The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Immunohistochemical Localization of Betacellulin, a Member of Epidermal Growth Factor Family, in Atherosclerotic Plaques of Human Aorta
Author(s)	田村, 律
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43180
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【49】

氏　　名	田村　律（たむら　りつ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16473　号
学位授与年月日	平成13年7月4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	Immunohistochemical Localization of Betacellulin, a Member of Epidermal Growth Factor Family, in Atherosclerotic Plaques of Human Aorta （EGF family に属する増殖因子 Betacellulin のヒト大動脈動脈硬化巣における免疫組織学的局在）
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】

血管平滑筋細胞の遊走および増殖は動脈硬化形成過程において重要な現象であると考えられ、多くの増殖因子の関与が知られている。Betacellulin（BTC）は EGF family に属し、マウスの insulinoma 由来の細胞株の培養上清から見出され、マウスにおいては甲状腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、小腸、膵臓、骨格筋などにも発現している。BTC はラットの血管平滑筋細胞に対して増殖を促進し、膵由来 AR42J 細胞を分化の方向に誘導することが示されており、その受容体として EGF 受容体（EGFR）や ErbB4 が知られている。しかし、ヒト血管平滑筋細胞に対する BTC の生物学的効果や血管組織における局在はまだ明らかではない。本研究ではヒト大動脈において BTC の動脈硬化巣形成過程への関与を明らかにするため、ヒト血管平滑筋細胞に対する BTC の増殖促進能と、BTC およびその受容体である EGFR と ErbB4 の局在を免疫組織学的に検討した。

【方法】

ヒト血管平滑筋細胞の DNA 合成能に対する BTC の効果は、ヒト大動脈平滑筋細胞を10%FCS を含む DMEM にて培養後、BTC 添加時の［^{3}H］thymidine の取り込みにより検討した。さらに、剖検にて得た29症例の胸部大動脈を10%ホルマリン固定後に脱灰し、パラフィン切片を作製、以下の方法で免疫組織学的検討を行った。BTC の発現は抗ヒト BTC 抗体（rabbit polyclonal）を用い LSAB（labelled streptavidin biotin）法にて検討した。平滑筋細胞は抗ヒト α-actin 抗体を用い ABC（avidin-biotin complex）法および間接蛍光抗体法にて、マクロファージは抗ヒトマクロファージ抗体（HAM56）を用い ABC 法および間接蛍光抗体法にて、EGFR、ErbB4 は抗ヒト EGFR 抗体、抗ヒト ErbB4 抗体を用いて ABC 法にて同定した。また、各症例は大動脈の動脈硬化の程度により動脈硬化（−）の群（AHA 動脈硬化病変分類Ⅰ型、Ⅱ型）と、動脈硬化（＋）の群（AHA 動脈硬化病変分類Ⅲ型、Ⅳ型）の 2 群に分類した。

【成績】

i）［^{3}H］の取り込みによるヒト大動脈平滑筋細胞の増殖能の検討では、平滑筋細胞の増殖能は添加した BTC の濃度依存性に増加し、BTC30ng/ml において BTC 無添加の場合に比べて約4.7倍の増殖能を示した。

ii）ヒト大動脈における免疫組織学的検討で以下の結果を得た。

a）一般に硬化巣（−）の症例でも加齢により内膜肥厚が進行することが知られている。この過程において検討

すると、内膜では乳児期にほとんど認めなかったBTC陽性細胞が加齢とともに増加し、特に内弾性板直上部の平滑筋細胞に強いBTC免疫活性を認めた。血管中膜では内膜とは逆に、BTC陽性細胞率は乳児期で高く加齢に伴って減少していた。

b）硬化巣（+）の症例では、内弾性板直上部に加えプラーク周囲に強いBTC免疫活性を認めた。二重染色を行うとBTC陽性細胞はマクロファージと平滑筋細胞であった。また中膜におけるBTC陽性細胞率は同年齢の硬化巣（−）の症例に比し有意に高値であった。

c）EGFRとErbB4の免疫組織学的検討では、硬化巣（+）の症例で免疫活性を認めた。免疫活性陽性細胞は内膜および中膜に存在し、特に内弾性板直上部に強い免疫活性を認めた。さらにBTC陽性細胞のほとんどがEGFRおよびErbB4免疫活性を示し、それらは平滑筋細胞であった。

【総括】

BTCはヒト血管平滑筋細胞に対し増殖因子活性を示すこと、およびヒト大動脈内膜のBTC陽性細胞は加齢とともに増加し、プラーク周囲および硬化巣（+）の中膜平滑筋細胞でBTC陽性細胞が増加していることから、BTCがautocrine機構などによりEGFRやErbB4を介してヒト動脈硬化形成過程における血管平滑筋細胞の増殖に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

EGF familyに属するbetacellulinは、膵β細胞腫より見出された増殖因子であるが、これまでマウスの肝臓、腎臓など種々の臓器で発現し、ラットの血管平滑筋細胞に対して増殖能を持つことが明らかにされている。今回、betacellulinがヒト大動脈血管平滑筋細胞に対して増殖活性を持つことを明らかにしたうえで、さらにヒト動脈壁でどのような発現様式をとるか、特に動脈硬化病変における発現を観察し、本増殖因子の動脈硬化との関連を検討した。動脈硬化のない胸部大動脈においてbetacellulinは中膜および内弾性板直上部の内膜平滑筋細胞に発現するが、この中膜でのbetacellulin陽性率は加齢とともに減少しており、betacellulinが若年時の血管形成へ関与することが推察された。一方動脈硬化巣では、マクロファージと平滑筋細胞にbetacellulinは強く発現し、中膜でのbetacellulin陽性率は動脈硬化のない症例に比し有意に高値であった。さらに動脈硬化巣において、内弾性板直上部のbetacellulin強陽性の部位に一致して、betacellulinのreceptorであるEGF receptorおよびErbB4陽性の平滑筋細胞を認め、これらのreceptorを介したbetacellulinの平滑筋細胞への作用が示唆された。

以上、本研究はbetacellulinがヒト大動脈壁に存在し、動脈の発達および動脈硬化巣形成過程に関与している可能性を示し、動脈硬化形成機序を解明する上で、きわめて意義深いもので、学位に十分値するものである。