

Title	TGF- $\beta$ に対するリボザイムオリゴヌクレオシドをもちいたラットバルーン障害モデルの新生内膜形成抑制効果の検討 心血管領域におけるリボザイムをもちいた新たな遺伝子治療戦略
Author(s)	山本, 圭
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41793">https://hdl.handle.net/11094/41793</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	山本圭
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15278 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	TGF- $\beta$ に対するリボザイムオリゴヌクレオシドをもちいたラットバルーン障害モデルの新生内膜形成抑制効果の検討 心血管領域におけるリボザイムをもちいた新たな遺伝子治療戦略
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男  (副査) 教授 松澤 佑次 教授 金田 安史

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

現在、循環器領域において、経皮経管的血管拡張術 (PTCA) 後の血管再狭窄の予防、動脈硬化の予防、治療は非常に重要なものである。本研究において、我々は、血管再狭窄、動脈硬化の促進因子として、また、血管を構成する内皮細胞や平滑筋細胞などに対してコラーゲンなどの細胞外マトリクスの構成などの作用を示すことが報告されている TGF- $\beta$  に注目した。また、その TGF- $\beta$  の産生を抑制するために、アンチセンスとは異なり TGF- $\beta$  の RNA に結合し、さらに酵素的に TGF- $\beta$  の RNA を分解するリボザイムを用いた。今回はラット頸動脈バルーン障害モデルを用い、血管新生内膜形成抑制効果と分子生物学的検討をおこない、より効率的な遺伝子治療への応用の可能性を検討した。

#### 【方法ならびに成績】

TGF- $\beta$  の産生を抑制するため、ヒト、ラット、マウスに共通の配列をターゲットにするように作製したハンマーヘッド型リボザイムを作製した。また、リボザイムは酵素的な切断反応のための酵素活性部位が RNA のため、細胞内安定性をあげるため HVJ-リボソーム法を用いた。今実験において、TGF- $\beta$  リボザイムがバルーン傷害による TGF- $\beta$  産生亢進に対して抑制効果をもっているか TGF- $\beta$  の total RNA の Northern blot analysis を行った。1日後 TGF- $\beta$  リボザイムを導入した群において、バルーン傷害を行った群に比して有意 ( $p < 0.01$ ) に TGF- $\beta$  mRNA 産生亢進抑制効果を示した。さらに今回導入した TGF- $\beta$  リボザイムが新生内膜形成抑制効果があるか、2週間後バルーン傷害後リボザイムを導入したラット頸動脈を検討したところ、TGF- $\beta$  リボザイムを導入した群において、バルーン傷害を行った群に比して有意 ( $p < 0.01$ ) に新生内膜形成抑制効果を示した。以上の結果より、TGF- $\beta$  リボザイムには新生内膜形成抑制作用があることが確認され、新生内膜増生において重要な役割を果たす線維化、平滑筋細胞増殖について分子生物学的な検討を行った。今回、コラーゲン I、III の mRNA の解析を Northern blot analysis を用いて行った。1週間後 TGF- $\beta$  リボザイムを導入した群において、バルーン傷害を行った群に比して有意 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) に collagen I、III の mRNA 産生亢進抑制効果を示した。また、細胞周期において細胞分裂に重要な役割を果たす PCNA についても検討を行ったところ、4日後 TGF- $\beta$  リボザイムを導入した群において、バルーン傷害を行った群に比して有意 ( $p < 0.01$ ) に PCNA 染色陽性細胞減少効果を示した。

#### 【総括】

本実験において、TGF- $\beta$  リボザイムをHVJ-リボソームに包含して遺伝子導入を行い再狭窄病変の病態におけるTGF- $\beta$  の関与について検討を行った。上記結果より、TGF- $\beta$  リボザイムが新生内膜形成抑制効果を示し、新生内膜増生において重要な役割を果たすコラーゲンI、IIIのmRNAを抑制していることが確認され、PCNAの免疫染色により細胞の増殖に関与していることが確認された。上記結果より検討すると、コラーゲンの増殖とそれらに付随する血管平滑筋、線維芽細胞などが分泌するサイトカインによる細胞間増殖作用が強く関係している可能性が示唆された。また、リボザイムが循環器領域においてヒトの遺伝子治療に向けた最初の報告であり、今後、循環器領域だけでなく、糸球体腎炎などの腎臓分野、肺線維症などの呼吸器分野などの病態にTGF- $\beta$  が重要な役割を示す疾患への応用の可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

上記学位申請者山本 圭は本実験において、TGF- $\beta$  リボザイムをHVJ-リボソームに包含して遺伝子導入を行い再狭窄病変の病態におけるTGF- $\beta$  の関与について検討を行った。このリボザイムは、ヒト、ラット、マウスのTGF- $\beta$  配列に100%のホモログを有するものであり、アンチセンスオリゴに比し、より臨床応用に近いものであると考えられる。結果として、ラット頸動脈バルーン障害モデルにおいてTGF- $\beta$  の産生抑制効果を示し、その結果著明に新生内膜形成を抑制した。その結果は、TGF- $\beta$  の下流にあるコラーゲンの産生低下、それに付随する新生内膜内の細胞増殖抑制効果によるものと考えられた。上記研究は、リボザイムが循環器領域においてヒトの遺伝子治療に向けた最初の報告であり、今後、循環器領域だけでなく、糸球体腎炎などの腎臓分野、肺線維症などの呼吸器分野などの病態にTGF- $\beta$  が重要な役割を示す疾患への応用の可能性が示唆され、学位に値するものとする。