



Title	Amelioration of Pulmonary Emphysema by In Vivo Gene Transfection with Hepatocyte Growth Factor in Rats
Author(s)	重村, 周文
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45394">https://hdl.handle.net/11094/45394</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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	しげむらのりひさ 重村周文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 3 6 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	Amelioration of Pulmonary Emphysema by In Vivo Gene Transfection with Hepatocyte Growth Factor in Rats (ラット肺気腫モデルに対する局所 HGF 遺伝子導入による肺実質再生療法の可能性についての検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松田 暉 (副査) 教 授 福澤 正洋 教 授 仲野 徹

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

近年、社会の高齢化及び喫煙人口の増加に伴って肺気腫の患者数は増加の一途を辿り、肺気腫を含めた閉塞性換気障害 COPD は 2020 年には全世界の死亡原因の第 3 位になることが WHO により予測されている。しかしながら有効な治療法は未だなく、肺気腫に対する新しい治療戦略の構築は、内科的治療及び外科療法 Lung Volume Reduction Surgery の限界、そして肺移植のドナー不足という現況にあって、現在全世界的に重要な緊急課題となっている。一方再生医学の研究は肺の分野においても急速な進歩を遂げ、肺血管だけでなく、肺実質の再生についても知見が得られてきている。

我々は強力な血管新生作用と肺胞新生の作用を両有し、肺の器官形成因子として重要な機能を有する肝細胞増殖因子 HGF の役割に注目し、ラット肺気腫モデルを用いて、①その病態進展における内因性 HGF profile の関与、②肺胞断裂の阻止及び肺血管床における血管新生促進を治療標的として、HGF の外的補充が肺気腫の病態を改善し得るか、について検討した。

### 【方法】

エラストーゼ (PPE 25 unit/100 gBW) 気管内投与ラットを実験モデルとし、PPE 投与後病理組織及び呼吸機能 (安静時動脈血液ガス PaO<sub>2</sub>、Treadmill 運動負荷テストによる最大酸素摂取量測定 VO<sub>2max</sub>) の変化を経時的 (Day1、3、5、7、14、28) に検討した。肺気腫の進行の指標として RAC 法による一定組織中の肺胞数のカウントを併用した。次に内因性 HGF profile を肺組織中、血清中各々で経時的に ELISA 法を用いて測定し、病理生理機能の変化との関連性を検討した。さらに内因性 HGF profile の結果に基づいてその産生が低下する時期に HVJ-envelope 法を用いて Human HGF を経静脈的に遺伝子導入 (100 μg cDNA) し、導入後 1、2、3、4 週間後に病理組織、呼吸機能、Laser Doppler による肺血流測定を行い治療評価を行った。

### 【成績】

PPE 投与後 Day1 より気腔の拡大、肺実質の破壊を著明に認め Day28 まで病態の進行を認めた。肺気腫の病勢進行に従って PaO<sub>2</sub>、VO<sub>2max</sub> 共に進行性に低下し、Day28 では PPE 投与前値の各々 41%、49%であった。一方内因性

