

氏名	さかき ばら ゆたか 榎 原 裕
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2562号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Prevascularization with gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor enhances the benefits of cardiomyocyte transplantation. (線維芽細胞増殖因子含有ゼラチン粒子先行投与による血管新生は心筋細胞移植の効果を増強する)
論文調査委員	(主査) 教授 北 徹 教授 西川 伸一 教授 米田 正 始

### 論 文 内 容 の 要 旨

近年増加傾向にある重症心不全に対して、最終治療法である心臓移植も深刻なドナー不足のため定着した治療法とは言い難い。心臓では最終分化した成熟心筋細胞はそれ自身増殖能力を持たず、また幹細胞と呼ばれるものは存在しない。したがって障害心筋は徐々に線維組織に置換され、残存心筋が代償的に働いて心機能を維持している。そこで、外部より新たな心筋細胞を移植し、宿主の心筋細胞と電気生理学的に結合させ、同期的に収縮させることで心機能を改善させ、心臓を再生させようとする細胞移植療法が注目されるようになった。しかし、心筋細胞の脆弱性から移植時の生着率が低いことが問題とされていた。本研究では強力な血管新生作用を有する塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を心筋梗塞内部に心筋細胞移植に先立ち投与することで細胞移植の効果が改善するかについて検討した。

10週令(体重270—290g)ルイスラット44匹を全身麻酔、人工呼吸下に左前下行枝を結紮し、虚血性心筋症ラットを作製した。4週間後に心エコー(12MHz)にて心筋梗塞サイズ及び心機能を評価し、無作為に4群に分け以下の如く処置を行った。C群:生理食塩水を梗塞部に注入。TX群:胎児ラットより単離・培養した心筋細胞 $6 \times 10^6$ 個を梗塞部に注入した。FGF群:bFGF(100 $\mu$ g)を含むゼラチン徐放粒子を梗塞部に注入。FGF-TX群:bFGF(100 $\mu$ g)を含むゼラチン徐放粒子を梗塞部に注入し、1週間後にTX群と同様に心筋細胞移植を施行した。心筋細胞にはPKH26蛍光色素でラベルしておいた。さらに4週間後に心エコー及びより詳細な心機能を測定するためにマイクロマノメーターを用いて左室機能を評価した。犠牲死後に組織学的に検討を行った。

処置前の心エコーでは心機能は4群間で有意差を認めなかった。処置後4週間では左室拡張末期径はC, TX, FGF, FGF-TX群:10.7 $\pm$ 0.6, 10.0 $\pm$ 1.1, 9.5 $\pm$ 0.7, 9.7 $\pm$ 0.9mmでC群と比べFGF, FGF-TX群で有意に心拡大が抑制された。また、左室短縮率は17.3 $\pm$ 4.6, 28.4 $\pm$ 4.4, 24.5 $\pm$ 8.6, 27.4 $\pm$ 7.3%とC群と比べTX, FGF-TX群で有意に高値であった。さらに、よりglobalな心収縮能を反映するLVE<sub>max</sub>においてはFGF-TX群ではTX, FGF群よりも有意に高値を示した(TX, FGF, FGF-TX群:0.30 $\pm$ 0.08, 0.27 $\pm$ 0.20, 0.52 $\pm$ 0.23mmHg/ $\mu$ l, P<0.01)。組織学的にはbFGF投与1週間後には梗塞部およびその周辺に有意な血管新生を認めた。処置4週間後の組織学的検討ではFGF-TX群ではTX群に比べ梗塞部の心室壁が厚く、またTX群では梗塞周辺部のみに移植細胞を認めたが、FGF-TX群では梗塞周辺部のみならず梗塞中央部にも有意に多くの移植細胞の生着を認めた。

以上より細胞移植に先行したbFGF投与は心筋細胞移植の効果を増強した。これはbFGF投与により虚血部位に血管新生が誘導され、より多くの酸素や栄養が供給されるようになった結果、移植細胞の生着率が向上したことによると思われる。本研究の結果は骨髓細胞から誘導した心筋細胞はもちろん、他の細胞移植を行う場合でも有効な方法になり得ると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

心臓移植に代わる新しい治療法として細胞移植療法が注目されているが、心筋細胞の脆弱性から移植後の生着率が低いことが問題である。本研究では血管新生作用を有する塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）を併用し細胞移植の効果を増強し得るかを調べた。

同種同系ラット44匹に心筋梗塞を作成し、コントロール（C）群、心筋細胞移植（TX）群、bFGF投与（F）群、bFGFの先行投与を併用した細胞移植（F-TX）群の4群に分け、4週間後に心エコー及びマイクロマンメーターを用いた左室機能を評価し、犠牲死後に組織学的検討を行った。

処置前の心機能は4群間で有意差を認めず、処置4週間後ではC群と比べ処置群において心拡大が有意に抑制され、左室収縮率の有意な改善を認めた。さらに、globalな心収縮能を反映するLVE<sub>max</sub>においてF-TX群ではTX、F群よりも有意に高値を示し、組織学的にF-TX群ではTX群に比べ梗塞部に多くの移植細胞の生着を認め、梗塞部左室壁厚の有意な増加を示した。

本研究で認められた心筋細胞移植の効果の増強は細胞移植に先行したbFGF投与により虚血部位に血管新生が誘導され、より多くの酸素や栄養が供給されるようになった結果、移植細胞の生着率が向上したことによると考えられる。本研究の結果は骨髄細胞から誘導した心筋細胞はもちろん、他の細胞移植にも応用可能な有効な手段になり得ると考えられた。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成15年1月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである