



Title	Inhibition of NF $\kappa$ B Activation Using Cis-element "Decoy" of NF $\kappa$ B Binding Site Reduces Neointimal Formation in Porcine Balloon-injured Coronary Artery Model
Author(s)	山崎, 慶太
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43844">https://hdl.handle.net/11094/43844</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">ご参照</a> 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	山崎 慶太
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17615 号
学位授与年月日	平成 15 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	Inhibition of NF $\kappa$ B Activation Using Cis-element "Decoy" of NF $\kappa$ B Binding Site Reduces Neointimal Formation in Porcine Balloon-injured Coronary Artery Model (豚冠動脈擦過モデルにおける NF $\kappa$ B デコイによる新生内膜抑制効果)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男  (副査) 教授 祖父江憲治 教授 金田 安史

### 論文内容の要旨

#### (目的)

近年動脈硬化の炎症起点が注目されており、特に PTCA (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty) 後の炎症反応、接着因子の活性化等が再狭窄の原因の一つとして考えられている。我々はすでに炎症の場において重要な役割を果たしている炎症性サイトカインや接着因子を制御する転写因子 NF $\kappa$ B に注目し、転写因子活性を抑制する方法としてデコイ法を確立した。そのデコイ法を応用し、培養細胞およびモデル動物における検討を行い、NF $\kappa$ B 活性を阻害することによって血管内皮細胞に対しては保護的に、血管平滑筋細胞に対してはアポトーシスを誘導することを報告している。そこで本研究では、転写因子活性を生体内で直接制御できる二重鎖核酸化合物であるデコイを用い、ミニプタ冠動脈擦過再狭窄モデルにおいて炎症性サイトカインや接着因子の発現調節に必須な NF $\kappa$ B の活性を抑制することによる冠動脈擦過による再狭窄に及ぼす影響について検討を行った。

#### (方法ならびに成績)

約 20 kg のミニプタを全身麻酔下において大腿動脈よりカテーテルを挿入し冠動脈前下行枝に IVUS (血管内超音波) ガイド下で PTCA 用バルーンカテーテルにて B/A ratio 1.2、6 atm、3 回の擦過を行い、再狭窄モデルを作成した。最初に FITC をラベルした NF $\kappa$ B デコイをハイドロゲルバルーンカテーテルに塗布し、デコイの冠動脈への導入を確認した。その後、コントロール群、スクランブルデコイ群 (1 mg/匹)、NF $\kappa$ B デコイ群 (1 mg/匹) の 3 群 (5 匹/群) に分け同様にモデル動物を作成した後、左冠動脈前下行枝に対してハイドロゲルバルーンカテーテルを用いてデコイの冠動脈への導入を行った (90 秒、6 atm)。28 日後 IVUS による % plaque area の計測を行った後屠殺し、HE 染色にて新生内膜の増殖の程度を検討した。また ICAM-1、マクロファージ、PCNA (proliferating-cell nuclear antigen) に対する免疫染色を行い、NF $\kappa$ B 活性阻害によるそれらの因子への影響について検討した。IVUS にて NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意な % plaque area の抑制を認め ( $p < 0.01$ )、また HE 染色にて NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意に neointima/media ratio の抑制を認めた ( $p < 0.05$ )。また、免疫染色の結果より NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意に ICAM-1、マクロファージ、PCNA 染色陽性細胞数が抑制されていた ( $p < 0.01$ )。すべての検討においてコントロール群とスクランブルデコイ群間に

は有意差は認められなかった。

〔総括〕

ミニブタにおいてハイドロゲルバルーンカテーテルにて NF $\kappa$ B デコイの冠動脈への導入が可能であった。また免疫染色の結果より転写因子活性を生体内で直接制御できる二重鎖核酸化合物である NF $\kappa$ B デコイを導入することによって、マクロファージの遊走、ICAM-1 の発現が抑制されることによって冠動脈バルーン傷害後の新生内膜の増殖を抑制することが分かった。今後 PTCA 後の大きな問題点の一つである再狭窄に対しての新しい治療法としての NF $\kappa$ B デコイの有効性が期待される。

### 論文審査の結果の要旨

1977 年にグレンチッヒにより導入されて以来、現在 PTCA (経皮経管冠動脈血管形成術) は、虚血性心疾患における治療として広く普及し盛んに行われている。しかし PTCA には、臨床上いくつかの問題が残されておりその重要な問題の一つとして再狭窄の問題がある。さらに近年は医療費の問題としても再狭窄の予防は重要だと考えられている。

動脈硬化の炎症起点が注目されており、特に PTCA 後の炎症反応、接着因子の活性化等が再狭窄の原因の一つとして考えられている。炎症の場において重要な役割を果たしている炎症性サイトカインや接着因子を制御する転写因子として NF $\kappa$ B が知られている。転写因子活性を抑制する方法としてデコイ法を応用し、培養細胞およびモデル動物における検討により、NF $\kappa$ B 活性を阻害することによって血管内皮細胞に対しては保護的に、血管平滑筋細胞に対してはアポトーシスを誘導することにより再狭窄が抑制されることが報告されている。本研究では、前臨床研究としてミニブタ冠動脈擦過モデルにおいて NF $\kappa$ B デコイが再狭窄を予防できるか検討した。まず FITC ラベル NF $\kappa$ B デコイをハイドロゲルバルーンに塗布することにより NF $\kappa$ B デコイを冠動脈に導入できることを証明した。コントロール群 (擦過のみ)、スクランブルデコイ群 (1 mg/匹)、NF $\kappa$ B デコイ群 (1 mg/匹) の 3 群 (5 匹/群) に分け同様にモデル動物を作成した後、左冠動脈前下行枝に対してハイドロゲルバルーンカテーテルを用いてデコイの冠動脈への導入を行った (90 秒、6 atm)。28 日後 IVUS による % plaque area の計測を行った後屠殺し、HE 染色にて新生内膜の増殖の程度を検討した。また ICAM-1、マクロファージ、PCNA (proliferating-cell nuclear antigen) に対する免疫染色を行い、NF $\kappa$ B 活性阻害によるそれらの因子への影響について検討した。IVUS にて NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意な % plaque area の抑制を認め ( $p < 0.01$ )、また HE 染色にて NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意に neointima/media ratio の抑制を認めた ( $p < 0.05$ )。また、免疫染色の結果より NF $\kappa$ B デコイ群はスクランブルデコイ群に比べて有意に ICAM-1、マクロファージ、PCNA 染色陽性細胞数が抑制されていた ( $p < 0.01$ )。すべての検討においてコントロール群とスクランブルデコイ群間には有意差は認められなかった。また免疫染色の結果より転写因子活性を生体内で直接制御できる二重鎖核酸化合物である NF $\kappa$ B デコイを導入することによって、マクロファージの遊走、ICAM-1 の発現が抑制されることによって冠動脈バルーン傷害後の新生内膜の増殖を抑制することが分かった。

この研究成果によって、PTCA 後の再狭窄予防に対する遺伝子治療に大きく寄与するものであり博士 (医学) の学位授与に値する。