HGF 産生は PPE 投与直後から Day5 まで一旦上昇するが、以降急激に低下し Day7 から Day28 まで投与前値よりも有意に低い値を示した (Day7:  $21 \pm 5$  versus Pre:  $46 \pm 3$  ng/g tissue,  $p < 0.01$ )。この結果を基に HGF の低下する Day7 に合わせて Human HGF の遺伝子導入を行ったところ、肺血管の周囲を中心に著明な Human HGF の発現を認め、ELISA 法による測定でも導入 2 週間後まで Human HGF の高値を認めた (at post 2W:  $5.0 \pm 1.0$  ng/g tissue)。さらにこれに反応して内因性 Rat HGF が導入後 3 週間目まで高値を持続した (at post 3W:  $72 \pm 11$  ng/g tissue)。組織所見としては、HGF 投与群において肺胞上皮細胞の DNA 新生が促進され ( $4.3 \pm 1.4/\text{mm}^2$  versus  $3.0 \pm 1.1/\text{mm}^2$ )、肺胞中隔細胞のアポトーシス陽性数が減少し、( $0.8 \pm 0.7/\text{mm}^2$  versus  $4.5 \pm 1.6/\text{mm}^2$ )、血管新生を表す Factor VIII 陽性肺血管数が増加した ( $13.0 \pm 1.9/\text{mm}^2$  versus  $6.0 \pm 1.4/\text{mm}^2$ 、いずれも  $p < 0.01$ )。また RAC による肺胞数も HGF 群で有意に増加した ( $7.1 \pm 0.6$  versus  $4.6 \pm 1.7$ ,  $p < 0.01$ )。一方これらの再生効果に一致して  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{VO}_{2\text{max}}$  は HGF 投与群で対照群に比して有意な改善を認めた (at post 2W、 $\text{PaO}_2$ :  $87 \pm 9$  versus  $61 \pm 7$  mmHg、 $\text{VO}_{2\text{max}}$ :  $55 \pm 5$  versus  $31 \pm 12$  mL/kg/min、 $p < 0.01$ )

#### 【総括】

- 1) ラット肺気腫モデルにおける内因性 HGF profile 解析の結果、肺気腫の病態進展 (肺胞壁破壊、air space の増大及び  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{VO}_{2\text{max}}$  低下) に伴って内因性 HGF 産生が処置前に比し、有意に低下した。
- 2) HGF 遺伝子導入群では、対照 (空ベクター投与) 群に比して、肺胞上皮細胞の DNA 新生の促進、肺胞中隔細胞のアポトーシス抑制及び直径  $100 \mu\text{m}$  以下の小肺血管数の著明な増加が認められた。また、一定組織中の肺胞数は、HGF 群で有意な増加が認められ、Laser Doppler にても肺血流量の増加が確認された。
- 3) HGF 遺伝子導入群では、上記の組織学的変化に一致して、対照群に比して心肺機能  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{VO}_{2\text{max}}$  が共に有意に改善された。
- 4) 以上より、ラット肺気腫モデルにおいては、気腫肺組織における内因性 HGF の産生低下が肺気腫の病態進展に重要な役割を果たしていると共に、HGF の局所外的補充により肺実質の再生を促進させ得ることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

肺気腫患者数の増加は近年顕著であり、有効な治療法がない現況にあつて新しい治療戦略の構築が全世界的に重要な緊急課題となっている。一方再生医学の研究は肺の分野においても急速な進歩を遂げ、肺血管だけでなく肺実質の再生についても知見が集まっている。本研究では、強力な血管新生作用と肺胞新生の作用を両有し、肺の器官形成因子として重要な機能を有する肝細胞増殖因子 HGF の役割に注目し、ラット肺気腫モデルを用いて HGF の外的補充による肺再生の誘導を介した、肺気腫の病態改善の可能性について検討した。まず内因性 HGF profile 解析の結果より内因性 HGF 産生の低下/枯渇が肺気腫の病態進展に関与することが示唆された。次に HGF が枯渇する時期に合わせて HVJ-Envelope 法を用いて Human HGF を経静脈的に遺伝子導入 (外的補充) すると肺胞上皮細胞の新生、肺胞中隔細胞のアポトーシス抑制が促進され、肺血管床における血管新生の著名な増加が認められた。さらにこれらの組織学的変化に一致してガス交換能及び運動耐用能が改善された。以上からラット肺気腫モデルにおいては気腫肺組織における内因性 HGF の産生低下が肺気腫の病態進展に重要な役割を果たしていると共に、HGF の局所外的補充により肺実質の再生を促進し病態を改善し得ることが示唆された。

本研究の結果は、肺気腫の病態進展における内因性 HGF の役割を初めて明らかにし、HGF の局所外的補充が新しい治療戦略となり得る可能性について言及した点で非常に意義深く、学位の授与に値すると考えられる。