

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670617

研究課題名(和文) 微小重力培養骨髄間葉系幹細胞と磁性粒子を用いた重症虚血肢再生治療

研究課題名(英文) Regenerative therapy for critical limb ischemia using bone marrow stem cell cultured in microgravity

研究代表者

末田 泰二郎 (Sueda, Taijiro)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・教授

研究者番号：10162835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：下肢重症虚血肢に骨髄間葉系幹細胞を患肢に直接注射する治療が行われてきたが効果が明らかではなかった。模擬微小重力細胞培養装置(Gravite)は宇宙環境と同じ10-3Gの微小重力環境下で骨髄間葉系幹細胞を大量に未分化な状態で培養できる。本研究ではラットの重症虚血肢モデルに腸骨から採取した骨髄間葉系幹細胞を微小重量培養下で培養して尾静脈から注入した。同時に患肢に磁性パッチを貼付して磁力で分化を促進させたところ、重症虚血下肢の虚血障害が軽減された。ラットの実験では成果が得られたが、発癌などの可能性を考慮して人体では行わなかった。

研究成果の概要(英文)：(Purpose) Bone marrow stem cell therapy was not efficient for critical limb ischemia because of lack of bone marrow stem cell number. We developed micro gravited cell culture device (Gravite) and proved possibility of cell culture maintaining undifferentiated cell condition by this device. (Method) Critical limb ischemia rat model with ligation of femoral artery was treated using bone marrow stem cells diluted in 2ml saline and injected via the tail vein. In addition to injection of bone marrow stem cells, magnetic sheet was rapped to the injured limb. Experiment using rat was divided into 3 groups, 1) control group: saline injection, 2) injection of microgravity cultivated bone marrow stem cells, 3) injection of microgravity cultivated bone marrow stem cells, plus magnetic sheet. (Results) Critical limb ischemia was treated by group 2 and 3 significantly. Limb ability improved and injured muscle was regenerated in group 2 and 3.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：重症虚血肢 骨髄間葉系幹細胞 微小重力培養 血管前駆細胞 磁性粒子パッチ 血管再生 筋肉再生

1. 研究開始当初の背景

閉塞性動脈硬化症や急性動脈閉塞による重症虚血肢は放置すると下肢壊疽に陥り下肢切断に至る。外科的な血行再建が不可能な重症虚血肢に対する骨髄間葉系幹細胞を用いた毛細血管再建術は従来の局所注射は無効であった。

2. 研究の目的

共同研究者が開発した微小重力細胞培養装置を用いて多量培養した骨髄間葉系幹細胞と磁性パッチを用いて虚血変性した重症虚血肢を再生することを試みた。

3. 研究の方法

10-3Gの微小重力環境下で培養した間葉系幹細胞は未分化状態で大量に培養できる可能性がある。ラットの腸骨から採取した間葉系幹細胞を10-3Gの微小重力下環境で培養した。ラットの右大腿動脈を結紮閉塞して右下肢の重症虚血肢を作成した。ラット尾静脈から採取した骨髄間葉系幹細胞を微小重力培養装置で3日間培養増殖させた。実験は3群に分けて行われた。群:コントロール群(生食2ml) 群:微小重力培養細胞注射群、群:微小重力培養間葉系幹細胞注射+磁性パッチ貼付群。各々骨髄間葉系幹細胞10×4乗個を2mlの生食に混ぜて尾静脈から注射して下肢虚血変性が治癒して対麻痺が軽快するか検討した。

4. 研究成果

ラット腸骨から採取した骨髄間葉系幹細胞を10-3Gの微小重力環境下で細胞培養が可能な微小重力左房培養装置(Gravite)で培養した。3日間の骨髄間葉系幹細胞培養を行った。ラット右大腿動脈および周辺の側副動脈を結紮してラット下肢虚血モデルを作成した。虚血肢ラットを上記3群に分けて下肢運動機能の改善、その後の病理学的検討を行った。

群:微小重力培養した骨髄間葉系幹細胞を注射した治療群と 群:微小重力培養した骨髄間葉系幹細胞+磁性パッチ貼付群はコントロール群に比較して明らかにラット下肢の運動機能が改善した。GFP染色した骨髄間葉系細胞を尾静脈から注入したところ障害下肢の筋肉に骨髄間葉系幹細胞の取り込みが見られ下肢毛細血管、下肢筋肉再生が起こっていることが確認された。群と群間では下肢運動機能、筋肉変性軽減に明らかな改善はなかった。ラットに対する骨髄間葉系幹細胞の治療効果が確認された。しかし、間葉系幹細胞の臨床応用は発癌性など人体における安全性が確立してないので臨床応用は行わなかった。

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)

[雑誌論文](計26件)

1. Takahashi S, Sueda T. Development of the Maze procedure and the contribution of Japanese surgeons. Gen

Thorac Cardiovasc Surg (査読有) 2017 65:144-152.

