

成長因子が腹膜中皮傷害修復に及ぼす影響

Effect of growth factors on mesothelium wound healing

大塚知恵, 堀内孝*, 太田裕治

Chie OHTSUKA, Takashi HORIUCHI*, and Yuji OHTA

お茶の水女子大学ライフサイエンス専攻, *東亜大学生命科学科

1. はじめに

腹膜透析は腹腔内に透析液を貯留し, 腹膜を透析膜として体内の老廃物や水分を除去する透析法である. 腹膜透析には, 体液の恒常性が保たれる, 中分子物質の除去効率が良い, 施行場所を選ばない, 患者の活動を制限しない, 安価である等の数多くのメリットがあり, 患者の QOL (Quality of life) 向上に役立っている.

一方デメリットとしては中・長期的に腹膜機能の低下が起こりうる, 腹膜炎・硬化性被嚢性腹膜炎等の併発の可能性がある等である. 後者の傷害は透析液が腹膜に不休的に接する事により発生する. その傷害とは具体的には, 中皮細胞の肥大化, 繊維化, 剥離, 基底膜肥厚等であるが, これらの変化により腹膜機能は低下する²⁾. 膜機能が低下した場合, 透析を一旦中断し, 中皮細胞の増殖と遊走による膜の修復を待つ必要があるが, 短時間で修復させなければならない事は言うまでもない. 短期間での修復を促す上で細胞成長因子の働きは重要であり, 本稿では細胞成長因子について述べる.

2. 成長因子 (growth factor)

2-1 成長因子とは

細胞が増殖する為には成長因子 (growth factor) が必須である¹⁾. (成長

因子は増殖因子, 増殖制御因子とも呼ばれる) 成長因子は様々な細胞から放出されるタンパク質であり, ごく低濃度 (10^{-9} ~ 10^{-11} M) で機能する¹⁾. 成長因子の主な機能にタンパク質合成と細胞成長速度の調節がある. その他にも細胞の成長と分裂, 増殖, 生存, 分化, 移動, 環境変化に応じた細胞の働き等, 多様な調節を行っており¹⁾, 以下にその特徴を述べる.

●成長因子はそれぞれの細胞へ異なった作用を及ぼす. またその作用は濃度依存性である. 例としてトランスフォーミング成長因子βファミリーのメンバーのように, ある細胞には増殖を促進するが他の細胞には抑制, あるいはある濃度では促進するが濃度が異なれば抑制として作用するものがある¹⁾.

●多くの成長因子はパラクリン (paracrine) 的に作用する. すなわち, ごく近隣の細胞, あるいは成長因子を分泌した細胞そのものに対し働く¹⁾. 分泌細胞そのものに対し作用する代表的なものに T 細胞の増殖を刺激するインターロイキン 2 がある.

●成長因子の構造は, 特異的受容体または受容体のセットであるため, その受容体が細胞の表面にある場合にのみ応答する. 成長因子の多くは何らかの作用を受

けた細胞の周辺細胞から分泌され、局所的な仲介物質として作用する。その反応経路については後で詳しく述べる。

2-2 主な細胞成長因子

代表的な成長因子には血小板由来成長因子 (platelet-derived growth factor, PDGF), 上皮成長因子 (epidermal growth factor, EGF), 線維芽細胞成長因子 (fibroblast growth factor, FGF), 神経成長因子 (nerve growth factor, NGF), エリスロポエチン (erythropoietin) 等がある。PDGF, EGF, FGF は特異性が広く, PDGF は線維芽細胞, 平滑筋細胞, 神経グリア細胞を標的とし, EGF は表皮細胞以外にも, 上皮系・非上皮系の色々な細胞に作用する。一方, エリスロポエチンは特異性が強く, 赤血球前駆細胞にのみ作用しその増殖を誘導する。成長因子のいくつかの例とその作用を表1に示す。

