

氏名	ほしの こうぞう 星野康三
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3030号
学位授与の日付	平成19年1月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Three Catheter-based Strategies for Cardiac Delivery of Therapeutic Gelatin Microspheres (虚血心筋に対する血管新生のための効果的経カテーテル徐放化ゼラチン投与方法の確立に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 横出正之 教授 乾賢一 教授 米田正始

### 論文内容の要旨

近年の薬物療法やカテーテル治療の目覚ましい進歩にもかかわらず、虚血性心疾患は未だ先進諸国における死亡原因の最たる原因となっており、更なる新しい治療法が待たれている。遺伝子やタンパク質を用いた血管分子学的治療法もその一つとして注目されており、多くの実験がおこなわれている。しかしながら、現在使用されているウイルス担体を用いた遺伝子導入法は生体に対する安全性が未だ確立されておらず、プラスミドデオキシリボ核酸を用いた遺伝子導入法は、生体内半減期が短いため臨床の有効性を見出せていない。生体内安全性を有し、かつ、長時間生体内活性を保つことを可能にする非ウイルス性遺伝子(あるいはタンパク質)導入担体の開発が待たれるところである。

共同研究者の田畑らは、ゼラチン微粒子を用いた新規非ウイルス性遺伝子(あるいはタンパク質)担体(以下、徐放化ゼラチン微粒子)を開発することに成功した(Tabata et al., J Biomater Sci Polym Ed 1999.)。この徐放化ゼラチン微粒子は、分子間静電気を利用し目的遺伝子(あるいはタンパク質)と長時間結合することが可能で、事前にゼラチン分解速度を調節することによって目的遺伝子(あるいはタンパク質)を生体内に徐放化することができる。これらの特徴から徐放化ゼラチン微粒子は、一定期間目的物質の生体内濃度を保つことを可能とした。また、徐放化ゼラチン微粒子の材料であるゼラチンは、既に臨床利用されている物質であることから、徐放化ゼラチン微粒子は安全性においても臨床利用に適した非ウイルス担体として注目されている。

虚血性心疾患治療における徐放化ゼラチン微粒子を用いた遺伝子(あるいはタンパク質)導入法の有効性が、幾つかの動物実験において報告されている(Sakakibara et al., Eur J Cardiothorac Surg 2003)(Hosaka et al., Circulation 2004)。しかしながら、その方法論は外科的開胸注入法を利用したものに限定されており、より侵襲性の低いカテーテルを用いた導入法の確立が望まれている。しかしながら、今まで、ゼラチン微粒子非ウイルス担体の効果的なカテーテル的心筋導入法の検討を行った実験は報告されていなかった。

本論文は、以下の三つの代表的経カテーテル法を用いて効果的経カテーテル徐放化ゼラチン投与方法の検討を目的としたものである: 1) 経冠動脈順行性投与方法, 2) 経冠静脈逆行性投与方法, 3) 経冠静脈洞直接心筋注入法。評価は、徐放化ゼラチン微粒子と同サイズ(10 $\mu$ m)の投与蛍光粒子心筋内分布、徐放化ゼラチン微粒子と結合した塩基性線維芽細胞増殖因子の血管新生効果を用いておこなった。その結果、経冠動脈順行性投与方法は、徐放化ゼラチン微粒子を標的心筋内領域に効率的(73 $\pm$ 11%)に運搬できるが、投与された粒子が微小血管塞栓を起こしたために有効な血管新生をもたらさなかった。一方、経冠静脈逆行性投与方法は、22 $\pm$ 8%の投与効率しか認めないものの、投与一週間後に冠血流予備能の有意な上昇を認めたことから、心筋内に運搬された粒子が効果的に血管新生をきたしたと考えられた。経冠静脈洞直接心筋注入法は、47 $\pm$ 14%の投与効率を示すとともに、投与一週間後の冠血流予備能の有意な上昇と組織内毛細血管密度の有意な増加を認め、効果的徐放化ゼラチン微粒子投与方法であることを示した。

以上から、経冠静脈逆行性投与方法と経冠静脈洞直接心筋注入法は、血管新生のための徐放化ゼラチン微粒子心筋投与方法と

して有効な手段であることが示唆された。一方、経冠動脈順行性投与法は、微小血管塞栓を誘発するリスクから、徐放化ゼラチン微粒子投与法としては不適當であると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝子やタンパク質を用いた血管分子学的治療法は、虚血性心疾患の新たな治療法として期待されている。徐放化ゼラチン微粒子は、目的遺伝子またはタンパク質の活性を生体内において長時間保つことができる新規非ウイルス性遺伝子導入担体として注目されている。本研究は、以下の三つの代表的経カテーテル法を用いて、効果的経カテーテル徐放化ゼラチン心筋内投与方法を検討したものである：1) 経冠動脈順行性投与法、2) 経冠静脈逆行性投与法、3) 経冠静脈洞直接心筋注入法。結果、ブタ正常心筋モデルにおいて、経冠動脈順行性投与は、徐放化ゼラチン微粒子を標的心筋領域に効率的(73±11%)に運搬したが、投与された微粒子が微小血管塞栓を起こし有効な血管新生をもたらさなかった。一方、経冠静脈逆行性投与法は、22±8%の投与効率しか得られないものの、投与一週間後の冠血流予備能の有意な上昇をもたらした。同様に経冠静脈洞直接心筋内投与法は、47±14%の投与効率を示すとともに、投与後一週間後の有意な冠血流予備能の上昇と組織内血管新生密度の上昇させた。以上から、経冠静脈逆行性投与法と経冠静脈洞直接心筋注入法は、有効な徐放化ゼラチン微粒子心筋投与方法であることが示唆された。一方、経冠動脈順行性投与法は微小血管塞栓を誘発するリスクから、徐放化ゼラチン微粒子投与法として不適當であると考えられた。

以上の研究は、現時点における三つの代表的な経カテーテル投与法の徐放化ゼラチン微粒子心筋内投与における有効性と問題点を初めて明らかにしたもので、将来の徐放化ゼラチン微粒子を用いた虚血性心疾患に対する血管分子学的治療法の臨床応用にむけて寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年12月6日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。