

# 第 13 回小児心血管分子医学研究会 プログラム・抄録集

- 会 期            2010 年 7 月 8 日（水）            18:30 20:30  
                    (第 4 6 回小児循環器学会学術集会第 2 日目)
- 会 場            シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ホテル (D 会場)  
                    千葉県浦安市舞浜 1-9
- 会 長            南沢 享  
                    早稲田大学先進理工学部生命医科学科

参加費            1,000 円  
日本小児循環器学会暫定指導医・専門医更新用研修単位    8 単位

## 第 13 回小児心血管分子医学研究会 プログラム

テーマ：「心血管再生工学の新たな展開」

### 1 宿題報告

横浜市立大学医学部 助教 横山 詩子  
「動脈管のリモデリング—酸素の役割」

### 2 指定講演

国立循環器病研究センター研究所分子生物学部 森崎 裕子  
「新規遺伝性心血管疾患 ロイス・ディーツ症候群について」

### 3 特別講演 1

早稲田大学高等研究所 准教授 岩崎 清隆  
「血管・心臓弁の再生医工学技術」

### 4 特別講演 2

千葉大学循環病態医科学 准教授 永井 敏雄  
「体性幹細胞移植による心筋再生の機序」

## Induction of Reactive Oxygen Species Mediated-Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Intimal Thickening of the Rat Ductus Arteriosus

Utako Yokoyama<sup>1</sup>, Mei-Hua Jin<sup>1</sup>, Toru Akaike<sup>2</sup>, Aki Shioda<sup>1</sup>,  
Susumu Minamisawa<sup>3</sup>, Yoshihiro Ishikawa<sup>1</sup>

Yokohama City University Graduate School of Medicine<sup>1</sup>  
University of California, Los Angeles<sup>2</sup>  
Waseda University<sup>3</sup>

Intimal thickening (IT) is an important remodeling for anatomical closure of the ductus arteriosus (DA). Although the immediate rise of oxygen tension at birth contracts DA smooth muscle, the role of oxygen in vascular remodeling remains unknown. Oxygen promotes postnatal occlusion via enhancing IT in the DA. Tissues from the rat DA and the aorta of embryonic day 19 and 21, and day of birth were used for RT-PCR and immunohistochemistry. Rat artery at embryonic day 19 and day 21 were used for organ culture and primary culture of smooth muscle cells (SMCs), respectively. Basic fibroblast growth factor (bFGF) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production were measured by ELISA. Hyaluronan production and SMC migration were assessed by a latex agglutination and a Boyden chamber method. We found that raising oxygen tension (2.5% to 21%) increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and bFGF production in DA SMCs (1.7- and 4.3-fold, P<0.01, n=6) but not in aortic SMCs. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> significantly increased bFGF production in DA SMCs (5.0-fold, P<0.01, n=6). The expression level of bFGF mRNA was abruptly increased after birth in DA tissues (4.4-fold vs embryonic day 21, P<0.01, n=8), but not in the aorta. Immunohistochemistry showed that bFGF was predominantly expressed in the part of IT of the DA. Oxygenation, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and bFGF promoted DA SMC migration (2.0-fold and 1.8-fold, respectively, P<0.01, n=8). Oxygen- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced migration were attenuated by oxidase inhibitors (apocynin and beta-aminopropionitrile) and anti-bFGF antibody, respectively. Moreover, bFGF produced hyaluronan (6.6-fold, P<0.01, n=8), which was known to contribute to IT and increased phosphorylation of the mitogen-activated protein kinases (MAPKs), such as extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), p38 and c-Jun N-terminal kinase (JNK) (6.8-, 3.0- and 2.7-fold, P<0.01, n=4) in DASMCs. bFGF-induced hyaluronan production was attenuated by ERK1/2, p38 and JNK inhibitors (U0126, SB203580, SP600125). bFGF significantly promoted IT (2.2-fold, P<0.01, n=8) in DA organ culture. These results suggest that oxygenation contributes to postnatal anatomical closure of the DA via bFGF-mediated IT. Combination of bFGF and inhibition of PGE may be effective therapeutic strategy for the patent DA.

