

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	秋田 眞吾
論文審査担当者	主査 駒津 光久 副査 天野 純、菅野 祐幸
論文題目	
Role of bone marrow cells in the development of pancreatic fibrosis in a rat model of pancreatitis induced by a choline-deficient/ethionine-supplemented diet (choline-deficient/ethionine-supplemented dietによるラット膵炎モデルを用いた、膵線維化における骨髄細胞の役割に関する研究)	
(論文の内容の要旨)	
<p>〔背景と目的〕膵星細胞 (pancreatic stellate cell、以下PSC) は、生理的状況下では periacinar/periductular space に存在し、細胞質にビタミンAを含む脂質小滴が認められ、Desmin や glial fibrillary acid protein (GFAP) などの中間フィラメントタンパクを有している。膵臓の障害により PSC は活性化され、細胞質のビタミンAの消失とともに筋線維芽様細胞に形質転換して alpha smooth muscle actin (αSMA) や cytoskeletal protein を発現し、細胞外基質蛋白だけでなく、PSC 自体を活性化する platelet-derived growth factor (PDGF) や、transforming growth factor β 1 (TGF β 1) などを産生し、autocrine loop を形成する。近年、マウスの慢性膵炎モデルにおいて PSC の一部は骨髄細胞 (BMC) 由来であることが確認されたが (Marrache, 2008 Gut)、BMC が膵線維化において果たす役割の詳細については明らかではない。今回、コリン欠乏エチオン添加(choline deficient ethionine supplemented ; CDE) 飼料ラット膵炎モデルを用いて、骨髄細胞由来 PSC の経時的な変化について検討し、骨髄細胞由来 PSC が PDGF や TGF β 1 を産生するか否かも検討した。</p> <p>〔方法〕Lewisラット・♂に、致死量の放射線(10 Gy)を全身照射後、Green fluorescent protein (GFP) トランスジェニックラット・♀の大腿骨から採取した骨髄細胞 (5×10^7個) を尾静注し骨髄置換を行った。骨髄置換6週間後に採血し、flow cytometryにより骨髄置換率を確認後、CDE飼料を1, 3, 8週間投与しモデルを作製した。</p> <p>① 膵障害の程度を hematoxylin and eosin 染色にて、膵の線維化の評価を Masson Trichrome 染色にて経時的に検討した。</p> <p>② Desmin、αSMA の免疫染色により、PSC の出現と活性化細胞の程度、範囲を検討した。</p> <p>③ GFP の免疫染色により膵組織内における骨髄由来細胞の有無を検討した。GFP+Desmin の二重免疫染色により骨髄由来PSCの有無を、GFP+αSMA の二重免疫染色により骨髄由来活性化型 PSC の有無を検討した。また、GFP+Desmin (またはαSMA) 二重免疫染色により骨髄由来 PSC と骨髄由来活性化型 PSC の割合を、無作為に選んだ 400 倍、5 視野内の細胞数で評価した。</p> <p>④ GFP+αSMA+PDGF (または TGF β 1) の三重免疫染色を行い、骨髄由来活性化型 PSC による PDGF または TGF β 1 産生の有無を検討した。</p> <p>〔結果〕CDE 飼料投与 1 週間から膵腺房細胞の萎縮、線維化が出現し、3 週間では tubular complexes が出現、膵腺房細胞萎縮、葉間と細胞間の線維化が進行した。8 週間には steatosis が生じ、線維化による bridging fibrosis や nodular appearance が認められた。骨髄由来 PSC は CDE 飼料投与善意も存在し、投与後 1 週間で、骨髄細胞由来活性化型 PSC は活性化型 PSC の約 23% となったが、その後は 8-9% であった。また、骨髄細胞由来活性化型 PSC は、PDGF と TGF β 1 を産生していることが認められた。</p> <p>〔結語〕骨髄細胞由来PSCは、膵臓内に常に存在していた。CDE飼料投与後1週間という早い時期に、骨髄細胞由来PSCが急増し活性化型PSCの約1/4を占め、PDGFやTGF β 1を産生する事が証明された。膵炎早期の炎症と線維化に骨髄細胞由来PSCが関与している可能性が示唆された。</p>	

