

氏名	まるいあきら 丸井晃
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2836号
学位授与の日付	平成17年3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	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Simultaneous application of basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor to enhance the blood vessels formation (塩基性線維芽細胞増殖因子および肝細胞増殖因子の同時徐放による血管形成増強効果に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 中尾 一和 教授 北 徹 教授 前川 平

### 論文内容の要旨

【緒言】血管新生因子タンパクによる重症虚血下肢に対する血管新生療法は、すでに血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF)、肝細胞増殖因子 (HGF) などによる遺伝子治療が臨床応用されている。しかし①単独増殖因子による未成熟、不安定な新生血管、②局所への高用量の増殖因子暴露による血管腫様構造、血管奇形、新生内膜肥厚の誘導、③ウイルスベクターによる免疫、炎症反応、などの問題が指摘されている。以上の観点から我々は bFGF と HGF の同時徐放による①血管安定性の促進、②増殖因子の用量減量、が可能かを検討した。また遺伝材料にかえて生体吸収性材料 (type I collagen) を徐放担体として使用した。

【対象と方法】type I collagen を化学架橋した collagen microsphere (CM) を bFGF, HGF の徐放担体とした。C57BL/6 マウスの右下肢大腿動脈を結紮して下肢虚血モデルを作製し、虚血下肢に bFGF 徐放化 CM (bFGF/CM) または HGF 徐放化 CM (HGF/CM) 単独の筋肉内投与、もしくは bFGF/CM と HGF/CM の同時筋肉内投与を行った。レーザー Doppler 血流計による右左下肢血流比 (%) 並びに組織解析にて血流改善評価を行った。

【結果】bFGF/CM または HGF/CM 単独での虚血下肢筋肉内徐放 (各1, 5, 20, 80  $\mu$ g) を行ったところ、5  $\mu$ g 以下の bFGF/CM または 20  $\mu$ g 以下の HGF/CM ではコントロール (CM のみ) に比して投与3週間後に有意な血流比増加を認めなかった。次に bFGF/CM 5  $\mu$ g + HGF/CM 20  $\mu$ g の同時徐放を行ったところ、bFGF/CM 5  $\mu$ g または HGF/CM 20  $\mu$ g の単独徐放に比し有意に血流比が増加し (各94%, 51%, 53% :  $p < 0.01$ )、さらにこれらは bFGF/CM 80  $\mu$ g または HGF/CM 80  $\mu$ g と同等の血流改善効果であった。また下肢筋肉組織像でも同時徐放は単独徐放に比して血管密度の増加 (各  $878 \pm 194$  vs.  $205 \pm 79$  or  $192 \pm 104$  vessels/mm<sup>2</sup>,  $p < 0.01$ )、ならびに血管成熟度 (全血管数に対する  $\alpha$ -SMA 陽性血管の割合) が有意に高かった (各47%, 10%, 12% :  $p < 0.05$ )。一方 CM を用いない bFGF, HGF の水溶液では bFGF 80  $\mu$ g + HGF 80  $\mu$ g 同時投与でも有意な血流比増加を認めなかった。また CM による下肢筋肉の炎症の誘導 (CD45 陽性細胞数の増加) は認めなかった。

【結語】bFGF および HGF の同時徐放は新生血管の成熟性促進ならびに用量減量効果を示し、collagen による炎症反応の惹起も認めず、より安全 (生体材料) かつ遠隔成績を向上 (血管成熟性の促進) すると考えられた。生体吸収性材料からの複数増殖因子徐放は、従来の血管新生療法の欠点を補い、より効果的な血管新生療法を可能とすることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

重症虚血下肢に対する従来の血管新生療法は、未成熟な新生血管、高用量の増殖因子暴露による血管奇形の誘導、ウイルスベクターによる炎症、免疫反応等の問題が指摘されている。本研究は以上の問題を解決すべく、生体材料からの bFGF と HGF の同時徐放による血管新生療法の有効性の評価を行っている。

コラーゲン粒子を bFGF, HGF の徐放担体とし、マウス下肢虚血モデルの血管新生治療を行った。bFGF 又は HGF 単

独徐放では、5  $\mu\text{g}$  以下の bFGF または 20  $\mu\text{g}$  以下の HGF では有意な下肢血流の改善を認めなかった。次に bFGF 5  $\mu\text{g}$  + HGF 20  $\mu\text{g}$  の同時徐放を行ったところ、bFGF 5  $\mu\text{g}$  又は HGF 20  $\mu\text{g}$  の単独徐放に比し有意に血流が増加し、さらにこれらは bFGF 80  $\mu\text{g}$  又は HGF 80  $\mu\text{g}$  と同等の血流改善であった。下肢筋肉組織像でも同時徐放は単独徐放に比して血管密度及び血管成熟度が有意に高かった。またコラーゲンによる下肢筋肉の炎症の悪化を認めなかった。

すなわち bFGF 及び HGF の同時徐放は新生血管の成熟性促進並びに用量減量効果を示し、collagen による炎症の悪化も認めず、より安全（生体材料，用量減量）かつ遠隔成績を向上（血管成熟性の促進）すると考えられた。

以上の研究は、生体材料からの複数増殖因子の徐放システムの有効性の解明に貢献し、より安全かつ長期性成績の期待できる血管新生療法の確立に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17年2月2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。