〈 メ モ 〉

## 「新規遺伝性心血管疾患 ロイス・ディーツ症候群について」

国立循環器病研究センター 研究所分子生物学部  
同 臨床遺伝科

森崎裕子

ロイス・ディーツ症候群 (Loeys-Dietz syndrome: LDS) は TGF- $\beta$  受容体 (TGFBR1 / TGFBR2) の遺伝子変異による常染色体優性遺伝性結合織疾患として近年新規に提唱された症候群で、血管系症状 (全身動脈の蛇行性病変、動脈瘤・解離) と骨格系症状 (眼間解離、口蓋裂または二分口蓋垂、漏斗胸または鳩胸、側彎、弛緩性関節、先天性内反足、他) を主徴とする疾患である。臨床症状のみからは、マルファン症候群 (MFS) などの類縁の結合織疾患との鑑別は難しいことも多く、現時点では、診断は遺伝子解析によるところが大きい。

LDS の疾患臨床像は非常に幅広く、一部の症例では、MFS と酷似した所見を呈し現行の MFS の診断基準をも満たす症例もある一方で、血管型エーラスダンロス症候群や Shprintzen -Goldberg 症候群に酷似した臨床像を呈する症例や、血管系以外の症状はほとんど伴わない症例まである。しかし、そのような症例でも、詳細に所見を検討すると LDS に特徴的な所見を認めることが多い。

血管系症状に関しては、LDS は、MFS 等の類縁結合織疾患に比べてより若年で大動脈瘤を発症し、またより小さい血管径でも動脈解離にいたる傾向があることから、若年期からより慎重な心血管系管理が必要であるとされている。一方で、大動脈病変に対する予防的外科治療の成績は良好であり、早期診断・早期治療により、QOL の改善が見込まれる疾患でもある。しかし、現状では、疾患に対する認知度が低いこともあり、正しい診断と必要な治療管理がなされていないため大動脈解離に到っている症例は少なくない。また、報告はまだ少ないが、新生児症例においては、多発奇形等、染色体異常症に類似した病像を呈し、重篤な経過をたどることも多い。

今回は、新規遺伝性心血管疾患である LDS の臨床像、特に特徴的所見や MFS との鑑別点について紹介したい。

〈 メ モ 〉

## 血管・心臓弁の再生医工学技術

早稲田大学高等研究所, TWIns 先端生命医科学センター 岩崎清隆

ES 細胞や iPS 細胞また骨髄細胞といった細胞ソースに関する幹細胞生物学研究と、欠損した組織を再建・修復するための 3 次元機能性組織を細胞を利用して再構築する組織工学研究は、再生医療を実現するための 2 本柱であることは広く認知されている。厚みのある組織を構築するには、酸素や栄養を組織内の細胞に供給でき、かつ老廃物等の代謝物を細胞周辺から除去することが必須なため、バイオリアクターを用いた培養技術が必須であると考えられている。これは、酸素拡散の範囲は  $100\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$  に限定されており、一般的なインキュベータによる静地培養では限界があるためである。このハードルを越えるべく、様々な組織・臓器を対象として組織工学研究が行われている。一方、細胞を培養して組織を構築するアプローチではなく、同種または動物の組織から拒絶反応の原因となる細胞成分を除去し、各組織特有の形態及び微細構造を保持した組織を再生の足場として利用して、体内で細胞が浸潤して再生が期待できる移植組織として応用する研究も精力的に行われている。

