

Title	Neutralization of Hepatocyte Growth Factor Leads to Retarded Cutaneous Wound Healing Associated with Decreased Neovascularization and Granulation Tissue Formation
Author(s)	吉田, 佐保
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/45301">http://hdl.handle.net/11094/45301</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	吉田 佐保
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18481 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Neutralization of Hepatocyte Growth Factor Leads to Retarded Cutaneous Wound Healing Associated with Decreased Neovascularization and Granulation Tissue Formation (内因性肝細胞増殖因子の活性中和による血管新生ならびに肉芽形成抑制をともなう皮膚創傷治癒の遅延)
論文審査委員	(主査) 教授 細川 互  (副査) 教授 中村 敏一 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### <目的>

皮膚創傷治癒機構の解明は外傷にともなう皮膚の再生に加え、様々な皮膚疾患の発症病理や治療法の確立につながる。Hepatocyte Growth Factor (HGF) は様々な組織・器官において内因性再生因子として機能する増殖因子である。HGF は培養表皮角化細胞の増殖・遊走を促進することから皮膚創傷治癒に関与することが示唆されていたが皮膚創傷治癒における HGF の詳細な機能は不明である。本研究は HGF ならびに c-Met/HGF レセプターの発現、内因性 HGF の活性中和の治癒に及ぼす影響を解析することにより、皮膚創傷治癒過程における内因性 HGF の機能を明らかにすることを目的とした。

#### <方法ならびに成績>

マウスの背部皮膚に直径 6 mm の皮膚全層欠損を作成後、HGF ならびに c-Met の mRNA の発現を real time PCR を用いて調べた結果、両 mRNA ともに受傷後 2 日目より発現誘導が認められ 2~4 日目にはピークに達した後、徐々に減少し 14 日目にはほぼ正常レベルに低下した。免疫組織染色により HGF ならびに c-Met レセプターの発現を調べたところ、HGF は血管内皮細胞、血管平滑筋細胞および筋線維芽細胞近傍の間質に局在するのが確認された。一方、c-Met レセプターの発現は表皮角化細胞と血管内皮細胞に加え、肉芽組織中の筋線維芽細胞において認められた。

次に同様の皮膚創傷治癒モデルにおいて内因性 HGF の作用をブロックすべく、受傷後創局所に HGF に対する中和抗体を投与したところ、正常 IgG を投与したコントロール群に比べ HGF の中和により創部の治癒が抑制された。このとき HGF 中和により肉芽組織中の血管新生の抑制とともに、肉芽組織形成の抑制がみられた。また、中和抗体投与群では表皮角化細胞における DNA 合成の阻害をともなう表皮新生の阻害が認められた。結果として HGF 中和抗体投与により創閉鎖の遅延がみられた。

さらに、これら結果に基づき HGF を外因的に補充することが皮膚創傷治癒の促進につながるものと予想し、治癒不全を示す糖尿病マウスを用いて創傷治癒に対する HGF の局所投与の影響を調べた。その結果、外因性 HGF によ

り上皮化促進、血管新生促進をともなう肉芽形成促進が認められ、治癒の促進作用が認められた。

#### <総括>

HGF は培養表皮角化細胞の増殖・遊走を促進することが知られていたが、今回皮膚創傷治癒モデルにおいて内因性 HGF が皮膚創傷の上皮化を促進する因子として機能することを初めて明らかにした。同様に、HGF は basic fibroblast growth factor や vascular endothelial growth factor とならび強力な血管新生促進活性を有することが知られているが、皮膚創傷治癒過程における血管新生を担う増殖因子であることが明らかになった。また、肉芽組織形成に血管新生が関与することから、内因性 HGF の中和によってもたらされた肉芽組織の形成阻害にも血管新生の抑制が関与すると考えられる。一方、内因性 HGF の中和とは相反的に外因性 HGF の局所投与によって上皮化、血管新生、肉芽組織形成の促進をともなう治癒の促進が認められた。糖尿病性皮膚潰瘍、うっ滞性皮膚潰瘍や褥瘡は難治性潰瘍として知られている。HGF を外因的に補充することがこれら皮膚潰瘍の再生治療につながることを示唆される。

#### 論文審査の結果の要旨

HGF は様々な組織において内因性再生因子として機能する。HGF は *in vitro* で表皮角化細胞の増殖・遊走を促進することから創傷治癒に直接関与することが示唆されるがその詳細は不明である。そこで申請者は皮膚創傷治癒過程における HGF および c-Met/HGF レセプターの発現を調べるとともに、HGF の中和抗体を用いて内因性 HGF の役割を調べた。

マウスの皮膚に直径 6 mm の皮膚欠損を作成後 HGF ならびに c-Met の発現を調べたところ、両者はともに受傷後 2 日目より誘導され、肉芽形成、瘢痕消化と進むにつれ正常レベルに戻った。c-Met の発現は表皮や血管に加え筋線維芽細胞においても認められた。そこで内因性 HGF の機能を明らかにすべく HGF に対する中和抗体を局所的に投与したところ、血管新生、肉芽形成、上皮化の抑制をともなう創傷治癒の遅延が認められた。

以上の結果は HGF が皮膚創傷治癒過程において修復因子として機能することを明らかにするとともに外因的に HGF を補充することが皮膚潰瘍の治療に有効であることを示しており臨床応用への展開も期待される。

以上の内容を含む本論文は学位に値するものと認める。