

厚生科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

骨髄細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究

平成15年度 総括研究報告書

主任研究者 福田恵一

平成16（2004）年4月

目 次

I.総括研究報告書	
骨髄細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究 福田恵一	1
II.分担研究報告書	
1. 骨髄間葉系幹細胞樹立に関する研究 安藤潔	7
2. 心筋細胞移植法の検討 中谷武嗣	9
III.研究成果に関する一覧表	13
IV.研究成果の刊行物・別冊	21

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

総括研究報告書

骨髄細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究

主任研究者	福田 恵一	慶應義塾大学医学部心臓病先進治療学 講師
研究協力者	久下康代、川口治子 富田雄一、藤田淳、 湯浅慎介、板橋裕史、	慶應義塾大学医学部心臓病先進治療学 慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科

研究要旨

本年度の研究では再生心筋細胞の移植法を開発するため、細胞シートを製作する方法を開発した。具体的には重合 fibrin 膜上で心筋細胞を培養し、fibrin が半融解したところで回収することによりシート化に成功した。この方法は従来の温度感受性培養皿に比して特殊な技術を必要とせず、簡便かつ細胞の種類を選ばない利点を有した。また、再生心筋細胞に神経支配を惹起させるには心臓と交感神経支配の分子機序を明らかにする必要がある。我々はエンドセリン-1 が autocrine に心筋細胞に働き、NGF を分泌させることにより心臓と交感神経の回路が形成されることを解明した。さらに、これまで我々は骨髄間葉系幹細胞が心筋細胞分化能を持つと報告してきたが、近年造血幹細胞にも多分化能の存在が指摘された。これを確認すべく、両者を分離して骨髄移植を行った。その結果、造血幹細胞には心筋分化能はなく、間葉系幹細胞に心筋分化能があることが明らかとなった。

本年度では主として以下の3種の研究を行い、再生心筋細胞実用化のための基礎研究を行うことを目的とした。第一に重合フィブリン膜を利用した心筋細胞シートの作成と、これを利用した電気生理学的解析および移植実験による心筋細胞移植法の実用化に向けた基礎検討、第二に移植心筋に再神経化を行うための心臓と交感神経のクロストークを規定している液性因子の同定と神経再生のための基礎研究、第三に骨髄移植モデルを用いた in vivo で心筋分化能を有する幹細胞の同定を行った。

【研究1】重合フィブリン膜を利用した心筋細胞シートの作成

A.目的

再生させた心筋細胞を組織として移植するために、細胞シートを製作する方法を開発する。さらに、この作成した心筋細胞シートを皮下に移植すると共に、in vitro での電気生理学的研究に応用する。

B.方法

Fibrinogen と thrombin 溶液をある一定の濃度で混合し、培養皿上に添加し、重合 fibrin 膜による培養皿のコーティングを行う。この上に初代培養心筋あるいは再生心筋細胞を重層し、培養する。数日後 cell scraper で細胞シートを剥離する。その後細胞シートの培養を続けるとともに一部の細胞シートではラット皮下に移植し、定期的に拍動の状況、組織学的所見を観察した。

C.結果

重合 fibrin 膜を用いることにより、心筋細胞が得られることが可能となった。重合 fibrin は心筋細胞より分泌される内因性 protease により、次第に溶解され、シート作成 7 日目にはシート中から完全に除去され細胞シートのみとなった。皮下に移植されたシートは長期間生着し、in vitro の状態よりも強く拍動した。

D.考察

従来報告されている温度感受性培養皿に比し、より簡便に、特殊な培養皿を必要としない細胞シート作成法であり、汎用性のある方法であると考えられた。

E.結論

再生心筋細胞を移植する際に従来の注射針による移植法に比し、より効率良く、組織として細胞を移植する方法を開発することに成功した。

【研究2】心筋細胞の交感神経支配を決定する因子の解明

A.目的

心臓の交感神経は骨格筋等に比して密であり、心筋虚血等による除神経時および再神経時には不整脈の基質となったり、心不全時には神経機能が低下することが知られている。心臓の交感神経支配を決定する液性因子を明らかにする。

B.方法

初代培養心筋細胞に心臓において重要とされる種々の液性因子を投与し、心筋細胞が発現する神経成長因子の発現をスクリーニングした。スクリーニングした液性因子が神経成長因子発現に至るシグナル伝達経路を明らかにした。さらに、この遺伝子をノックアウトしたマウスでの心臓に対する交感神経の支配を観察した。

C.結果

心筋細胞に種々の液性因子を投与したところ、エンドセリン-1のみが特異的に神経成長因子(NGF)の発現を促進した。エンドセリン-1によるNGF発現はET-A受容体、G β y、PKC、Src、ERKを介する経路により伝達された。エンドセリンKOマウスでは心臓の交感神経支配はほとんどが消失し、交感神経節(星状神経節)の細胞もアポトーシスに陥っていた。心臓特異的にNGFを発現するtransgenic mouseとエンドセリンKOマウスを掛け合わせると、心臓で消失していた交感神経がrescueされ心臓に再神経支配が観察された。

D.考察

心臓に対する交感神経の支配は心筋細胞自身が分泌するエンドセリン-1がautocrineに作用してET-A受容体を介し、心筋細胞よりNGFを分泌させる。このNGFは神経堤細胞より交感神経を心臓に呼び込み、心臓の交感神経形成を行うものと推測された。

E.結論

心筋細胞と交感神経の細胞はエンドセリン-1とNGFを介したクロストークを行うことにより、密接に関係しながら発達することが示された。

【研究3】骨髄移植モデルを用いたin vivoで心筋分

化能を有する幹細胞の同定

A.目的

①造血幹細胞単独あるいは②造血幹細胞+間葉系幹細胞のいずれかを骨髄移植し、骨髄内の造血幹細胞と間葉系幹細胞のいずれに心筋再生能があるかを検討する。

B.方法

GFPトランスジェニックマウスより全骨髄(造血幹細胞+間葉系幹細胞)あるいは単一造血幹細胞のみを選択し、致死量の放射線を照射した別のマウスに骨髄移植を行った。2ヶ月後に心筋梗塞を作成する。心筋梗塞作成2ヶ月後に共焦点レーザー顕微鏡を用いてGFP陽性の心筋細胞を観察した。

C.結果

造血幹細胞単独の移植群ではGFP陽性の心筋細胞は観察されなかった。造血幹細胞+間葉系幹細胞の移植群ではGFP陽性の心筋細胞が観察され、心筋分化能を有するのは間葉系幹細胞出あることが推測された。

D.考察

骨髄幹細胞のうち、多能性を示すのは造血幹細胞であるのか、間葉系幹細胞であるのかという問題は近年の再生医学のトピックの一つであった。本研究ではこれに答えを出したものである。

