The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Re-organization of cytoskeletal proteins and prolonged life expectancy caused by hepatocyte growth factor in a hamster model of late-phase dilated cardiomyopathy
Author(s)	近藤, 晴彦
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45422
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【120】

氏　　名	近藤晴彦（こんどう はるひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　19353　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	Re-organization of cytoskeletal proteins and prolonged life expectancy caused by hepatocyte growth factor in a hamster model of late-phase dilated cardiomyopathy **（拡張型心筋症ハムスターに対する肝細胞成長因子による骨格蛋白再生および予後改善効果）**
論文審査委員	（主査） 教授　松田　暉 （副査） 教授　堀　正二　　教授　中村　敏一

論文内容の要旨

〔目的〕

拡張型心筋症は、原因不明の心筋変性疾患で、その予後は不良で、薬剤抵抗性の場合には心臓移植しか救命できないのが現状であり、新しい治療法の開発が切望されている。

拡張型心筋症は、心筋細胞の構成蛋白の変性に関連して、線維化など心筋組織のリモデリングが慢性的に進行する変性疾患である。近年、重症心不全を呈した拡張型心筋症に、左室補助人工心臓を装着し左室負荷を軽減することで左室心筋細胞の構成蛋白の再発現が認められ、左室補助人工心臓を離脱できるまで心機能が改善したとの報告がある。そのため、拡張型心筋症に対しては、変性した心筋構成蛋白の再構築を目指す治療法が望ましいと考えられる。

一方、近年、遺伝子治療、細胞移植など自己心の再生を目指した再生型治療の効果が数多く報告されてきている。なかでも、肝細胞増殖因子（Hepatocyte growth factor, HGF）は、血管新生作用、抗線維化作用、抗アポトーシス作用といった生理活性を持ち、虚血性心筋症や拡張型心筋症に対してそれら効果が確認されている。また、虚血性心筋症モデルラットに対して、HGF と心筋細胞の併用治療により、細胞内外のシグナル伝達作用や収縮による細胞障害から心筋細胞を保護する作用を有するα dystroglycan やβ dystroglycan といった細胞骨格蛋白の発現が増強することが報告されている。しかしながら、拡張型心筋症に対しては、HGF の心筋骨格蛋白に対する効果や生命予後への効果はいまだ不明である。

以上のことから、本研究では、心不全期の拡張型心筋症モデルに HGF 遺伝子治療を行うことで、心筋組織や心筋骨格蛋白に対する効果を検討し、さらに心機能・予後に対する効果も検討し、拡張型心筋症に対する新たな治療法としての可能性を検討した。

〔方法〕

拡張型心筋症のモデル動物である BIO TO-2 ハムスターを対象とし、重症心不全期である 27 週令を治療時期とした。67 匹を 2 群に分け、HGF 群（H 群；n=38）として、hHGFcDNA を含む HVJ-liposome 0.2 ml を左室前壁、

後壁、心尖部および右室の４箇所にわけて開胸下に直接心筋に注入した。対象として、同様の手段で、培養液を注入した群を作成し、Control 群（C 群；n＝29）とし、以下の項目を検討した。予後に関しては、開胸操作のみを同治療時期に施行した Sham 群（S 群；n＝18）を別に作成し、３群間で比較検討した。

(1) HGF の発現：術後１、３週に各群の３匹を犠牲死させ ELISA 法を用い測定し human HGF の発現を確認。

(2) 心機能：術前および術後１週間ごとに心臓超音波検査を行い、LVDd、LVDs を経時的に測定、FS を算出し比較。

(3) 線維化率：術後４週後に各群の５匹を犠牲死させ線維化率を比較。

(4) 細胞骨格蛋白の発現：術後２、８週後に各群の５匹を犠牲死させα、β sarcoglycan およびα dystroglycan の発現を比較。

(5) 予後：予後を比較。（H 群；19 匹、C 群；16 匹および S 群；18 匹）

〔成績〕

(1) HGF の発現：

hHGF 注入１週後に H 群で HGF の発現が確認されたが３週後には消失し、発現は一時的であった。（human HGF；術後１週：H 群：2.7±0.34 ng/g tissue vs C 群：検出感度以下、$p<0.05$、術後３週：H 群：0.3±0.01 ng/g tissue）。

