

氏 名	あら い よし お 新 井 善 雄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3114 号
学位授与の日付	平 成 19 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	Combined Treatment With Sustained - Release Basic Fibroblast Growth Factor and Heparin Enhances Neovascularization in Hypercholesterolemic Mouse Hindlimb Ischemia (高脂血症下肢虚血モデルにおける塩基性線維芽細胞増殖因子とヘパリンとの併用効果に関するマウス動物実験研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 長 澤 丘 司 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 開 祐 司

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】重症下肢虚血への新たな治療法として、血管新生療法に期待が高まっている。なかでも塩基性線維芽細胞増殖因子(Basic fibroblast growth factor:bFGF)は血管新生および動脈形成を促進することが知られている。そもそも増殖因子は組織局所内で一定期間有効な濃度を保つことが困難であり、その効果的な投与方法が模索されてきた。そこで血管新生因子の徐放化を目的として、生体吸収性材料であるゼラチンを血管新生因子徐放システムに応用した。

一方、様々な虚血モデルにおいてヘパリンを用いることにより血管新生が促進されることが報告されている。増殖因子が受容体に結合し細胞内にシグナルを伝達するには、受容体の多量化が必要であるが、このステップにおいて、細胞外マトリックス上のヘパリンとの相互作用が必要であることが判明し、ヘパリンを介した増殖因子のシグナル伝達機構が解明されてきた。

今回の研究ではbFGF徐放体とヘパリンとの併用により血管新生効果が増強するとの仮説を正常モデルのみならず病態モデルとして高脂血症モデルにおいても検討した。

【方法】正常C57ブラック6マウス(正常マウス)と低比重リポタンパク質レセプターノックアウトC57ブラック6マウス(高脂血症マウス)を対象とし、高脂血症マウスには高脂食負荷を12週行った。その後、麻酔下に正常・高脂血症マウスに重症下肢虚血を作成した。その際、無作為に正常・高脂血症マウスともに、無治療群、ヘパリン投与群、bFGF徐放体投与群、bFGF徐放体+ヘパリン併用群の4群に分け、レーザー血流画像測定による血流改善度を経時的に評価し、治療後4週目に犠牲死させた後、虚血下肢下腿の組織を摘出、下腿短軸切除断面標本を免疫学的染色法により、血管内皮細胞と血管平滑筋細胞を定量評価した。血流改善度は虚血足/非虚血足の血流比にて評価し、血管密度は mm^2 あたりの血管内皮細胞陽性血管数とし、血管成熟性は mm^2 あたりの血管密度に占める平滑筋細胞陽性血管率とした。

【結果】正常マウスにおいて、血流改善度はヘパリン投与群($73 \pm 10\%$)、bFGF徐放体投与群($86 \pm 10\%$)、bFGF徐放体+ヘパリン併用群($93 \pm 11\%$)のいずれも無治療群($53 \pm 7\%$)より有意に改善した。血管密度はヘパリン投与群($263 \pm 46 / \text{mm}^2$)、bFGF徐放体投与群($318 \pm 31 / \text{mm}^2$)、bFGF徐放体+ヘパリン併用群($383 \pm 59 / \text{mm}^2$)いずれも無治療群($189 \pm 46 / \text{mm}^2$)より有意に増加した。血管成熟性はbFGF徐放体投与群($17 \pm 4\%$)とbFGF徐放体+ヘパリン併用群($19 \pm 6\%$)の両群が無治療群($7 \pm 3\%$)とヘパリン投与群($15 \pm 7\%$)より有意に高かった。高脂血症マウスにおいて、血流改善度はbFGF徐放体+ヘパリン併用群($74 \pm 13\%$)のみ無治療群($39 \pm 9\%$)、ヘパリン投与群($46 \pm 11\%$)、bFGF徐放体投与群($47 \pm 10\%$)の3群に比較し有意に改善した。血管密度はbFGF徐放体+ヘパリン併用群($282 \pm 48 / \text{mm}^2$)が無治療群($120 \pm 25 / \text{mm}^2$)、ヘパリン投与群($116 \pm 32 / \text{mm}^2$)、bFGF徐放体投与群($131 \pm 27 / \text{mm}^2$)の3群に比較し有意に増加した。血管成熟性はbFGF徐放体+ヘパリン併用群($22 \pm 7\%$)が無治療群($10 \pm 5\%$)、ヘパリン投与群($10 \pm 6\%$)、bFGF徐放体投与群($11 \pm 5\%$)の3群に比較し有意に高かった。

【結論】高脂血症下肢虚血モデルにおいて bFGF 徐放体の血管新生効果はヘパリンを併用することで増強されることが示された。

論文審査の結果の要旨

手術やカテーテル治療や血管拡張剤では改善の望めない重症下肢虚血に対し、細胞移植や顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）を用いた治療が試みられている。しかし、細胞移植は採取時に侵襲を伴い、移植細胞種や細胞数についてコンセンサスは得られておらず、G-CSF は既に臨床使用されているものの、脳梗塞、脾破裂などの合併症の報告もあり安全面に課題が残るため、増殖因子を用いた血管新生療法に大きな期待が寄せられている。

本論文では、血管新生因子である塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）の局所徐放システムに安全な生体吸収性材料のゼラチンを用いた血管新生療法の有効性を動脈硬化を反映する高脂血症モデルにおいて検討した。

その結果、健常マウス下肢虚血モデルにおける bFGF 有効用量では、高脂血症マウス下肢虚血モデルに対しては有意な血流改善効果は認めなかったが、bFGF 局所投与にヘパリン皮下注射による全身投与を併用することで同量の bFGF 量で有意な血流改善効果が認められることが明らかとなった。

したがって、本論文は、増殖因子徐放体とヘパリン併用の血管新生療法が、現状の治療法では改善し得ない重症下肢虚血患者に対する新たな治療手段となる可能性を示し、博士（医学）の学位論文として、学術的価値のあるものとする。

なお、本学位授与申請者は平成19年2月26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。