E.結論

骨髄細胞中で多分化能を有するのは間葉系幹細胞であり、造血幹細胞ではないことが明らかとなった。

F.健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない。

G.研究発表

1. 論文発表

1. Keiichi Fukuda. Use of adult mesenchymal stem cells for regeneration of cardiomyocyte and its application to cell transplantation therapy. **Bone Marrow Transplant.** 32:S25-S27, 2003.
2. Keiichi Fukuda. Stem cell transplantation as a mode of regenerative medicine. **Jpn Med Association J.** 46(8):333-338, 2003
3. Keiichi Fukuda. Reprogramming of bone marrow mesenchymal stem cells into cardiomyocytes. **Competes Rendus Biologies** 325:1-12. 2002

4. Hiroaki Kodama, Keiichi Fukuda, Eiichi Takahashi, Satoko tahara, Yuichi Tomita, Masaki Ieda, Kensuke Kimura, Koji M Owada, Kristiina Vuori, Satoshi Ogawa, Selective involvement of p130Cas/Crk/Pyk2/c-Src in endothelin-1-induced JNK activation. **Hypertension** 41:1372-1379, 2003
5. Ariizumi T, Kinoshita M, Yokota C, Takano K, Fukuda K, Moriyama N, Malacinski GM, Asashima M. Amphibian in vitro heart induction: a simple and reliable model for the study of vertebrate cardiac development. **Int J Dev Biol**. 2003;47:405-410.
6. Keiichi Fukuda. Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow: Use of mesenchymal stem cell for cardiovascular tissue engineering. **Cytotechnology**. 41:165-175, 2003.
7. Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, Yuichi Tomita, Jun Fujita, Masaki Ieda, Satoko Tahara, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Satoshi Ogawa Cardiomyocytes undergo cells division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats. **Mol Cell Biochem**. 259:177-181, 2004
8. Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Kensuke Kimura, Isao Shibuya, Haruko Kawaguchi, Toshikazu Nakamura, Hidezo Mori, Koji Kimura, Naoto Fukuyama, Kenichiro Kosai, Satoshi Ogawa. Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase. **J Am Coll Cardiol (in press) 2004**
9. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Kouji Shimoda, Eiko Takeshita, Hideyuki Okano, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu, Linda Salamone, Howard J. Federoff, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. **J Clin Invest** 113: 1-10, 2004
10. Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, Shunichiro Miyoshi, Mitsushige Murata, Takahiro Kato, Makoto Ita, Tsutomu Tanabe, Satoshi Ogawa. LIF activates cardiac L-type Ca^{2+} channels via phosphorylation of serine 1829 of rabbit Cav1.2 **Circ Res**. (in press)2004.
11. Keiichi Fukuda. Regenerative medicine for cardiomyocyte. **Jap Med Ass J**. 46: 333-338, 2003.
12. Keiichi Fukuda. Application of mesenchymal stem cells for the regeneration of cardiomyocyte and its use for cell transplantation therapy. **Human Cell**. 13: 83-94, 2003
13. Keiichi Fukuda. Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and its application to cell transplantation therapy. **Mesenchymal Stem Cells: Biology and Potential Clinical Use**. pp121-145. Santiagi Grisolia, M. Dolores Minana, Elena Bendala-Tufanisco, Edit. 2003. Ministerio De Sanidad Y Consumo (Madrid, Spain)
14. Fukuda K. Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy. **Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease**, pp39-49, 2004, edited by Richard K. Burt and Alberto Marmont. (Landes Bioscience, USA)
15. 藤田尚代、長田道夫、金本勝義、福田恵一、大森さゆ、飛弾麻里子、粟津緑。培養尿細管細胞周期的伸展刺激による p 38MAP キナーゼの活性化。日本小児腎臓病学会雑誌 16 巻 1 号 29-33。2003 年
16. 板橋裕史、福田恵一。『心筋再生療法』『日本臨床:増刊号:冠動脈の臨床』2003 年日本臨床社 (印刷中)
17. 福田恵一。『幹細胞による心筋再生療法』。Annual Review 循環器 2003。2003 年: 25-28。中外医学社。
18. 福田恵一、板橋祐史。『体性幹細胞による心筋再生療法』現代医療の最前線 最新医学増刊号 644-647。最新医学社刊 2003 年 3 月。
19. 福田恵一。「心筋の再生」 39-46。再生医療。ティッシュエンジニアリング&生体材料最前線 田中順三・四宮謙一編 日刊工業新聞社刊
20. 八木崇、福田恵一。内科増刊号 91 巻。内科キーワード 2003。『心血管病の遺伝子治療』1229-1230。南江堂刊
21. 八木崇、福田恵一。内科増刊号 91 巻。内科キーワード 2003。『心筋再生療法』1231-1232。南江堂刊
22. 真鍋知宏、福田恵一。心臓ナビゲーター。EVIDENCE BASED MEDICINE: SOLVD。144-145、2004。メディカルレビュー社。浅

田祐士郎他編集。

23. 福田恵一、伯野大彦。『骨髄幹細胞由来の再生心筋細胞における交感神経・副交感神経受容体の発現と機能解析』循環器専門医 2003年11巻3月号 21-28
 24. 真鍋知宏、福田恵一。心筋形成と再生医療。細胞工学。22巻5号、525-528,2003年
 25. 真鍋知宏、福田恵一。『フローサイトメトリー』Heart View. 11巻66-67、2003年
 26. 真鍋知宏、福田恵一。『心筋再生の現状』Angiology fronteer.2巻3号。50-55、2003年
 27. 湯浅慎介、福田恵一。『心筋の再生戦略』Surgery Fronteer.10巻3号31-35、2003年
 28. 福田恵一。『骨髄間葉系幹細胞を用いた心筋再生の現状と展望』医学のあゆみ 207巻11号905-908、2003年
 29. 福田恵一。『Regulation of Angiogenesis in Models of Ischemia and Arteriosclerosis I』AHA ハイライト 2003:152-159 2004年2月。
 30. 福田恵一。『G-CSFを用いた循環器再生医療』Medical View Points2004年3月25巻4号4。
 31. 福田恵一。『骨髄間葉系幹細胞を用いた心筋細胞の再生』東海循環器核医学研究会記録集38:1-4, 2003
 32. 林田健太郎、福田恵一。『循環器疾患における再生療法:心筋細胞の再生』The Circulation Forntier 2004年8巻1号18-25。
 33. 福田恵一。『骨髄幹細胞を用いた筋組織再生:心筋細胞の再生』2004年41巻3号344-349。
2. 学会発表
 1. Korean Circulaion Society Scientific meeting. Development of regenerated cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells for cardiovascular tissue engineering. 4.17.2003 韓国、済州島(招聘講演)
 2. Keichi Fukuda. Lesson from GFP+ bone marrow transplanted mice: Regeneration of infarcted myocardium by cytokine administration.第68回日本循環器学会総会シンポジウム 2004年3月 東京フォーラム
 3. Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Keiichi Fukuda. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. Keystone symposia. 2004. 3. 8-12, Colorado, USA
 4. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Yasuyo Hisaka, Kensuke Kimura, Haruko Kawaguchi, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 disruption retards cardiac sympathetic nerve development by down regulation of nerve growth factor American Heart Association. 75th Scientific meeting 2003.11.17-20, Orlando, USA
 5. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Mitsuyo Tsuma, Kiyoshi Ando, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Johbu Itoh, Tomomitsu Hotta, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda G-CSF improves post-infarction heart failure by mobilizing bone marrow stem cells, but GM-CSF increases the mortality by deteriorating heart function in mice. Keystone conference molecular cardiovascular disease 2004.3.8
 6. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Yasuyo Hisaka, Kensuke Kimura, Haruko Kawaguchi, Satsohi Miyatake, Jun Fujita, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Tomohiro Manabe, Hiroki Kurihara, Yukiko Kurihara, Satoshi Ogawa. Endothelin-1-induced nerve growth factor production from cardiomyocytes is essential for sympathetic innervation American Heart Association. 75th Scientific meeting 2003.11.17-20, Orlando, USA
 7. Yuji Itabashi, Shunichirou Miyoshi, Tatsuya Shimizu, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Fumiyuki Hattori, Teruo Okano, Keiichi Fukuda; Direct Demonstration of Electrical Disconnection of the Cell Sheets between Cardiomyocytes and Skeletal Muscle Cells by Optical Mapping. 75th Scientific meeting 2003.11.17-20, Orlando, USA
 8. Yasuyo Hisaka, Masaki Ieda, Kensuke Kimura, Haruko Kawaguchi, Keiichi Fukuda Powerful and Controllable Angiogenesis by Gene-modified Cell Transplantation Expressing hHGF and TK Genes in Murine Hind Limb Ischemia, American Heart Association. 75th Scientific meeting 2003.11.17-20, Orlando, USA
 9. Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Masaki Ieda, Haruko Kawaguchi,; Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. G-CSF and HGF: Combination of Vasculogenesis and

