

## 審査の結果の要旨

氏名 西 蔭 誠 二

近年、増加の一途をたどる動脈硬化性疾患のなかで、慢性重症虚血肢は患者のADL（日常生活動作；activities of daily living）のみならず、生命予後をも低下せしめるものとなっている。慢性重症虚血肢においては薬物治療では十分な効果が得られないことも多く、また、外科的血行再建が不可能な症例もしばしば見受けられる。本研究は慢性重症虚血肢に対する新しい治療法を模索するため、ウサギ後肢虚血モデルの虚血大腿筋にbFGF plasmidをin vivo エレクトロポレーション法を用いて投与し、その血管新生効果を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. bFGFは本来細胞外への分泌能を有さない。本研究ではpCAGGS vector plasmidにIL-2の分泌シグナルを付加したbFGF cDNAを組み込んだplasmid、pCacchbFGFcs23を作成し、培養ウサギ繊維芽細胞にtransfectionさせたところ、培養液中にbFGFの存在が確認され、pCacchbFGFcs23が分泌型bFGFの遺伝子導入能力を持つことが示された。またこの培養液を<sup>3</sup>H-thymidine取り込み分析法により分析したところ、分泌されたbFGFがDNA合成促進能力を有することが示された。
2. ウサギ骨格筋におけるin vivo エレクトロポレーション法の遺伝子導入効率を検討するために、ルシフェラーゼ遺伝子をpCAGGS plasmid vectorに組み込んだpCaccluc+をウサギ大腿筋に遺伝子導入したところ、100Vまでは電圧依存性に導入効率が上昇することが示された。電圧刺激を加えた筋組織を組織学的に検討したところ、電極刺入部周囲に、筋細胞の壊死、変性、再生、炎症細胞浸潤、線維化といった変化が認められ、これは、電圧の増加とともにその重症度が増し、また、範囲も拡大することが示された。

3. ウサギ後肢虚血モデルを作成し、bFGF 遺伝子組込み plasmid、および LacZ 遺伝子組込み plasmid を虚血大腿筋に in vivo エレクトロポレーション法を用いて筋注投与し、血管新生効果を評価したところ、bFGF 遺伝子組込み plasmid をエレクトロポレーション法により投与した群においてのみ、コントロール群に比して有意に高い血管新生効果が得られることが示された。bFGF 遺伝子組込み plasmid を in vivo エレクトロポレーション法により健常ウサギ大腿筋に遺伝子導入したところ、その効果は 4-7 日後に最大となり 21 日後でも持続していることが示された。しかしながら、血中 bFGF の濃度は plasmid 投与後も変化は認められなかった。以上により、bFGF 組込み plasmid を in vivo エレクトロポレーション法によりウサギ虚血大腿筋に投与すると、局所における bFGF の持続的発現により血管新生効果が得られると考えられた。

以上、本論文はウサギ後肢虚血モデルにおいて、虚血大腿筋に分泌型 bFGF 遺伝子組込み plasmid を in vivo エレクトロポレーション法により投与することで、有意な血管新生効果が得られることを示した。本研究は、これまで治療の困難であった、外科的血行再建が不可能な慢性重症虚血肢に対する、新しい治療法の確立に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。