



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46210">https://hdl.handle.net/11094/46210</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=" <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>をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	あづま 東 純哉
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4mgのヒトHGFプラスミドDNAを15injections; 0.1ml each、10injections; 0.2ml each、6injections; 0.5ml 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 0.4mg群/HGF 4mg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 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・ドブ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、ドブ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 :  $42.5 \pm 6.6\%$ 、HGF 0.4 mg 群 :  $49.3 \pm 7.1\%$ 、HGF 4 mg 群 :  $53.7 \pm 6.7\%*$ 、\*  $P < 0.05$ ）。

### [ 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が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 回）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、ドブ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。