



Title	Angiogenic and Anti-fibrotic Actions of Hepatocyte Growth Factor Improve Cardiac Dysfunction in Porcine Ischemic Cardiomyopathy
Author(s)	東, 純哉
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46210
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 >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

氏 名	あづま 東 じゅん や 哉
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20092 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 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	Angiogenic and Anti-fibrotic Actions of Hepatocyte Growth Factor Improve Cardiac Dysfunction in Porcine Ischemic Cardiomyopathy (ブタ虚血心筋に対する肝細胞増殖因子の血管新生及び抗線維化作用の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 倉智 嘉久 教 授 堀 正二

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

これまでに難治性の虚血性心疾患症例に対して、血管新生を誘導する蛋白や遺伝子を用いた多くの前臨床試験が行われてきた。その中でも血管内皮増殖因子 (VEGF)、線維芽細胞増殖因子 (FGF) といった強力な血管新生効果を有する増殖因子では虚血性心疾患症例に対して臨床試験が施行された。これらの phase I・II 臨床試験では自覚症状の改善とともに局所心筋血流の増加および局所壁運動の改善が得られた。

虚血心筋における心機能障害は心筋血流低下および心筋間質増生によりもたらされる。VEGF や FGF は強力な血管新生作用を持つ反面、抗線維化作用は全く報告されていない。特に FGF に関しては線維化促進作用に働く可能性はある。一方で肝細胞増殖因子 (HGF) の抗線維化作用は肺、腎臓、肝臓などの臓器で多数報告されており、虚血心筋に対する「治療的血管新生」ばかりでなく、「抗線維化作用」を介した新しい治療コンセプトを提唱できる可能性がある。そこで我々はヒト HGF プラスミド DNA による虚血心筋に対する遺伝子治療を試みた。

〔 方 法 〕

プロトコール 1 : ヒト HGF 蛋白の発現効率の検討

開胸下で非虚血ブタ心筋に対して 4 mg のヒト HGF プラスミド DNA を 15 injections ; 0.1 ml each, 10 injections ; 0.2 ml each, 6 injections ; 0.5 ml each で投与した。4 日後に各投与点におけるヒト HGF 蛋白の発現を ELISA 法により確認し、効率的な投与方法を決定した。

プロトコール 2 : 慢性虚血心筋におけるヒト HGF プラスミド DNA の治療効果の検討

ブタ冠動脈回旋枝起始部にアミロイドコンストリクターを装着して慢性心筋虚血モデルを作成した。コンストリクターを装着して 1 カ月後に冠動脈造影を施行し、回旋枝起始部がコンストリクターにより完全閉塞になっているブタに対して、NOGA システムによる心室内マッピングを施行し、算出された心内膜電位と局所壁運動から慢性虚血心筋を同定した。NOGA システムおよび心エコーで心機能測定した後に無作為にコントロール群/HGF 0.4 mg 群/HGF 4 mg 群に各 6 匹ずつ振り分け、同定された虚血心筋に対してインジェクションカテーテルを用いてヒト HGF プラスミド

ドDNAを心筋内に直接投与した。プラスミド投与1カ月後に冠動脈造影、NOGAシステムによる心室内マッピング、安静時・ドプタミン負荷心エコー、マイクロスフィアによる心筋血流測定、虚血領域における血管数・線維化の程度を測定した。

〔 成 績 〕

プロトコール1：ヒトHGF蛋白は6 injections; 0.5 ml eachの投与法において最も効率的に蛋白を発現していたため、プロトコール2では同投与法を採用した。

プロトコール2：まず、本試験ではNOGAシステムを用いた心筋内投与による重篤な合併症（致死性不整脈・心タンポナーゼ）を認めなかった。

ヒトHGF plasmid DNA投与の1カ月後にはHGF投与群でコントロール群と比してNOGAシステムで同定された虚血領域の有意な減少を認めた。また、ドプタミン負荷心エコーでもHGF投与群で有意な虚血心筋の壁運動改善が認められた。さらにHGF投与群でコントロール群と比して虚血領域における血管数および局所心筋血流の有意な増加を認めた ($P<0.01$)。その一方で、HGF投与群ではコントロール群と比し、虚血領域における線維化の有意な減少が確認され、collagen I・IIIおよびTGF-betaの発現も有意に減少していた ($P<0.05$)。さらに4 mg HGF投与群ではコントロール群と比して有意な心機能の改善を認めた (コントロール群: $42.5\pm6.6\%$ 、HGF 0.4 mg 群: $49.3\pm7.1\%$ 、HGF 4 mg 群: $53.7\pm6.7\%$ 、*、* $P<0.05$)。

〔 総 括 〕

HGFは血管新生作用と抗線維化作用を併せ持つ増殖因子であり、本試験ではヒトHGF plasmidを直接的に虚血心筋に投与することにより、虚血領域における心筋血流を増加し、線維化の進行を抑制することで有意な心機能改善をもたらされることが解明された。難治性の虚血性心疾患症例に対するNOGAシステムを介したHGFの遺伝子治療は、安全かつ有効な治療法と考えられる。

論文審査の結果の要旨

これまでに難治性の虚血性心疾患症例に対して、血管内皮増殖因子 (VEGF) や線維芽細胞増殖因子 (FGF) といった強力な血管新生作用を有する増殖因子が臨床応用され、その有用性が報告されている。

一方で虚血心における心機能障害は心筋血流低下および心筋間質増加によりもたらされることから、その治療に際しては血管新生のみならず、抗線維化作用により相乗的な心機能改善効果が期待できる。申請者はVEGFやFGFにはない抗線維化作用を有する強力な血管新生因子である肝細胞増殖因子 (HGF) に着目し、本研究においてヒトHGFプラスミドによる慢性虚血心筋に対するHGF遺伝子治療の効果を検討した。

本研究ではブタ慢性心筋虚血モデルを作成し、NOGAシステムを用いて同定した虚血心筋に対してカテーテルを介してプラスミド (コントロール群、HGF 0.4 mg 投与群、HGF 4 mg 投与群、各6匹) を投与した。投与の1カ月後にはHGF 4 mg 投与群でコントロール群に比して 1) NOGAシステムで同定された虚血領域、ドプタミン負荷心エコーでの虚血心筋の壁運動、左室駆出率の有意な改善、2) 虚血領域における心筋血流、血管数の有意な増加、3) 虚血領域の線維化面積の有意な減少、およびRT-PCRにより解析したコラーゲンI・III、TGF-betaの有意な発現低下が確認された。すなわち、慢性虚血心筋にヒトHGFプラスミドを投与することで血管新生および抗線維化作用による心機能改善が認められ、NOGAシステムを用いることで安全かつ効率的に虚血性心疾患を治療できる可能性が示唆された。

この研究成果により、大動物の慢性心筋虚血モデルにおいてHGF遺伝子治療による血管新生および抗線維化作用が確認された。本研究は今後の虚血性心疾患治療に大変重要な意義を持つものであり、博士 (医学) の学位授与に値すると考えられる。