



Title	Negative Regulation of Local Hepatocyte Growth Factor Expression by Angiotensin II and Transforming Growth Factor- $\beta$ in Blood Vessels : Potential Role of HGF in Cardiovascular Disease.
Author(s)	中野, 信明
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42904">https://hdl.handle.net/11094/42904</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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	中 野 信 明
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 9 6 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 9 月 30 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	Negative Regulation of Local Hepatocyte Growth Factor Expression by Angiotensin II and Transforming Growth Factor- $\beta$ in Blood Vessels: Potential Role of HGF in Cardiovascular Disease. (血管組織におけるアンジオテンシンIIとTGF- $\beta$ による肝細胞増殖因子(HGF)調節機構の解明:心血管疾患におけるHGFの役割について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 萩原 俊男 (副査) 教 授 松澤 佑次 教 授 中村 敏一

### 論 文 内 容 の 要 旨

(目的) 強力な肝再生因子として発見された肝細胞増殖因子(HGF)はその後、多くの細胞や組織において組織の再構築を促し、機能改善をもたらす多機能因子であることが明らかになった。先に、我々は HGF が血管平滑筋細胞を増殖させず内皮細胞のみを増殖させる内皮特異的増殖因子であることを報告し、また、HGF とその受容体である c-Met が血管組織に存在することも報告した。しかしながら HGF がどのように血管組織において制御されているか明らかではない。一方、血管形成術後の再狭窄や動脈硬化において、様々な成長因子やサイトカインが関与していることがわかってきた。とくに血管形成術後の再狭窄や動脈硬化病変においては TGF (Transforming Growth Factor)- $\beta$  やアンジオテンシンII (Ang II) が活性化されていることは広く知られている。そこで今回、血管における HGF の作用およびその産生調節機構を詳細に検討するとともに、TGF- $\beta$ 、Ang II と HGF が再狭窄や動脈硬化性病変の形成にいかに関与しているかを検討した。

(方法並びに成績) 最初に、平滑筋細胞や内皮細胞から産生される血管壁局所 HGF 系の病態生理学的意義を解明した。まず、ヒト大動脈由来の培養血管内皮細胞において、特異的な抗 HGF 抗体を添加することにより内皮細胞数は抑制された(-15%)。対照群(IgG 抗体添加)では変化が認められなかった。このことは、血管内皮から分泌された HGF が、血管内皮細胞を増殖させ、内皮を維持する作用を有していることを示唆する。

次に上層に平滑筋細胞、下層に内皮細胞をおいた共培養実験系を用いて、平滑筋細胞から産生される増殖因子が内皮細胞の増殖に関与しているか否かを検討した。対照(上層に平滑筋細胞がない系)と比較すると、培養血管内皮細胞における内皮細胞数の増加が平滑筋細胞の存在により有意に促進された(+20%)。その増殖作用は HGF の中和抗体によりほとんどすべて抑制された。この実験結果から、HGF は平滑筋細胞からも分泌されており、内皮の増殖を調節している可能性が示唆された。

さらに、血管局所における HGF 産生調節機構について検討した。ヒト大動脈由来の培養血管内皮細胞に、TGF- $\beta$  を添加すると濃度依存的に HGF 分泌が抑制された。一方、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF) やインターロイキン-6 を添加すると、血管内皮細胞からの HGF 分泌が増加した。また、ヒト大動脈由来の血管平滑筋細胞における検討

では、TGF- $\beta$  の添加により HGF 分泌が濃度依存的に抑制された（-60%）。同様に、Ang II も血管平滑筋において濃度依存的に HGF 産生を抑制した。この TGF- $\beta$  による作用や Ang II の作用は抗 TGF- $\beta$  抗体の添加により拮抗された。

一方、上層に内皮細胞、下層に血管平滑筋細胞を配置した共培養の実験系では、対照に比し培養液中への HGF 分泌が抑制されていた（-25%）。この HGF 産生抑制は TGF- $\beta$  の中和抗体の添加によって回復したことから、内因性 TGF- $\beta$  による作用と考えられる。同様に、この実験系で、Ang II を添加するとさらに強く HGF 産生は抑制された（-40%）。

最後に Ang II による HGF 産生調節機構を、ラットバルーン傷害モデルを用いて検討した。血管内皮を傷害したこのモデルにおいて、局所での HGF 産生量および HGF の mRNA 発現量（RT-PCR 法）はいずれも減少していた。アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬（シラザブリル）、アンジオテンシンII受容体拮抗薬（E-4177）をこのモデルに投与すると、局所における HGF 産生を増加させ、内膜増殖も抑制した。対照として用いたヒドララジン投与では、局所 HGF 産生は増加せず、内膜増殖も抑制しなかった。これらのことから、局所での Ang II は内膜増殖に促進的に働き、HGF 産生も低下させるが、この Ang II を阻害することにより局所での HGF 産生が増加し、傷害による内膜増殖を抑制することが明らかになった。

（総括） 血管局所における HGF は主として、血管内皮細胞や平滑筋細胞から分泌され、内皮細胞のみを増殖させていた。また、この HGF 産生系は TGF- $\beta$  や Ang II により負に調節されていることが明らかになった。さらに、HGF は、傷害された血管内皮を再生、修復し、内膜増殖を抑制した。この HGF 産生は ACE 阻害薬や Ang II 受容体拮抗薬で促進された。これら一連の実験結果から、血管形成術後の再狭窄の予防や治療に HGF が有用であり、また、局所 HGF 産生を促進するような薬剤が有効であることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

従来、病理組織学的研究から動脈硬化初期病変の形成に、血管透過性の亢進が重要と考えられていた。近年、分子生物学的手法の応用により血管内皮細胞が、血管透過性をはじめ血栓形成、血管壁張力あるいは細胞増殖の調節など、組織としての血管の恒常性維持に重要な役割を演じていることがわかつってきた。この血管内皮に作用する新しい活性物質として、肝細胞増殖因子（HGF）が有する細胞の増殖・遊走・形態形成などの作用が注目されている。本研究において、HGF が血管平滑筋には増殖作用を持たず、血管内皮細胞に対してのみ強力な増殖・再生作用を発揮することが明らかになった。また、血管壁局所において HGF 産生が TGF- $\beta$  やアンジオテンシンIIにより抑制され、逆に TGF- $\beta$  やアンジオテンシンIIの阻害により局所 HGF 産生が増加するという、血管壁における産生調節機構も解明された。

本研究は、新しい血管作動物質としての HGF が動脈硬化発症・進展機構への深く関与していることを提唱し、今後、循環器領域の基礎的・臨床的研究に大きく貢献するものであり、学位の授与に相当するものと認める。