

審査の結果の要旨

氏名 大原 信介

本研究は慢性虚血組織に対する血管新生を目的とした新たな遺伝子治療法を提示している。ウサギ下肢慢性虚血モデルにおいて、IL-2 の分泌シグナルを挿入した組み換え bFGF 遺伝子をアデノウィルスベクターによりウサギ自家線維芽細胞に Ex-vivo で導入し、虚血側内腸骨動脈に経カテーテル的に投与し、新生血管の誘導による虚血の改善について検討したものであり、下記の結果を得ている。

日本白色兔（雄、2.5～3.0kg）でウサギ下肢慢性虚血モデルを作製し、ウサギ宿主線維芽細胞を初代培養した。虚血モデル作製後 20 日目に 5×10^6 個の線維芽細胞に AxCAMAssbFGF (bFGF 群、n=11)、AxCALacZ (LacZ 群、n=12) 各ウィルスを 20 pfu/個で導入し、導入 24 時間後に各ウィルスベクター導入細胞を経カテーテル的に虚血側内腸骨動脈内投与した。

①選択的内腸骨動脈撮影では、LacZ 群において側副血行路発達をほとんど認めることができなかつたのに対して、bFGF 群では著明に多数の側副血行路発達を認めた。また、②calf blood pressure ratio (0.756±0.050 vs 0.584±0.049, $P<0.01$)、③angiographic score (0.695±0.082 vs 0.330±0.126, $P<0.01$)、④capillary density (190±18 vs 122±19 /mm², $P<0.01$)、⑤blood flow (rest: 21.7±1.9 vs 12.9±1.9 ml/min, maximum: 50.3±5.7 vs 33.1±8.0 ml/min, $P<0.01$)と計測した全項目で、bFGF 群は著明な側副血行発達による虚血の改善を示した。

また、遺伝子導入細胞から分泌される bFGF による他の組織への影響についての検討では、投与細胞が肺や肝臓をはじめ他の臓器にも至っていることが示されたものの、組織学的にも非虚血組織における bFGF 分泌を原因とする明らかな副作用は認められなかつた。

本研究の特徴は、Ex vivo での遺伝子導入細胞を経カテーテル的に虚血側左内腸骨動脈に選択的投与して投与細胞を虚血肢の筋肉組織内に有意に集積させたことと、第一世代アデノウィルスベクターを用いたことである。Ex-vivo 法によ

りアデノウィルスベクターを用いてウサギ線維芽細胞に bFGF 遺伝子を導入してから宿主動脈内に細胞投与するため、高い導入効率を保つことが可能であり、液性免疫反応を示さないので、遺伝子導入細胞の繰り返し投与が可能となる。一方で、T 細胞による細胞性免疫反応の誘導により比較的短期間の機能に限られることを考慮すると、目的遺伝子の体内における発現量および期間をある意味で制御していることになる。

本研究は慢性虚血肢に対する血管新生を目的とした新たな遺伝子治療方法の提示であり、ウサギ下肢慢性虚血モデルにおいて著明な虚血の改善を示した点から、肢切断を余儀なくされている手術不能かつ薬剤抵抗性を示す閉塞性動脈硬化症症例に対する治療として重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると判断する。