

(様式3号)

## 学 位 論 文 の 要 旨

氏名 藤田 陽

### 〔題名〕

Hypoxic-conditioned cardiosphere-derived cell sheet transplantation for chronic myocardial infarction  
(慢性心筋梗塞モデルに対する低酸素刺激を併用したCDCシート移植治療の検討)

### 〔要旨〕

細胞移植治療はパラクライン効果を通じて、組織再生に適した環境を生み出すとされる。CDC (cardiosphere-derived cell) は再生医療に用いられる細胞種の中でも高いパラクライン効果を有すると考えられており、臨床応用が期待される。我々は以前から細胞シート技術に対する低酸素培養による細胞機能賦活化を研究しており、今回、低酸素培養を併用したCDCシートのウサギ心筋梗塞モデルにおける治療効果を検討した。

In vitroでは、低酸素培養 (2%O<sub>2</sub>) がCDCシートに与える影響をELISAとqPCRで評価した。低酸素培養を施行したCDCシートの培養上清では、VEGFの分泌量が通常酸素培養と比較して高い傾向にあった。また、低酸素CDCシートのmRNA解析ではVEGFに加え、ANG2の発現量も有意に増加しており、低酸素培養によるパラクライン効果の増強が示唆された。また、低酸素CDCシートを構成する細胞のApoptosisの増加は認めなかった。

In vivoでは、CDCシートをウサギ慢性心筋梗塞モデル(CMI)に貼付して治療効果を検討した。CMIモデルは左冠動脈の結紮で作製した。結紮後4週間の状態でCDCシートを貼付し、貼付後4週間(結紮後8週間)の時点で犠牲死させた。結紮前、シート貼付前、犠牲死前で心エコー評価を施行したところ、CDCシート治療で有意な左室駆出率の改善を認めた。また、この改善は低酸素培養を併施したCDCシート群で有意に大きい結果であった。梗塞心の血管新生をトマトレクチン染色で評価したところ、低酸素CDCシート治療群では梗塞境界領域および梗塞領域でコントロール群と比較して有意に血管新生が増強していた。梗塞面積についてもマツソントリクローム染色で評価したところ低酸素CDCシート治療群では有意に梗塞面積が縮小していた。

CDCシート治療によりウサギCMIモデルの心機能改善効果が認められた。また、低酸素培養はCDCの血管新生効果を増強し、シート治療の効果を高めることが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 <b>1564</b> 号	氏 名	藤田 陽
論文審査担当者	主査教授	矢野雅文	
	副査教授	小林 誠	
	副査教授	廣野 公一	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Hypoxic-conditioned cardiosphere-derived cell sheet transplantation for chronic myocardial infarction (慢性心筋梗塞モデルに対する低酸素刺激を併用した CDC シート移植治療の検討)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Hypoxic-conditioned cardiosphere-derived cell sheet transplantation for chronic myocardial infarction (慢性心筋梗塞モデルに対する低酸素刺激を併用した CDC シート移植治療の検討)			
掲載雑誌名 European journal of Cardio-Thoracic Surgery 第56巻 P.1062 ~ 1074 (2019年12月 <input checked="" type="checkbox"/> 掲載・掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>我が国は高齢化社会を迎え、心不全患者数は潜在的患者も含めると約 160 万人に上り、そのうち虚血性心疾患によるものは約半数の 80 万人とされる。重症心不全患者に対する根本的治療法には心臓移植が考えられるが、ドナー不足や移植後の免疫抑制に伴う問題を考えると現実的な選択肢ではない。細胞移植治療はパラクライン効果を通じて、組織再生に適した環境を生み出すとされる。CDC(Cardiosphere-Derived Cell)は再生医療に用いられる細胞種の中でも高いパラクライン効果を有すると考えられており、臨床応用が期待される。我々は以前から細胞シート技術と低酸素培養による細胞機能賦活化を研究しており、今回、低酸素培養を併用した CDC シートのウサギ心筋梗塞モデルにおける治療効果を検討した。In vitro では、低酸素培養(2%)が CDC シートに与える影響を ELISA と qPCR で評価した。低酸素培養を施行した CDC シートの培養上清では VEGF の分泌量が通常酸素培養と比較して高い傾向にあった。また、細胞シートの mRNA では VEGF に加え、Ang2 の発現量も有意に増加しており、低酸素培養によるパラクライン効果の増強が示唆された。また、低酸素培養による Apoptosis の増加は認めなかった。In vivo では、CDC シートをウサギ慢性心筋梗塞モデル(CMI)に貼付して治療効果を検討した。CMI モデルは左冠動脈の結紮で作製した。結紮後 4 週間の状態で CDC シートを貼付し、貼付後 4 週間(結紮後 8 週間)の時点で犠牲死させた。結紮前、シート貼付前、犠牲死前で心エコー評価を施行したところ、CDC シート治療で有意な左室駆出率の改善を認めた。また、この改善は低酸素培養を併施した CDC シート群で有意に大きかった。梗塞心の血管新生をトマトレクチン染色で評価したところ、低酸素 CDC シート治療群では梗塞境界領域および梗塞領域でコントロール群と比較して有意に血管新生が増強していた。梗塞面積についてもマッソントリクローム染色で評価したところ低酸素 CDC シート治療群では有意に梗塞面積が縮小していた。CDC シート治療によりウサギ CMI モデルの心機能改善効果を認めた。また、低酸素培養は CDC の血管新生効果を増強し、シート治療の効果を高めることが示唆された。</p> <p>本研究は、慢性心筋梗塞に対する低酸素刺激を併用した CDC シートの有用性を明らかにした論文であり、学位論文として価値あるものとして認めた。</p>			