- Angiogenesis. Synergistically Improves Murine Hind Limb Ischemia American Heart Association. 75th Scientific meeting 2003.11.17-20, Orlando, USA
10. 第3回日本再生医療学会シンポジウム 平成16年3月24日 福田恵一、家田真樹。「心臓における交感神経支配の形成機序の解明」幕張メッセ
 11. 第3回日本再生医療学会フォーラム 平成15年3月23日 福田恵一。「再生医療の実現のために」幕張メッセ
 12. 第26回日本造血幹細胞移植学会シンポジウム。福田恵一、川田浩志。「G-CSF and GM-CSF differentially affect the regeneration of infarcted myocardium by bone marrow-derived cells。」平成15年12月20日 パシフィコ横浜。
 13. Complex Catheter Therapeutics 2003. ファイアサイドセッション Angiogenesis/myogenesis 「G-CSF and GM-CSF differentially affect the regeneration of infarcted myocardium by bone marrow-derived cells」平成15年10月21日神戸ポートピアホテル
 14. 第43回日本核医学会 シンポジウム：心不全最新治療における心臓核医学の意義と展望「成体幹細胞を用いた心筋細胞の再生と細胞移植による心不全治療法の開発」福田恵一 平成15年10月28日
 15. 第7回日本心不全学会 プレナリーセッション 「G-CSF and GM-CSF differentially affect the regeneration of infarcted myocardium by bone marrow-derived cells。」福田恵一 平成15年10月25日 大阪国際会議場
 16. 第51回日本心臓病学会シンポジウム 東京国際フォーラム 「心血管再生医学の現状と将来」福田恵一 平成15年9月8日
 17. 第21回ヒト細胞学会 ミニシンポジウム 「心血管 tissue engineering を目指した再生心筋の開発」福田恵一「成体幹細胞を用いた心筋細胞の再生と心血管 tissue engineering」平成15年8月29日 ラフレさいたま 大宮
 18. 第45回日本老年医学会 シンポジウム 「高齢社会と再生医療」福田恵一 心筋再生による高齢者医療 平成15年6月18日
 19. 吉岡正豊, 福田恵一, 岡田保典, 潮見隆之, 開祐司, 宿南知沙, 家田真樹, 田原聡子, 服部文幸, 藤田淳, 真鍋智弘, 板橋祐司, 八木崇, 湯浅慎介, 木下正嘉, 林田健太郎, 松村圭祐, 川口治子, 久下康代, 小川聡: 血管新生抑制因子 chondromodulin-1 の胎仔・成獣心臓における発現、日本循環器学会、東京フォーラム、2004年3月。
 20. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 disruption decreases cardiac sympathetic innervation by downregulation of NGF. The 67th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Hakata, Japan (第68回日本循環器学会学術集会) 2004年3月27-29日東京フォーラム
 21. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Shinsuke Yuasa, Tomohiro Manabe, Takashi Yagi, Masaki Ieda, Kentaro Hayashida, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yasuyo Hisaka, Mitsuyo Tsuma, Tomomitsu Hotta, Hideyuki Okano, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda Bone marrow-derived regenerated cardiomyocytes after myocardial infarction were not originated from hematopoietic stem cells (第68回日本循環器学会学術集会) 2004年3月27-29日東京フォーラム
 22. Yuji Itabashi, Shunichirou Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Kojiro Tanimoto, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. Novel technique for fabricating myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. 平成16年3月29日、東京フォーラム
 23. Miyatake Satoru, Kawaguchi Haruko, Watanabe Kikuko, Ohmiya Yoshihiro, Hori Shingo, Ieda Masaki, Fujita Jun, Manabe Tomohiro, Yuasa Shinsuke, Hisaka Yasuyo, Fukuda Keiichi A Novel Prostaglandin E Synthase, mPGES-2, is Involved in Pressure Overload-induced Cardiac Hypertrophy in Rats. 平成16年3月29日、東京フォーラム
 24. Yuji Itabashi, S Miyoshi, T Shimizu, S Yuasa, J Fujita, K Tanimoto, A Furuta, T Okano, H Mitamura, K Fukuda, S Ogawa. Direct demonstration of the electrical uncoupling of cardiac- and skeletal- myocyte cell sheets by optical mapping 第68回日本循環器学会総会 2004年3月東京フォーラム
 25. Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Masaki Ieda, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Kiyoshi Ando, Keiichi

Fukuda 「G-CSF and HGF: Combination of vasculogenesis and angiogenesis synergistically improves murine hind limb ischemia」第68回日本循環器学会総会 2004年3月 東京フォーラム

