

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 藤生 克仁

本研究は、血管障害後の新生内膜に発現する転写因子 KLF5 の血管平滑筋細胞における役割の解明、また、KLF5 に結合するレチノイン酸受容体 α のリガンドを用いて、狭心症、心筋梗塞の治療への臨床応用の可能性を評価したものであり、下記の結果を得ている。

1. KLF5 ヘテロノックアウトマウスと野生型マウスの頸動脈結紮モデルを用いて、血管障害後一週間で血管平滑筋細胞の形質変換を評価したところ、KLF5 ヘテロノックアウトマウスで平滑筋細胞の形質変換の程度が弱く、KLF5 が *in vivo* で血管障害後の血管平滑筋細胞の形質変換に必要であることが示された。
2. 培養血管平滑筋細胞では、血清刺激により KLF5 が誘導され、平滑筋分化マーカーが低下し、形質変換を *in vitro* で mimic する事ができる。この実験系において、KLF5 に対する siRNA の発現ベクターを細胞に導入すると、血清刺激に対する KLF5 の誘導が抑制され、平滑筋分化マーカーの低下も弱まり、*in vitro* においても、KLF5 が平滑筋細胞の形質変換に必要であることが示された。
3. KLF5 に結合するレチノイン酸受容体 α のリガンドの一つ Am80 は血管平滑筋細胞において、KLF5 の発現を抑制し、また、KLF5 の発現量が不変の状況であっても、KLF5 の標的遺伝子への転写活性を抑制し、Am80 が KLF5 の modulator であることが示された。

4. 培養平滑筋細胞に対して、Am80 は DNA 合成阻害，増殖抑制，遊走能抑制作用があり，さらに，平滑筋ミオシン重鎖，SM α アクチンの誘導を惹起し，分化誘導作用があることが示された。
5. Am80 が血管障害後の新生内膜形成に効果があるかどうか検討するために，ウサギ大腿動脈にステントを留置するモデルを使用した。Am80 1mg/kg/day を投与した群では，プラセボ群に比較して，28日後，新生内膜形成は著明に抑制されていた。また，7日後，血管平滑筋細胞の血管障害後の形質変化は抑制されており，また，28日後の血管の分化度は上昇しており，Am80 が冠動脈治療に有効である可能性が示された。
6. 現在臨床で使用されている薬剤溶出ステントはラパマイシンを用いており，このステントにおいては再内皮化が傷害されており，抗血小板剤の長期使用が必要とされている。Am80 は血管内皮細胞の増殖は抑制せず，また，ウサギのステント留置モデルにおいても，ステント留置後の再内皮化は良好に生じていた。Am80 がラパマイシンに対して有効性がある可能性が示された。

以上，本論文は，KLF5 の平滑筋細胞における作用を明らかにし，KLF5 の modulator である Am80 が血管平滑筋細胞の増殖，遊走阻害，分化誘導を介して，血管障害後に新生内膜形成を抑制することを明らかにした。本研究は，今後，狭心症，心筋梗塞の機序の解明，治療戦略に重要な貢献をはたすと考えられ，学位の授与に値するものと考えられる。