



Title	Therapeutic effect of midkine on cardiac remodeling in infarcted rat hearts
Author(s)	福井, 伸哉
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48994
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

氏名	福井伸哉
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第21561号
学位授与年月日	平成19年9月26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	Therapeutic effect of midkine on cardiac remodeling in infarcted rat hearts (心筋梗塞後心筋リモデリングに対する Midkine の治療効果)
論文審査委員	(主査) 教授 澤芳樹 (副査) 教授 堀正二 教授 金田安史

論文内容の要旨

【目的】

近年、食生活の欧米化や運動不足、社会的ストレスの増大に伴い、虚血性心疾患の罹患者数は増加し、現在、本邦の死亡率第2位を占めている。これに対し、カテーテル治療や冠動脈バイパス術といった内科的外科的治療はほぼ確立されてきているものの、これら内科的、外科的治療の適応とならない程の重症例は、最終的に虚血性心筋症となり、左室補助人工心臓や心臓移植といった置換型治療しか治療手段が残されていない。しかし、人工心臓は出血、感染、脳梗塞などの合併症を有し、心臓移植においては、そのドナー不足の問題のため確実な治療手段とは未だ言い難い。

一方、このような虚血性心筋症に対する再生治療は著しく進歩し、骨髄細胞や筋芽細胞を用いた臨床研究が始まっている。本教室での筋芽細胞を用いた研究において、筋芽細胞治療により増幅した遺伝子を解析し、その中から、細胞増殖、抗アポトーシス、血管新生作用を有する Midkine に注目した。Midkine は、胎生中～後期の脳・神経組織に存在し、出生後 2～3 週で消失する。しかし、近年、食道、胃、膀胱、大腸がんなどの腫瘍組織から高濃度で検出され、腫瘍組織における血管新生、抗アポトーシス効果が注目され始めている。そこで、ラット心筋梗塞モデルを用いて、①心筋梗塞に対する midkine の関与、②梗塞後心筋リモデリングに対し、血管新生、抗アポトーシスを治療標的として、Midkine の外的補充が心筋梗塞後心筋リモデリングを抑制できるかどうかを検討した。

【方法】

8 週令 Lewis rat の左前下行枝を結紮し心筋梗塞モデルラットを作成した。midkine 発現を、梗塞 4、7、14、56 日後の定量 RT-PCR (各 n=5) と梗塞 7 日後に抗 midkine 抗体による免疫組織染色で評価した。梗塞 2 週後に、コラーゲンゲルに溶解した human recombinant Midkine (1 μg/匹、5 μg/匹、25 μg/匹、各 n=10) を梗塞周辺部 4 箇所に注入した。また、対照群にはコラーゲンゲルのみ注入した (n=10)。治療直前、治療 2、4、6 週後に超音波にて心機能 (心駆出率 : EF、左室拡張末期面積 : LVEDA、左室収縮末期面積 : LVESA) を測定した。治療 6 週後に心臓を摘出し、組織学的検討を行った。

【成績】

midkine 発現は、梗塞後 7 日目に最も強く誘導され、梗塞 2 週後にはほぼ前値に復した。また、その発現は梗塞部

及び梗塞周囲の残存心筋細胞に認められ、非心筋梗塞部にはほぼ発現を認めなかった。この結果から、midkine 発現が低下した梗塞後 2 週目に合わせて、human recombinant Midkine を再開胸下に梗塞周辺部に注入した。対照群、Midkine 1 μ g 投与群では経時的に EF が低下し、LVEDA、LVESA が増大するのに対し、Midkine 5 μ g、25 μ g 投与群は、EF、LVEDA、LVESA が維持された。組織学的所見では、Midkine 治療群において、梗塞領域の壁厚が増し (MDK 25 μ g 群 vs 対照群: 0.73 \pm 0.006 vs 0.55 \pm 0.05, P < 0.05)、梗塞領域におけるコラーゲン量が増加した (MDK 25 μ g 群 vs 対照群: 38.7 \pm 1.7 vs 29.7 \pm 1.5, P < 0.001)。また、非梗塞部の面積が Midkine 投与容量依存的に増加した (MDK 25 μ g 群 vs 対照群: 36.2 \pm 3.6 vs 19.2 \pm 1.6 mm², P < 0.0001)。非梗塞領域における心筋細胞レベルでのリモデリングを評価するため、心筋細胞径を計測した結果、対照群の方が Midkine 25 μ g 投与群に比し有意に肥大化していた (493.7 \pm 15.1 vs 728.6 \pm 25.8 μ m², P < 0.0001)。Midkine 25 μ g 投与群において、血管新生数を表す von Willefactor brand 陽性細胞数が対照群に比し増加した (61.1 \pm 3.22 vs 26.1 \pm 2.23/mm², P < 0.0001)。

【総括】

- 1) ラット心筋梗塞モデルにおける内因性 Midkine の発現は梗塞後 1 週間で peak を向かえ、残存心筋細胞が修復補助のため分泌することが示唆された。
- 2) ラット心筋梗塞モデルに対し、Midkine を注入することで、心筋梗塞後心筋リモデリングが抑制された。
- 3) 組織学的に、Midkine 投与により、梗塞壁厚が増し、梗塞領域におけるコラーゲン量が増加することで、壁応力が増し、心筋リモデリングを抑制すると考えられた。
- 4) Midkine の投与により、梗塞周辺部の血管新生が促進し、梗塞周辺部の虚血状態にある心筋細胞の虚血壊死を抑制したことが示唆された。
- 5) 非梗塞領域における心筋細胞の肥大が Midkine の投与により抑制された。

論文審査の結果の要旨

近年、我が国の虚血性心疾患の死亡率は第 2 位を占め、内科的外科的治療体系がほぼ確立されているものの、これらの治療法が適応とならない重症例に対する治療法については、未だ確立されていないのが現状である。しかし、近年、再生型治療が注目を集め、骨格筋筋芽細胞移植や骨髄単核球細胞移植などの治療が行われ、一定の成績を残している。本研究は、これらの再生型治療で増幅する遺伝子として midkine の発現に注目し、さらに、心筋梗塞後の内因性 midkine の発現を明らかにし、内因性 midkine が枯渇する時期に合わせて、midkine を外的補充することで、血管新生、梗塞部コラーゲン增加を起こすことで、左室拡張末期面積、収縮末期面積の拡大といった心筋梗塞後の心筋リモデリングを抑制した。この結果、非梗塞領域の線維化、非梗塞領域の心筋細胞肥大を抑制した。以上から、ラット心筋梗塞モデルにおいて、内因性 midkine が心筋梗塞後の修復機構に関与していることを示唆し、これを外的補充することで、心筋梗塞後の心筋リモデリングを抑制できることが示唆された。

本研究の結果は、心筋梗塞後の内因性 midkine の役割を明らかにし、midkine の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。