



Title	Endothelin-1, an ulcer inducer, promotes gastric ulcer healing <i><i>via</i></i> mobilizing gastric myofibroblasts and stimulates production of stroma-derived factors
Author(s)	西田, 勉
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46359
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"> 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	にし だ かつむ 西 田 勉
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20167 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 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	Endothelin-1, an ulcer inducer, promotes gastric ulcer healing <i>via</i> mobilizing gastric myofibroblasts and stimulates production of stroma-derived factors (マウス胃潰瘍においてエンドセリン 1 は筋線維芽細胞を刺激し、潰瘍治癒に促進的に作用する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 林 紀夫 (副査) 教 授 門田 守人 教 授 青笹 克之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

これまで我々は血管内皮由来の血管収縮性因子エンドセリン 1 (ET-1) が潰瘍惹起因子であることを示してきた。一方、ヒト胃潰瘍の潰瘍辺縁の ET-1 レベルは活動期よりも治癒期に上昇することも報告した。以上より ET-1 の潰瘍治癒期における意義は明らかでなく ET-1 が消化管の再生治癒に寄与するのではないかという仮説を立てた。そこで今回、マウス穿通性潰瘍モデルを用い、潰瘍治癒過程における ET-1 ならびにその受容体の局在を調べ、抗 ET-1 中和抗体を用い潰瘍治癒における ET-1 の意義を検討した。

以上の結果より ET-1 の標的細胞の一つである事が判明した筋線維芽細胞に対して、*in vitro* にて ET-1 の影響について検討した。さらに GFP 陽性骨髄移植キメラマウスを用い筋線維芽細胞の起源についても検討を加えたので報告する。

〔方 法〕

マウス胃前壁漿膜面に 100%酢酸を接触させ穿通性潰瘍を作成した。潰瘍作成後潰瘍径が最大となる第 3 日目より抗 ET-1 中和抗体を連日腹腔内投与した群と対照群の 2 群にわけ、経時的にマウスを屠殺した。胃を摘出し大弯にて切開し潰瘍の長径を計測した。潰瘍周囲の胃組織を二分し、一方を固定後パラフィン切片作成に、他方を凍結切片作成に供した。前者を抗 α SMA 抗体による免疫染色にて筋線維芽細胞の同定、マッソントリクローム染色にて線維化、ET-1 の局在の評価に用いた。後者は ET 受容体の局在の評価に用いた。またマウス胃壁より筋線維芽細胞を分離培養し、筋線維芽細胞の ET 受容体の発現を検討するとともに、筋線維芽細胞の増殖 (WST-8 assay)、遊走 (Boyden chamber 法)、分化誘導 (α SMA の発現)、増殖因子の産生 (HGF、PGE₂)、血管新生因子の産生 (VEGF、IL-6、PGE₂) に対する ET-1 の影響を検討した。また ET-1 前駆体である prepro-ET-1 およびエンドセリン転換酵素が筋線維芽細胞からの発現しているかどうかを RT-PCR 法にて検討を行った。

筋線維芽細胞の起源を検討するため 6～7 週齢メス C57BL/6 マウスに対して 10Gy の放射線照射後、オスの GFP

トランスジェニックマウス (C57BL/6 TgN(β -act-EGFP)Osb) をドナーとし採取した骨髄細胞 (4×10^6 個) を尾静脈より注入し骨髄移植を行った。骨髄移植 1 カ月後脾臓および末梢血リンパ球細胞がドナー由来 GFP 陽性細胞に置き換わっていることを確認した後、同マウスに対して酢酸潰瘍を作成した。潰瘍治癒過程における筋線維芽細胞の起源について潰瘍作成後 1、3 週後にマウスを屠殺し、4 %PFA にて固定後、スクロース/リン酸緩衝液を浸透させ OCT compound に包埋、切片を作成し免疫染色的検討にて評価を行った。

〔成 績〕

抗 ET-1 中和抗体投与群は同時期の対照群に比べ、潰瘍径が大きく潰瘍治癒が遅延していた。また組織学的に潰瘍底や筋線維芽細胞の占める面積は抗 ET-1 中和抗体投与群が対照群に比べ小さかった。免疫染色を用いた検討では ET-1 は胃粘膜組織で発現していた。また ET_A 受容体は血管平滑筋および肉芽組織 (筋線維芽細胞) に発現していたが、ET_B 受容体は血管平滑筋細胞に発現していた。以上の結果より ET-1 は潰瘍部における筋線維芽細胞の動員と α SMA の発現と線維化を促進し、潰瘍治癒に寄与していることが示された。In vitro の検討で筋線維芽細胞は ET_A 受容体を発現していた。ET-1 は ET_A 受容体特異的に筋線維芽細胞の増殖、遊走、分化 (α SMA の発現) および増殖因子の産生 (HGF、PGE₂) 血管新生因子の産生 (VEGF、IL-6、PGE₂) を誘導した。また筋線維芽細胞より pre-proET-1 遺伝子ならびにエンドセリン転換酵素遺伝子の発現も認め、ET-1 の局所増加の一因となりうる可能性が示唆された。GFP 陽性骨髄移植キメラマウスを用いた検討では、潰瘍治癒過程において潰瘍辺縁および肉芽組織に多数の GFP 陽性骨髄由来細胞が動員されていることを認めた。潰瘍癒着期 (潰瘍作成第 21 日目) においても、粘膜下の α SMA 陽性筋線維芽細胞の 59% は GFP 陽性であり本細胞の多くが骨髄由来である事が示された。また一部の細胞で血管内皮細胞、血管平滑筋への分化も確認された。

〔総 括〕

潰瘍治癒過程において、ET-1 は筋線維芽細胞の線維形成、遊走および増殖能を誘導し、さらに血管新生因子や細胞増殖因子の産生を介して消化管の再生治癒に寄与する事が明らかになった。また、消化管損傷治癒に際し骨髄由来幹細胞が動員され筋線維芽細胞に分化する事が示された。

論文審査の結果の要旨

血管内皮由来の血管収縮性因子エンドセリン 1 は潰瘍惹起因子であることは広く知られている。またエンドセリン 1 は消化管に広く存在することが知られておりなんらかの生理的役割があることが示唆されているが十分解明されていない。これまで我々の施設からヒト胃潰瘍の潰瘍辺縁のエンドセリンレベルは活動期よりも治癒期に上昇することを報告し治癒過程における生理的役割の可能性を報告してきた。今回本論文において、ET-1 の潰瘍治癒期における機序につき基礎的な検討を行った。この結果、潰瘍治癒過程において、ET-1 は筋線維芽細胞の線維形成、遊走および増殖能を誘導し、さらに血管新生因子や細胞増殖因子の産生を介して消化管の再生治癒に寄与する事が明らかにした。また、消化管損傷治癒に際し骨髄由来幹細胞が動員され筋線維芽細胞に分化する事が示された。以上のことから本論文は胃潰瘍治癒過程におけるエンドセリンの生理的役割を明らかにし、今後難治性消化管潰瘍疾患に対する治療のソースとして骨髄細胞の利用を示唆する論文で学位授与に値すると考えられる。