

Title	Increased mitogenic response to heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in vascular smooth muscle cells of diabetic rats.
Author(s)	福田, 和人
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40459">https://hdl.handle.net/11094/40459</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	ふく だ かず と 福 田 和 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 6 1 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 5 月 9 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	Increased mitogenic response to heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in vascular smooth muscle cells of diabetic rats. (糖尿病ラット由来血管平滑筋細胞におけるへパリン結合性 EGF 様増殖因子にたいする反応性亢進機序の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 沢 佑 次 (副査) 教 授 谷 口 直 之 教 授 荻 原 俊 男

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

糖尿病は動脈硬化の重要な危険因子である。血管平滑筋細胞 (SMC) の遊走、増殖は動脈硬化巣形成の主要機序であるが、糖尿病状態における SMC の増殖調節機構については十分な検討がなされていない。へパリン結合性 EGF 様増殖因子 (HB-EGF) は EGF family の一つであり、SMC にたいして強力な増殖促進作用をもつこと、EGF receptor との結合に細胞表面の heparan sulfate proteoglycan (HSPG) との相互作用を必要とすることが知られている。今回、私共はストレプトゾトシン投与糖尿病ラット由来血管 SMC における HB-EGF にたいする増殖反応性の変化、およびその機序について検討した。

### 〔方 法〕

雄性ウィスターラット (250 g) にストレプトゾトシン (70 mg/kg) を静注し、糖尿病ラットを作製した。糖尿病ラットの一部は、ヒトインスリン (50 U/kg) を連日皮下注し、治療群とした。4 週間飼育後、胸部大動脈より explant 法により SMC を培養した。増殖因子にたいする反応性は、quiescent の状態にした SMC に増殖因子添加後 24 時間培養し、<sup>3</sup>H-thymidine の取り込みで検討した。HB-EGF による EGF receptor のリン酸化は、抗リン酸化チロシン抗体を用いた Western blot により検討した。EGF receptor 数の検討は、<sup>125</sup>I-EGF を用いた scatchard analysis により行った。HB-EGF の増殖促進作用にたいする HSPG の関与を明らかにするため、SMC を chlorate, heparitinase および HB-EGF の heparin-binding domain に対応する合成ペプチド (p21) で処理後、増殖因子にたいする反応性を検討した。SMC より細胞表面 heparan sulfate (HS) を分離し、硫酸化の程度を<sup>35</sup>S-sulfate の取り込みにより、分子量をゲル濾過により検討した。chlorate, heparitinase 処理した SMC に、HS を HB-EGF とともに添加し、HB-EGF の活性増強作用を検討した。

### 〔成 績〕

1. EGF, bFGF にたいする反応性は糖尿病ラット SMC, コントロールラット SMC の間に差を認めなかったが、HB-EGF にたいする反応性は、糖尿病ラット SMC において、コントロールラット SMC に比し有意に亢進しており、

インスリン治療により正常化した。

2. 糖尿病ラット SMC において、EGF receptor 数はコントロールラット SMC の約40%に減少していたが、HB-EGF によるチロシンリン酸化は著明に亢進していた。
3. chlorate, heparitinase, p21処理により、糖尿病ラット SMC における HB-EGF にたいする反応性は、コントロールラット SMC と同程度まで抑制された。
4. 糖尿病ラット SMC 由来 HS は、コントロールラット SMC 由来 HS に比し、sulfate の取り込みの低下、分子サイズの減少が認められた。
5. HB-EGF の活性増強作用は、糖尿病ラット SMC 由来 HS において、コントロールラット SMC 由来 HS に比し、有意に亢進していた。

〔総括〕

糖尿病ラット SMC において、HB-EGF にたいする反応性が亢進していることが示された。この反応性の亢進には、細胞表面 HS の変化が関与している可能性が考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

糖尿病は動脈硬化の重要な危険因子であるが、その際の血管平滑筋細胞の増殖調整機構については、十分な検討がなされていなかった。ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (HB-EGF) は血管平滑筋細胞にたいする強力な増殖、遊走促進因子であり、動脈硬化巣にみられるマクロファージ、Tリンパ球など種々の細胞により産生され、動脈硬化巣形成に重要な役割を演ずることが知られている。本研究は、ストレプトゾトシン投与糖尿病ラットより得られた培養血管平滑筋細胞における HB-EGF にたいする増殖反応性の変化、およびその機序について検討したものである。その結果、糖尿病ラット血管平滑筋細胞において、HB-EGF にたいする反応性が亢進していることが明らかになった。ヘパリチナーゼ、クロレイトなどをもちいた検討により、この反応性の亢進には、細胞表面のヘパラン硫酸の変化が重要な役割を演ずるものと考えられた。さらに、糖尿病ラット血管平滑筋細胞より回収したヘパラン硫酸において、硫酸化の低下、糖鎖サイズの減少が示された。

本研究は、糖尿病状態における血管平滑筋細胞の HB-EGF にたいする過剰反応性およびその機序を明らかにし、糖尿病性血管障害の進展に関する HB-EGF の重要性を示唆するものであり、学位授与に値するものと考えられる。