

氏 名	おお の のぶ ひさ 大 野 暢 久
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1846 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Transplantation of cryopreserved muscle cells in dilated cardiomyopathy : Effects on left ventricular geometry and function (拡張型心筋症に対する凍結保存筋細胞移植：左室ジオメトリーと心機能に及ぼす影響)

論文調査委員	(主 査) 教 授 北 徹	教 授 野 間 昭 典	教 授 米 田 正 始
--------	------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】我々は拡張型心筋症患者の心不全進行を予防するための新治療の一つとして、細胞移植療法を研究してきた。この疾患は遺伝学的異常を始めとして、心筋細胞を包括的に傷害する原因が考えられるため、自家移植を前提とするならば、異常の無い心臓以外の細胞をドナーとして用いるべきである。また、臨床応用のためには、移植タイミングに合わせ、細胞を凍結保存する事が必要になって来るであろう。しかしながら、患者自身から採取されたそれらの細胞が凍結保存によってどのような影響を受けるか、移植後の組織構造や心機能がどう変化するかは知られていない。今回我々は、遺伝子異常が原因の心筋症ハムスター (δ -sarcoglycan-deficient BIO 53:58) から骨格筋筋芽細胞 (SKMC) と血管平滑筋細胞 (VSMC) を単離培養し、凍結保存後の変化を調べると共に、それらを同種の心筋症心に移植し、形態と機能に及ぼす影響を調べた。

【方法】(1) 培養実験：4週齢のBIO 53:58と正常ハムスターから、SKMCとVSMCを単離培養し凍結保存した。それらの細胞を解凍培養し、細胞形態と増殖率を凍結保存していない同継代数の細胞と比較した。

(2) 移植実験：また、凍結後のBIO 53:58由来SKMC (n=10)、VSMC (n=10) を 4×10^6 個ずつ、17週齢のBIO 53:58ハムスターの左室壁に移植した。コントロール群の左室壁には培養液のみ注入した (n=11)。5週間後にランゲンドルフ装置を用いて心機能を測定した後、左室の形態をプランメーターにて計測した。移植細胞の同定にはBrdUを使用した。

【結果】BIO 53:58から採取したVSMCは継代培養後特異な形態を示し、正常ハムスター由来の細胞と比較し増殖率が劣った。それらの異常は凍結保存後、より顕著になった。BIO 53:58のSKMC、及び正常ハムスターのSKMCとVSMCは凍結保存に影響されなかった。移植実験では、SKMC、VSMC共にレシピエント心筋内で筋類似組織を形成し、左室の菲薄拡大を抑制すると共に収縮能を温存した。しかし、その効果はSKMCの方がVSMCより大きく、培養実験の結果と類似していた。

【結論】健康な細胞は凍結保存しても移植後の効果が影響されず、心筋症心のリモデリングを最小に抑え心機能を温存した。移植細胞の状態は、心臓の形態及び機能の両面で移植効果に大きな影響を及ぼす。移植細胞の凍結保存は、拡張型心筋症に対する心筋細胞移植療法にとって、臨床応用可能かつ有用であろうと考える。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、非虚血性拡張型心筋症に対する細胞移植療法に関し、凍結保存法の細胞と移植効果に与える影響が、2種類の移植細胞（骨格筋由来筋芽細胞と血管平滑筋細胞）の比較を通して検討された。

実験は拡張型心筋症ハムスターBIO 53:58を用い、移植細胞の培養実験と移植実験の二つのパートに分かれている。培養実験では、BIO 53:58の血管平滑筋細胞は継代培養後特異な形態を示し、P3の時点で増殖率が正常の約31%に低下した。それらの異常はP2での凍結保存後、より顕著になり、解凍後の増殖率は22%まで低下した。筋芽細胞は凍結保存に影響されなかった。移植実験の結果、凍結保存されたBIO 53:58の2種類の細胞はどちらも移植後左室壁内に筋組織を形成し、

左室内腔の拡張と壁の菲薄化を抑制，収縮能を温存した。しかし，その効果は筋芽細胞の方がより高く，左室容積は未治療心1に対し筋芽細胞0.68，平滑筋細胞0.79であった。

重症心不全の細胞移植療法に関する研究は盛んであるが，多くは虚血性心筋症を対象としている。一方，移植細胞の凍結保存は，移植タイミングの調整など臨床応用における利点が多い。以上の結果は非虚血性拡張型心筋症の病態進行に対する凍結保存後の末梢筋細胞移植の治療効果を初めて証明すると同時に，移植前の細胞の状態が治療効果に影響することを示唆し，拡張型心筋症の治療開発に寄与するところが多い。

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16年1月8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。