

京都大学	博士（医学）	氏名	西尾博臣
論文題目	<p>MicroRNA-145-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles attenuate venous intimal hyperplasia in a rabbit model  (microRNA-145 封入ポリ乳酸グリコール酸共重合体ナノ粒子はウサギモデルにおいて静脈内膜肥厚を抑制する)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>虚血性心疾患に対する冠動脈バイパス術において静脈グラフトは頻用されているグラフトであるが、その 10 年間の開存率は 61%であり、動脈グラフトと比較して劣っている。その理由として、静脈グラフトは動脈圧環境下に移植されると内膜肥厚をきたして静脈グラフト不全に陥るからと考えられている。この内膜肥厚は、血管平滑筋細胞の表現型が収縮型から増殖型に変化することで引き起こされる。近年 microRNA-145 (miR-145) が、血管平滑筋細胞の増殖型への変化を抑制することが報告されているものの、その導入担体にはウイルスやプラスミドが用いられているものがほとんどである。</p> <p>本研究はウサギ頸静脈内膜肥厚モデルを用いて microRNA-145 封入ポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子による移植静脈内膜肥厚抑制効果を検討することを目的とした。</p> <p>2.7-3.0 kg のオス日本白色種ウサギをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 群、Control 群、miR-145 群の各群 8 匹ずつ三群に分けた。摘出した頸静脈グラフトを PBS、control-microRNA 封入 PLGA ナノ粒子溶液、miR-145 封入 PLGA ナノ粒子溶液にそれぞれ 30 分間浸漬した後、その静脈グラフトを用いて同一個体の頸動脈を置換した。置換後 2 週間で静脈グラフトを摘出し、内膜肥厚を組織学的に評価し、さらに遺伝子、蛋白発現も解析した。</p> <p>肥厚した内膜の面積、径ともに miR-145 群で有意に低下していた。増殖活性マーカーである Ki-67 抗原の発現もまた miR-145 群で有意に抑制されており、miR-145 によって細胞増殖が抑制されたことが示唆された。また、miR-145 の標的遺伝子である myocardin は平滑筋細胞を収縮型に維持する作用を有しており、その遺伝子発現は miR-145 群で有意に上昇していた。一方で、平滑筋細胞を増殖型に導く作用を持つ標的遺伝子 KLF-4 の発現量は miR-145 群で有意に低下しており、これらのことから miR-145 は平滑筋細胞の表現型を収縮型に維持する作用を持つものと考えられた。さらに近年、炎症の発現に関与する CD40 がその塩基配列から miR-145 の標的であることも明らかになってきており、CD40 とその炎症発現経路の主な転写因子である nuclear factor kappa B (NF-κB) の蛋白発現を評価したところ、いずれも miR-145 群にて有意に低下しており、miR-145 が炎症を抑制する可能性についても示唆された。</p> <p>以上より、PLGA ナノ粒子を用いた miR-145 投与は血管平滑筋細胞の表現型変化を調節することで移植静脈の内膜肥厚を抑制したと考えられた。その術中投与方法は簡便であることから、冠動脈バイパス術後の静脈グラフト不全に対する有用な治療法として臨床応用の可能性も期待できると思われた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

虚血性心疾患に対する冠動脈バイパス術において静脈グラフトは頻用されているものの動脈グラフトと比較して長期開存性に劣ることが課題である。移植された静脈グラフトでは血管平滑筋細胞の表現型が分化型から増殖型に変化して内膜肥厚をきたし、その結果静脈グラフト不全に陥る。近年 microRNA-145 (miR-145) が血管平滑筋細胞の増殖型への変化を抑制することが報告されるようになったが、その導入担体にはウイルスやプラスミドが用いられてきた。本研究では miR-145 封入ポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子による移植静脈内膜肥厚抑制効果をウサギ頸静脈内膜肥厚モデルにおいて評価し、また、血管平滑筋細胞の表現型の変化を含めた治療メカニズムの解析を行った。

miR-145 封入 PLGA ナノ粒子溶液に 30 分間浸漬した後に頸動脈に移植した頸静脈グラフトでは 2 週間後の内膜肥厚が抑制されていた。増殖活性マーカーである Ki-67 抗原の発現も治療群で抑制され、標的遺伝子発現についても myocardin は上昇した一方で KLF-4 は低下しており、PLGA ナノ粒子を用いた miR-145 の導入により平滑筋細胞の表現型が分化型に維持されたことが示された。さらに、炎症の発現に関与する CD40 と nuclear factor kappa B (NF-κB) の蛋白発現も抑制されており、miR-145 の炎症抑制効果も示された。

以上の研究は静脈グラフト不全に対する治療メカニズムの解明に貢献し、microRNA を用いた心臓血管外科医療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 31 年 1 月 29 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降