The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The loss of local HGF, an endogenous gastrotrophic factor, leads to mucosal injuries in the stomach of mice
Author(s)	中平, 理恵
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46222
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

氏　　名　中平理恵（なかひらりえ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　20146　号

学位授与年月日　平成18年3月24日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科臓器制御医学専攻

学位論文名　The loss of local HGF, an endogenous gastrotrophic factor, leads to mucosal injuries in the stomach of mice
（内因性胃修復因子であるHGFの産生不良が胃粘膜傷害の悪化をもたらす）

論文審査委員　（主査）
教　授　吉峰　俊樹

（副査）
教　授　中村　敏一　　教　授　門田　守人

論文内容の要旨

【目的】

肝細胞増殖因子（HGF）は肝臓や腎臓、肺などの様々な臓器・器官において細胞の増殖、遊走、形態形成、抗アポトーシス作用などの多様な生物活性をもち、自然治癒を導く修復因子の実体であることが近年明らかとなっている。一方、胃は機械的、化学的ストレスに常時さらされており、容易に傷害を受けるが粘膜上皮の再生を介して速やかに治癒に導く機構が備わっている。HGFは初代培養した胃粘膜上皮細胞に対して増殖を促すことが報告されているが、生体における機能、とりわけ胃粘膜傷害時の修復におけるHGFの生理的意義についてはいまだ明らかにされていない。そこで今回、マウスにシスプラチンを注射して胃粘膜傷害を誘発し、このモデルにHGF中和抗体またはリコンビナントHGFを投与することにより粘膜治癒におけるHGFの機能を検証した。

【方法】

健常な6週齢ICRマウスにシスプラチン（9 mg/kg）を腹腔内に投与し、経時的に動物を解剖し、胃組織を採取した。ヘマトキシリンエオジン染色およびvon-Willbrand因子染色により粘膜傷害の程度をスコア化した。さらに胃粘膜の再生を評価すべく、PCNAの免疫染色により増殖期にある上皮細胞をカウントした。シスプラチン投与後の傷害および修復過程におけるHGFの発現はELISA法ならびに免疫組織化学的手法を用いて評価した。次いでHGF受容体（c-Met）の発現とその活性化はウェスタンブロット、免疫沈降法ならびに免疫組織化学的手法により解析した。さらに内因性HGFの発現意義を明らかにすべくHGF中和抗体またはリコンビナントHGFを投与し、粘膜傷害に及ぼす影響をvon-Willbrand因子による粘膜mucosal capの連続性を指標に評価した。再生に及ぼすHGF中和抗体の影響を明らかにすべく、PCNA、サイクリンD1、βカテニンなどの細胞周期に関連する核蛋白の発現を指標に免疫組織化学的手法により解析した。

【成績】

シスプラチン投与後24時間目までに胃粘膜傷害は中等度の進展を示した。逆に48時間目以降はPCNAで見た粘

膜上皮の再生に一致して粘膜傷害部位は小さくなる傾向を示した。胃組織中のHGF濃度は傷害が進展する24時間目までに有意な減少を示したのに対し、PCNAで見た再生が高まる48時間以降は上昇を示した。これに一致してMet発現も回復期で亢進する傾向を示した。

そこでHGF中和抗体をシスプラチン投与直後と24時間後に投与したところ、c-Metチロシン燐酸化の抑制に一致して粘膜上皮の再生が損なわれ、結果的にHGF中和群では48時間後もmucosal capの脱落像が広範囲に観察された。Normal IgGを投与した対照群では基底層におけるβカテニンの発現が観察され、G1/S期進展を示すサイクリンD1発現が高まっていた。一方、HGF中和群ではβカテニンの発現低下に一致してサイクリンD1の発現も抑制された。

最後にHGF蛋白の治療薬としての可能性を検討すべく、シスプラチン投与後傷害進展期にリコンビナントHGFを補充すると、生食を投与した対照群と比較してc-Metチロシン燐酸化が明らかに高まった。これに一致してHGF補充群ではPCNAで見た粘膜上皮細胞の増殖が有意に高まっており、von-Willbrand因子で見たmucosal capの連続性が保たれていることも判明した。

【総括】

今回の結果から、胃粘膜間質からパラクリン的に供給されるHGFが上皮細胞の増殖、粘膜再被覆に必須であることが明らかとなった。HGFは粘膜基底層の上皮細胞を標的としてβカテニンの核内移行を高めることによりG1/S進展を促し、上皮再生を促進すると考えられる。このようにHGFは必須の胃粘膜修復因子として機能する一方、HGFによる修復システムの破綻が胃粘膜傷害の増悪に結びつくと考えられる。したがってHGF補充療法は糜爛や潰瘍を始めとする様々な胃粘膜変性疾患に対して病態に基づいた合理的な治療戦略になることが期待される。

論文審査の結果の要旨

胃は容易に傷害を受けるが、速やかに治癒に導く機構が備わっている。一方、肝再生因子として発見されたHGFは肺、腎等多くの臓器において内在性修復因子であることが分かってきたが、胃組織におけるHGFの機能は今だ不明である。

そこでマウスにシスプラチンを投与し、胃粘膜の治癒におけるHGFの機能を検証した。正常の胃では間質にHGFの発現が認められるが、シスプラチン投与後24時間以内にHGFの発現が低下し、これに一致して傷害が進行した。投与後36時間以降、HGF発現の回復とともに胃粘膜は修復に向かった。そこでHGF中和抗体を投与すると、粘膜上皮の増殖が抑制され、修復が遅延した。次にリコンビナントHGFを投与すると、粘膜上皮の増殖に一致して修復が促進された。

以上の結果より胃間質からパラクリン的に供給されるHGFが粘膜の修復に必須である一方、その破綻が傷害の増悪に結びつくと考えられた。したがってHGF補充は様々な胃疾患に対して治療戦略になりうると考えられた。

本論文は胃粘膜修復機構におけるHGFの機能を解明し、今後の臨床的応用に結びつく意義深い研究であり、学位の授与に値すると考えられる。