

審査の結果の要旨

氏名 橋本 拓弥

本研究は低酸素応答因子 HIF-2 α を利用した血管新生治療の可能性を念頭におき、マウス下肢虚血モデルと筋細胞を用いた実験により、HIF-2 α の分解に関与する Int6 を抑制する方法で血流改善効果の検証と機序の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Int6 抑制プラスミドを導入したマウス初代筋芽細胞では、内因性 Int6 蛋白が減少するとともに内因性 HIF-2 α 蛋白が増加することが Western blot により示された。
2. HIF のターゲット遺伝子となっている各種血管新生因子の発現量の変化については、マウス初代筋芽細胞に Int6 抑制プラスミドを導入した場合には、細胞中の bFGF および PDGF-B の mRNA の発現が増加していることがリアルタイム RT-PCR 法により示された。
3. ヒト初代筋芽細胞に Int6 抑制プラスミドを遺伝子導入して 24 時間後の培養液上清をマトリゲル上の HUVEC 細胞に投与した場合には、HUVEC 細胞の管腔形成が促進されていた。
4. Int6 抑制プラスミドを遺伝子導入したヒト初代筋芽細胞の培養液上清中においては、ヒト bFGF 蛋白およびヒト Ang-1 蛋白が有意に増加していることが免疫 PCR 法により示された。
5. マウス下肢虚血モデルにおけるレーザードプラー法による血流量測定では、虚血作製手術およびプラスミドの筋注後、有意に Int6 抑制群の血流回復が良好であり、歩行機能障害と組織障害に関しても Int6 抑制群の方が軽度であった。

以上、本論文はマウス下肢虚血モデルにおいて、Int6 の抑制が下肢血流と症状の改善に役立つことを明らかにした。本研究はこれまで未知であった、虚血に陥っている筋組織における Int6 の抑制の効果を検証するとともに、機序に関する考察を行っており、閉塞性末梢動脈疾患を対象とした血管新生治療の基礎研究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。