



Title	In Vivo Gene Transfection with Heat Shock Protein α 70 Enhances Myocardial Tolerance to Ischemia : Reperfusion Injury in Rat
Author(s)	鈴木, 憲
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40053
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	鈴木 憲
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13047 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	In Vivo Gene Transfection with Heat Shock Protein 70 Enhances Myocardial Tolerance to Ischemia – Reperfusion Injury in Rat (遺伝子導入による心筋虚血耐性の向上に関する研究 – heat shock protein 70高度発現による心筋保護効果 –)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉 (副査) 教授 堀 正二 教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

【目的】

近年心筋障害における内因性保護因子の関与が注目され、その心筋保護法への応用が期待されている。これらのうち heat shock protein 70 (HSP70) は、虚血再灌流障害に対する保護効果を示すことが数多く報告されてきたが、その誘導方法として従来の heat shock や ischemic preconditioning などでは発現の時期・量・期間や副作用などの点で臨床応用に際し問題があった。またこれら従来の HSP70誘導方法では誘導時に HSP70以外の内因性保護因子も同時に誘導されるため、HSP70自身の保護効果の証明には不相当であった。一方、我々はこれまで困難であった心臓に対する in vivo 遺伝子導入法を開発しその有効性を報告してきた。今回我々は in vivo 遺伝子導入法を応用し、HSP70の高度発現が心筋虚血耐性を向上しうるかを検討した。

【方法ならびに成績】

心筋保護液にて心停止後摘出した成熟 rat 心の冠動脈に human HSP70 の cDNA を含む 1 ml の HVJ (Hemagglutinating Virus of Japan) – liposome 液を注入し、同種同系 rat の腹部に移植した (H群)。遺伝子を含まない HVJ – liposome 液を同様に注入した C群・全く無処置の N群・直腸温 42°C 20 分の heat stress を与えた S群の計 4 群を作成した。H・S群は移植後 4 日目に、S群は heat shock 後 24 時間後に心を摘出し以下の測定に供した (各群とも n = 13)。

(1) HSP70 蛋白の発現を評価するために 2 種類の monoclonal 抗体を用いた Western blot と免疫組織染色を行った (各群 n = 5)。human の HSP70 にのみ反応する monoclonal 抗体を用いた Western blot では H群にのみ HSP70 の明らかな高度発現が観察された。human と rat の両方の HSP70 に反応する monoclonal 抗体を用いた Western blot では N・C群に比し S群で高度の HSP70 の発現を見たが、H群では S群よりもさらに高度の発現が確認された。免疫組織化学では H群の心筋細胞に広く HSP70 が高度発現していることが確認された。

(2) Langendorff 灌流装置を用い、虚血 (37°C 30分) 再灌流 (37°C 60分) 障害に対する耐性を経時的に評価した (各群 n = 8)。虚血再灌流後の left ventricular developed pressure・maximum dP/dt・minimum dP/dt 回復率は S群では C・N群に比し良好であったが、H群では S群よりもさらに良好であった。coronary flow 回復率は H・S群では C・N群よりも良好で、CPK 漏出量も H・S群では C・N群よりも少なかった。

【総括】

- (1) HVJ - liposome の冠動脈注入法を用いた in vivo 遺伝子導入により, rat 心全体に HSP70 が高度発現した。
- (2) HSP70 の高度発現した心筋では, 虚血再灌流障害に対する耐性が向上した。
- (3) 以上の結果は高度発現した HSP70 の心筋保護効果を証明するとともに, HSP70 の遺伝子導入を応用した心筋保護法の可能性を示唆するものであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

心筋の虚血再灌流障害を防止するための心筋保護法の開発は循環器領域における主要な課題のひとつである。従来の心筋保護法は保護作用のある因子の外的投与や細胞環境の調整など外的要因に主眼をおいたものであり, 虚血障害が心筋細胞自身の耐性を上回る場合その効果には限界があった。本研究では HVJ - liposome 冠動脈注入による HSP70 の in vivo 遺伝子導入によりラット心筋に HSP70 が高度発現し, その結果心筋虚血再灌流障害に対する耐性が向上することが示された。即ち内因性保護因子である heat shock protein 70 を遺伝子導入にて心筋内部から高度発現させ self - preservation system を強化することにより心筋保護効果を得るという新たな観点からの心筋保護法の可能性が示唆された。また heat stress などの従来の heat shock protein 70 誘導方法では同時に他の内因性保護因子も誘導されるため心筋虚血再灌流障害における heat shock protein 70 自身の保護効果の証明は困難であったが, 本研究によりかかる検討がより詳細にできるようになった。

以上の如く本研究は臨床及び基礎実験の両面において価値のある研究であり, 学位論文に値するものと考えられる。