

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462095

研究課題名(和文) ヒト心臓周囲脂肪組織由来幹細胞を用いた心血管組織再生治療のための研究

研究課題名(英文) The cardiovascular regeneration therapy with human pericardiac adipose tissue derived stem cells

研究代表者

勝間田 敬弘 (Katsumata, Takahiro)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：60224474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪組織から分離培養した幹細胞(Adipose tissue derived stromal cells: AdSC)は、骨芽細胞・骨格筋細胞・心筋細胞・血管内皮細胞・神経細胞など多系統へ分化能を有することが明らかになっている。ヒト心臓周囲脂肪由来幹細胞(CA-AdSC)とヒト皮下脂肪由来幹細胞(SC-AdSC)の性質の比較をおこなった。分離できるAdSCはCA-AdSCで高い細胞密度を示した。増殖能、遊走能、抗アポトーシス能はCA-AdSCで有意に高かった。

研究成果の概要(英文)：Adipose tissue derived stromal cells (AdSC) have been reported to differentiate into multiple lineages such as osteoblasts, skeletal muscle cells, cardiomyocytes, vascular endothelial cells, and nerve cells. In this study, we isolated human pericardial adipose-derived stem cells (CA-AdSC) and human subcutaneous fat derived stem cells (SC-AdSC) from surgical patients with informed consent under institutional ethical committee approval. The isolated and propagated AdSC showed higher density than SC-AdSC. The proliferation capacity, migratory ability and anti-apoptotic property were significantly higher in CA-AdSC.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：脂肪由来幹細胞 虚血性心筋症

1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞は再灌流治療の開発によって生命予後が改善したが、陳急性心筋梗塞や狭心症による虚血性心筋症は慢性心不全となり生活の質を著しく低下させている。虚血傷害を受けた心筋細胞は再灌流治療のみでは機能を回復させることができないだけでなく、再灌流により新規に傷害を受け、炎症が惹起され、線維芽細胞の増生等により心機能は低下する。

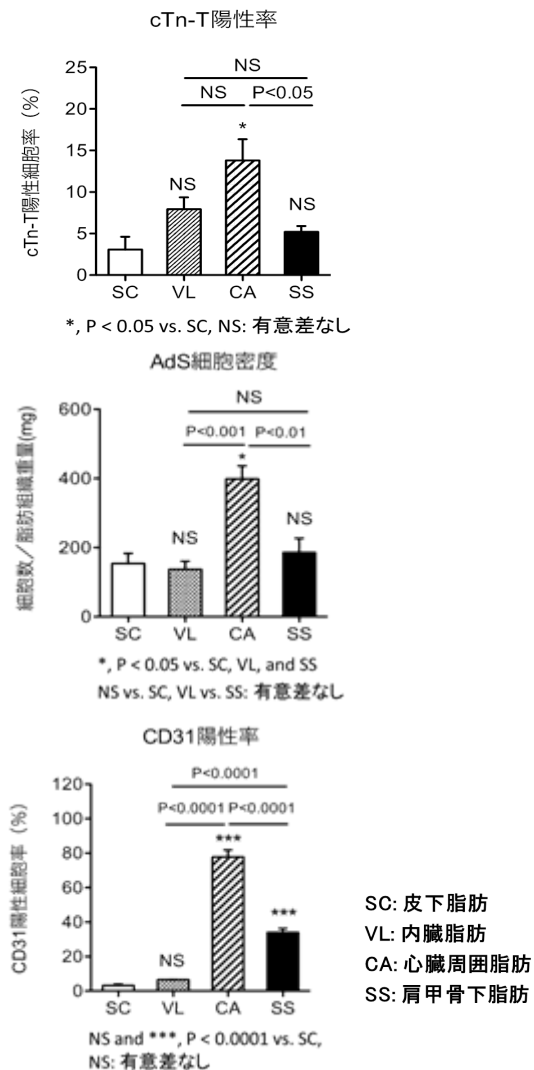
細胞移植療法は、虚血に陥った組織に幹細胞を移植することで機能を回復させようとするものである。現在、限られた施設ではあるが、重症虚血肢の新規治療法として末梢血単核球細胞を虚血肢に移植（注射）する治療法が行われており、救肢による生命予後の改善と生活の質の改善が得られるようになった。このように、虚血部位に対する細胞治療は、移植された細胞が血管新生や血管再生を促し組織血流が増加することによって機能を回復させることができると考えられている。虚血性心筋症においても、従来の再灌流療法に細胞移植療法（再生医療）を組み合わせることで、開発によって必要である。細胞源としては、これまで骨髄間質系幹細胞、末梢血間質系幹細胞、末梢血単核球細胞が用いられてきたが、脂肪組織から分離培養した幹細胞（AdSC）は、脂肪細胞のみならず多系統への分化能を有することが明らかになっており、ラットやマウスの心筋梗塞モデル動物において AdSC 移植による著明な心機能改善効果が報告されている。

AdSC は自家細胞であるため、胚性幹 (ES) 細胞移植や他家臓器移植治療と異なり倫理面や拒絶反応などの問題が回避できる。さらに、脂肪組織からの AdSC の分離は、密度勾配法を用いる必要がなくベッドサイドで分離装置を用いて簡便に行え、脂肪組織採取と細胞移植を一度に行える。脂肪組織は全身の至る所にあり、瘦身目的で吸引廃棄することもあるほど不要な組織と考えられているが、白色脂肪と違い褐色脂肪は体温上昇に寄与するなどの機能を有しており、部位によって細胞機能が異なることが示唆される。虚血性心疾患や心不全に対する細胞治療法を確立することは、超高齢社会に向かっている我が国において、患者の Quality of Life を向上させるだけでなく、今後の医療費高騰による社会保障費の圧迫を軽減することも期待できる。

