

論 文 要 旨

Heparin induces the mobilization of heart-derived multipotent mesoangioblasts during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass or cardiac catheterization
(ヘパリンは心臓カテーテル検査中、人工心肺を用いた心臓手術中に心臓由来のヒト多能性mesoangioblastsを循環血中に動員する)

関西医科大学 内科学第二講座
(指導：塩島 一郎 教授)

秦 亮嘉

【研究目的】

心不全患者の予後はいまだ極めて不良であり、新しい治療法の開発は急務である。幹細胞・前駆細胞療法は有望な治療方法の1つであると考えられているが、我々は以前に増殖能、分化能が非常に高い細胞 **Mesoangioblasts (MAB)** を開心術中の患者循環血中から発見した。臨床応用を考えた際にヒト**MAB**は機能的に大変有望な細胞の1つと考えられるが、**MAB**の血中への動員を誘導するには人工心肺の装着が必要であり、これは現実的な方法ではない。その後の検討で、私達は開心術中に誘導される**MAB**の循環血中への動員に**Hepatocyte Growth Factor (HGF)** が関与している事を強く示唆する結果を得た。開心術に際して使用されるヘパリンは投与後迅速に血中**HGF**濃度を上昇させる事が知られており、今回の研究では、ヘパリンと**MAB**の血中への動員の関連について臨床的に検討した。

【研究方法と結果】

当院で開心術・心臓カテーテル検査をうけた患者から、術中・検査中に血液サンプルを採取し、単核球分画の培養を行い、培養14日目の**MAB**コロニー数を評価した。血漿**HGF**濃度は**ELISA**を用いて測定した。

まず始めに開心術中の患者の検討から開始した。開心術ではまずヘパリン(300U/kg)が投与され、その後、カニキュレーションが行われ、人工心肺が導入される。そこで、人工心肺稼働前・停止後の2点において血液サンプルを採取し比較検討したところ、人工心肺稼働前の時点で、すでに血漿**HGF**濃度が上昇し、**MAB**の動員が誘導されている事がわかった。この事は、人工心肺が**MAB**動員に必須で無い事を意味する。

ヘパリンの効果を更に検討する目的で、次に心臓カテーテル検査中の患者において検討を行ったところ、ヘパリンは容量依存性に(100U/kg、200U/kg、300U/kg)血漿**HGF**濃度を上昇させ、**MAB**の循環血中への動員を誘導することがわかった。獲得できた**MAB**はこれまでの私達の報告に一致して、**CD45**などの血球系マーカーを発現しておらず、**CD73**などの間葉系マーカーを発現し、**c-Met**(**HGF**受容体)を発現していた。また、**KDR**や**Nkx2.5**、**GATA4**、**MEF2c**といった心血管中胚葉系マーカーを発現し、人工多能性幹細胞の誘導に必要な4つの遺伝子の内、**Oct3/4**、**KLF-4**、**c-Myc**の3つを発現していた。

MABのnicheについて検討する目的で、心臓カテーテル検査中の患者において血液サンプルを大動脈弁輪部、右房、冠状静脈から同時に採取し比較検討したところ、大動脈弁輪部と比較し冠状静脈で有意な**MAB**コロニー数の増加を認めた事から、ヘパリンは主に心臓から**MAB**を動員する事がわかった。

【考察】

MABはもともと胎生期のマウスの背側大動脈領域から単離された細胞で、間葉系幹細胞(**MSC**)の1つと考えられており、その後、マウスやヒトの心臓内に存在する事が報告された。今回の研究において、私達はヘパリンが、おそら

く血中の HGF 濃度の上昇を介して心臓カテーテル検査中に、主に心臓から MAB を循環血中に動員する事を示した。MAB は KDR や Nkx2.5、GATA4、MEF2C などを発現し、血管内皮細胞、平滑筋細胞、心筋細胞に分化し、マウスの心筋梗塞モデルにおいて心機能の改善を促進する。2013 年に骨髄由来の MSC をサイトカインカクテルで、前処置を行い Nkx2.5 や GATA4、MEF2C を発現させた上で、慢性心不全患者に投与する臨床試験が報告され、MSC 治療群で有意な心機能の改善を認めている。MAB はヒトにおいて比較的簡単に細胞を採取する事が可能であり、この点においても心不全患者の治療を考えた際に有望な細胞の 1 つであると考えられた。