

氏 名	EGODAHETTIARACHCHIGE DON GODITHA UPUL PREMARATNE
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3131 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 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	Repeated implantation is a more effective cell delivery method in skeletal myoblast transplantation for rat myocardial infarction. (ラットの心筋梗塞に対する骨格筋芽細胞移植において繰り返し移植はより効果的な細胞投与方法である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 開 祐 司 教 授 戸 口 田 淳 也

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】骨格筋芽細胞移植においては、梗塞心筋を置換するためには非常に多数の細胞を必要とするが、単回で移植する場合は組織の過成長や大量の移植細胞死という危険性が生じるかもしれない。筋芽細胞移植において複数回移植が単回移植よりも効果的であるか否かを、ラット心筋梗塞モデルを用いて検討した。

【方法】オスのルイス・ラットで左前下行枝を結紮し、4 週後に梗塞を心エコーにて確認した。中等度の大きさの梗塞を持つラットを 3 群に無作為分類した。I 群 (n=10) では 6×10^6 個の筋芽細胞をそれぞれ 0 週、2 週、および 4 週目に梗塞部に移植した。II 群 (n=10) では 18×10^6 個の筋芽細胞を 0 週目にのみ移植し、2 週および 4 週目には培養液を梗塞部に注入した。III 群 (n=10) では 3 回とも培養液を梗塞部に注入した。2 回目および 3 回目の移植細胞はそれぞれ PKH26 (赤) および PKH2 (緑) でラベリングした。心機能を 2 週ごとに心エコーで評価し、最終移植の 4 週後に、心エコーと心臓カテーテル検査を施行した後ラットを犠牲死させた。100 μ m 間隔で心臓組織切片を作製してそれらを fast skeletal myosin heavy chain (FSMHC) で免疫染色し、Simpson 法の要領でグラフト体積を計算した。

【結果】移植 4 週後、I 群および II 群で左室リモデリングの進行は逆行し、両群で左室拡張末期径 (LVDd) は減少し (I, II; 0.96 ± 0.02 to 0.90 ± 0.02 cm, 0.98 ± 0.03 to 0.93 ± 0.02 , both $p < 0.05$)、左室内腔面積変化率は増加し (I, II; 35.0 ± 1.6 to 41.3 ± 1.8 %, 35.2 ± 2.2 to 40.8 ± 2.0 %, both $p < 0.05$)、梗塞サイズは減少した (I, II; 29.3 ± 1.5 to 22.3 ± 1.8 %, 30.6 ± 1.6 to 23.6 ± 1.8 %, both $p < 0.05$)。III 群では左室リモデリングの進行が認められた (LVDd: 0.96 ± 0.03 to 1.00 ± 0.02 cm)。また I 群で、左室収縮末期弾性は最大、タウは最小であった。組織学的検討で、グラフト体積は I 群のほうが II 群より大きかった (13.6 ± 1.0 vs. 8.0 ± 0.8 mm³, $p < 0.05$)。ドナー細胞は、I 群ではすべての心臓において全梗塞領域にわたって認められたが、II 群ではいくつかの心臓では限局して存在していた。II 群では、移植片によって左室内腔の輪郭が変形しているものがあったが、I 群ではそうした所見はなかった。I 群で、PKH26 および PKH2 でラベルされた細胞はそれぞれ一塊となって認められた。

【結論】複数回移植は、慢性心筋梗塞に対する骨格筋芽細胞移植において単回移植よりも効果的な細胞投与方法であり、低侵襲な手技を用いることで臨床応用可能であるかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

骨格筋芽細胞移植で心筋梗塞部を移植片によって置換するためには非常に多数の細胞を必要とするが、単回で多数の細胞を移植しようとする組織の過成長や大量の移植細胞死という危険性が生じるかもしれない。

そこで、本実験ではラット心筋梗塞モデルを用いて筋芽細胞移植における複数回移植の有効性を検討した。

左冠動脈の結紮によって作製した心筋梗塞モデルラットを 3 群に分類し、I 群 (n=10) では 6×10^6 個の筋芽細胞をそれぞれ 0 週、2 週、および 4 週目に梗塞部に移植し、II 群 (n=10) では 18×10^6 個の筋芽細胞を 0 週目にのみ移植し、III 群 (n

=10) はコントロール（移植なし）とした。

移植 4 週後の心エコーおよび心臓カテーテル検査では、対照の III 群に比べ、1 群>II 群の順で左室機能が改善し、左室腔の拡大も有意に小さかった。また、グラフト容積は群のほう II 群より大きかった ($13,6 \pm 3.2$ vs. $8.0 \pm 2.4 \text{ mm}^3$, $p < 0.05$)。ドナー細胞について検討すると、1 群では全心臓標本で全梗塞領域にわたって認められたが、II 群ではいくつかの心臓標本でのみ認められ、その分布は限局していた。

以上より、複数回移植は、慢性心筋梗塞に対する骨格筋芽細胞移植において単回移植よりも効果的な細胞投与方法である可能性が示された。

本研究の結果は、低侵襲な手技を用いるものであり、将来の臨床応用の可能性を示唆するものであり、梗塞心に対する治療法としての骨格筋芽細胞移植の研究に寄与するところが大い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成 19 年 1 月 12 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。