- Okahara S, Soh Z, Miyamoto S, Takahashi H, Itoh H, Takahashi S, Sueda T, Tsuji T. A novel blood viscosity estimation based on pressure flow characteristics of an oxygenator during cardiopulmonary bypass. Artif Organs (査読有) 2017 41:262-266.
- Takahashi S, Katayama K, Imai K, Taguchi T, Sueda T. Iliac artery stenting combined with open iliofemoral endarterectomy facilitated by novel ultrasonic ablation instrument for diffuse iliofemoral occlusive disease. Ann Vas Surg (査読有) 2016 31:13-16.
- Takahashi S, Katayama K, Watanabe M, Kodama H, Taguchi T, Kurosaki T, Imai K, Sueda T. Preoperative tissue Doppler imaging-derived arterial conduction time predict postoperative atrial fibrillation in patients undergoing mitral valve surgery for mitral valve regurgitation. Cir J (査読有) 2016 80:101-109.
- Okahara S, Soh Z, Miyamoto S, Takahashi H, Itoh H, Takahashi S, Sueda T. Blood viscosity monitoring during cardiopulmonary bypass based on pressure-flow characteristics of a Newtonian fluid. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc (査読無) 2016 8:2330-2334.
- Okahara S, Soh Z, Miyamoto S, Takahashi H, Itoh H, Takahashi S, Sueda T. Continuous blood viscosity monitoring system for cardiopulmonary bypass applications. IEEE Trans Biomed Eng (査読無) 2016 Sep {Epub ahead of print}.
- Takahashi S, Sueda T. Intraoperative factors cause postoperative atrial fibrillation? -Reply. Cir J (査読有) 2016 80:1053.
- Takahashi S, Katayama K, Takasaki T, Sueda T. Endovascular repair for retrograde type A aortic dissection with malperfusion. Asian Cardiovasc Thorac Ann (査読有) 2016 126:5-8.
- Sueda T, Takahashi S, Katayama K, Imai K. Successful treatment of an infected thoracic endovascular stent graft. Gen Thorac Cardiovasc Surg (査読有) 2016 54:273-276.
- Tanaka H, Ogino H, Minatoya K, Matsui Y, Higami T, Okabayashi H, Saiki Y, Aomi S, Shiiya N, Sawa Y, Okita Y, Sueda T. The impact of preoperative identification of the Adamkiewicz artery on descending and

- thoracoabdominal aortic repair. J Thorac Cardiovasc Surg (査読有) 2016 151:122-128.
11. Tashiro T, Takahashi S, Takasaki T, Katayama K, Taguchi T, Watanabe M, Kurosaki T, Imai K, Sueda T. Efficacy of cardiopulmonary rehabilitation with adaptive servo-ventilation in patients undergoing off-pump coronary artery bypass grafting. Cir J (査読有) 2015 79:1290-1298.
 12. Arakawa M, Miyata H, Uchida N, Motomura N, Katayama A, Tamura K, Sueda T. Postoperative atrial fibrillation after thoracic aortic surgery. Ann Thorac Surg(査読有) 2015 99:103-108.
 13. Takahashi S, Katayama K, Tatsugawa T, Sueda T. A successful hybrid repair for vertebral arteriovenous fistula with extracranial vertebral artery aneurysm. Ann Vasc Surg (査読有) 2015 29:5-8.
 14. Kitagawa T, Yamamoto H, Sentani K, Takahashi S, Tsushima H, Senoo A, Yasui W, Sueda T, Kihara H. The relationship between inflammation and neoangiogenesis of epicardial adipose tissue and coronary atherosclerosis based on computed tomography analysis. Atherosclerosis (査読有) 2015 243: 293-299.
 15. Sueda T. History and development of surgical procedures for atrial fibrillation. Surg Today(査読有) 2015 45:1475-1480.
 16. Okahara S, Tsuji T, Ninomiya S, Takahashi H, Soh Z, Sueda T. Hydrodynamic characteristics of a membrane oxygenator modeling of pressure-flow characteristics and their influence on apparent viscosity. Perfusion (査読有) 2015 20:478-483.
 17. Takahashi S, Orihashi K, Okada K, Imai K, Takasaki T, Sueda T. Transaortic stent grafting of a Kommerell diverticulum arising from a right-sided aortic arch. Ann Vac Surg (査読有) 2014 28:1037.
 18. Takahashi S, Uchida N, Sueda T. Hybrid debranching endovascular aortic repair with coronary artery bypass. Asian Cardiovasc Thorac Ann (査読有) 2014 22:990.
 19. Takahashi S, Imai K, Takasaki T, Katayama K, Taguchi T, Sueda T. Preoperative tissue Doppler imaging-derived atrial conduction time can predict postoperative atrial fibrillation in patients undergoing aortic valve replacement for aortic valve stenosis. Cir J(査読有) 2014 78:2173-81.
 20. Katayama K, Uchida N, Takasaki T, Sueda T. Prestenotic and poststenotic multiple aneurysms with adult coarctation. J Vasc Surg(査読有) 2014 60:234-235.
 21. Katayama K, Uchida N, Katayama A, Takahashi S, Takasaki T, Kurosaki T, Imai K, Sueda T. Multiple factors predict the risk of spinal cord injury after the frozen elephant trunk technique for extended thoracic aortic disease. Eur J Cardiothorac Surg (査読有) 2014 47:616-620.
 22. Takahashi S, Uchida N, Takasaki T, Sueda T. Delayed surgery for type A aortic dissection caused by blunt trauma. Asian Cardiovasc Thorac Surg (査読有) 2014 23:206-208.
 23. Takahashi S, Orihashi K, Imai K, Mizukami T, Takasaki T, Sueda T. Transintercostal-evoked spinal cord potential in thoracic aortic surg. Ann Vas Surg (査読有) 2014 28:1775-1781.
 24. Takahashi S, Isaka M, Hamaishi M, Imai K, Orihashi K, Sueda T. Trahalose protects spinal cord ischemia in rabbits. J Vasc Surg (査読有) 2014 60:490-496.
 25. Nakagawa K, Inui K, Yuge L, Kakigi R. Inhibition of somatosensory-evoked cortical responses by a weak leading stimulus. Neuroimage (査読有) 2014 101:416-424.
 26. Otsuru N, Hashizume A, Nakamura D, Endo Y, Inui K, Kakegi R, Yuge L. Sensory incongruence leading to hand disownership modulates somatosensory cortical processing. Cortex (査読有) 2014 58:1-8.
- [学会発表](計5件)
1. 23th annual meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery. Hong Kong (China) 2015 May 11-14. Endovascular repair for aortic arch pathology in elderly patients. Katayama K, Takahashi S, Sueda T.
 2. 23th annual meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery. Hong Kong (China) 2015 May 11-14. Analysis of risk factors for new postoperative stroke in patients with acute type A aortic dissection. Taguchi T, Katayama K, Takahashi S, Sueda T.
 3. Endovascular aortic global leader exchange program. London (UK) 2014,

March 9-15. Complete removal of aortic endograft and in-situ replacement for peri-graft infection after thoracic endovascular aortic repair. Katayama K, Takahashi S, Sueda T,.

4. American Association for Thoracic Surgery, Aortic Symposium. New York (USA) 2014 April 24-25. Differences of motor evoked potentials between open surgery and TEVAR for thoracic and thoracoabdominal aortic aneurysm. Sueda T, Takahashi S, Katayama S.
5. American Association for Thoracic Surgery, Aortic Symposium. New York (USA) 2014 April 24-25. Occurrence of spinal cord injury after frozen elephant trunk procedure comparison between thoracic atherosclerotic aneurysm and aortic dissection. Katayama K, Takahashi S, Sueda T.

〔図書〕(計 1 件)

1. 末田泰二郎 循環器疾患の最新治療
2014-2015 不整脈の外科治療
南江堂 2014 322-325

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：送血流量制御装置および体外循環装置
発明者：末田泰二郎、黒崎達也、二宮伸治
権利者：広島大学、広島国際大学
種類：国際特許
番号：PCT/JP2013/051906
出願年月日：2014年1月29日
国内外の別：国際出願

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 末田泰二郎(SUEDA TAIJIRO)
広島大学・医歯薬保健学研究院(医)・
教授

研究者番号：10162835

(2)研究分担者 弓削 類(YUGE RUI)
広島大学・医歯薬保健学研究院

(保)・教授

研究者番号：20263676

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()