我々は、移植後に体内でホストの細胞が入り込んで再生・自己組織化を誘導する移植組織の開発を目指し、人工心臓の技術を駆使して生体内の拍動循環流を作用させながらデオキシコール酸で処理し、さらにマイクロ波を合わせて作用させることで、大動脈弁といったコラーゲンとエラスチンからなる厚い組織から拒絶反応を引き起こす最大の原因となる細胞成分を完全に除去する技術を開発してきた。本技術の最大の特徴は、コラーゲンや弾性線維等の細胞外マトリクスを損傷せず組織強度を保持でき、細胞内の DNA を除去できるところにある。また、循環シミュレータや人工心臓の開発経験をもとに、体内の血圧・血流及び二酸化炭素濃度・pH に制御可能な拍動循環バイオリアクターを開発し、細胞と分解吸収性高分子を利用して動脈圧に耐えうる力学的特性を有する 3 層血管を開発する研究を推進している。本講演では、これらの現況と展望について紹介する。

〈 メ モ 〉



## 体性幹細胞移植による心筋再生の機序

千葉大学大学院医学研究院 循環病態医科学

永井敏雄

細胞移植治療は心筋再生治療の重要な戦略のひとつである。しかし、最適な移植細胞の種類、移植効果の機序の解明、および、移植細胞を効率よく生着させる方法は未解決である。我々は、これまでに、成体の心臓の Stem cell antigen-1(Sca-1)陽性細胞と心臓 side population 細胞が心筋幹前駆細胞として、in vitro、in vivo で機能的な心筋細胞へ分化することを報告した(J Biol Chem. 279:11384-91, 2004, J Cell Biol 176:329-341, 2007)。我々は、さらに、心臓 Sca-1 陽性細胞から確立した心筋幹/前駆細胞株(CPC)が、骨髄単核球細胞、脂肪間葉系細胞、骨格筋芽細胞に比較して、心筋梗塞モデルマウスの心機能を改善し、心筋梗塞範囲を縮小することを明らかにした。この移植効果は、CPC 細胞シートおよび CPC 自家組織化ナノペプチド (PuraMatrix™) 複合体を用いた移植方法で顕著であった。CPC の移植効果の機序として、移植細胞の生着、CPC の心筋細胞への分化、血管新生と抗アポトーシス作用が関与するが、この過程において CPC のパラクライン因子のひとつである sVCAM-1 が重要である。sVCAM-1 は心筋細胞保護、内皮細胞の遊走と管腔形成、CPC の遊走促進作用を有し、移植した CPC 細胞シートの生着にも関与していた(J Clin Invest. 2009 ;119 :2204-17)。一方、自家組織化ナノペプチドは 3 次元移植床を構築できるが、厚肉の移植床では細胞の生着が問題となる。我々は、自家組織化ナノペプチドに細胞外マトリックスのペプチドモチーフを修飾した移植床を用いることにより、心筋梗塞モデルマウスへの CPC の移植効果の改善を得た。今後、新規パラクライン因子の解明と細胞の生着効率をさらに改善した組織工学的手法と移植細胞の分化誘導が重要である。

〈 メ モ 〉

和光純薬工業(株) 代理店

◆ 免疫分野／分子生物分野／細胞工学分野／分離・分析分野  
その他各分野関連試薬・機器



# 株式会社 薬研社

[www.yakukensha.co.jp](http://www.yakukensha.co.jp)

【本社】 〒260-0843 千葉市中央区末広3丁目12番6号  
TEL 043-265-4141 (代表) FAX 043-265-4143

【柏営業所】 〒277-0831 千葉県柏市根戸386番15  
TEL 04-7137-2255 (代表) FAX 04-7137-2250

【東京営業所】 〒135-0001 東京都江東区毛利1-21-2 フォディアビル 6階  
TEL 03-6890-0007 (代表) FAX 03-6890-0018

お問い合わせ先 日本小児心血管分子医学研究会  
国立循環器病研究センター小児循環器部 代表幹事 白石 公  
〒565-8565 吹田市藤白台 5-7-1  
Tel: 06-6833-5012, Fax: 06-6835-5256