

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成22年 4月 30日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20790985
研究課題名 (和文) 慢性虚血性心疾患における再生医療を併施した外科的血行再建術の実験的検討
研究課題名 (英文) Effects of omentopexy combined with granulocyte colony-stimulating factor in a rabbit heart model
研究代表者
石田 成吏洋 (ISHIDA NARIHIRO)
岐阜大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：90397331

研究成果の概要 (和文)：ウサギ冠虚血再灌流モデルにおける G-CSF 皮下投与大網充填術の左室機能改善効果について検討した。術後心機能評価では G-CSF 皮下投与大網充填術群で有意に心機能の改善を認め、組織学的評価では G-CSF の投与群で梗塞領域の減少がみられた。また胸腔内大網重量 (g) は G-CSF 投与で増大しており、充填した大網が G-CSF 皮下投与で発育し虚血部位の血流を改善する事で、梗塞領域を縮小させ冠虚血再灌流後の心機能低下を改善する可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文) : We investigated whether or not omentopexy combined with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) subcutaneous administration reduced infarction area and improved left ventricular (LV) dysfunction in a coronary occlusion and reperfusion model. Echocardiography showed improvement of LV dysfunction and infarction/ischemic area ratio was reduced. Omentopexy with G-CSF administration improved LV function and decreased infarction area.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：G-CSF、大網充填、血管新生、心機能

1. 研究開始当初の背景

冠動脈疾患における著しい治療技術の進歩にも係わらず、従来の治療法では治療不可能な症例も多い。そこで近年新しい治療法として、再生療法が脚光を浴びるようになった。循環器領域においては、重症下肢虚血の治療が代表的であろうが、心臓領域においては自己骨髄由来細胞などの細胞移植や、血管内皮成長因子 (Vascular endothelial growth factor:VEGF) など各種遺伝子蛋白の投与に関する研究が多数行われてきた。いずれにおいても良好な成績は報告されているが、未だ臨床応用に至っていない。

従来基礎研究においては急性あるいは慢性虚血心においてG-CSFの心筋への直接の作用や抗アポトーシス効果、G-CSFによって梗塞部位に骨髄幹細胞が導入される事による抗線維効果、血管新生効果心、機能低下の抑制や心筋梗塞領域における繊維化などリモデリングの抑制など様々な効果が報告されており、虚血後心機能低下の治療に大きな可能性を秘めている。

2. 研究の目的

虚血に陥った領域には、その虚血故に全身投与では薬剤が充分行き渡らず、新たな血管供給源があることが望ましい。それには血流が豊富な点とその解剖学的特色から大網が適している。大網充填のみならずG-CSFを投与することで血流の豊富な大網から虚血領域に血管新生が生じ、更に効率よくG-CSFが心筋虚血領域に導入されるものと考えられる。また、大網は従来血管新生因子が豊富であるが、G-CSFにより血管新生因子の産生、分泌が増加する事がわかっており、その相乗効果も期待できる。この方法を動物実験の段階で、その効果、安全性を検証し、虚血性心疾患に対する有効な治療の一つに位置づけ、臨床への橋渡しとすることが最終到達点である。虚血再灌流モデルにおいて大網充填術及びG-CSF投与がそれぞれ単独に行った場合

より有効であるかどうか比較検討し、そのメカニズムを解明することが当研究の目的である。

3. 研究の方法

家兎を用いて30分心筋虚血再灌流モデルを作製する。

Group N：無治療群

Group O：大網充填術のみの群

Group G：G-CSF皮下投与のみの群

Group OG：大網充填術および

G-CSF皮下投与群

上記において、以下の項目について評価する。

(1)心エコーを用いた心機能評価

左室駆出率、左室短縮率、左室拡張期径・収縮期計、左室拡張期容量・収縮期容量などの計測

(2)摘出心における、虚血領域、梗塞領域の計測

(3)組織学的評価

Evans blue染色を用いてrisk areaを評価し、TTCで梗塞領域を計測する

理組織学的検討（新生血管、心筋再生の有無など）

Hematoxylin-Eosin染色で微小血管（直径100 μ m以下）を計測

免疫染色でVEGFなど各種血管新生因子を測定・評価

4. 研究成果

(1)心エコーによる心機能評価（術後4週間）

術前LVEF、FS、LVDdは4群間に有意差なし。LVEF(%)はgroup N:41.1 \pm 6.2、O:44.4 \pm 3.9、G:50.0 \pm 3.0、OG:56.7 \pm 4.1(N vs OG、O vs OG、G vs OG:p<0.05)。