26. 久下康代、藤田淳、川田浩志、家田真樹、川口治子、安藤潔、福田恵一「G-CSF と HGF の併用によるマウス下肢虚血に対する血管新生の相乗効果」第24回日本炎症・再生医学会 2003年11月 京都国際会議場
27. Jun Fujita, Yusuke Suzuki, Hiroshi Kawada, Kiyoshi Ando, Yuichi Tomita, Haruko Kawaguchi, Isao Shibuya, Shinsuke Yuasa, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda G-CSF Improves Post-infarction Heart Failure by Mobilizing Bone Marrow Stem Cells, but GM-CSF increases the Mortality by deteriorating heart function in mice. The 20th annual meeting of ISHR(International Society for Heart Research) Poster Award 2004.11.23
28. 久下康代、藤田淳、川田浩志、家田真樹、川口治子、安藤潔、福田恵一「G-CSF と HGF の併用によるマウス下肢虚血に対する血管新生の相乗効果」第44回日本脈管学会総会 2003年11月 アクロス福岡
29. 川口治子、木村謙介、家田真樹、田原聡子、佐藤敏彦、真鍋知宏、林田健太郎、久下康代、末松誠、福田恵一 3Neurotrophin-3, a Neurotrophic Factor, Is a New Member of Cardiomyocyte Hypertrophic Factor. 第76回 日本生化学大会、横浜 2003.10
30. 久下康代、藤田淳、川田浩志、家田真樹、川口治子、安藤潔、福田恵一「G-CSF と HGF の併用によるマウス下肢虚血に対する血管新生の相乗効果」第7回 Molecular Cardiovascular Conference 2003年9月 北海道キロロ
31. 家田真樹、福田恵一、木村謙介、久下康代、川口治子、田原聡子、富田雄一、藤田淳、真鍋知宏、板橋裕史、八木崇、湯浅慎介、木下正嘉、林田健太郎、吉岡正豊、松村圭裕、服部文幸、栗原由紀子、栗原裕基、石田純治、深水昭吉、小川聡 エンドセリン-1 による神経成長因子の誘導は心臓交感神経発達に必要不可欠である 第7回 Molecular cardiovascular Conference. 2003年9月1日
32. 宮武諭、川口治子、家田真樹、渡部紀久子、近江谷克裕、堀進悟、福田恵一。Prostaglandin E2 の心肥大作用と membrane associated prostaglandin E

synthase2 の誘導。第26回心筋代謝研究会 平成15年7月20日 全社協灘尾ホール

H. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況

1. 「虚血性疾患治療剤」国内 出願中 (特願 2003-078749、平成15年3月20日)
2. 「細胞シートを作製するための支持体をコーティングするための組成物、細胞シート作製用支持体及び細胞シートの製造方法」国内 出願中 (特願 2003-328340、平成15年9月19日)
3. 「幹細胞から心筋細胞を分化誘導する方法」国内 出願中 (特願 2003-032116、平成15年10月3日)
4. 「多能性幹細胞の増殖方法」国内 出願中 (特願 2004-1043428) 平成16年3月23日

厚生科学研究補助金高度先端医療研究事業
分担研究報告書

研究課題 骨髄成体幹細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発

分担研究者 安藤 潔 東海大学医学部・助教授

研究要旨

これまで、遺伝子標識した骨髄細胞を移植したマウスに心筋梗塞を作成することによりサイトカインで動員された骨髄由来細胞が心筋修復に関与することを報告してきた。しかし、骨髄中に存在している、いかなる細胞が動員され、心筋組織を再生するのか clonal level での検討を行なった。造血幹細胞が心筋細胞に分化する可能性は否定されたが、同じく骨髄に存在する間葉系幹細胞が末梢に動員され、心筋修復に関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

遺伝子標識した骨髄細胞を移植したマウスに心筋梗塞を作成することによりサイトカインで動員された骨髄由来細胞が心筋修復に関与することを報告してきた。平成 15 年度は骨髄中に存在している、いかなる細胞が動員され、心筋組織を再生するのか clonal level での検討を行なった。

B. 研究方法

GFP transgenic mice の骨髄細胞から Hoechst 33342 を用いて side population (SP) 細胞を sorting し、さらに c-kit 陽性・Sca-1 陽性・各種血液細胞分化マーカー陰性の細胞 (KSL-SP 細胞) を single cell sorting した。これら 1 個の細胞の移植で、致死量放射線照射後のマウスの骨髄造血を再構築することができる。さらに、マウス骨髄間葉系幹細胞からクローニングして得られた細胞株 (CMG 細胞) に、オンコサイトチン 2v プロモーターのコントロール下に GFP を発現するように遺伝子操作をした。以上より得られた細胞を、それぞれ致死量放射線照射後の同系のレシピエントマウスに移植した。移植は、レシピエントマウスの頸骨の骨髄内に全身麻酔下で直接注入した。

C. 研究結果

末分画の GFP 陽性骨髄を移植されたコントロール群においては、虚血部位に心筋のマーカーであるアクトニン陽性の GFP 陽性細胞が 100 枚のスライド標本のなかに 5000 個以上認められ、横紋を有した細胞がいくつか集簇している所見も散見されたが、1 個の GFP 陽性の造血幹細胞のみを移植されてマウスにおいては、アクトニン陽性の GFP 陽性細胞は 100 枚のスライド標本のなかに、3 個のみであった。以上より、心筋梗塞後に心筋を再生しうるメインの骨髄由来細胞は造血系細胞以外であることが

示唆された。次に、間葉系幹細胞の関与を検討した。まず予備実験をおこなって、CMG 細胞を放射線照射後のレシピエントマウスの骨髄に直接注入して移植することにより、レシピエントの骨髄に効率よく生着させることに成功した。骨髄内において CMG 細胞の一部は、間葉系幹細胞本来の多分化能を発揮して、脂肪細胞や骨細胞などの多系統の間葉系細胞に分化している所見が認められた。次に、まずオンコサイトチン 2v プロモーターのコントロール下に GFP を発現するように遺伝子操作をした CMG 細胞を、放射線照射後のマウスの骨髄内に直接移植し、心筋梗塞を作成して G-CSF を投与し、その後に心臓を取り出して評価を行なった。その結果、梗塞部位や梗塞周辺部位には、GFP を発現する CMG 細胞が認められた。

D. 考察

以上の研究結果を踏まえると、すべての組織幹細胞が同様の可塑性を持っているかについては疑問があり、慎重に検討する必要があると考えられた。しかし、骨髄由来の幹細胞によって他の臓器・組織の構成細胞が再生される可能性に関しては、今後の新たな再生医療に展開していくことが期待できると考えられた。

E. 結論

造血幹細胞が心筋細胞に分化する可能性は否定されたが、同じく骨髄に存在する間葉系幹細胞が末梢に動員され、心筋修復に関与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yahata T, Ando K et al.: A highly sensitive strategy for

