The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Hepatocyte Growth Factor in Polymorphonuclear Leukocytes Is Increased in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome.
Author(s)	松嶋, 麻子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46250
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　松嶋麻子（まつしま あさこ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　20129　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

医学系研究科生体統合医学専攻

学位論文名　Hepatocyte Growth Factor in Polymorphonuclear Leukocytes Is Increased in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome
（全身性炎症反応患者の多核白血球における肝細胞増殖因子〈HGF〉の発現亢進に関する研究）

論文審査委員　（主査）
教授　杉本　壽

（副査）
教授　中村　敏一　　教授　金倉　譲

論文内容の要旨

【目的】肝細胞増殖因子（HGF）は上皮細胞や血管内皮細胞の再生に重要な役割を果たしている。近年、多核白血球の細胞内顆粒にHGFが存在し、活性化と共に細胞外へ放出されることがin vitroの実験で明らかとなった。一方、SIRSの病態では、多核白血球は宿主の防御に働く一方、強い殺菌力により組織障害を起こすことが知られているが、組織の再生を誘導する可能性については殆んど研究が進んでいない。我々は、多核白血球のHGFが炎症部位局所における組織の再生に重要な役割を果たす可能性を考え、全身性炎症反応（Systemic Inflammatory Response Syndrome；SIRS）患者における多核白血球のHGFを測定した。

【対象と方法】

高度救命救急センターに入院してSIRSの診断基準を満たした患者24人を対象とした。平均年齢57.8±16.8歳（mean±SD）、男性18人、女性6人、侵襲の程度を示すC-reactive proteinは20.2±12.4 mg/dL（mean±SD）、SIRSの原疾患は外傷9人、肺炎5人、壊死性筋膜炎2人、他8人であった。

多核白血球の細胞内HGFの測定は、抗HGF抗体を用いたフローサイトメトリー法、免疫染色法、Western blot法で行った。また、多核白血球をFMLPまたはLPSで刺激した後、細胞成分を除いた上清中のHGFをELISA法で測定することにより、HGFの細胞外放出を評価した。多核白血球の活性化の指標として、活性酸素産生能をフローサイトメトリー法で測定し、全身の炎症反応の指標として血漿のIL-6、IL-8をELISA法で測定した。同様に血漿中のHGFもELISA法で測定した。

【結果】

抗HGF抗体を用いた免疫染色では、多核白血球の細胞質にHGFが点状に染まり、HGFが細胞内顆粒に存在する像がとらえられた。フローサイトメトリー法で測定した細胞内HGFは、無刺激、FMLP刺激、LPS刺激いずれの反応においても、SIRS患者では健常人に比べ、有意に高い蛍光強度を示した（無刺激；SIRS患者171.0±6.6 vs. 健常人130.7±3.8、$p<0.05$、FMLP刺激；SIRS患者207.9±7.4 vs. 健常人167.0±3.2、$p<0.01$、LPS刺激；SIRS患者203.3±7.4 vs. 健常人163.4±2.9、$p<0.01$〈平均蛍光強度/細胞〉）。Western blot法では、細胞内の活性化型HGF（αHGF）はLPS刺激後、経時的な増加を示した。以上の結果より、SIRS患者の多核白血球には健常人に比

べ豊富なHGFが存在し、FMLP、LPSの刺激により活性化型HGF（αHGF）に変化すると考えられた。

In vitroにおいて、多核白血球から放出されるHGFについて測定したところ、SIRS患者では多核白血球のHGF放出は無刺激の状態でも健常人を上回っていたが（無刺激；SIRS患者2043.0±583.7 pg/ml vs. 健常人412.3±67.3 pg/ml）、FMLP、LPS刺激後は、更に多量のHGFが放出され、SIRS患者における上清中のHGF濃度は健常人に比べ、有意に高くなっていた（FMLP刺激；SIRS患者6250.8±1218.5 pg/ml vs. 健常人1930.5±182.5 pg/ml、$p<0.05$、LPS刺激；SIRS患者3688.6±895.0 pg/ml vs. 健常人896.0±221.2 pg/ml、$p<0.05$）。

多核白血球の活性化の指標である活性酸素産生能の値は、SIRS患者において健常人に比べ有意に高値を示し、（SIRS患者108.0±8.3 vs. 健常人80.6±5.6 蛍光強度/細胞、$p<0.05$）、多核白血球は活性化状態にあると考えられた。

以上より、SIRS患者において活性化された多核白血球は健常人に比べ豊富なHGFを含有し、更なる刺激により多量のHGFを細胞外へ放出することが明らかとなった。

また、SIRS患者の血漿ではHGF値は健常人に比べ高値を示したが、フローサイトメトリーで測定した細胞内HGFとの間には相関を認めず、血漿中には他細胞由来のHGFの関与が大きいと考えられた。

【総括】

1．フローサイトメトリー法で細胞内HGFを測定する方法を開発した。

2．SIRS患者では多核白血球の細胞内HGFが健常人に比べ有意に増加していた。

3．SIRS患者の多核白血球は健常人に比べ多量のHGFを放出していた。

本研究は多核白血球の顆粒に存在する再生因子に注目し、SIRS患者でHGFが有意に増加していることを示した。これらの結果より、侵襲時の全身性炎症反応では、炎症部位において多核白血球からHGFが放出され、組織の修復に関与する可能性が考えられる。多核白血球のHGFがSIRSの病態でどのように変化するか、また、多核白血球によるHGF放出と組織修復の関連性については、今後、更に研究が発展することが期待される。

論文審査の結果の要旨

この論文は、多核白血球に含まれるHGF（肝細胞増殖因子）に注目し、重症病態における多核白血球の新たな役割を探る研究である。

救急領域において未だ救命困難な多臓器不全の原因となるSIRS（全身性炎症反応）では、多核白血球が宿主の防御に働き、同時に強い殺菌力により組織障害を起こすことが知られている。その中で、筆者らは、近年明らかとなった多核白血球の細胞内顆粒に存在するHGFが組織の修復に重要な役割を果たす可能性を考え、本研究を行っている。

まず、多核白血球の細胞内HGFをフローサイトメトリー法で測定して、細胞内HGF含有量をSIRS患者と健常人で比較した後、in vitroで、SIRS患者と健常人の多核白血球から放出されるHGFをELISA法で測定している。その結果、SIRS患者では、健常人と比較して、活性化された多核白血球細胞内に豊富なHGFを含有し、更なる刺激により多量のHGFを細胞外へ放出していることを明らかにした。これらの結果は、侵襲時に多核白血球が集積する炎症局所において多核白血球がHGFを放出し、組織の修復に関与する可能性を示している。

救命救急領域においてSIRS患者を対象にした再生医療へ臨床応用される可能性を有し、学位論文に値する。