

## 審査の結果の要旨

氏名 宮原拓也

本研究は、炎症性シグナル伝達系のひとつである CD40 シグナル伝達系の仲介蛋白である TNF receptor-associated factor (TRAF) に着目し、TRAF6 の dominant negative (TRAF6 DN) を electroporation 法を用いてウサギ頸動脈へ導入することで、内膜肥厚やステント内再狭窄が in vivo で抑制されるか検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. Electroporation 法により TRAF6 DN を含むプラスミドを血管壁へ導入した。CD40 シグナル伝達系では TRAF を介して nuclear factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) などの転写因子が活性化されることが知られているが、実際 TRAF6 DN を導入することでバルーン障害後の NF $\kappa$ B 活性は抑制され、導入された TRAF6 DN が in vivo でこのシグナル伝達系に作用していることが確認された。さらに、NF $\kappa$ B とともに TRAF6 の transducer であり、また中膜細胞増殖に関与することが知られている extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) に関しても、TRAF6 DN の導入によりバルーン障害後のその活性が抑制された。
2. ウサギ頸動脈のバルーン障害による内膜肥厚モデルを用いた検討で、TRAF6 DN の導入によりバルーン障害7日後の新生内膜/中膜面積比が抑制された。つまり TRAF6 DN が内膜肥厚形成の抑制に関与することが示唆された。TRAF6 DN の導入により内膜肥厚の形成が抑制されたメカニズムとして、バルーン障害後の中膜細胞増殖の抑制、内膜細胞数やその増殖の抑制、マクロファージ浸潤の抑制、さらに中膜細胞の apoptosis の促進などの要素の関与が示唆された。

3. バルーン障害後の肥厚内膜へのステント留置による再障害モデルを用いた検討で、TRAF6 DN の導入によりステント留置 3、7、14 日後のステント内内膜の内膜面積および内膜細胞数の経時的な増加は有意に抑制され、さらに細胞密度は上昇した。つまり TRAF6 DN がステント内内膜肥厚形成の抑制に関与することが示唆された。TRAF6 DN の導入によりステント内内膜肥厚の形成が抑制されたメカニズムとして、白血球やマクロファージなどの炎症細胞浸潤の抑制、内膜細胞増殖の抑制、細胞外マトリックス蓄積の抑制、さらに matrix metalloproteinase (MMP)-9 や plasminogen activator (PA) などのプロテアーゼ活性の抑制などの要素の関与が示唆された。

以上、動物モデルを用いて TRAF6 DN 導入による内膜肥厚抑制ならびにステント内再狭窄抑制の効果とそのメカニズムの一端を解析した。本研究ではステント内再狭窄における炎症反応の役割に注目しているが、血管壁への遺伝子導入による炎症性シグナル伝達系の遺伝子レベルでの制御を検討する点に本研究の特徴があり、本研究で用いた再障害モデルは臨床における動脈硬化性病変へのステント留置に近似したモデルである。本研究は、内膜肥厚やステント内再狭窄のメカニズムの解明、および実際の臨床現場における動脈硬化病変の治療やステント内再狭窄の予防に対するあらたな戦略の開発において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。