- SCID-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow. *Blood*, 101, 2905-2913, 2003.
2. Kasahara H, Ando K et al.: Biodegradable gelatin hydrogel potentiates the angiogenic effect of fibroblast growth factor 4 plasmid in rabbit hindlimb ischemia. *J Am Coll Cardiol*, 41, 1056-1062, 2003
 3. Ito C, Ando K, et al.: Serum stem cell growth factor for monitoring hematopoietic recovery following stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 32, 391-398, 2003
 4. Sakai D, Ando K et al.: Transplantation of mesenchymal stem cells embedded in Atelocollagen gel to the intervertebral disc: a potential therapeutic model for disc degeneration. *Biomaterials*, 24, 3531-3541, 2003
 5. Matsumura T, Ando K, et al.: Functional CD5+ B cells develop predominantly in the spleen of NOD/SCID/gammac(null) (NOG) mice transplanted either with human umbilical cord blood, bone marrow, or mobilized peripheral blood CD34+ cells. *Exp Hematol*. 31, 789-797, 2003
 6. Muguruma Y, Ando K, et al. In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *Exp Hematol*. 31, 1323-1330, 2003
 7. 安藤 潔、堀田知光：第I部 幹細胞、第4章 増幅臍帯血幹細胞の移植 現状と課題、「Annual Review 血液2003」、高久史麿、他編、中外医学社、東京、26-35, 2003年。
 8. 安藤 潔：成体骨髄多能性幹細胞 *Molecular Medicine* 臨時増刊号、中山書店、342-343, 2003年
 9. 安藤 潔：骨髄由来多能性幹細胞 -幹細胞リザーバーとしての骨髄- 「再生医療へと動き始めた 幹細胞研究の最先端」実験医学増刊、羊土社、21, 1069-1073, 2003年
 10. 安藤 潔：成体骨髄多能性幹細胞(MAPC)を用いた細胞治療。 *BIO Clinica*、ニューサイエンス社、18:108-112, 2003年
 11. 安藤 潔：造血幹細胞体外増幅-問題点と展望2003-最新医学、58, 2084-2090, 2003年
 12. 安藤 潔：骨髄多能性幹細胞と再生医療 *日本消化器病学会雑誌*、100, 1364-1368, 2003年

2. カッティングエッジフォーラム 臍帯血由来造血幹細胞の解析とその臨床応用 細胞治療の基礎と臨床 第62回日本癌学会総会、名古屋、名古屋国際会議場、2003年9月26日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

学会発表

1. Educational Symposium Isolation and maintenance of multipotent progenitor cells. The 9th annual meeting of the Japan Society of Gene Therapy, 18 July, 2003, Tokyo

骨髄成体幹細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発

分担研究者	中谷武嗣	国立循環器病センター実験治療開発部	部長
研究協力者	富田伸司	国立循環器病センター実験治療開発部	室長

研究要旨

幹細胞を用いた心筋再生療法の臨床化に向け、催不整脈性と、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の効果を検討した。まず、心室の不整脈への感受性を検討するために、ラット・ドキシソルビシン不全心に対し骨髄単核球移植を行い、心室細動閾値（ventricular fibrillation threshold (VFT)）と一相性活動電位持続期間（monophasic action potential duration (MAPD90)）を測定した。VFT は、移植群および非移植群は正常群に比べ有意に低かったが、移植群と非移植群に差を認めなかった。MAPD90 においても、移植群および非移植群が正常群に比べ有意に長かったが、移植群は非移植群と同等であった。ラット・ドキシソルビシン不全心モデルにおいて、骨髄単核球移植は不整脈に対する感受性を増加させなかった。次に、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の心筋再生に対する効果をドキシソルビシン不全心モデルにおいて検討した。その結果、骨髄はドキシソルビシンによる心筋症モデル心臓において、再生された心筋細胞の供給源の一つであった。また早期の G-CSF 投与は、骨髄細胞の心臓への遊走を促進し、ドキシソルビシンによる心臓毒性を減衰させた

幹細胞を用いた心筋再生療法の臨床化に向け、骨髄単核球移植の催不整脈性と、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の幹細胞への効果を検討した。

【研究 1】 骨髄由来幹細胞移植の催不整脈性に関する研究

A. 目的

骨格筋芽細胞移植の臨床応用において致死的な不整脈例が経験されているが、骨髄細胞移植における催不整脈性への影響に関しては未だ解明されていない。心室の不整脈への感受性を検討するために、ラット・ドキシソルビシン不全心モデルにおいて骨髄単核球移植を行い、心室細動閾値（ventricular fibrillation threshold (VFT)）と一相性活動電位持続期間（monophasic action potential duration (MAPD90)）を測定した。

B. 方法

Lewis ラットにドキシソルビシン（2.5mg/kg、6 回/2 週間）

を投与した心不全モデルを用い、4 週間後に左室心尖部へ骨髄単核球（ 1×10^6 ）移植を行った移植群と、移植を行わなかった非移植群の 2 群に分けた。また、コントロールとしての正常群に対してはドキシソルビシンおよび骨髄単核球移植を行わなかった。細胞移植 4 週後に電気生理学的検討を行った。左室心尖部に一对の電極を用い、T 波上に 10 四角波刺激による単一ストレインを与えることにより心室細動を誘発し、心室細動が発生する最低の電流で VFT を求めた。また、定常ペーシング（周期間隔：150~300 msec）中に移植した領域付近の心室内膜から MAPD90 を測定した。

C. 結果

VFT は、正常群に比べ移植群および非移植群が有意に低かった（ $p < 0.05$ ）。しかし、移植群と非移植群には差を認めなかった。ドキシソルビシン不全心ラット（移植群および非移植群）は、正常群に比べ検討した周期間隔すべてにおいて MAPD90 が有意に長かった

($p<0.05$)。しかし、移植群は非移植群と同等であった。

D.まとめ

ラット・ドキシソルビシン不全心モデルにおいて、骨髄単核球移植は不整脈に対する感受性を増加させなかった。

【研究2】顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の幹細胞への効果

A. 目的

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) 投与は梗塞心における心機能を改善させることが報告されている。しかしながら、そのメカニズムは未だ明らかではない。そこで、G-CSF が骨髄細胞を遊走させ、新しい心筋細胞を再生し、心不全を回復させるかどうかをドキシソルビシン不全心モデルにおいて検討した。

B. 方法

C57BL/6 ラットに対して 900cGy 全身放射線照射を行ない、GFP ラットの骨髄細胞(GFP-BMC:1x10⁶)を尾静脈から移植し、4週間後脾臓を摘出した。2週後にドキシソルビシンを投与した(2.5mg/kg、6回/2週間)。ドキシソルビシン投与後、ヒト G-CSF(50ug/kg/day,ip,8日間)を投与したグループ1(n=11)、3週間後にヒト G-CSF 投与したグループ2(n=8)、およびコントロールとして生食を投与したグループ3(n=8)を作成した。ドキシソルビシン投与8週間後、犠牲死させ、摘出した心臓を免疫学的検討および電子顕微鏡を用いた検討を行った。