骨髄での造血系細胞発生にも約20種の成長因子が関与しているが、これらの大部分はコロニー刺激因子 (colony stimulating factor, CSF) あるいはインターロイキンである。CSF は白血球のコロニー形成を刺激し, インターロイキンは異なる白血球間のシグナル伝達を司る。

2-3 成長因子のシグナル経路

タンパク性成長因子の作用は、標的細胞の表面にある膜貫通型受容体との結合に始まる。次に受容体細胞内のある領域が細胞内シグナルとして作用する分子の生産反応を触媒し、さらに別の分子にそ

の刺激を中継する。成長因子は受容体と結合し、それにより細胞質ゾル内でキナーゼ活性化が起こる。更に核の中の遺伝子調節タンパクの活性化が起こり、引き続き早期応答性遺伝子 (early response gene) の活性が起こる。ここまでの反応は15分以内という短時間で誘導される。それ以降は早期応答性遺伝子の産物により後期応答性遺伝子 (delay response gene) が誘導され、細胞周期調節系の活性化が起こる。後期応答性遺伝子は、成長因子処理後少なくとも1時間は誘導されない。成長因子の反応経路を図1に示す。

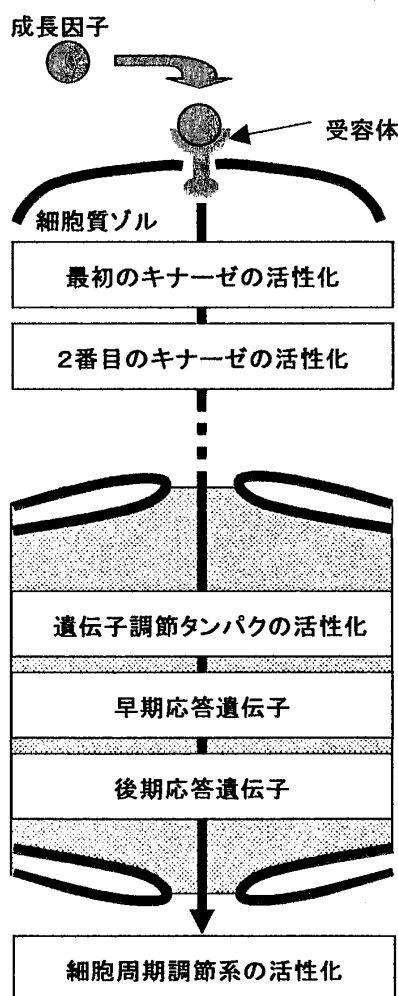


Fig1. Response of growth factor¹⁾
(図改編)

2-4 表皮・中皮細胞の成長因子

腹膜中皮細胞の成長因子には、PDGF, FGF, TGF- β , EGF 等がある。また、表皮成長因子 (Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, HB-EGF) は腹膜中皮細胞修復において重要な役割を担っている。これは腹腔内で産生される繊維形成誘導性の因子で、中皮細胞の接着力と遊走力を増強させる。RANDALL³⁾らの報告によれば HB-EGF の受容体は HER-1 と HER-4 であり、タンパク質として CD9 と CD44 を生成し傷害修復を行う。EGF は傷害後に中皮細胞では $\alpha 1 \beta 1$ インテグリンの発現を増加させ繊維化を促す。またコラーゲンタイプ 1 上では接着力や遊走力が増加し傷害修復を行う⁷⁾。

中皮細胞の成長因子の一つである PDGF はジピリダモール (Dipyridamole) によりその働きを阻害される事が報告されている。なぜならジピリタモールは細胞外信号受容体プロテインキナーゼ (extracellular signal regulated protein kinase, ERK) の働きを弱めるからである⁸⁾。その結果、腹膜中皮細胞の分裂と蛋白質の合成は阻害される。またラット中皮細胞の繊維化の阻害を行う事が報告されている⁶⁾。また Border⁴⁾らは TGF- $\beta 1$ は繊維芽細胞に対し化学走化性があり、基底膜分子の生成を促すと述べている。

