



Title	Therapeutic angiogenesis induced by myocardial injection of naked cDNA plasmid encoding hepatocyte growth in ischemic canine heart
Author(s)	船津, 俊宏
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43760">https://hdl.handle.net/11094/43760</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	船津俊宏
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16888 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 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Therapeutic angiogenesis induced by myocardial injection of naked cDNA plasmid encoding hepatocyte growth in ischemic canine heart (肝細胞増殖因子遺伝子プラスミドのイヌ虚血心筋内注入による血管新生療法)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 中村 敏一 教授 堀 正二

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

近年のカテーテルインターベンションやバイパス手術などの、虚血性心疾患群に対する治療技術や進歩にもかかわらず、viabilityは残存しながら血行再建不可能な病変が依然として取り残され、虚血性心筋症様の終末像をたどる。かかる病変に対する革新的な治療法として、血管新生因子の心筋内投与による血管新生治療が注目されており、欧米では VEGF や b-FGF などの強力な血管新生因子を遺伝子導入により長時間心筋に作用させる血管新生療法がすでに臨床応用され、その有用性が報告されている。一方、肝細胞の再生因子である Hepatocyte Growth Factor (HGF) が種々の臓器において抗アポトーシス、抗線維化作用を有することに加え、強い血管新生を有することが明らかとなった。今回我々は、虚血心筋に対する HGF 遺伝子プラスミドの心筋内注入による血管新生療法の可能性につき検討した。

#### 【方法】

ビーグル成犬の左冠動脈前下行枝を対角枝分岐後で結紮して心筋梗塞モデルを作成した。4週間後に超音波プローベを梗塞周辺に装着し、ドブタミン負荷を  $20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  まで徐々に加えて壁運動の低下領域を確認し、これを虚血領域として対象範囲とした。また正常領域としては、回旋枝領域を用いた。遺伝子導入はヒト HGF (H群、n=8)、もしくは LacZ (L群、n=8) の cDNA プラスミド溶液  $125 \mu\text{g}/0.9\text{ml}$  を虚血領域の6ヶ所に分割して心筋内注入した。また Sham コントロールには冠動脈結紮後、開胸操作のみおこなった (S群、n=8)。

導入後5日目に各群2頭より犠牲死の上心摘出し、導入後1日より5日の犠牲死までの間採血し、各領域における心筋内ヒト HGF 濃度と血中濃度を ELISA 法により測定した。次に、遺伝子導入前と遺伝子導入より4週後の2点において、虚血領域および対照領域局所の心筋血流量 (microsphere 法)、壁運動能 (Thickening Fraction (TF)) を計測した。心筋血流量と壁運動能は、いずれもドブタミン負荷 ( $20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) による虚血誘導下に測定した。また遺伝子導入より4週後に心筋内 Capillary 数を von Willebrand 抗体染色の上計測した。

#### 【成績】

遺伝子導入後5日目における心筋内ヒト HGF 蛋白は、H群の虚血領域、すなわち遺伝子導入領域の心筋からのみ検出され ( $4.7 \pm 1.7 \text{ng}/\text{g}$  心筋)、他群およびH群の正常領域からは検出されなかった。また、H群においても血中へのヒト HGF の漏出は認められなかった。

虚血領域における心筋内 capillary 数（対正常領域比）は、H群 $137.0 \pm 22.5\%$ 、L群 $97.6 \pm 12.2\%$ 、S群 $95.0 \pm 9.1\%$ とH群で有意に増加していた（ $p=0.0017$ ）。また、虚血領域における心筋血流量（対正常領域比）は遺伝子導入前には各群間に有意差はなかったが、導入4週後にはH群 $104.6 \pm 91.3\%$ 、L群 $58.0 \pm 20.2\%$ 、S群 $61.0 \pm 13.6\%$ とH群で有意に増加し、他群に比べても有意な増加であった（ $p=0.0005$ ）。正常領域における壁運動能 TF は、遺伝子導入前後ともに各群間で有意差はなかったが、虚血領域では遺伝子導入4週間後にH群 $78.1 \pm 11.2$ 、L群 $26.9 \pm 14.5$ 、S群 $22.7 \pm 12.6$ （対正常領域比）とH群で有意に改善した（ $p < 0.0001$ ）。

#### 【総括】

- 1) HGF 遺伝子プラスミドの心筋内注入により、有意な心筋内 HGF 濃度の上昇が認められ、また血中への HGF の漏出は認めなかったことから、本法は心筋に対する有用な遺伝子導入法である可能性が示唆された。
- 2) 左冠動脈結紮後慢性期の虚血心筋において、HGF 遺伝子導入は局所血流量を有意に増加させ、局所壁運動能を有意に改善した。
- 3) 重症虚血性心疾患に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法は、現行の治療に抵抗する病変に対する新たな治療法の一選択肢となりえる可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

虚血性心疾患に対する内科的・外科的治療法はめざましい発展を遂げ、その治療成績も向上している。にもかかわらず、狭小冠動脈や瀰漫性病変など、こうした治療法の導入によっても血行再建困難で、予後不良な症例が依然として存在する。こうした病変に対して、血管新生作用を有する複数の増殖因子の存在が近年報告され、これらを用いた血管新生療法の可能性が注目されている。本論文は、こうした血管新生因子の一つである肝細胞増殖因子（以下 HGF）の遺伝子プラスミドを虚血心筋へ直接注入することにより、対照の LacZ プラスミド投与群に比し、血管内皮細胞数が有意に増加し、それにともない局所血流量、局所心機能も有意に改善させ得ることを、動物モデルを用いて証明している。あわせて、HGF の心筋内における持続発現が、ウイルスベクターを用いない遺伝子プラスミドの心筋内注入法によって可能であることを明らかにしている。こうした成果は、今後の心臓に対する遺伝子治療を遂行する上で、有用な基礎データとなるとともに、虚血性心疾患に対する HGF の遺伝子プラスミド注入という新たな治療法の可能性を提示したものと見える。よって本論文は学位の授与に値するものと考えられる。