C. 結果

生存率は、グループ1で最も高く(81.8%)、グループ2は50.0%、グループ3は62.5%であった。GFP-BMC数はグループ1が最も多かった($p<0.05$)。すべてのグループにおいて、心臓内に GFP-BMC からの心臓 troponin I 陽性細胞が認められた。グループ1の心臓における GFP-BMC を検討すると、4.3 \pm 2.5%が心臓 troponin I 陽性、5.0 \pm 4.3%が myosin heavy chain 陽性、3.9 \pm 2.4%が ANP 陽性、11.9 \pm 7.3%が connexin43 陽性であった。心臓の筋原線維、ミトコンドリアおよび基本的な構造は、グループ1では概ね維持されたが、グループ2およびグループ3では高度に障害されていた。

D.まとめ

骨髄はドキシソルビシンによる心筋症モデル心臓において、再生された心筋細胞の供給源の一つであった。早期の G-CSF 投与は、骨髄細胞の心臓への遊走を促進し、

ドキシソルビシンによる心臓毒性を減衰させた。

E. 本年度のまとめ

心臓への細胞移植の臨床応用化をめざして問題点の一つである不整脈および G-CSF の効果について心筋症モデルにおいて検討した。

F. 健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. S.Fukuhara, S. Tomita, T.Nakatani, S. Yamashiro, T. Morisaki, C. Yutani, S. Kitamura: Direct cell-to-cell interaction of cardiomyocytes is a key for bone marrow stromal cells to go into cardiac lineage in vitro. *J Thorac Cardiovasc Surg* 125:1470-1480,2003
2. S. Tomita, Cell-based therapy to regenerate myocardium. From bench to bedside. *Artificial Organ* 2004 28(1): 40-44
3. M.Ishida, S. Tomita, T. Nakatani, S. Fukuhara, N.Nagaya, M.Hamamoto, Y. Ohtsu, C. Yutani, T.Yagihara, K.Yamada, S. Kitamura. Bone marrow mononuclear cell transplantation improved cardiac function of rat doxorubicin-induced cardiomyopathy model. *J Heart Lung Transpl* (in press)
4. S. Tomita, M. Ishida, T. Nakatani, S. Fukuhara, Y. Hisashi, Y. Ohtsu, M. Suga, C. Yutani, T. Yagihara, K. Yamada, S. Kitamura. Bone Marrow is a Source of Regenerated Cardiomyocytes in Doxorubicin-Induced-Cardiomyopathy, and GCSF Enhances Migration of Bone Marrow Cells and Attenuates Cardiotoxicity of Doxorubicin Under Electronmicroscopy. *J Heart Lung Transpl* (in press)
5. M.Ishida, S. Tomita, T. Nakatani, K. Kagawa, T. Yamaguchi, M. Suga, Y. Ohtsu, H. Yazawa, T. Yagihara, S. Kitamura. Acute Effects of Direct Cell Implantation into the Heart- Analysis of Cardiac Function by Pressure-Volume Study- *J Heart Lung Transpl* (in press)
6. H. Fujii, S. Tomita, T. Nakatani, S. Fukuhara, A. Hanatani, Y. Ohtsu, M. Ishida, C. Yutani, K. Miyatake, S. Kitamura.

- A Novel application of myocardial contrast echocardiography to evaluate angiogenesis by autologous bone marrow cell transplantation in chronic ischemic pig model. (for JACC) (in press)
7. M. Hamamoto, S. Tomita, T. Nakatani, C. Yutani, S. Yamashiro, T. Sueda, T. Yagihara, S. Kitamura. Granulocyte-colony stimulating factor directly enhances the proliferation of human adult heart cells derived from idiopathic dilated cardiomyopathy. (J Heart Lung Transplant, in press)
 8. S. Fukuhara, S. Tomita, T. Nakatani, C. Yutani, S. Kitamura. Endogenous bone marrow-derived stem cells reconstituted myocardium only in the small proportion after acute myocardial infarction. (J Heart Lung Transplant in press)
 9. 富田伸司, 中谷武嗣. 細胞療法による心筋再生を目指した心不全治療法の開発、循環器専門医, 11 巻, 1 号, 43-47, 2003
 10. 富田伸司, 中谷武嗣. 骨髄由来外因性および内因性幹細胞による心筋分化, 最新医学, 58 巻, 3 月号, 641-646, 2003
 11. 富田伸司, 中谷武嗣. 虚血性心疾患に対する再生医療, 現代医療, 35 巻, 増刊 II 号, 2003
 12. 中谷武嗣, 富田伸司, 藤里俊哉. 心臓および心臓弁における組織工学・再生医療技術の応用、Ischemic Heart Disease Frontier Vol.4, 1-5, 2003
2. 学会発表
1. M. Ishida, S. Tomita, T. Nakatani, S. Fukuhara, N. Nagaya, M. Hamamoto, Y. Ohtsu, C. Yutani, T. Yagihara, K. Yamada, S. Kitamura. Bone marrow mononuclear cell transplantation improved cardiac function of rat doxorubicin-induced cardiomyopathy model. ISHLT 23rd Annual meeting and scientific sessions, 2003
 2. S. Fukuhara, S. Tomita, T. Nakatani, C. Yutani, S. Kitamura. Endogenous bone marrow-derived stem cells reconstituted myocardium only in the small proportion in the acute infarction model. AHA 76st Scientific Sessions 2003, Orland, USA
 3. S. Tomita, M. Ishida, T. Nakatani, C. Yutani, T. Yagihara, S. Kitamura. Bone Marrow is a Source of Regenerated Cardiomyocytes in Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy, and G-CSF Enhances Migration of Bone Marrow Cells and Attenuates Cardiotoxicity of Doxorubicin Under Electronmicroscopy. Australasian Society of Cardiothoracic Surgeon, 2003, Noosa, Australia
 4. S. Tomita, M. Hamamoto, M. Inagaki, K. Sunagawa, T. Yagihara, C. Yutani, T. Nakatani, S. Kitamura. Quantitative analysis of Arrhythmia after bone marrow cell transplantation in the heart. Cardiac Surgery meeting. Tongariro, 2004
 5. T. Nakatani, K. Niwaya, A. Hanatani, J. Kobayashi, K. Bando, O. Tagusari, H. Nakajima, Y. Ono, S. Tomita, K. Yamada, K. Miyatake, H. Tomoike, T. Yagihara, S. Kitamura. Application of surgical options for selected severe heart failure patients. 第 67 回日本循環器学会(シンポジウム) 2003/4/24 福岡
 6. H. Fujii, S. Tomita, A. Hanatani, Y. Ohtsu, M. Ishida, S. Fukuhara, C. Yutani, S. Kitamura, T. Nakatani. Improvement of regional perfusion after bone marrow cell transplantation: Assessment of myocardial perfusion by contrast echocardiography. 第 67 回日本循環器学会 2002/4/24 福岡
 7. S. Fukuhara, S. Tomita, T. Fujisato, S. Yamashiro, Y. Ohtsu, M. Ishida, C. Yutani, S. Kitamura, T. Nakatani. Bone marrow cell-seeded biodegradable polymeric scaffold enhanced angiogenesis and improved cardiac function of infarcted rat heart. 第 67 回日本循環器学会 2003/4/24 福岡
 8. S. Fukuhara, S. Tomita, Y. Ohtsu, M. Ishida, C. Yutani, S. Kitamura, T. Nakatani. G-CSF promoted bone marrow cells to migrate into infarcted heart and differentiate into cardiomyocytes. 第 67 回日本循環器学会 2003/4/24 福岡
 9. 石田理子、富田伸司、中谷武嗣、福原慎也、久容輔、大津義徳、菅 理晴、由谷親夫、八木原俊克、山田和彦、北村惣一郎、G-CSF の Doxorubicin 不全心への効果 (骨髄幹細胞の心筋分化と電顕組織像の変化) の検討、第 33 回日本心臓血管外科学会. 2003/5/14-16 札幌
 10. 濱本正樹、富田伸司、中谷武嗣、八木原俊克、由谷親夫、北村惣一郎 ヒト病的な心筋細胞における顆粒球コロニー刺激因子レセプターの発現について、