3. おわりに

これまで述べたように腹膜中皮細胞は傷害を受けた後、腹腔内で細胞成長因子を産生し腹膜中皮細胞の遊走と増殖を促

し傷害修復を行う。傷害修復過程は細胞の遊走と増殖により起こるが、一般的にはまず細胞の遊走が起こり後に細胞の増殖が起こると言われている。これは中皮細胞においても同様である。Yung⁹⁾らの報告によると培養腹膜中皮細胞 (N = 8) の傷害修復過程において、72 \pm 5 時間のうち始めの 48 時間は細胞遊走により傷害が修復したと述べられている。

本研究では、この傷害修復のメカニズムを解明する為に培養中皮細胞に傷害を作成し、傷害修復過程を CCD カメラで連続的に撮影し、細胞遊走・増殖等の画像解析を行っている。今後、個々の細胞を連続的に追跡する手法を開発し遊走・増殖を定量的に解析する。また傷害に伴って発生する細胞の肥大化や pioneer cell と呼ばれる動きの速い細胞についても追跡し、それらの細胞が傷害修復過程においてどのような影響を及ぼしているか解明する予定である。

参考文献

1. Bruce Alberts et.al, Molecular Biology of The Cell Third Edition, Newton Press, 1995.
2. Nichola Di Paolo and Giovanni Sacchi, ATLAS OF PERITONEAL HISTOLOGY in Normal and During Peritoneal Dialysis, Peritoneal Dialysis International vol. 20, Supplement 3, 2000.
3. Faull RJ, Stanley JM, Fraser S, Power DA and Leavesley DI. HB-EGF is produced in the peritoneal cavity and enhances mesothelial cell

- adhesion and migration, *Kidney International* vol.59, (2001).
4. Border WA, Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med*, vol.331 (1994).
5. Hung KY, Chen CT, Yen CJ, Lee PH, Tsai TJ and Hsieh BS. Dipyridamole inhibits PDGF-stimulated human peritoneal mesothelial cell proliferation. *Kidney International* vol.60 (2001).
6. Hung KY, Shyu RS, Fang CC, Tsai CC, Lee PH, Tsai TJ and Hsieh BS. Dipyridamole inhibits human peritoneal mesothelial cell proliferation in vitro and attenuates rat peritoneal. *Kidney International* vol.59 (2001).
7. David J.L., Jodie M.S., and Randall J.F., Epidermal growth factor modifies the expression and function of extracellular matrix adhesion receptors expressed by peritoneal mesothelial cells from patients on CAPD. *Nephrol Dial Transplant* vol.14 (1999).
8. Susan Yung and Malcom Davies, Response of the human peritoneal mesothelial cell to injury: An in vitro model of peritoneal wound healing, *Kidney International* vol.54 (1998).
9. William H. Elliott, Daphne C. Elliott, 生化学・分子生物学, 東京化学同人, 1999.

Table1. Major growth factor and the function ¹⁾ (表改編)

因子	特異性	代表的な作用
血小板由来成長因子	広い	結合組織細胞および神経グリア細胞の増殖を促進
上皮成長因子	広い	多種の細胞の増殖を促進, 胚発生の誘導シグナルとして作用
トランスフォーミング成長因子-β	広い	ほとんどの型の細胞に作用し, 他の成長因子に対する応答を細胞型に応じて促進あるいは阻害. ある種の細胞の分化を調節. 胚発生における誘導シグナルとして作用
線維芽細胞成長因子	広い	多くの型の細胞の増殖を促進. 種々の幹細胞の分化を阻害. 胚発生における誘導シグナルとして作用
インターロイキン2	せまい	活性化されたTリンパ球に対する増殖刺激
神経成長因子	せまい	特定の神経細胞の生存および神経突起の伸張を促進
エリトロポエチン	せまい	赤血球前駆細胞の増殖, 分化, および生存を促進
インターロイキン3	せまい	種々の血液細胞の前駆細胞の増殖と生存を刺激