Osaka University Knowledge Archive

Title	Autocrine-Paracrine Effects of Overexpression of Hepatocyte Growth Factor Gene on Growth of Endothelial Cells
Author(s)	林, 真一郎
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40748
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【54】

氏　　名	林（はやし）　真一郎（しんいちろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　13727　号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学　位　論　文　名	Autocrine-Paracrine Effects of Overexpression of Hepatocyte Growth Factor Gene on Growth of Endothelial Cells （肝細胞増殖因子 HGF 遺伝子導入による血管内皮細胞の増殖）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　荻原　俊男 （副査） 教　授　松澤　佑次　　教　授　中村　敏一

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

近年，経皮血管形成術（PTCA）後の再狭窄などの増殖性動脈硬化疾患において，血管内皮細胞の変性・脱落，血管平滑筋細胞の増殖・遊走，さらには血小板凝集などによる血管壁の再構築（リモデリング）の関与が注目されている。そこで我々は，従来よりその治療のターゲットとされてきた血管平滑筋細胞ではなく，抗血管平滑筋細胞増殖抑制作用，さらには抗血栓・止血作用を示す血管内皮細胞の増殖・遊走の促進による動脈硬化および再狭窄の予防が可能と考え，肝細胞の強力な増殖因子である肝細胞増殖因子 HGF（Hepatocyte Growth Factor）に注目した。既に我々は，肝再生因子として発見され，上皮細胞を含む多くの細胞系で増殖・遊走作用を示すことが報告されている肝細胞増殖因子が血管平滑筋細胞及び血管内皮細胞においてもその発現を認め，血管平滑筋細胞には作用をもたず血管内皮細胞にのみ増殖作用を示すことを報告しており，本研究ではさらにヒト HGF 遺伝子を血管内皮細胞及び血管平滑筋細胞に導入し，HGF を過剰発現させることで内皮細胞の増殖促進を促す遺伝子治療の可能性を検討した。

【方法】

実験にはラット大動脈，またはヒト大動脈由来血管内皮細胞及び血管平滑筋細胞を用いた。まずヒト HGF 遺伝子を核蛋白である HMG-1と混合後，脂質複合体に封入し，紫外線により不活化した HVJ（Hemaggultinating Virus of Japan : Sendai virus）を加え，10ug／ml の HGF 遺伝子を含む HVJ 脂質複合体を作成し，培養ラット血管内皮細胞及び平滑筋細胞に HVJ-liposome 法による遺伝子導入を行った。遺伝子導入48時間後，培養上清中のヒト HGF 発現量をヒト HGF 特異的抗体による ELISA にて，ラット HGFの発現量をラット HGF 特異的抗体による ELISA にて測定した。また遺伝子導入後，ラット血管内皮細胞及び平滑筋細胞より経時的に回収した培養上清をヒト血管内皮細胞に添加し，内皮細胞の増殖効果を，WST assay による細胞数測定を行った。次にヒト血管内皮細胞にヒト HGF 遺伝子の導入及びリコンビナントーヒト HGF の添加を行い，内皮細胞の増殖効果を比較した。最後に，遺伝子導入により発現した HGF のヒト血管内皮細胞及び平滑細胞間における作用をより生体内に近い両細胞の共培養系を用い検討を行った。

【成績】

ラット培養血管内皮細胞及び，平滑筋細胞へのヒトHGF遺伝子の導入によるヒトHGF発現産生を認め，遺伝子導入によるHGF発現を確認した。同時にラットHGFの発現の増加も認めた。また発現したHGFにより内皮細胞がオートクライン的，パラクライン的に増殖したのに対し，平滑筋細胞の増殖は認められなかった。ヒト血管内皮細胞はヒトHGF遺伝子の導入及びリコンビナントーヒトHGFの添加により増殖を認めたのに対して，抗ヒトHGF抗体の添加によりその増殖は抑制された。共培養系においても遺伝子導入による内皮細胞の増殖を確認した。

【総括】

遺伝子導入により過剰発現したHGFがオートクライン的，パラクライン的に内皮細胞の増殖を促し，さらには内因性のHGF産生も促した。血管内皮細胞の抗血栓作用及び血管平滑筋細胞増殖抑制作用によりヒトHGF遺伝子導入による内皮細胞の再生促進が，PTCA後再狭窄に対する有用な遺伝子治療となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年，動脈硬化，PTCA後再狭窄などの増殖性動脈疾患に対する分子レベルでの解明が進み，遺伝子治療の可能性についても検討されつつある。本研究は，従来よりその治療のターゲットとして重点をおかれている血管平滑筋ではなく，血管平滑筋細胞の増殖抑制作用を持つ血管内皮細胞の増殖・遊走による治療の可能性に注目したもので，肝再生因子である肝細胞増殖因子HGFの内皮特異的増殖作用に注目し，HGFの血管壁における役割および遺伝子治療の可能性について詳細に検討を行ったものである。本研究により，血管内皮細胞及び平滑細胞においてヒトHGF遺伝子導入によるHGFの過剰発現を認め，発現したHGFが，オートクライン的・パラクライン的に内皮細胞の増殖を促すことが明らかになった。またヒトHGF遺伝子導入により発現したHGFが内因性のHGF産生を促すことも明らかになった。本研究は，生体への遺伝子治療を目標におき，HGF遺伝子導入による内皮細胞の再生促進がPTCA後再狭窄などの増殖性動脈疾患の有用な治療法となることを示唆したものであり，学位授与に値すると考えられる。