- 第 39 回日本移植学会総会、2003/10/26-28,大阪
11. 9. 福原慎也, 富田伸司, 中谷武嗣, 由谷親夫, 北村惣一郎. 心筋再生における内因性幹細胞の役割、第 39 回日本移植学会総会、2003/10/26-28,大阪
 12. 10. 久 容輔, 富田伸司, 中谷武嗣, 福原慎也、由谷親夫, 北村惣一郎. Doxorubicin 不全心筋内での骨髄由来細胞の経時的変化に関する検討 第 39 回日本移植学会総会、2003/10/26-28,大阪
 13. 82. 濱本正樹, 富田伸司, 稲垣正司, 砂川賢二、八木原俊克, 由谷親夫, 中谷武嗣, 北村惣一郎、心臓への骨髄細胞移植後の不整脈発生に関する定量的解析、第 56 回日本胸部外科学会総会,2003/11/19-21, 東京
 14. 11. 久 容輔, 富田伸司, 中谷武嗣, 八木原俊克, 由谷親夫, 北村惣一郎、家兔脊髄虚血モデルに対する顆粒球刺激因子の効果：脊髄内細胞密度の比較検討、第 56 回日本胸部外科学会総会,2003/11/19-21, 東京
 15. 12. 濱本正樹, 菅 理晴, 高橋裕三, 佐藤幸夫, 富田伸司, 稲盛修二, 八木原俊克, 中谷武嗣、体外循環に起因する急性肺障害に対する選択的 Phosphodiesterase type 4 阻害薬 Rolipram の抑制効果、第 56 回日本胸部外科学会総会,2003/11/19-21, 東京
 16. 13. 菅 理晴, 沢村達也, 井上和彦, 富田伸司, 中谷武嗣, 同種心移植後慢性冠動脈硬化症進展におけるレクチン様酸化 LDL 受容体 (LOX-1) の関与、第 56 回日本胸部外科学会総会,2003/11/19-21, 東京
 17. 14. 中谷武嗣、富田伸司、福原慎也、石田理子、濱本正樹、藤井弘子、菅 理晴、由谷親夫、八木原俊克、北村惣一郎、シンポジウム心筋再生の現状と未来、重症心不全に対する幹細胞による心筋再生療法の開発、第 3 回日本再生医療学会,2004/3/23-25,千葉
 18. 15. 中谷武嗣、小林順二郎、庭屋和夫、花谷彰久、八木原俊克、北村惣一郎：心臓移植と人工心臓。シンポジウム、第 26 回日本医学会総会、福岡、2003.4.4
 19. 16. 中谷武嗣、庭屋和夫、小林順二郎、坂東 興、田鎖 治、中嶋博之、花谷彰久、小野安生、宮武邦夫、八木原俊克、北村惣一郎：心臓移植待機患者の現状と問題点 —左心補助人工心臓の役割—。
- 第 103 回日本外科学会定期学術集会、札幌、2003.6.4-6
20. 中谷武嗣：人工心臓と心臓移植 現状と今後の展望。特別講演、第 10 回東海胸部人工臓器研究会、名古屋、2003.6.28
 21. 中谷武嗣：人工心臓。第 19 回日本人工臓器学会教育セミナー、2003.7.26-27、東京
 22. 中谷武嗣：「移植医療 昨日、今日、明日」-心臓、教育セミナー、第 39 回日本移植学会総会、大阪、2003.10.26-28
 23. 中谷武嗣：慢性心不全の非薬物療法。第 7 回日本心不全学会学術集会、大阪、2003.10.23-25
 24. 中谷武嗣：重症心不全に対する補助人工心臓と心臓移植の現況 —適応、管理、成績—。特別講演、第 11 回佐賀心不全研究会、佐賀、2003.11.28
 25. 富田伸司. 骨髄細胞を用いた心筋再生、第 4 回 Cardiovascular Clinical&Basic Forum、2003/4/5
 26. 富田伸司. 骨髄細胞を用いた心筋再生、モーニングセミナー 7 「心筋再生医療の現状と展望」第 34 回日本心臓血管外科学会,2004/2/18-20 福岡
 27. 富田伸司. 心臓への細胞治療による心筋再生、モーニングセミナー 4 「我が国における末期心不全治療の将来を考える」第 34 回日本心臓血管外科学会,2004/2/18-20 福岡
- H. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況
なし

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Fukuda K	Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and its application to cell transplantation therapy.	Santiago Grisolia, M. Dolores Minana, Elena Bendala-Tufanisco,	Mesenchymal Stem Cells: Biology and Potential Clinical Use	Ministerio De Sanidad Y Consumo	Madrid , Spain	2003	121-145
Fukuda K	Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy.	Richard K. Burt and Alberto Marmont	Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease	Landes Bioscience	USA	2003	39-49
福田恵一	幹細胞による心筋再生療法	杉下靖郎 矢崎義雄他	Annual Review 循環器2003	中外医学社	東京	2003	25-28
板橋裕史、福田恵一	心筋再生療法	日本臨床：増刊号：	冠動脈の臨床	日本臨床社	東京	2003	in press
福田恵一、板橋祐史	体性幹細胞による心筋再生療法	最新医学増刊号	現代医療の最前線	最新医学社刊	東京	2003	644-647
福田恵一	心臓の再生	田中順三・四宮謙一編	再生医療。テ ィッシュエンジニアリング& 生体材料最前線	日刊工業新聞社刊	東京	2003	39-46
八木崇、福田恵一	心血管病の遺伝子治療	内科増刊号 91巻	内科キーワード2003	南江堂	東京	2003	1229- 1230
八木崇、福田恵一	心筋再生療法	内科増刊号 91巻	内科キーワード2003	南江堂	東京	2003	1231- 1332

