

Title	血管新生におよぼすグルココルチコイドの影響
Author(s)	原田, 育生
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38572
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	原 田 育 生
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11180 号
学位授与年月日	平成6年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	血管新生におよぼすグルココルチコイドの影響
論文審査委員	(主査) 教授 小野 啓郎 (副査) 教授 越智 隆弘 教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

【目的】

グルココルチコイド投与後の副作用は種々報告されているが、整形外科領域においては大腿骨頭壊死症に代表される骨壊死を引き起こすことが知られている。その機序はグルココルチコイドを介した血管障害が主因と考えられるが、従来グルココルチコイドの血管系に対する作用は明らかにされておらず、詳細は不明である。本研究では血管新生に対するグルココルチコイドの影響とその作用機序を検討し、大腿骨頭壊死症解明の一助とした。

【方法】

佐藤等の方法に従って、ラット副睾丸周囲の脂肪組織から別々に採取された毛細血管断片(4~5個の血管内細胞の集合体)、および間葉系細胞である myofibroblastic cell (Mf) を co-culture することによって得られた in vitro 血管モデルを用いた。本系では Mf がまず増殖し subconfluent となった後、血管断片より血管内皮細胞が増殖し毛細血管のネットワークを形成する。その機序として、MF が血管内皮細胞増殖因子 (Mf-ECGF) を産生し、且つコラーゲン (主に Type I) を合成することによって、血管内皮細胞の増殖および毛細血管様の管腔構造の形成を促進するものと考えられている。そこで本モデルでの血管新生に対するデキサメサゾン (10^{-10} ~ 10^{-6} M) の影響を検討した。さらにデキサメサゾンの作用機作を知るため、Mf と血管内皮細胞それぞれに対する影響を、細胞増殖、コラーゲン合成等を指標として検討した。なお血管内皮細胞のみの系については Folkman 等の方法に従い、牛副腎皮質より血管内皮細胞 (Bovine capillary endothelial cell: BCEC) のみを単離し用いた。

【結果】

血管モデルの実験では、血管の伸長はコントロールと比較して、 10^{-10} M のデキサメサゾンでは抑制されず、 10^{-8} M 以上では濃度依存性に有意な抑制を認めた。 10^{-8} M 添加3日後ではコントロールに比し23%、6日後では75%の抑制が認められ、 10^{-6} M 添加ではそれぞれ48%、90%と著しい抑制傾向を認めた。

単独培養実験では、Mf の増殖に対しデキサメサゾン添加後、コントロールに比し 10^{-8} M で54%、 10^{-6} M では41%と有意に抑制が見られた。コラーゲン合成も抑制され、 10^{-10} M で既にコントロールに比し65%、 10^{-6} M では86.5%の抑制が認められた。さらにコラーゲナーゼ合成も抑制され、 10^{-10} ~ 10^{-6} M のデキサメサゾン添加でいずれもコントロールに比し約50%の抑制が認められた。一方 Mf-ECGF 産生に対する検討では、BCEC の増殖はデキサメサゾン未処理の Mf-conditioned medium 添加によって約5倍促進されたが、デキサメサゾン処理後の Mf-conditioned medium

を添加しても依然 BCEC の増殖は同程度に促進されていた。すなわちデキサメサゾン は Mf-ECGF の産生には影響しなかった。

血管内皮細胞 (BCEC) のみの単独の系では、血管新生モデルと培養条件を近似させるために Mf の conditioned medium を加えて検討した。本実験を行なう前に、Mf の conditioned medium 中に含まれる Mf-ECGF が BCEC あるいは人臍帯由来の血管内皮細胞の増殖を有意に促進し、FGF などと同様種特異性を越えて作用することを確認している。 10^{-10} ~ 10^{-6} M のデキサメサゾン添加では細胞増殖、コラーゲン合成およびコラゲナーゼ合成のいずれに対しても抑制作用を示さず、有意差はないもののむしろコラーゲン合成を促進する傾向を示した。

【総括】

本実験結果から、グルココルチコイドは *in vitro* における血管新生を抑制することが明らかとなった。個々の細胞に対する検討から、その抑制作用はデキサメサゾンの血管内皮細胞に対する直接作用ではなく、間葉系細胞である Mf を介したものであることを示唆している。今回の *in vitro* 血管モデルの実験では、血管新生の開始時期にはすでに Mf が subconfluent になっていることから、特に Mf のコラーゲン合成抑制が血管新生の抑制に強く関与しているものと思われる。血管新生の開始する時期にコラーゲン合成阻害剤である cis-hydroxyproline あるいは β -aminopropionitrile を加えた場合、血管新生が著明に抑制されることを我々は既に確認しており (未発表データ)、この事実からも強く推測される。

本結果はあくまで *in vitro* の実験に基づくものであるが、我々はさらに動物実験においてグルココルチコイドが血管新生を著明に抑制することを報告した (日整会誌, 66: S1582, 1992.)。また Manthorpe 等はグルココルチコイド投与が血管内膜-中膜コラーゲン合成の低下を引き起こすことを既に報告している。これらの結果と本実験結果を合わせて考えると、グルココルチコイドが生体に投与された場合、血管の新生を阻害する作用を有することを示唆している。グルココルチコイド投与による骨壊死は、種々の要因が複雑に絡み合っその病態が完成するものと思われるが、本研究はその病態を考えるうえで重要な事実と考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文はグルココルチコイドが血管新生を抑制することを、血管内皮細胞及び間葉系細胞から構成される血管新生の *in vitro* の系を用いて、初めて証明した論文である。整形外科領域ではステロイドの大量投与が骨壊死という重大な副作用を引き起こすことが知られているが、本論文は血管修復に及ぼすステロイドの抑制作用から阻血、骨壊死発症のメカニズムを示唆するものとして、学位論文に値すると考える。