

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08400

研究課題名(和文) ヒトMuse細胞の心筋梗塞後心筋保護効果に関する研究

研究課題名(英文) Research on the myocardial protective effect of human Muse cells after myocardial infarction

研究代表者

山田 好久 (Yamada, Yoshihisa)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50523916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：NIBS系ミニブタ(約15Kg)を全身麻酔下で左冠動脈中部を30分結紮、再還流し急性心筋梗塞を作成した。術後翌日に対照群(n=10)には生理的食塩水を、細胞移植群(n=10)にはGFP標識したヒトMuse細胞を経静脈的に約1000万個移植した。再還流2週間後に血液検査、心臓超音波検査等施行した。マッソントリクローム染色し心筋梗塞サイズ、CD31免疫染色で血管新生、またトロポニンI免疫染色で心筋への生着、分化を確認した。その結果、Muse細胞投与群に対照群と比較し心機能は良好に保たれ、組織の線維化は軽減されていた。また、Muse細胞の心筋細胞や血管への分化を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果を論文で報告した。PloS One. 2022 Mar 24;17(3):e0265347.  
ブタ心筋梗塞モデルでのMuse細胞治療はヒトへの応用の橋渡しの意義があり、今後の臨床応用への足掛かりとなり得る。但し、これまでの動物実験結果からは実際に投与されたヒトMuse細胞がブタ心筋にどの程度集積、分化したかは不明であった。その生着細胞数と有効な投与細胞数を検討するため、GFP標識ヒトMuse細胞移植でブタ心臓への生着細胞数と心機能改善への効果を検証することが求められる。

研究成果の概要(英文)：In a NIBS miniature pig (weighing approximately 15 kg), the middle part of the left coronary artery was ligated for 30 minutes under general anesthesia, and the left coronary artery was reperfused to create an acute myocardial infarction. On the day after surgery, the control group (n=10) received physiological saline, and the cell transplant group (n=10) received approximately 10 million GFP-labeled human Muse cells intravenously. Two weeks after reperfusion, blood tests and cardiac ultrasound were performed. Masson Trichrome staining confirmed myocardial infarct size, CD31 immunostaining confirmed angiogenesis, and Troponin I immunostaining confirmed engraftment and differentiation in myocardium.

The results showed that cardiac function was maintained better and tissue fibrosis was reduced in the Muse cell-administered group compared to the control group. We also confirmed the differentiation of Muse cells into cardiomyocytes and blood vessels.

研究分野：Cardiovascular regenerative medicine

キーワード：心筋梗塞後心不全 Muse細胞 心筋梗塞サイズ 血管新生 不整脈

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 急性心筋梗塞の急性期治療は閉塞した冠動脈の再還流であるが、一旦心筋梗塞を起こした心筋細胞の再生は現状医療では困難である。

(2) 従来から心筋梗塞後心不全治療として様々な幹細胞治療(骨髄由来単核球幹細胞、骨髄由来間葉系幹細胞)が動物投与され、心筋梗塞サイズの縮小や心機能の改善が報告されている。しかしヒト心筋梗塞後にそれらの細胞が投与されたが効果は限定的であった

(3) 以前に我々はウサギ急性心筋梗塞モデルに multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cell を静脈投与した。それらの細胞は梗塞領域に選択的に生着し、自発的に心筋細胞や血管に分化し、心筋梗塞サイズを縮小し心機能を改善させることを報告した。

Yamada Y et al. S1P-S1PR2 Axis Mediates Homing of Muse Cells Into Damaged Heart for Long-Lasting Tissue Repair and Functional Recovery After Acute Myocardial Infarction.

