

論文要約

平成 21 年入学

医歯学総合研究科

健康科学専攻

研究分野: 消化器疾患・生活習慣病学

氏 名: 小牧 祐雅

【タイトル】

Hepatocyte growth factor facilitates esophageal mucosal repair and inhibits the submucosal fibrosis in a rat model of esophageal ulcer

【序論および目的】

内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) は早期の消化管腫瘍の治療に有用で、小さな侵襲で大病変を一括切除することも可能にした。しかし、食道病変に対して ESD を施行した場合、3/4 周以上の粘膜下層剥離を伴うと、有意に狭窄を引き起こす。

狭窄が起こると内視鏡的バルーン拡張術を繰り返す必要があるが、効果は限られている。また、最近の研究では、ステロイドの局所投与または全身投与が ESD 後の食道狭窄の予防に有効であることが報告されている。しかし、局所ステロイド注射療法は食道粘膜の追加切除を伴う場合があるなど、有効性が十分であるといえない。したがって、早期食道癌に対する ESD 後の広範な食道潰瘍では、傷害粘膜および潰瘍の再生・修復を促進し、食道狭窄を防止する新規療法の開発が必要とされる。

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor : HGF) は、劇症肝不全患者の血漿から強力な肝細胞分裂促進因子として最初に精製された。HGF は、肝細胞だけでなく、c-Met を介した胃腸上皮細胞を含む、上皮細胞の複数のサブセットの分裂促進因子または細胞遊走促進因子として機能する。HGF は、損傷した胃腸粘膜の再生における重要な因子である。しかし、食道潰瘍の創傷修復に及ぼす HGF の影響はまだ解明されていない。

今回、我々はラット食道潰瘍モデルを用いて組換えヒト HGF の食道潰瘍の修復に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】

Sprague-Dawley ラット (SD ラット) (6 週齢) を開腹し、100% 酢酸 (30 μ l/body) を単回、下部食道・漿膜下に注入して食道潰瘍を誘導した。酢酸注入時に、PBS (対照群; n = 8) または組換えヒト HGF (5 mg/mL, 0.2 mg/day) (HGF 群; n = 7) を、浸透圧ポンプを用いて腹腔内持続投与した。食道潰瘍作成後、(1) 継時的な体重の変化、食道潰瘍作成 7 日後の (2) 潰瘍面積、(3) 食道長、(4) 食道重量、(5) 病理組織所見、(6) 上皮細胞の増殖およびアポトーシスについて検討した。

食道潰瘍作成後の狭窄については、対照群 (n = 6)、メチルプレドニゾロン投与群 (40 mg/kg/day, n = 4)、HGF 群 (0.2 mg/day, n = 6) の 3 群について食道造影検査で評価した。さらに食道潰瘍作成後の繊維化について、潰瘍を含む下部食道 15mm を対照群・HGF 群ともに α SMA 染色・AZAN 染色で評価し、線維化に関連する遺伝子発現における組換えヒト HGF の作用を RT-PCR を施行し検討した。

【結果】

ラット食道粘膜傷害モデルにおいて、HGF 群では、(1) 体重減少が有意に抑制され ($p = 0.042$)、(2) 潰

瘍面積が有意に縮小し ($p = 0.049$)、(3) 食道の短縮が抑制され ($p = 0.002$)、(4) 重量も低下した ($p = 0.028$)。また、組換えヒト HGF 投与によって、(5) 食道粘膜層が有意に肥厚し ($p = 0.004$)、(6) 潰瘍辺縁における食道上皮細胞の増殖が促進された ($p < 0.001$)。HGF 群では、粘膜下線維化や食道狭窄が有意に抑制され、*TIMP-1*、*-2*、*MMP-2*、*-9* の発現が有意に抑制された。

【結論および考察】

HGF は酢酸で誘導したラット食道潰瘍モデルにおいて、食道上皮細胞の増殖を誘導して、潰瘍の修復を促進した。また、HGF は潰瘍の回復期において粘膜下線維化を抑制した。

肝細胞増殖を促進する薬剤として同定された HGF は、増殖抑制因子として機能し、上皮傷害後のリモデリングを促進することが知られている。したがって HGF は、様々な全身器官に影響を与える難治性疾患のための再生医療における新規治療薬である可能性がある。実際、我々は食道潰瘍のラットモデルで HGF が食道上皮修復を促進することを示すことができた。

損傷した食道粘膜の修復中に、食道粘膜の上皮細胞の基底層および層状領域の細胞膜に HGF の受容体である *c-Met* が発現される。我々は、HGF 群のラットの食道上皮細胞における *c-Met* の発現が PBS 群ラットのそれより高いことを示した。最近の研究では、HGF と *c-Met* シグナリングが自己分泌様式で作用して創傷治癒を促進する可能性が示唆されているが、HGF と *c-Met* の両方が増殖性上皮においてアップレギュレーションされていることが報告されている。したがって、我々の研究における *c-Met* の発現は、HGF 処置をしていないラットよりも、HGF で処置したラットにおいて、創傷修復プロセスを通して有意に高かったことが示唆された。

我々の研究では、*TIMP-1*、*TIMP-2*、*MMP-2* および *MMP-9* mRNA の発現は、食道潰瘍誘導後 7 日目の HGF 処置によって食道で有意に抑制された。*MMP* および *TIMP* は、創傷治癒過程の 7 日目に、炎症およびリモデリングを能動的に調節し得る。したがって、HGF 治療による線維形成促進性遺伝子の抑制は、食道狭窄を軽減する可能性がある。