OUKA
Osaka University Knowledge Archive

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	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42968
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 14 】

氏名	井倉 技（いくら たくみ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 14807 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より強力で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]

ラット総頚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頚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* hybridazation 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。