の違いを検討した。

(3)細胞のデリバリー方法としてのシート移植の有効性を、注射針を用いた移植法と比較することで検証した。

(4)Lewisラットで肺動脈絞約による右室負荷モデルを作成し、これに筋芽細胞シート移植を行うことで、筋芽細胞シートによる右室の線維化抑制効果および心機能改善効果を検討した。

(5)当施設の倫理委員会における慎重な審査を経たのち、十分なインフォームドコンセントのもとに自己骨格筋筋芽細胞シート移植の臨床応用を開始した。

4. 研究成果

梗塞モデル心に対し、自己筋芽細胞シート3枚以上の重層化移植でリモデリング抑制効果がみられ、5枚までは心機能の改善効果が枚数依存的に増幅された。同時に心筋再生のかかわる増殖因子の分泌が有意に増加し、線維化抑制、血管数増加、肥大化抑制効果がみ

られた。一方、他の細胞ソースとして脂肪由来幹細胞から分化誘導を行うことによって、心筋細胞様細胞の作成を行い、これをシート化して梗塞モデル心に対して治療を行い、その効果について検討を行った。その結果、分化誘導を行わなかった脂肪由来幹細胞シート移植群にくらべ、心筋細胞様細胞シート移植群において心機能改善効果の有意な上昇がみられ、移植後16週後においてもその効果は持続していた。また、免疫組織化学的検討においては、心筋様細胞シート移植群において、 α -Cardiac Actin や Myosin Heavy Chain といった心筋細胞にみられるタンパク質の発現がみられ、心筋再生の効果が証明された。次に、細胞のデリバリー方法としてのシート移植の有効性を、注射針を用いた移植法と比較することで検証した。その結果、針で移植した細胞は90%近くが心筋への注入時に失われていたのに対し、シート移植では移植細胞の半数以上が左室心筋において検出された。細胞調整時における、控訴を用いた細胞剥離、遠心分離操作、及び注射針の通過といった細胞への物理的障害が、シート移植により軽減されていると考えられた。また、ラットで肺動脈絞約による右室負荷モデルを作成し、これに筋芽細胞シート移植を行うことで、筋芽細胞シートによる右室の線維化抑制効果および心機能改善効果を実証した。そして、当施設の倫理委員会における慎重な審査を経たのち、十分なインフォームドコンセントのもとに自己骨格筋筋芽細胞シート移植の臨床応用を開始した。これまで、2例の左室補助人工心臓を装着した重症心不全患者に当治療法を行い、うち1例では補助人工心臓を離脱するほどに心機能が回復、現在も良好な心機能・ADLが保たれている。

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)

[雑誌論文](計6件)

Sekiya N, Matsumiya G, Sawa Y et al. Layered Implantation of Myoblast Sheets Attenuates Adverse Cardiac Remodeling of the Infarcted Heart J Thorac Cardiovasc Surg 2009 in press 査読有

Hoashi T, Matsumiya G, Sawa Y et al. Skeletal myoblast sheet transplantation improves the diastolic function of a pressure-overloaded right heart J Thorac Cardiovasc Surg 2009 in press 査読有

Imanishi Y, Matsumiya G, Sawa Y et al. Allogenic mesenchymal stem cell transplantation has a therapeutic effect in acute myocardial infarction in rats. J Mol Cell Cardiol 2008;44:662-71 査読有

関谷直純、澤芳樹 重症心不全に対する自己骨格筋筋芽細胞シート移植 現状と今後の展望 循環器専門医 15(2), 240-245, 2007 査読有

澤芳樹 心臓血管外科における再生医療と分子生物学 胸部外科 60(5), 355-361, 2007 査読有

澤芳樹 骨格筋筋芽細胞シートを用いた心筋再生治療 Heart View 11(12), 111-117, 2007 査読有

[学会発表](計6件)

今西悠基子, 澤芳樹 Stable Delivery and Long-Term Survival of Sheet-Sh

aped Skeletal Myoblast in Infarct Myocardium 第73回日本循環器学会総会・学術集会 2009年3月20日 大阪
齋藤俊輔, 澤芳樹 心臓移植と心筋再生 第8回日本再生医療学会 2009年3月6日 東京

関谷直純, 澤芳樹 重層化筋芽細胞シート移植による心筋再生効果の検討 日本外科学会 定期学術集会 2008年5月15日 長崎

関谷直純, 澤芳樹 Layered implantation of myoblast sheets attenuates cardiac remodeling of infarcted heart American Association of Thoracic Surgery, 88th Annual Meeting 2008年5月10日 米国

関谷直純, 澤芳樹 純 Myocardial Regeneration Therapy Using Autologous Cell Sheet 第72回日本循環器学会学術集会 2008年3月28日 福岡

齋藤俊輔, 澤芳樹 拡張型心筋症による末期重症心不全患者に対する自己骨格筋由来筋芽細胞シート移植第一例目の報告 第36回人工心臓と補助循環懇話会 2008年3月7日 新潟

[図書](計1件)

澤芳樹 日本医学管 自己骨格筋芽細胞シートによる心筋再生治療 2007 5 (202-26)

6. 研究組織

(1)研究代表者

松宮 護郎 (MATSUMIYA GORO)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：20314312

(2)研究分担者

澤 芳樹 (SAWA YOSHIKI)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00243220

市川 肇 (ICHIKAWA HAJIME)

大阪大学・医学系研究科・特任教授 (常勤)

研究者番号：60303939

上野 高義 (UENO TAKAYOSHI)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：60437316

倉谷 徹 (KURATANI TORU)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：90448035

白川 幸俊 (SHIRAKAWA YUKITOSHIU)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20457013

松江 一 (MATSUE HAJIME)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80437318

坂口 太一 (SAKAGUCHI TAICHI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：10467574

(3)連携研究者