The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	角膜創傷治癒に対するフィブロネクチンと表皮成長因子の効果
Author(s)	渡邉, 潔
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33962
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【39】

氏名・（本籍）	渡　遵　潔（わたなべきよし）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　6419　号
学位授与の日付	昭和59年3月24日
学位授与の要件	医学研究科　外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	角膜創傷治癒に対するフィブロネクチンと表皮成長因子の効果
論文審査委員	（主査） 教　授　眞鍋　禮三 （副査） 教　授　佐野　榮春　　教　授　藤田　尚男

論文内容の要旨

（目　的）

Fibronectin（FN）は糖蛋白質であり，細胞－細胞間，細胞－基質間の接着に働くと報告されている。私達の研究室では，このFNが角膜創傷治癒に積極的に関与することを蛍光抗体法を用いた形態学的検討により明らかにしてきた。また，in vitroにおいてFNが角膜上皮の創傷治癒を促進することを報告してきた。一方，表皮成長因子（Epidermal growth factor，EGF)も角膜の創傷治癒を促進することが報告されている。このように角膜創傷治癒を促進させるFNとEGFの作用機序を解明することを目的とする。

（方法および結果）

正常家兎角膜を2.8㎜間隔に固定した2枚刃のカミソリで，2.8㎜X4㎜の角膜片とし，上皮を上側にして37℃・5％炭酸ガス培養器内で静置培養した。培養開始時に存在する上皮の部分を既存部，実質切断面に伸びた上皮の部分を伸展部としてその長さを測定した。培養液は基本培養液として，血清を含まないTCM－199を用い対照とした。FNは，家兎血漿よりGelatin－Sepharose 4Bを用いたAffinity Chromatographyで精製した。EGFは，人尿中より精製したものを用いた。基本培養液にFN（100μg／㎖），EGF（50 ng／㎖）をそれぞれ添加して培養した後，4，8，16，28時間で固定した。エタノール・酢酸混合液で固定後，パラフィン包埋し，中央部を300μmの等間隔で4μmの切片にし，HE染色後，上皮の伸展を1個の角膜片につき4カ所すつ計測した。また，各群は角膜片を6個培養しすべてのデータはその平均で表現した。

上皮の伸びに対するFNおよびEGF添加の影響をみるために，伸展部の上皮の長さを測定した。対照

群では，培養８時間目には上皮の伸びは認められないが，その後伸び始め16時間，28時間と培養時間に比例して伸びるのに対し，ＦＮを添加すると，８時間目より上皮の伸びが始まり，16時間，28時間では，対照群に比し有意に促進された。一方，ＥＧＦ添加群でも８時間目で既に上皮は伸び始め，16時間，28時間で対照群と比べ有意に上皮の伸びが促進され，ＦＮの角膜上皮伸展の促進効果と同様の効果がＥＧＦにも認められた。

次に，この角膜上皮伸展の促進効果のメカニズムをさらに詳しく知る為に，伸展部における細胞の総数を計測し，ＦＮ，ＥＧＦ添加の影響を検討した。対照群およびＦＮ添加群では細胞総数は，上皮の伸びに一致して増加したが，一方，ＥＧＦ添加群では，対照群およびＦＮ添加群に比べ，各時間で有意に大きな値を示した。

４μm の切片を用い培養角膜片を覆っている全上皮細胞の細胞数を計測し角膜片を覆っている上皮細胞の長さで除した値を求めた。対照群は時間とともに値がやや小さくなり，ＦＮ添加群は対照群より更に小さい値を示した。逆に，ＥＧＦ添加群は，対照群に比べ有意に大きい値を示した。このことは，ＦＮの添加では，上皮細胞は分裂しないで伸展してゆき，ＥＧＦ添加では，上皮細胞の分裂が行われたことを示唆している。

実際に細胞増殖を観察するために，Radioautography を用いて ^{3}H－thymidineの核への取り込みを測定した。固定３時間前に ^{3}H－thymidine（50μCi／mℓ）を培養液に添加して，固定，包埋，薄切を行い，感光後，現像し更に後染色としてHF染色を行った。既存部，伸展部すべての上皮の ^{3}H－thymidine 取込み細胞の総細胞数に対する割合を測定したところ，対照群およびＦＮ添加群では，僅かな増加の傾向を認めたのに対し，ＥＧＦ添加群は，８時間目から増加し始め，16時間，28時間では対照群，ＦＮ添加群に比べ有意に ^{3}H－thymidine を取り込んだ細胞数の割合が増加していた。

（総　　括）

培養角膜片を用い，ＦＮ，ＥＧＦによる角膜上皮細胞の伸展促進のメカニズムを知るため伸展の度合，細胞増殖等を検討した。

基本培養液のみで培養した対照群に比し，上皮は，ＦＮ，ＥＧＦによって伸展が促進されたが，その際，上皮の厚さは，ＦＮによって促進された時には薄く，ＥＧＦによる場合は厚くなった。

ＥＧＦは細胞増殖を促進するが，ＦＮは細胞増殖には何ら影響を与えず，伸展のみを促進する。

論文の審査結果の要旨

本研究では，培養角膜片を用いてフィブロネクチンおよび表皮成長因子が角膜上皮細胞の伸びを促進することを明らかにしている。更に，フィブロネクチンは上皮の Sliding を促進することにより角膜上皮を伸長し，表皮成長因子は上皮細胞の増殖をも促進することにより上皮を伸長することを明らかにしている。本論文は，角膜創傷治癒の作用機序を知る為に非常に重要な点を明らかにしたものである。