The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | In Vivo Gene Transfection With Hepatocyte Growth Factor via the Pulmonary Artery Induces Angiogenesis in the Rat Lung |
| Author(s) | 小野, 正道 |
| Citation | 大阪大学, 2003, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43946 |
| 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">大阪大学の博士論文について</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　小野正道（おの まさ みち）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　17667　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

医学系研究科臓器制御医学専攻

学位論文名　In Vivo Gene Transfection With Hepatocyte Growth Factor via the Pulmonary Artery Induces Angiogenesis in the Rat Lung
（ラット肺に対する経肺動脈HGF遺伝子導入による血管新生の検討）

論文審査委員　（主査）
教　授　松田　暉

（副査）
教　授　金田　安史　　教　授　中村　敏一

## 論文内容の要旨

【目　的】

心臓外科の手術成績は向上の一途を遂げているが、肺血管床が減少している疾患や肺高血圧を合併している症例に対する成績は未だ不良である。近年、冠動脈疾患や末梢動脈疾患に対し血管新生因子による遺伝子治療が開始されたことより、肺血管に対しても同様の血管新生が得られれば新しい治療法となり上記疾患群に対する手術成績の向上に貢献しうると考えられる。

HGF（hepatocyte growth factor；肝細胞増殖因子）は培養肝細胞に対する増殖促進活性を指標に発見・単離およびクローニングされた蛋白であるが、HGFは肝細胞のみならず、c-Met/HGFレセプターを発現した多くの細胞に対して増殖促進、形態形成誘導、抗アポトーシス、血管新生など多彩な生物活性を発揮することが知られている。その血管新生作用は下肢動脈・冠動脈疾患における遺伝子治療の実験においてVEGFと同等以上の効果を有することが報告され、下肢閉塞性動脈硬化症に対しては臨床治験が行なわれ良好な成績をおさめている。しかし、肺血管に対しては血管新生因子の遺伝子導入による血管新生効果を検討した報告はない。

本論文においては、ラット肺に対し経肺動脈的遺伝子導入法を用いてHGF遺伝子導入を行い、肺血管において血管新生が起こるか否かを検討した。

【方　法】

1）HVJリポソーム法を用いた経肺動脈HGF遺伝子導入と遺伝子発現解析

Wistar系ラットをケタラール麻酔、気管内挿管下に左開胸し、左肺動静脈を遮断して左肺動脈にHVJリポソームに封入したヒトHGFプラスミド20 μgを遺伝子導入し、20分間の血流遮断の後に再灌流するモデルを作成した。対照群としてHGFを含まないプラスミドを遺伝子導入した。遺伝子導入後4日目に、左肺組織中のヒトHGF濃度をELISA法にて測定し、左肺組織標本をヒトHGF抗体で免疫染色を行なった（各群n=6）。

2）左肺組織の免疫組織染色による血管新生の評価

遺伝子導入4、7、14、21、28日後に犠牲死させ、左肺組織切片を作成し、Factor Ⅷ染色により血管密度を計測し、PCNA染色により血管内皮細胞の増殖を評価した（各群n=8）。

3）Laser Doppler Image を用いた左右肺血流比の解析

導入４、７、14、21、28 日後に再度麻酔、気管内挿管し、正中開胸して両肺を胸腔外へ出し、Laser Doppler Image を用いて左右肺血流の測定を行ない左右肺血流比を算出した（各群 n＝6）。

4）右肺動脈遮断試験による左肺血管抵抗の変化の解析

遺伝子導入４、７、14、21、28 日後に再度麻酔、気管内挿管して正中開胸し、右肺動脈を遮断して全肺血流を左肺に流す試験を行ない、遮断前後の右室圧の変化を測定した（各群 n＝8）。

【成　績】

HGF 遺伝子導入後４日目にヒト HGF 抗体を用いた ELISA および免疫組織染色によりヒト HGF の発現が確認された。ヒト HGF は主として肺血管内皮細胞に発現していた。

左肺組織切片の Factor Ⅷ染色による 100 μm 以下の肺血管密度は HGF 遺伝子導入７日目以降に対照群に比し有意に増加した（15.0±1.3 versus 8.0±1.7 $mm^2$、$p<0.01$）。PCNA 染色による PCNA 陽性血管内皮細胞数は HGF 遺伝子導入４日目で対照群に比し有意に増加した。また、肺動静脈瘻、血管浮腫、腫瘍血管新生など異常血管構造は認めなかった。

Laser Doppler Image を用いた左右肺血流比は遺伝子導入後 14 日目以降で対照群に比し有意に増加した（1.12±0.09 versus 0.91±0.11、$p<0.01$）。

右肺動脈を遮断した前後の右室圧変化は遺伝子導入７日目以降で対照群に比し有意に低値を示し（8.6±3.5 versus 15.3±2.8 mmHg、$p<0.01$）、HGF 遺伝子導入により血流負荷時の左肺血管抵抗が低下したと考えられた。

【総　括】

ラット左肺に対し HVJ リポソーム法を用いて経肺動脈的 HGF 遺伝子導入を行なった。

1）遺伝子導入７日後以降に左肺血管密度の増加を認め、14 日後以降に Laser Doppler Image による左右肺血流比の増加を認めた。

2）右肺動脈を遮断して左肺に全肺血流を流した際の右室圧の上昇は HGF 遺伝子導入７日後以降で有意に低下した。

3）以上のことから HGF 遺伝子導入は肺血管に対して血管新生効果を有するものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

心疾患に肺高血圧や肺血管低形成などの肺血管病変を合併する場合には外科治療上の障害となり、特に重症な肺血管病変を合併する場合、従来の治療法では未だ満足する治療成績を上げられないのが現状である。

本論分では、血管新生を始めとする多彩な生物活性を発揮することが知られている HGF（肝細胞増殖因子）を、経肺動脈的に遺伝子導入することにより、肺における血管新生効果を検討したものである。

既に治療的血管新生効果が報告されている心臓や下肢と同様に、肺においても HGF 遺伝子導入が機能的な血管新生を引き起こすことを明らかにした報告はこの研究が初めてであり、重症肺血管疾患に対する HGF 遺伝子導入を用いた新たな治療法の可能性を示したという点で非常に意義深く、学位に値するものと考える。