

氏 名	たん ばら けい いち 丹 原 圭 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2878 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 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	Transplanted skeletal myoblasts can fully replace the infarcted myocardium when they survive in the host in large numbers. (移植骨格筋芽細胞は大量に生着すると梗塞心筋を完全に置換しうる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 和 田 洋 巳 教 授 瀬 原 淳 子

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

近年、細胞移植が末期の心不全に対する有望な治療法として出現し、なかでも骨格筋芽細胞移植は、従来の血行再建術に適さない慢性心筋梗塞にも有効であるとして注目されている。しかしながら、骨格筋芽細胞移植における至適条件は不明であり、移植細胞の数あるいは生着範囲と心機能に及ぼす効果との間の関係は明らかではない。本研究の目的は、ラットを用いて、大量の骨格筋芽細胞を梗塞部に移植した際に移植筋肉片が梗塞部を完全に置換し得るか否かを検討すること、および移植筋肉片の空間的広がりに関連づけて細胞移植後の左心室の大きさ及び機能の改善度を評価することであった。

【方法】

体重250～290グラムの雄のルイス・ラットで、全身麻酔・人工呼吸器下に左冠動脈前下行枝を結紮して心筋梗塞を作成し、その4週後に中等度の梗塞を持つラットに対して梗塞部への骨格筋芽細胞移植を施行した。ラットは移植細胞数によって、Ⅰ群(N=15, 移植細胞数 5×10^7)、Ⅱ群(N=15, 同 5×10^6)、Ⅲ群(N=15, 同 5×10^5)の3群に無作為分類された。ドナー細胞は新生仔ルイス・ラットから得て、継代培養することなく用いた。移植4週後、血行動態評価の後にラットを犠牲死させた。摘出した心臓はバラホルムアルデヒドで固定しパラフィン包埋した後100 μ mの間隔で薄切し、移植筋肉細胞の空間的広がりを決定するために抗 fast skeletal myosin heavy chain (FSMHC) 抗体で染色した。さらに Simpson 法を用いて移植筋肉片の体積を計算した。

【結果】

移植4週後、心エコーにて評価した左心室拡張期・収縮期径の減少度、左心室内腔面積変化率の増加度、梗塞サイズ減少度のいずれにおいてもⅠ群で最大であった。また、心臓カテーテル検査でも、Ⅰ群において収縮末期弾性(Ees)は最大(Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ: 0.72 ± 0.04 vs. 0.57 ± 0.04 vs. 0.34 ± 0.03 mmHg/ μ l, $P=0.0033$ for Ⅰ vs. Ⅱ, $P<0.0001$ for Ⅰ vs. Ⅲ), 等容性弛緩時定数(τ)は最小(15.4 ± 0.9 vs. 18.2 ± 1.0 vs. 20.6 ± 0.8 ms, $P=0.0033$ for Ⅰ vs. Ⅱ, $P=0.0002$ for Ⅰ vs. Ⅲ)となり、収縮機能・拡張機能ともにⅠ群が最も良好な結果を示した。組織学的検討では、Ⅰ群においてFSMHC陽性細胞が梗塞部全体を占め同部位の壁厚がほとんど正常化したのに対し、Ⅱ群ではFSMHC陽性細胞が梗塞部に沿って見られるものの壁厚は薄いままであり、Ⅲ群では壁の一部にFSMHC陽性細胞が見られるのみであった。移植筋肉片の体積はⅠ, Ⅱ, Ⅲ群でそれぞれ 39.7 ± 5.2 , 5.9 ± 0.9 , 0.9 ± 0.1 mm³であり、Ⅰ群で断然最大であった($P<0.0001$ for both Ⅰ vs. Ⅱ and Ⅰ vs. Ⅲ)。

【結論】

ラットの慢性梗塞モデルにおいて、継代培養せずに移植した新生仔骨格筋芽細胞は宿主に大量に生着して梗塞心筋を完全に置換し左心室リモデリングを逆行し得ること、ならびに、梗塞心に対する骨格筋芽細胞移植の有効性は移植筋肉片の体積と関連することが示された。

論文審査の結果の要旨

骨格筋芽細胞移植において、移植細胞の数あるいは生着範囲と心機能に及ぼす効果との間の関係は明らかではない。

本研究では、ルイス・ラットで、慢性心筋梗塞部に対する骨格筋芽細胞移植を、移植細胞数によりⅠ群（N=15, 移植細胞数 5×10^7 ）、Ⅱ群（N=15, 同 5×10^6 ）、Ⅲ群（N=15, 同 5×10^5 ）の3群に分類して施行した。ドナー細胞は新生仔ラットから得て継代培養せず用いた。移植4週後、心エコーおよび心臓カテーテル検査にて、Ⅰ群で心臓の大きさは最小で収縮・拡張機能はもっとも良好であり左心室リモデリングが逆行したが、Ⅱ群、Ⅲ群とその効果は順次劣っていた。組織学的検討では、Ⅰ群でのみ fast skeletal myosin heavy chain 陽性細胞が梗塞部全体を占め同部位の壁厚がほぼ正常化した。Simpson 法によって求めた移植筋肉片の体積はⅠ群で断然最大であった。

以上より、ラットの慢性梗塞モデルで、新生仔骨格筋芽細胞移植により梗塞心筋が完全に置換され左心室リモデリングが逆行し得ること、ならびに、梗塞心に対する骨格筋芽細胞移植の有効性は移植筋肉片の体積と相関することが示された。

本研究は、以上に示した結論を導いた以外にも、細胞移植後のグラフトの体積を計算する手法を考案した点で新規性を有しており、骨格筋芽細胞移植の臨床応用に向けた基礎実験として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17年2月9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。