【292】

氏　名（本籍）	丸　山　秀　和（和歌山県） （まる　やま　ひで　かず）
学位の種類	博　　士（医　　学）
学位記番号	博　甲　第　4432　号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**Granulocyte Colony-Stimulating Factor Prevents Progression of Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats** （Granulocyte colony-stimulating factor はモノクロタリン投与ラットの肺高血圧の進行を抑制する）

主　査	筑波大学教授	博士（医学）	山　縣　邦　弘
副　査	筑波大学教授	医学博士	山　田　信　博
副　査	筑波大学助教授	医学博士	鬼　塚　正　孝
副　査	筑波大学助教授	医学博士	竹　内　　薫

論　文　の　内　容　の　要　旨

【目的】

特発性肺高血圧症は小径の肺動脈の壁肥厚による血管抵抗の上昇およびその結果による肺動脈圧の上昇を来たす進行性で予後不良の疾患で，現在のところ原因は特定されておらず，根治療法は肺移植のみである。肺動脈血管内皮細胞は NO synthase，Prostacyclin Synthase，Thrombomodulin 等を発現して肺循環の恒常性を維持しており，近年，同細胞のアポトーシスが肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension；PAH）の進行に関与すると報告された。血管内皮前駆細胞の移植がラット PAH モデルの進行を抑制するという報告があることから，肺動脈血管内皮の補填が PAH に対する治療法となりうると考えられた。granulocyte colony-stimulating factor（G-CFS）が成熟血管内皮細胞の増殖・動員を促進することから，われわれは G-CFS の投与で PAH の進行を抑制できると仮定し，モノクロタリン誘導性ラット肺高血圧モデルに対して recombinant human G-CFS を継続的に投与し，その効果を調べた。

【対象と方法】

雄 F344 ラットに対してモノクロタリンを投与し，肺高血圧を誘導した。モノクロタリン投与 2 週間後から G-CSF を 100 μg/kg/day の用量で 1 週間投与し，心エコー，観血的カテーテル検査を用いて肺血管抵抗および右室圧を評価し，組織学的検査で肺動脈の中膜の肥厚および肺動脈血管内皮細胞の増殖を評価した。末梢血白血球における c-kit 陽性細胞の陽性率をフローサイトメトリーで測定した。生存率の検討のためモノクロタリン投与後 3 週間から G-CSF を 2 μg/kg/day および 100 μg/kg/day の用量で投与し生存曲線を求めた。

【結果】

エコーで G-CSF 投与肺高血圧ラットはコントロール（生食投与）と比較し，肺動脈血流の accelerated

time の短縮，右室流出路の直径の縮小，（右室拡大による）左室の偏平化の軽減が有意に認められ，肺血管抵抗および右室の圧負荷が減少したと評価された。観血的カテーテル検査において収縮期右心室圧の有意な低下が認められた（コントロール群 43.6±9.5mmHg，G-CSF 投与群 30.0±5.3mmHg，$p<0.01$）。組織学的検査では直径 50-100μm の肺動脈の中脈肥厚が軽減し（コントロール群 26.9±3.8%，G-CSF 投与群 23.1±3.6%，$p<0.05$），細胞増殖を示す Ki-67 陽性細胞の陽性率が増加した（コントロール群 8.3±1.1mmHg，G-CSF 投与群 11.1±1.4mmHg，$p<0.01$）。末梢血白血球の c-kit 陽性細胞数は G-CSF 投与によって変化しなかった。モノクロタリン投与後 3 週間からの G-CSF 投与では，2μg/kg/day および 100μg/kg/day の用量ともにコントロール群と比較し生存率が改善した。

【考察】

モノクロタリン投与ラットにおいて G-CSF が PAH の進行を抑制することが示された。Ki-67 陽性細胞が有意に増加していることから肺動脈内皮の再生が G-CSF によって促進されたと考えられる。低用量（2μg/kg/day）の G-CSF が血管内皮の stem cell や progenitor cell を動員せずに，成熟した内皮細胞を直接刺激して血管新生を促進するという報告がある。2μg/kg/day の用量で生存率に改善が認められたこと，また末梢血中の hemangioblast と考えられる c-kit 陽性細胞数が増加していないことから，本実験でも肺動脈内皮の再生が血管内皮細胞の stem cell や progenitor cell が骨髄から末梢血中に動員されて行われたものではなく，成熟した肺動脈血管内皮細胞を直接刺激してその増殖や動員が行われたものと考えられる。ラットに対する recombinant human G-CSF 100-300μg/kg/day はヒトにおいて 10-20μg/kg/day に相当するという報告があり，この研究で使用した用量（2μg/kg/day および 100μg/kg/day）は臨床的に使用可能な用量に相当すると考えられる。これまでに PAH に対するサイトカイン療法の報告はなく，本研究は同疾患において再生医療的アプローチを *in situ* で行う初めての試みである。

【結論】

G-CSF は成熟した肺動脈血管内皮細胞を直接刺激し，その増殖・動員を行うことによって，モノクロタリン投与ラットの PAH の進行を抑制することが示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

著者は，根治的薬物療法の確立していない原発性肺高血圧症の治療法の開発を試み，ラットへのモノクロタリン投与後の肺高血圧における，肺動脈内皮細胞の G-CSF による増殖刺激による生命予後改善効果を明らかにした。今後は，原発性肺高血圧症下での肺動脈血管内皮細胞障害の発症機序について，アポトーシスの関与，G-CSF，e-NOS などを介した分子メカニズムの解明を試み，更なる発展と臨床応用にむけた検討が期待される。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。