2. 研究の目的

これまでの研究で、脂肪組織由来間葉系幹細胞は、脂肪・骨・骨格筋・心筋・血管・膵臓・肝臓・神経などを構築する多系統の細胞への分化能を持つことが知られ、組織再生治療の細胞ソースとして臨床応用が期待されている。これまでに、マウスの種々の脂肪組織を採取し分離培養した AdSC の性質を調べたところ、心臓周囲脂肪組織から分離した AdSC は、他の組織由来の AdSC に比べて有意に高い細胞密度を示し、さらに心臓周囲脂肪由来 AdSC は他の部位由来の AdSC に比べて、血管内皮細胞マーカーである CD31 陽性率が高かった。また、心筋細胞マーカーの心臓トロポニン (cTn-T) の陽性率は、心臓周囲脂肪由来 AdSC で高かった。

これらの結果から、心臓周囲脂肪由来 AdSC は他の脂肪組織に比べて心筋細胞への分化向性が高く血管新生に優れている可能性が示唆された。哺乳動物モデルを用いて心臓周囲脂肪由来 AdSC の治療効果を検討したところ、ラットの心臓周囲脂肪組織から分離培養した AdSC を心筋梗塞部位に移植した群で有意に心機能改善効果を認めた。これらの結果から、ヒトにおいても心臓周囲脂肪から分離した AdSC は虚血性心疾患治療に用いる細胞

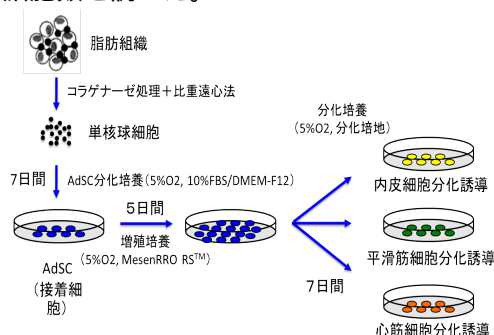


ソースとして適しているのではないかと推測される。

本研究では、心臓血管外科で行っている冠動脈バイパス術や上行大動脈手術、大動脈弁手術時に、通常は切除廃棄する大動脈基部の心臓周囲脂肪組織由来 AdSC (hcAdSC) の性質を調べることを目的とした。hcAdSC の分化能や増殖率を調べ、皮下脂肪組織由来 AdSC との差異や基礎疾患、内服薬等の及ぼす影響を検討することで、心臓疾患患者における再生治療に使用可能な細胞ソースについて新たな知見を得る。

3. 研究の方法

大阪医科大学研究倫理委員会で承認を得た後、大阪医科大学附属病院 心臓血管外科で手術を受ける患者のうち、冠動脈バイパス術、上行大動脈置換術、大動脈弁置換術で大動脈基部周囲脂肪を切除する症例を対象とし、このうちインフォームドコンセントの得られた患者から、手術時に大動脈基部心臓周囲脂肪組織と皮下脂肪組織を各々0.5 cm³ 採取した。匿名化の後、コラゲナーゼを用いて組織から細胞を採取し、細胞外マトリクスでコーティングした培養皿で AdSC を分離培養した。3 継代まで培養の後、細胞は凍結保存した。患者背景として基礎疾患、高血圧の有無、心筋梗塞の既往、脂質異常症の有無、体表面積、性別、年齢、血液検査で血清クレアチニン値、肝酵素、BNP 値、服薬内容を調べた。細胞の増殖速度、生存率、第 3 継代時の細胞数を調べた。



4. 研究成果

大動脈基部脂肪を切除する必要のある大動脈弁置換術、冠動脈バイパス術、上行大動脈置換術をおこなった 32 人の患者から心臓周囲脂肪および皮下脂肪を採取した(患者内訳: 大動脈弁置換術 6 例、冠動脈バイパス術 24 例、冠動脈バイパス術と大動脈弁置換術同時施行 2 例)。既往歴は、高血圧症 29 例、糖尿病 15 例(うちインスリン使用 3 例)、高脂血症 14 例(うちスタチン内服 8 例)であった。このうち、心臓周囲と皮下脂肪由来細胞共に感染なく第 3 継代まで培養を継続できたのは 8 例であった。8 例の内訳は、男性 7 名、女性 1 名、施行手術は冠動脈バイパス術 7 例、大動脈弁置換術 1 例、年齢は 53 歳から 77 歳(中央値 73 歳)であった。採取した脂

肪組織重量は、心臓周囲 0.44g - 1.4g (平均 0.84g)、皮下脂肪 0.58-1.01 g (平均 0.77g)、それぞれの組織 1 g から分離できた単核球細胞数は心臓周囲脂肪 1.6×10⁶-19.1×10⁶ (平均 8.9×10⁶)、皮下脂肪 6.2-49.7×10⁶ (平均 25.8×10⁶)であった。それらのうち AdSC として培養できた細胞は、心臓周囲脂肪由来 平均 26.5%、皮下脂肪由来平均 9.7%であった。脂肪細胞から分離できる単核球細胞数は有意に皮下脂肪細胞が多かったが、そのうち AdSC として培養できる細胞数は有意に心臓周囲脂肪由来組織で高かった。現在、この心臓周囲脂肪組織由来 AdSC の細胞治療効果を確認する研究を継続している。

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 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[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:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
勝間田 敬弘 (KATSUMATA, Takahiro)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60224474

(2)研究分担者
伊井 正明 (II, Masaaki)

大阪医科大学 実験動物部門 講師
研究者番号： 10442922

神吉 佐智子 (KANKI, Sachiko)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号： 40411350

打田 裕明 (UCHIDA, Hiroaki)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号： 70736834