真鍋知 宏、福田 恵一	EVIDENCE BASED MEDICINE:SOLV D	浅田祐士郎 他	心臓ナビゲーター	メディカルレビュー社	東京	2004	144-145
安藤潔、 堀田知光	第1部 幹細胞、 第4章 増幅臍帯 血幹細胞の移植 現状と課題	高久史麿、 他編	Annual Review血液2 003	中外医学 社	東京	2003	26-35

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Keiichi Fukuda	Stem cell transplantation as a mode of regenerative medicine.	Jap Med Ass J.	46	333-338	2003
Keiichi Fukuda	Application of mesenchymal stem cells for the regeneration of cardiomyocyte and its use for cell transplantation therapy.	Human Cell	13	83-94	2003
Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, et al.	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.	J Clin Invest	113	1-10	2004
Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, et al.	Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase.	J Am Coll Cardiol	In press		2004
Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, et al.	Cardiomyocytes undergo cells division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats	Mol Cell Biochem	259	177-181	2004
Keiichi Fukuda	Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow: Use of mesenchymal stem cell for cardiovascular tissue engineering.	Cytotechnology	41	165-175	2003
Arizumi T, Kinoshita M, Fukuda K, et al.	Amphibian in vitro heart induction: a simple and reliable model for the study of vertebrate cardiac development.	Int J Dev Biol.	47	405-410	2003

Hiroaki Kodama, Keiichi Fukuda, et al	Selective involvement of p130Cas/Crk/Pyk2/c-Src in endothelin-1-induced JNK activation.	Hypertention	41	1372-1379	2003
Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, et al.	LIF activates cardiac L-type Ca ²⁺ channels via phosphorylation of serine 1829 of rabbit Cav1.2	Circ Res	94	E-pub (May)	2004
Keiichi Fukuda	Use of adult mesenchymal stem cells for regeneration of cardiomyocyte and its application to cell transplantation therapy.	Bone Marrow Transplant.	32	S25-S27	2003
Keiichi Fukuda	Reprogramming of bone marrow mesenchymal stem cells into cardiomyocytes	Competes Rendus Biologies	35	1027-1038	2002
藤田尚代、福田恵一ほか	培養尿細管細胞周期的伸展刺激による p38MAPキナーゼの活性化	日本小児腎臓病学会雑誌	16	29-33	2003
吉岡正豊、福田恵一	心筋細胞の新生・再生療法と細胞移植療法	再生医療	2	57-63	2003
福田恵一	Regulation of Angiogenesis in Models of Ischemia and Arteriosclerosis I	AHAハイライト	2003	152-159	2004
福田恵一、伯野大彦	骨髄幹細胞由来の再生心筋細胞における交感神経・副交感神経受容体の発現と機能解析	循環器専門医	11	21-28	2003
真鍋知宏、福田恵一	心筋形成と再生医療	細胞工学	22	525-528	2003
真鍋知宏、福田恵一	フローサイトメトリー	Heart View	11	66-67	2003

真鍋知宏、福田 恵一	心筋再生研究の現状	Angiology frontier	2 (3)	50-55	2003
湯浅慎介、福田 恵一	心筋の再生戦略	Surgery Frontier	10 (3)	255-259	2003
福田恵一	骨髄間葉系幹細胞を用 いた心筋再生の現状と 展望	医学のあゆみ	11	905-908	2003
福田恵一	G-CSFを用いた循環器 再生医療	Medical View Points	25 (4)		2004
福田恵一	骨髄間葉系幹細胞を用 いた心筋細胞の再生	東海循環器核 医学研究会記 録集	38	1-4	2003
林田健太郎、福 田恵一	循環器疾患における再 生療法：心筋細胞の再 生	The Circulation Frontier	8 (1)	18-25	2004
S.Fukuhara, S.Tomita, T.Nakatani, S.Yamashiro, T.Morisaki, C. Yutani, S. Kitamura	Direct cell-to-cell interaction of cardiomyocytes is a key for bone marrow stromal cells to go into cardiac lineage in vitro	J Thorac Cardiovasc Surg	125	1470-1480	2003
S. Tomita	Cell-based therapy to regenerate myocardium. From bench to bedside.	Artificial Organ 2004	28(1)	40-44	2004
M.Ishida, S. Tomita, T. Nakatani, S.Fukuhara, N.Nagaya, M.Hamamoto, Y. Ohtsu, C.Yutani, T.Yagihara, K.Yamada, S. Kitamura	Bone marrow mononuclear cell transplantation improved cardiac function of rat doxorubicin-induced cardiomyopathy model	J Heart Lung Transpl.		(in press)	
S. Tomita, M Ishida, T. Nakatani, S. Fukuhara, Y Hisashi, Y. Ohtsu, M. Suga, C. Yutani, T Yagihara, K. Yamad, S. Kitamura	Bone Marrow is a Source of Regenerated Cardiomyocytes in Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy, and GCSF Enhances Migration of Bone Marrow Cells and Attenuates Cardiotoxicity of Doxorubicin Under Electronmicroscopy	J Heart Lung Transpl		(in press)	

M.Ishida, S. Tomita, T. Nakatani K. Kagawa, T. Yamaguchi, M Suga, Y. Ohtsu, H Yazawa, T. Yagihara, , S. Kitamura	Acute Effects of Direct Cell Implantation into the Heart-Analysis of Cardiac Function by Pressure-Volume Study-	J Heart Lung Transpl		(in press)	
H. Fujii, S. Tomita, T.Nakatani, S.Fukuhara, Hanatani, Y. Ohtsu, M.Ishida, C.Yutani, K. Miyatake, S. Kitamura	A Novel application of myocardial contrast echocardiography to evaluate angiogenesis by autologous bone marrow cell transplantation in chronic ischemic pig model (for JACC)	JACC		(in press)	
M.Hamamoto, S.Tomita, T Nakatani, C. Yutani, S. Yamashiro, T Sueda, T.Yagihara S. Kitamura	Granulocyte-colony stimulating factor directly enhances the proliferation of human adult heart cells derived from idiopathic dilated cardiomyopathy	J Heart Lung Transplant		(in press)	
S. Fukuhara, S. Tomita, T. Nakatani C.Yutani, S. Kitamura	Endogenous bone marrow-derived stem cells reconstituted myocardium only in the small proportion after acute myocardial infarction	J Heart Lung Transplant		(in press)	
富田伸司, 中谷武嗣	細胞療法による心筋再 生を目指した心不全治 療法の開発	循環器専門医	11(1)	45-50	2003
富田伸司, 中谷武嗣	骨髄由来外因性および 内因性幹細胞による心 筋分化	最新医学	58(3月号)	641-646	2003
富田伸司, 中谷武嗣	虚血性心疾患に対する 再生医療	現代医療	35(増刊II)	1121-1124	2003
中谷武嗣, 富田伸司, 藤里俊哉	心臓および心臓弁にお ける組織工学・再生医 療技術の応用	Ischemic Heart Disease Frontier	4	88-92	2003