

|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Transfection of Antisense p53 Tumor Suppressor Gene Oligodeoxynucleotides Into Rat Carotid Artery Results in Abnormal Growth of Vascular Smooth Muscle Cells   |
| Author(s)    | 松下, 英嗣   |
| Citation     | 大阪大学, 2001, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/43156">https://hdl.handle.net/11094/43156</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> 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           | まつ した ひで かつ 嗣   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)   |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 6 4 4 6 号   |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 13 年 6 月 5 日  |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当  |
| 学 位 論 文 名     | Transfection of Antisense p53 Tumor Suppressor Gene<br>Oligodeoxynucleotides Into Rat Carotid Artery Results in Abnormal<br>Growth of Vascular Smooth Muscle Cells.<br>(ラット頸動脈へ癌抑制遺伝子 p53 アンチセンスオリゴの導入により<br>生じる平滑筋細胞の異常増殖) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 荻原 俊男<br><br>(副査)<br>教 授 松澤 佑次 教 授 金田 安史  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

動脈硬化、PTCA 後再狭窄、血管バイパス術後血管閉塞などの血管病変での病理学的な特徴は血管傷害により惹起される平滑筋細胞の異常増殖、遊走であり、細胞増殖と細胞死のバランスが破綻したために生じる新生血管内膜の過形成である。分子生物学的には細胞周期を規定する遺伝子群が活性化された結果として平滑筋細胞の増殖が生じる。一方、癌抑制遺伝子として知られる p53 は種々の細胞で細胞周期の進展を抑制する遺伝子と考えられている。近年、サイトメガロウイルス感染による p53 の活性消失が PTCA 後再狭窄と密接に関与していると報告されている。しかし p53 の活性消失が再狭窄をひき起こすという直接的な証拠はなく、血管平滑筋細胞の増殖において、癌抑制遺伝子 p53 の役割を解明することは重要である。

本研究では培養血管平滑筋細胞、及びラット頸動脈に p53 のアンチセンスを導入することにより p53 の活性を消失させることを試み、その結果として平滑筋細胞の増殖が生じるか、また新生血管内膜が生じるかを検討した。

#### 【方法】

(実験 1) ヒト培養血管平滑筋細胞に p53 アンチセンスオリゴを導入し、p53 の発現への影響を検討した。その状態における DNA 合成、細胞数の変化を検討した。各実験とも対照としてはオリゴ非導入群、p53 センスオリゴ導入群を用いた。

(実験 2) ラット頸動脈に p53 アンチセンスオリゴを導入し、頸動脈での p53 の発現が低下しているか否かを検討した。p53 アンチセンスオリゴ導入による細胞増殖の有無を検討するため、細胞増殖の指標である PCNA の免疫染色を施行した。p53 アンチセンスオリゴ導入 2 週間後、および 4 週間後の新生内膜の肥厚を検討した。

#### 【成績】

1. p53 アンチセンスオリゴ導入群ではオリゴ非導入群、センス導入群に比して培養平滑筋細胞内の p53 の発現は有意 ( $p < 0.01$ ) に減少していることを確認した。また p53 アンチセンスオリゴ導入群では DNA 合成、細胞数は有意に増加していた ( $p < 0.01$ )。
2. ラット頸動脈においても p53 アンチセンスオリゴ導入群ではオリゴ非導入群、センス導入群に比して p53 の発現は有意 ( $p < 0.01$ ) に減少していることを確認した。p53 アンチセンスオリゴ導入群では細胞増殖の指標である PCNA 陽性細胞が血管中膜に確認された。

3. p53アンチセンスオリゴ導入2週間後に新生内膜の形成を確認した（新生内膜/中膜比は対照群に比し有意に増加していた）。p53アンチセンスオリゴ導入によって生じる新生内膜の肥厚はp53遺伝子の同時導入によって抑制された。アンチセンスオリゴ導入4週間後には更なる新生内膜の肥厚（新生内膜/中膜比）が認められた。

#### 【総括】

p53アンチセンスオリゴ導入によりp53の発現を低下させることによって平滑筋細胞の異常増殖が生じることが培養細胞、さらにラット頸動脈を用いてのモデルでも証明された。この結果により動脈硬化、平滑筋細胞増殖におけるp53の重要性が示された。

### 論文審査の結果の要旨

循環器病のなかでも頻度の多い虚血性心疾患の原因である動脈硬化、また日常診療でたびたび遭遇するPTCA後再狭窄、血管バイパス術後血管閉塞などの血管病変での病理学的な特徴は血管傷害により惹起される平滑筋細胞の異常増殖、遊走であり、細胞増殖と細胞死のバランスが破綻したために生じる新生血管内膜の過形成である。現在その分子生物学的機序の一因として癌抑制遺伝子p53の活性消失がPTCA後再狭窄と病理学的に密接に関与している可能性が報告されている。しかしp53の活性消失が再狭窄をひき起こすという直接的な証拠はまだない。本研究により培養ヒト血管平滑筋細胞において、p53の発現低下が無血清状態においてもDNA合成、平滑筋細胞の増殖を進展させることが示された。更にラット頸動脈においても、p53の活性消失により細胞増殖の指標であるPCNA陽性平滑筋細胞数が有意に増加することを報告した。結果としてp53の活性消失は新生内膜の肥厚をひき起こすことを報告した。またp53の活性消失により惹起された新生内膜の肥厚は、p53の過剰発現により抑制されることも報告した。本研究の結果、動脈硬化の一因として癌抑制遺伝子p53との密接な関与が示された。

本研究は癌抑制遺伝子p53の発現低下が動脈硬化をひき起こすことを直接的に証明し、今後、動脈硬化治療にむけての基礎的、臨床的研究に大きく貢献するものであり、学位の授与に相当するものと認める。