



Title	Molecular Strategy Using Cis-element "Decoy" of E2F Binding Site Inhibits Neointimal Formation in Pocrine Balloon-injured Coronary Artery Model
Author(s)	中村, 俊紀
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43720
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	なかむらとしのり 中村俊紀
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16836号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Molecular Strategy Using Cis-element “Decoy” of E2F Binding Site Inhibits Neointimal Formation in Pocrine Balloon-injured Coronary Artery Model (E2F 結合部位に対するデコイを用いたミニブタ冠動脈バルーン傷害モデルにおける新生内膜増殖抑制に対する核酸治療法)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 金田 安史 教授 吉川 秀樹

論文内容の要旨

【目的】

動脈硬化や内膜増殖などの冠動脈病変には血管内皮細胞や平滑筋細胞の増殖異常が大きく関与しており、その増殖は一連の細胞周期調節遺伝子群により制御されている。細胞周期調節遺伝子群に共通する転写因子 E2F は増殖をしていない細胞では cyclin A、cdk2、Rb 蛋白と複合体を形成し DNA とは結合していないが、増殖刺激によりサイクリン依存性キナーゼが Rb 蛋白をリン酸化し、E2F は Rb 蛋白から離れて細胞増殖に必要な種々の遺伝子の調節領域にある E2F 結合部位に結合しその遺伝子の転写を亢進させる。本研究で我々は転写因子などの DNA 結合蛋白をおとりとした二重鎖オリゴヌクレオチドに結合させ、本来の遺伝子上流の DNA 結合部位への結合を阻害することにより転写を抑制する方法であるデコイを用い、人間に近い実験系としてミニブタ冠動脈バルーン傷害モデルに E2F 結合部位に対するデコイ (E2F デコイ) を導入することにより PTCA 後再狭窄に対する抑制効果を検討した。

【方法】

18-23kg の雄ミニブタを用いケタミン及びバルビタールにて麻酔し人工呼吸管理下に大腿動脈よりシース挿入しヘパリン5000IU 投与後カテーテルによる左冠動脈前下行枝に対する操作を行った。冠動脈造影を行うと共に Intravascular ultrasound (IVUS) により冠動脈径を計測しバルーン/寂動脈径を1.2とするバルーンを用いて6気圧のバルーンングにて3回の擦過を行い、擦過部位に1頭あたり1mgのベクターを用いていないE2Fデコイ(E2F群)もしくは mismatched デコイ(ミスマッチ群)をハイドロゲルカテーテルを用いて6気圧90秒間のinflationにて導入をおこなった(各群6例)。①FITCにて標識したE2Fデコイを上記方法にて冠動脈に導入し術後1日にて屠殺し擦過部位を観察した。②術後1ヶ月にて冠動脈擦過部位を造影すると共にIVUSによりcross sectional vessel area (VA) cross sectional lumen area (LA) cross sectional plaque area (PA) を計測し屠殺した。③採取した新鮮冠動脈標本を用いてブラジキニンによる血管拡張を評価した。

【成績】

①冠動脈中膜層にFITCによる蛍光を観察し、ベクターを用いずハイドロゲルバルーンカテーテルによりE2Fデコイを冠動脈中膜細胞に導入可能であることを確認した。②冠動脈造影にてミスマッチ群2例に明らかな狭窄を認めただのに対し、E2F群には認めなかった。IVUSによる検討ではVA、LAはE2F群において有意に大きく($p < 0.01$)、

PA、%PA はミスマッチ群にて大きかった ($p<0.01$)。したがって E2F デコイ導入による血管再狭窄の抑制は新生内膜増殖抑制とともに negative remodeling に対する抑制も関与している可能性がある。③ブラジキニンによる血管拡張能は E2F 群とミスマッチ群において有意差を認めず、ハイドロゲルバルーンカテーテルを用いた E2F デコイ導入は血管内皮機能への影響を与えていない。

【総括】

ハイドロゲルバルーンカテーテルによりベクターを用いず E2F デコイが冠動脈に導入可能であり、また人間に近い実験系としてミニブタ冠動脈バルーン傷害モデルを用いることにより E2F デコイ導入による PTCA 後再狭窄の遺伝子治療の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

循環器病の中で高頻度に認められる虚血性心疾患の原因である冠動脈病変に対する治療法として確立している PTCA は現在治療後の再狭窄率の高さが治療法の限界となっている。PTCA 後の再狭窄病変における病理学的な特徴は血管障害により惹起される平滑筋細胞の増殖異常であり、細胞増殖と細胞死のバランスの破綻により生じる新生血管内膜の過形成である。DNA 結合蛋白をおとりとした二重鎖オリゴヌクレオチドに結合させ、本来の遺伝子上流の DNA 結合部位への結合を阻害することにより転写を抑制する方法であるデコイを用い細胞増殖を制御している細胞周期調節遺伝子群に共通する転写因子 E2F 結合部位に対するデコイ (E2F デコイ) をハイドロゲルバルーンカテーテルにより導入し、人間に近い実験系としてミニブタ冠動脈バルーン傷害モデルをもちいることにより、ベクターを用いずハイドロゲルバルーンカテーテルにより安全に E2F デコイを冠動脈中膜細胞に導入可能であることを示すと共に、E2F デコイを用いることにより PTCA 後の再狭窄病変を構成する要因と考えられる新生血管内膜の過形成に対する抑制効果と共に、血管の negative remodeling に対する抑制効果を Intravascular ultrasound (IVUS) を用いることにより確認した。本研究の結果、転写因子 E2F 結合部位に対するデコイ (E2F デコイ) をベクターを用いずハイドロゲルバルーンカテーテルにより導入可能であり、血管の PTCA 後の再狭窄を抑制することが可能であることが示された。

本研究は E2F デコイが PTCA 後の再狭窄に対するベクターを用いない核酸治療法として臨床応用可能であることを示し今後、動脈硬化治療に向けての基礎的、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。