



Title	ポリアミンの血管誘導作用に関する研究
Author(s)	西田, 幸光
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38045">https://hdl.handle.net/11094/38045</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	にし だ ゆき みつ
博士の専攻 分野の名称	博士（歯学）
学位記番号	第 10217 号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科 歯学基礎系専攻
学位論文名	ポリアミンの血管誘導作用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 鈴木不二男 (副査) 教授 岡田 宏 助教授 小川 知彦 助教授 斎藤 喜八

## 論文内容の要旨

## (目的)

血管新生は成長、発育、創傷治癒、卵胞形成および妊娠等の生理現象として起こる一方、 固形腫瘍の増殖、糖尿病性網膜症等の病的状態の際に認められる。最近、この血管新生に線維芽細胞成長因子、トランスフォーミング成長因子、上皮成長因子等の蛋白性因子が重要な役割を果たしていることが強く示唆されているが、プロスタグランジン、ニコチニアミド等の低分子量の因子にも血管新生作用を有するものがみい出されている。ところで、プロトレッシン(Put)、スペルミジン(Spd)、スペルミン(Spm)等のポリアミンは、さまざまな細胞の増殖、分化、成長に関与しており、胚および悪性新生物の細胞内においてその濃度が高く、創傷治癒の際にも増加する。最近、オルニチン脱炭酸酵素の特異的阻害剤、 $\alpha$ -ジフルオロメチルオルニチンが、ポリアミン合成を阻害することにより腫瘍による血管誘導やニワトリ胚の血管新生を阻害することが報告されている。そこで本研究では、ポリアミンが血管新生因子であることを明らかにするとともに、その作用機構について検討を加えたので報告する。

## (方法)

ふ卵3日目の鶏卵を10cmシャーレで培養し、翌日、外径6mm、内径4mm、高さ3mmのシリコンラバー製リングを卵黄嚢上に置き、PBSに溶かしたポリアミンを等量のメチルセルロースとともにリング内に投与した。投与後、経時的にその影響を観察するとともにリング局所の卵黄嚢を取り取り、卵黄嚢の膜組織内のポリアミンを抽出し、ダンシル化後、薄層クロマトグラフィーで分離、定量した。プラスミノーゲン・アクチベーター(PA)活性、プラスミノーゲン・アクチベーター・インヒビター(PAI)活性はバイオプール社のアッセイキットを用いて、また、コラゲナーゼ活性はNEN社のアッセイキット

を用いて測定した。ウシ肺動脈血管内皮細胞（BPAE細胞）は透析したウマ血清20%含有Eagle MEM培地で培養し、その増殖能はDNA含量を KissaneとRobinsの方法で測定することにより調べた。また、BPAE細胞の遊走能はケモタキシスチャンバー（pore size : 8 μm, クラボウ）を用いて調べた。  
(結 果)

1. 鶏卵卵黄囊に Spd および Spm を投与すると12時間後からリング局所への血管誘導作用が見られ始め、24時間後には最大効果がみとめられた。なお、最大効果の得られる量は、Spd では $0.6 \mu\text{mol}$ , Spm では $0.24 \mu\text{mol}$ であった。
2. 鶏卵卵黄囊に Put, ポリリジン, ヒスタミン, カダベリン, ジアミノプロパンを投与しても血管誘導作用は認められなかった。また、Spm よりも長鎖のカルドヘキサミン, ホモカルドヘキサミンでは、軽度の血管誘導しか認められず、長鎖で分枝状のアミノブチルホモスペルミジンやビスアミノブチルホモスペルミジンではほとんど血管誘導は認められなかった。
3. Spd および Spm を投与した後、リング付近の卵黄囊膜のポリアミンレベルを測定すると、それぞれ Spd および Spm レベルが血管誘導に先行して約2.5倍に上昇したが、他のポリアミンへの変換は認められなかった。また、Put を投与した際には Put レベルは上昇したが、Spd および Spm レベルは上昇しなかった。
4. Spd および Spm の投与により、卵黄囊膜の PA 活性は6時間後にそれぞれ約2倍および約3倍に上昇した。一方、PAI はいずれのポリアミンを投与しても、ほとんど変化しなかった。
5. Spm の投与により6時間後に卵黄囊膜のコラゲナーゼ活性が対照の158%に上昇した。
6. Spm と共にトラネキサム酸や6-アミノ-n-カプロン酸、アプロチニンおよびロイペプチドを同時に投与すると Spm による血管誘導が阻害された。
7. Spd と共にトラネキサム酸を同時に投与すると Spd による血管誘導が阻害された。
8. Spm と共に TIMP または TIMP-2 を同時に投与すると Spm による血管誘導が阻害された。
9. BPAE細胞培養系に Put を添加した場合、対照の約150%に増殖促進が認められたが、Spd, Spm では増殖促進は認められなかった。
10. Spd および Spm を添加すると、BPAE 細胞の遊走能は、それぞれ対照の149%および174%に亢進した。また、その遊走能の亢進はチェックカード解析により求心性の方向性があることが判明した。
11. 肋軟骨骨移行部の軟骨組織内のポリアミンレベルが骨に近づく程、高くなることが明らかになった。  
(考 察)

以上の結果より、Spd および Spm は PA 活性およびコラゲナーゼを上昇させ、その結果、血管内皮細胞が遊走、浸潤し、血管誘導を惹起するものと考えられる。なお、この血管誘導作用は両ポリアミンに特異的であることが明らかとなった。また、内軟骨性骨形成の際の血管新生にポリアミンが重要な役割を果している可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

内軟骨性骨形成において軟骨から骨に置換する際には毛細血管の侵入が不可欠である。従来、血管新生因子としては線維芽細胞成長因子のほかトランスフォーミング成長因子 $\beta$ などの蛋白性因子が重要な役割を果たしていると考えられてきたが、最近、低分子の因子にも血管新生活性を有するものが見出されつつある。

一方、プトレッシン(Put)、スペルミジン(Spd)、スペルミン(Spm)などのポリアミンの合成阻害剤が腫瘍による血管誘導やニワトリ胚漿尿膜での血管新生を阻害することが明らかとなった。そこで本研究では、血管新生に対するポリアミンの作用を検討した。

その結果、SpdおよびSpmがプラスミノーゲン活性化因子およびコラゲナーゼ活性を上昇させることにより血管内皮細胞の遊走、浸潤をもたらし、血管誘導を惹起すること、すなわち、ポリアミンが血管新生活性を示すこと、さらに内軟骨性骨形成の際の血管新生にもポリアミンが重要な役割を果たしていることを示した。以上のようにポリアミンの新たな作用を解明した本論文は博士(歯学)の学位請求に十分値するものと認める。