(2) 心機能：

術前（27 週齢）、H, C 両群間で Dd, Ds および FS に差はなかった（Dd；H 群：6.07±0.32 mm vs C 群：6.10±0.19 mm、Ds；H 群：5.09±0.29 mm vs C 群：5.11±0.17 mm、FS；H 群：16.0±1.2% vs C 群：16.1±1.1%）。術後、C 群では Dd および Ds は週令と共に拡大し、FS は低下した。一方、H 群では、Dd は徐々に拡大したが（術後３週 Dd；H 群：6.38±0.23 mm vs C 群：6.53±0.31 mm、$p=0.11$）、Ds は拡大の進行が一時的に術後３週間まで抑制され（術後３週 Ds；H 群：5.22±0.26 mm vs C 群：5.72±0.33 mm、$p<0.05$）、この間有意に FS の改善を認めた（術後３週 FS；H 群：18.2±2.6% vs C 群：12.5±1.4%、$p<0.05$）。しかし、術後４週以後再び Ds の拡大、FS の低下が進行した。

(3) 線維化率：

術後４週後、H 群では C 群と比較し有意に心筋組織の線維化が抑制された。（線維化率；H 群：19.2±3.1% vs C 群：28.6±3.9%、$p<0.05$）

(4) 細胞骨格蛋白の発現：

術後２週後に C 群では、α，β sarcoglycan およびα dystroglycan の発現は認めなかった。H 群では術後２週後にこれら蛋白の発現が増強していたが、８週後には、これらの発現は消失した。

(5) 予後：

H 群で有意に予後が改善した。（40 週令時の生存率；H 群：84.2%、C 群：43.8%、S 群：47.9%、生存曲線の Log-rank 検定；C 群 vs S 群：$p=0.8029$、H 群 vs C 群：$p<0.05$、H 群 vs S 群：$p<0.05$）

〔総括〕

(1) 拡張型心筋症のモデル動物である BIO TO-2 ハムスターの重症心不全期に、HGF 遺伝子導入を行った。

(2) HGF 投与により拡張型心筋症モデルに対しても抗線維化作用が認められたのみでなく、細胞内外のシグナル伝達作用や収縮による細胞障害から心筋細胞を保護する作用を有する細胞骨格蛋白群の一部に発現の増強が認められた。

(3) これらの効果は一時的であったが、この間の心機能維持および予後の改善に寄与したと考えられた。

(4) 以上より、拡張型心筋症における心不全治療としての HGF 遺伝子治療は、心筋組織を再構築し、ひいては心機能の改善をももたらす新たな治療法となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

拡張型心筋症は、原因不明の心筋変性疾患で、薬剤抵抗性の場合には心臓移植しか救命できないのが現状であり、新しい治療法の開発が切望されている。近年、重症心不全を呈した拡張型心筋症に、補助人工心臓を装着し左室負荷を軽減することで左室心筋細胞の構成蛋白の再発現が認められ、左室補助人工心臓を離脱できるまで心機能が改善したとの報告があり、変性した心筋構成蛋白の再構築の可能性が示唆されている。本研究では、肝細胞増殖因子 HGF の血管新生作用、抗線維化作用、抗アポトーシス作用といった生理活性以外の虚血性心筋症モデルで示されている心筋細胞骨格蛋白の発現増強作用に着目し、心不全期の拡張型心筋症ハムスターを用いて、HGF 遺伝子治療による、心筋組織・心筋骨格蛋白に対する効果を検討し、さらに心機能・予後に対する効果も検討した。

まず、HVJ liposome 法を用いて human HGF を直視下に心筋内に注入すると、術後に、心機能低下が抑制され、予後が改善した。また、組織学的検討では、心筋組織において抗線維化作用が認められたのみでなく、細胞内外のシグナル伝達作用や収縮による細胞障害から心筋細胞を保護する作用を有する細胞骨格蛋白群の一部（α，β sarcoglycan および α dystroglycan）に発現の増強が認められた。これらの効果は一時的であったが、この間の心機能維持および予後の改善に寄与したと考えられた。

本研究の結果は、拡張型心筋症の病態進展に関与している、心筋細胞骨格蛋白の変性に対する HGF の再構築効果を示したもので、HGF の遺伝子治療が、心筋組織を再構築し、ひいては心機能・予後の改善をももたらす新たな治療法とな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。