



Title	角膜創傷治癒におけるフィブロネクチンとアクチンの役割
Author(s)	中川, 成則
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34644">https://hdl.handle.net/11094/34644</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・（本籍）	なか	がわ	しげ	のり
	中	川	成	則
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6819	号	
学位授与の日付	昭和60年	3月	25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	角膜創傷治癒におけるフィブロネクチンとアクチンの役割			
論文審査委員	(主査)			
	教授	眞鍋	禮三	
	(副査)			
	教授	岡田	正	教授 藤田 尚男

## 論文内容の要旨

### （目的）

角膜の創傷治癒は、まず上皮細胞層が欠損している創傷部に向かって周辺の上皮細胞が伸展移動することから始まる。従って、通常の組織では5～6層であるのに対し、最初に創傷部を覆う細胞は1～2層で、受傷約20～24時間後から基底細胞が分裂を始めることにより、角膜上皮層は正常の厚さとなっていく。

著者らは、接着性蛋白質であるフィブロネクチンが、*in vitro*および*in vivo*で、家兎角膜上皮細胞の伸展移動を促進することを、すでに報告した。また、Epidermal growth factor(EGF)も*in vitro*で角膜上皮の伸展移動を促進することを報告した。このような細胞の伸展移動には、細胞内の収縮性蛋白質であるアクチンが重要な役割を演じていると考えられる。

フィブロネクチンやEGFが、どのような機序で上皮細胞の伸展移動を促進するのかを知る目的で、組織培養した家兎角膜を用い、アクチンおよびフィブロネクチンの局在の変化を蛍光抗体法を用いて検討した。

### （方法ならびに成績）

家兎角膜を細切し2×4mmの角膜片を作製し、上皮側を上にして培養した。実験群は血清を含まないTC-199培養液に、精製家兎血漿フィブロネクチン(150 μg/ml)またはEGF(100 ng/ml)を添加し培養した。TC-199培養液のみで培養したものを対照群とした。培養開始8時間および24時間後にエタノール・酢酸で固定し、通常の方法でパラフィン包埋した。4 μm切片とした後、脱パラフィンを行い、間接蛍光抗体法でフィブロネクチンおよびアクチンの局在を観察した。1次抗体として、モノクローナル抗アクチン抗体または抗家兎血漿フィブロネクチン抗体を用いた。

(正常家兎角膜) 正常家兎角膜上皮細胞においてアクチンの蛍光は、細胞質にびまん性の特異蛍光として認められた。一方フィブロネクチンは、デスメ氏膜の両側に2本線として認められたが、上皮細胞および実質には認められなかった。

(培養開始8時間後) TC-199 培養液のみで培養した対照群では上皮の伸展移動はまだ認められなかった。アクチンは、basal cell および wing cell に認められた。フィブロネクチンまたは、EGF を添加した群では、伸展移動はすでに始り、伸展移動した上皮細胞では、細胞内アクチンは細胞膜に一致して認められた。また、フィブロネクチンは伸展移動した上皮細胞下の実質に認められた。

(培養開始24時間後) 上皮の伸展移動はすべての群で認められたが、フィブロネクチンまたは、EGF 添加群で促進されていた。アクチンは、既存部の上皮の basal cell および伸展移動した上皮細胞に認められた。その局在は、びまん性ではなく、細胞膜に集中し、実質との接触面により強く認められた。フィブロネクチンは伸展移動した上皮細胞下に認められた。アクチンの蛍光も、フィブロネクチンの蛍光も、フィブロネクチンまたはEGF 添加群でより強く認められた。

(サイトカラシンB添加群) アクチンの重合阻害剤であるサイトカラシンB (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を培養液に添加し、24時間培養した群では、上皮細胞の伸展移動は全く認められず、アクチンの蛍光は、正常家兎角膜に認められたのと同様に、びまん性に存在した。

(総括)

フィブロネクチンまたはEGFが家兎角膜上皮細胞の伸展移動を促進する機序を知る目的で、フィブロネクチンおよび細胞内骨格の重要な成分の一つであるアクチンの間接蛍光抗体法を施行した。正常角膜の上皮細胞層ではアクチンは全層にわたってびまん性に存在していた。伸展移動している上皮細胞ではアクチンは細胞膜に集中して存在していた。サイトカラシンBを添加すると、アクチンは伸展移動していない上皮細胞と同様に細胞質にびまん性に存在した。一方フィブロネクチンは伸展移動する上皮細胞と角膜実質との境界に強く認められ、フィブロネクチンおよびEGFの添加でこの部位のフィブロネクチン特異蛍光および細胞膜に関連するアクチンの特異蛍光が増強された。これらの実験結果より、フィブロネクチンが上皮細胞の細胞膜を介してアクチンの再構築を刺激し、その結果、伸展移動を促進すること、さらにEGFもフィブロネクチンを介して上皮の伸展移動を促進していることが示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

角膜創傷治癒の第一段階は上皮細胞の伸展移動であり、従って、そのメカニズムを知ることがきわめて意義がある。本研究は、角膜上皮細胞が伸展移動する際に細胞内のアクチンが再構築され、更に、細胞外間質に存在する接着性糖蛋白質であるフィブロネクチンが細胞内アクチンの再構築を促進することを明らかにした。本研究により、角膜上皮細胞の伸展移動に関与するフィブロネクチンおよびアクチンの作用機序が明らかとなり、角膜創傷治癒機構の解明に貢献した。本学医学博士の学位に値するものである。