

氏 名（本籍）^{あり} 有 ^{かわ} 川 ^{ただ} 正 ^し 志

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 3095 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 10 年 9 月 9 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 平 成 元 年 3 月 31 日
山形大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 ラット酢酸潰瘍治癒過程における HGF/c-met の
発現に関する研究

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 豊 田 隆 謙 教 授 本 郷 道 夫

教 授 松 野 正 紀

論文内容要旨

背 景

Hepatocyte growth factor (以下 HGF) は、そのリガンドである c-met を介して主に上皮系細胞に作用する因子である。その機能は多様であり、標的細胞によって mitogen や motogen あるいは morphogen として作用するといわれている。さらに、HGF は主に線維芽細胞などの間葉系細胞から産生されること、また、その標的細胞が主に上皮系細胞であることから上皮-間質相互作用を伝達するメディエーターとして注目されている。胃粘膜細胞に対しても HGF が様々な作用を及ぼすことが知られているが、胃潰瘍修復過程において HGF と c-met 発現の経時的推移およびその局在についての検討は行われてはならず、これらが如何なる相互関係をもつかについては不明な点が多い。

目 的

本研究では、胃潰瘍修復過程における HGF および c-met 発現の局在や経時的变化を検討する。

方 法

ラット酢酸胃潰瘍モデルを用い、胃潰瘍修復過程における HGF および c-met 発現の局在と経時的变化を免疫組織化学により検討する。さらに、c-met mRNA の insitu hybridization (以下 ISH) および RT-PCR により、胃潰瘍再生上皮における c-met の発現部位を検討する。

結 果

(1) 胃潰瘍作製後 1 週の潰瘍急性期では、再生上皮はわずかで、潰瘍底にはまだ肉芽形成が見られず広範な炎症性細胞浸潤が認められた。この時期の c-met の免疫染色では、潰瘍辺縁の胃粘膜上皮には発現を認めないが、肉芽組織に浸潤した炎症細胞にわずかに陽性となっていた。HGF 陽性細胞はほとんど認めなかった。

潰瘍作製後 2～4 週の潰瘍治癒期では、潰瘍辺縁に幼弱な再生上皮が出現し、潰瘍底では炎症性細胞浸潤が消退し、肉芽組織の形成が認められた。c-met の免疫染色では、潰瘍辺縁から離れ、腺管の再生がみられる分化成熟傾向を示す再生上皮に c-met の発現増強が認められた。さらに、肉芽組織中にも c-met 陽性細胞が認められた。また、HGF 陽性細胞が潰瘍底の肉芽組織中に多数認められるようになった。

潰瘍作製後 8 週の潰瘍癒痕期になると、潰瘍底は再生上皮でおおわれ、癒痕化が認められた。

再生上皮における c-met の発現は周囲の健常粘膜とほぼ同様になった。瘢痕組織では c-met 陽性細胞数が消失していた。HGF も同様に、瘢痕組織では陽性細胞数が減少していた。

(2) 胃潰瘍病変部における HGF, c-met 陽性細胞数の推移を検討した。再生上皮における c-met の発現については、再生上皮が見られない急性期では c-met labeling index (LI) は 1.33% と低値であるが、潰瘍作製後 2～4 週から 3.90% (2 週) または 9.35% (4 週) となり、再生上皮における c-met 発現増強が認められた。潰瘍作製後 8 週の c-met-LI は 1.39% となり、健常部と同程度に減少した。一方、HGF の LI は、潰瘍急性期では 1% 未満であるが、再生上皮における c-met 発現増強と重なって、4.75% (2 週) から 7.42% (4 週) へと上昇し、肉芽組織における HGF の発現増強を認めた。これは、肉芽の瘢痕化に伴い減少して潰瘍作製後 8 週では再び 1% 未満になった。

(3) 胃潰瘍病変部における c-met mRNA 発現；胃潰瘍病変部の c-met の RT-PCR において、上皮と肉芽ともに、c-met DNA のバンドが検出された。検出されたバンドの PCR direct sequence を行い、ラット c-met cDNA 62-252 位に一致することを確認した。

(4) 胃潰瘍病変部における c-met m-RNA の局在を c-met RT-PCR 産物を probe として ISH を行い検討した。ISH より、c-met m-RNA は、上述の免疫組織化学に一致して、再生上皮の管腔側端ならびに肉芽形成期の間質細胞に発現が認められた。

考 案

以上の結果より、胃潰瘍肉芽組織から産生される HGF と再生上皮の c-met は互いに連関して発現し、HGF は c-met を介して再生上皮の細胞増殖よりも、むしろ、分化成熟に深く関与していることが示唆された。すなわち、胃潰瘍修復過程において、HGF は上皮-間質相互作用のメディエーターとして重要な役割を果たしているものと考えられた。

審査結果の要旨

この論文は、Hepatocyte growth factor (以下 HGF) と、そのレセプターである c-met について、胃潰瘍治癒過程における発現を経時的に検討した論文である。

対象として、ラット酢酸胃潰瘍修復モデルを用い、HGF および c-met 発現の胃潰瘍修復過程における経時的变化を免疫組織化学的に検討し、さらに、c-met については in situ hybridization および RT-PCR により m-RNA の発現を確認している。

この研究では、HGF と c-met の発現が、細胞増殖の減弱を認める胃潰瘍治癒期に同時期に関連して認められることを示している。その発現部位は、HGF が潰瘍底の肉芽組織中に認められ、c-met は潰瘍辺縁から離れ、腺管の再生がみられる分化成熟傾向（粘液細胞、副細胞、壁細胞等の出現）を示す再生上皮に認めたとしている。

文献的考察により、BrdU など示される細胞増殖帯に発現を認める EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) の発現時期・発現部位と c-met の発現が異なることから、HGF の作用が、再生上皮や肉芽の線維芽細胞などに対して、EGF・TGF- α (Transforming Growth Factor- α) に認められる増殖作用よりもむしろ分化や成熟に密接に関係している可能性が高いことを指摘している。

これまでの潰瘍治癒に関する研究は、上皮と間質をそれぞれ個別に検討しているものが多く、上皮と間質の interaction という意味においても、胃潰瘍治癒過程における HGF/c-met の発現様式は、非常に興味深く、この研究の意義は大きいと考えられた。

この様に HGF/c-met の発現を経時的に、免疫組織化学、in situ hybridization および RT-PCR といった手法を用いて検討し、その発現意義が再生上皮の分化・成熟にある可能性の高いことを指摘したこの研究は、学位論文に値する研究である。