*Circulation Research*: 2018; 122: 1069-1083

### 2. 研究の目的

我々は Muse 細胞のヒトへの臨床応用への橋渡し研究として、ミニブタ急性心筋梗塞モデルへヒト Muse 細胞を移植して同様に心筋梗塞サイズの縮小、心機能改善効果があるかどうかを目的として下記研究を開始した。

### 3. 研究の方法

(1) NIBS系ミニブタ(体重約15Kg)を獣医による全身麻酔下で左冠動脈中部を30分結紮、再還流し急性心筋梗塞を作成した。術後翌日に対照群(n=10)には生理的食塩水を、細胞移植群(n=10)にはGFP標識したヒト Muse 細胞を経静脈的に約1000万個移植した。

(2) 再還流2週間後に血液検査、心臓超音波検査等施行した。摘出心臓で Masson Trichrome 染色し心筋梗塞サイズを計測した。CD31免疫染色で血管新生を、また Troponin I 免疫染色で心筋への生着、分化を評価した。

(3) 不整脈の評価として、植込み型ループレコーダーを用いて経過中の心電図を記録した。

### 4. 研究成果

(1) 心臓超音波検査では対照群( $21.0 \pm 2.0\%$ )と比較して、Muse細胞投与群( $10.5 \pm 3.3\%$ )で著明に心筋梗塞サイズは縮小した(図1、図2)。また、左室駆出率(Ejection Fraction)は対照群と比較して Muse 細胞投与群でより大きい結果であった。

(2) 投与されたヒト Muse 細胞は心筋梗塞の境界領域に生着し、心筋トロポニンIと血管内皮CD31を発現した。以上より、Muse細胞の心筋細胞や血管への分化を確認した。

(3) 植えこまれたループレコーダーには不整脈は記録されていなかった。

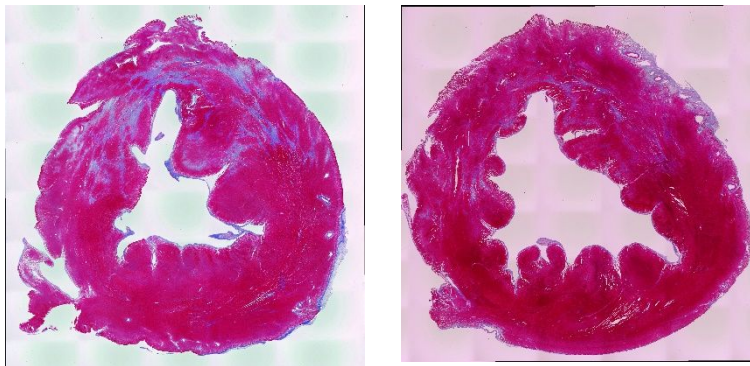
以上の結果を下記論文で報告した。

Yoshihisa Y et al. Human Muse cells reduce myocardial infarct size and improve cardiac function without causing arrhythmias in a swine model of acute myocardial infarction

PLoS One. 2022 Mar 24;17(3):e0265347.

(4) これまでの実験結果から実際に投与されたヒトMuse細胞がブタ心筋にどの程度集積、分化したかは不明であった。その生着細胞数と有効な投与細胞数を検討するため、改めてGFP標識ヒトMuse細胞移植でブタ心臓への生着細胞数と心機能改善への効果を検証することが必要である。

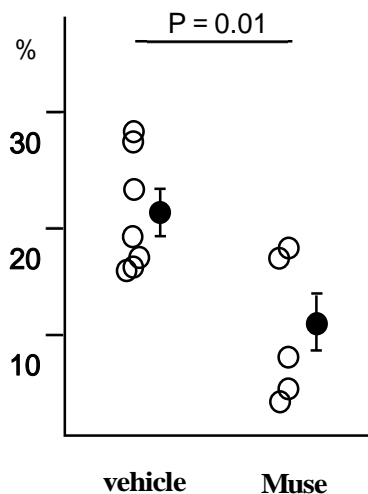
### Masson Trichrome染色 (図1)



Vehicle

Muse

### Infarct size/LV (%) (図2)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshihisa Yamada	4. 巻 17(3)
2. 論文標題 Human Muse cells reduce myocardial infarct size and improve cardiac function without causing arrhythmias in a swine model of acute myocardial infarction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PloS One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0265347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分 担 者	三上 敦  (Mikami Atsushi)  (60271524)	岐阜大学・大学院医学系研究科・特任教授     (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------