FS(%)はgroup N:18.1 \pm 3.3、O:21.0 \pm 3.8、G:22.8 \pm 1.6、OG:26.6 \pm 2.5(N vs OG、O vs

OG、G vs OG : $p < 0.05$)。
 LVDd(mm)は group N : 13.9 ± 1.5 、O : 12.9 ± 0.8 、G : 12.8 ± 1.9 、OG : 11.2 ± 1.1 (N vs OG、O vs OG、G vs OG : $p < 0.05$)。
 心エコー上 N、O、G 群に比較して OG 群で心機能が有意に改善した。(図 1)

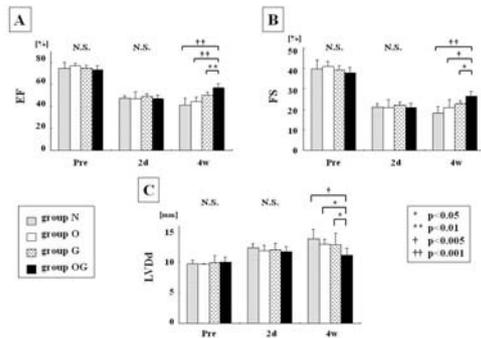


図 1 心エコーによる経時的な心機能評価
 A: EF、B: FS、C: LVDd

(2) 組織学的評価

虚血領域が左室全体に占める割合は、4 群間に有意差を認めなかった。
 梗塞領域虚血領域比(%)は group N : 32.1 ± 10.9 、O : 26.3 ± 9.7 、G : 20.0 ± 7.1 、OG : 19.6 ± 8.0 (N vs G、N vs OG : $p < 0.05$)であり、G-CSF の投与が梗塞領域を減少させた。(図 2)

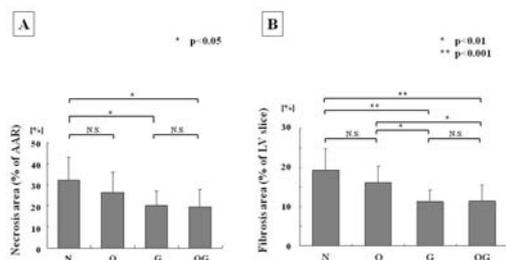


図 2 組織学的評価

- A : 左室虚血領域重量における壊死領域重量の占める割合
- B : 標本切片の左室面積における繊維化組織の面積が占める割合

また、胸腔内大網重量(g)は group O : 6.2 ± 1.4 、OG : 11.3 ± 1.8 (O vs OG : $p < 0.05$)と、G-CSF 投与同時投与群で有意に増大しており(図 3B)、VEGF 染色で group O に比較して group OG で染色される傾向があった(図 3A)。

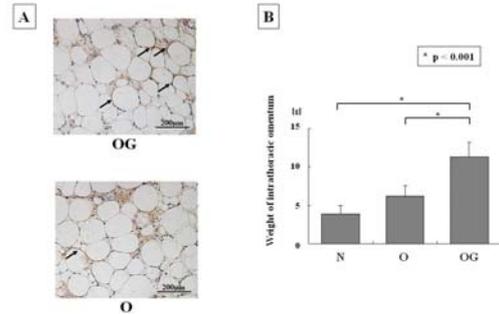


図 3 A : 大網の抗 VEGF 染色
 B : 大網重量

ウサギ冠虚血再灌流モデルにおいて、充填した大網が G-CSF 皮下投与で発育し虚血部位の血流を改善する事で、梗塞領域を縮小させ冠虚血再灌流後の心機能低下を改善する可能性が示唆された。

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 2 件)

① Narihiro Ishida, Reduction of infarction area and improvement of left ventricular dysfunction by omentopexy combined with granulocyte colony-stimulating factor administration in a coronary occlusion and reperfusion rabbit model、4th Annual Academic Surgical Congress、2009 年 2 月 4 日、Fort Myers, FL, USA.

② 石田成吏洋、G-CSF 皮下投与大網充填術の左室機能に及ぼす影響、第 12 回日本心筋・血管新生療法研究会、2008 年 7 月 17 日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 成吏洋 (ISHIDA NARIHIRO)
岐阜大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：90397331