

Title	Expression of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor in Neointimal Cells Induced by Balloon Injury in Rat Carotid Arteries
Author(s)	井倉, 技
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/42968">http://hdl.handle.net/11094/42968</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏 名	井 倉 技
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 8 0 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 5 月 6 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	Expression of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor in Neointimal Cells Induced by Balloon Injury in Rat Carotid Arteries (ラット総頸動脈内皮傷害後の新生内膜におけるヘパリン結合性 EGF 様増殖因子の発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 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]

血管内皮傷害後の血管平滑筋細胞の遊走と増殖には platelet-derived growth factor (PDGF) や basic fibroblast growth factor (bFGF) などの増殖因子の関与が示唆されているが、そのメカニズムは完全には解明されていない。最近同定された EGF ファミリーの一つである heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (以下 HB-EGF) は血管平滑筋細胞に対して強力な遊走・増殖刺激作用を持ち、その作用は EGF より強力に PDGF に匹敵すると言われている。われわれはヒトの大動脈切片を用いた免疫組織学検討により、HB-EGF が動脈硬化巣内の平滑筋細胞およびマクロファージに発現していることを観察し、HB-EGF が動脈硬化形成に関与している可能性を報告してきた。本研究はラットの総頸動脈バルーン傷害モデルを用いて、新生内膜における HB-EGF の発現を検討することにより、血管平滑筋細胞の遊走と増殖における HB-EGF の意義を明らかにすること目的とした。

### [方法]

350 g のウィスター系雄性ラットの頸部を正中切開し、2F の Fogarty catheter にて左総頸動脈の内皮を擦過した。内皮傷害後、血管壁より total RNA を抽出し、ラット HB-EGF の cDNA を用いて Northern hybridization 法により HB-EGF の遺伝子発現量を検討した。パラフィン切片作製後、ラット HB-EGF cDNA より作製した RNA probe を用いて *in situ* hybridization 法を用い、遺伝子発現の局在を検討した。さらにヒト HB-EGF の C 末端側の cytoplasmic tail に対するウサギ抗体を用いて PAP 法にて免疫組織学的検討を行った。EGF-receptor の発現は抗 EGF-receptor 抗体を用いて染色した。次に HB-EGF の発現と平滑筋細胞の増殖能の関係を検討するために屠殺する 2 時間前に BrdU 50 mg/kg を腹腔内投与し、抗 BrdU 抗体にて染色した。新生内膜の細胞の同定には、抗アクチン抗体、抗マクロファージ抗体を用いた。

### [成績]

HB-EGF の遺伝子発現量を Northern blot 法にて検討すると、健側においてもわずかに HB-EGF の発現が認められたが、内皮傷害後 2 時間で 10 倍以上に誘導され、14 日後でも約 3 倍まで増加していた。HB-EGF の遺伝子発現の局

在を *in situ* hybridization 法にて検討すると、内皮傷害後 2 時間では中膜全体に強く発現しており、14 日後では新生内膜の内腔側に強い発現がみられた。HB-EGF の免疫組織学検討では傷害後 2 日では内腔側の中膜平滑筋細胞に HB-EGF 陽性細胞を認めた。4、5 日後では内弾性板を越えて遊走してきた平滑筋細胞に HB-EGF が強く発現していた。7 日後では数層の新生内膜に HB-EGF が強く発現しており、14 日後では肥厚した新生内膜の内腔側に強い免疫活性を認めた。HB-EGF と BrdU の二重染色による検討では、BrdU 陽性細胞に HB-EGF の免疫活性を強く認めた。また EGF-receptor の免疫組織学検討では、HB-EGF の染色パターンと同様に新生内膜の内腔側に強い免疫活性を認め、HB-EGF 陽性細胞は EGF-receptor を発現していると考えられた。

[総括]

ラット総頸動脈内皮傷害モデルを用いて、血管平滑筋細胞の遊走と増殖における HB-EGF の発現動態を検討したところ、Northern Blot 法では血管壁の HB-EGF 遺伝子発現量は傷害後 2 時間で 10 倍以上に誘導された。組織学的検討では、傷害後 2 時間では中膜全層に HB-EGF の強い発現が認められ、4、5 日後内弾性板を越えて遊走してきた平滑筋細胞や、7 日以降肥厚してきた新生内膜の BrdU 陽性細胞に HB-EGF が強く発現していた。以上のことから、HB-EGF は autocrine、paracrine あるいは juxtacrine 機構により内皮傷害後の平滑筋細胞の遊走と増殖に重要な役割を演じていると考えられた。従って、HB-EGF は PTCA 後の再狭窄や内皮傷害後の血管リモデリングに関与している可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

PTCA 後の再狭窄は血管平滑筋細胞の遊走と増殖がその病態の主体であり、平滑筋細胞の遊走と増殖には platelet-derived growth factor (PDGF) や basic fibroblast growth factor (bFGF) などの増殖因子の関与が示唆されているが、そのメカニズムは完全には解明されていない。本研究はラットの総頸動脈バルーン傷害モデルを用いて血管平滑筋細胞における heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) の発現動態と局在を northern blot 法、*in situ* hybridization 法、免疫組織化学により検討したものであるが、内皮傷害後数時間より HB-EGF の遺伝子が著明に誘導され、HB-EGF 産生細胞が遊走および増殖していることを示し、HB-EGF が autocrine あるいは juxtacrine 機構を介して、新生内膜形成に関与している可能性を示した。

これらの結果は内皮傷害後の新生内膜形成に HB-EGF の関与していることを明らかにした最初の論文であり、PTCA 後の再狭窄の分子機構解明に資するところであり、学位に値するものと考えられる。