

胃切開創の創傷治癒と epidermal growth factor についての実験的研究

横浜市立大学医学部第2外科
市川 靖 史

細胞増殖因子である epidermal growth factor (EGF) の胃切開縫合創の治癒に対する影響について実験的に検討した。ラットを対照群, 胃切開後48時間まで EGF を投与した群に加えて, 内因性 EGF を低下させる目的で両側顎下腺を摘出した submandibular glands removal (SMR) 群と SMR ラットに EGF を投与した SMR+EGF 群の4群に分けた。なお EGF (20 μ g/kg) を投与した群では胃手術前1時間, 術後24, 48時間に静注した。胃手術後3, 7日目に胃切開創の組織血流量, 新生毛細血管の構築および量, 抗張力および組織化学的観察による局所コラーゲン組織化学的所見から創傷治癒を検討した。各項目について, EGF 群と対照群の間には有意差はなかったが, SMR 群では抗張力, 組織血流量, 毛細血管新生の低下が認められた。SMR+EGF 群では, 投与後, 各項目は対照群と同程度まで回復した。EGF は毛細血管新生と組織血流維持に必要であり, 胃切開創の創傷治癒に重要な役割を持つと考えられた。

Key words: epidermal growth factor, wound healing of stomach, vascular structure of the gastrotomy wound, neovascularization in the gastrotomy wound, microcirculation in the gastrotomy wound

結 言

上皮成長因子 epidermal growth factor (以下 EGF と略す) は一種の細胞成長因子であり, 1962年 Cohen¹⁾ によって, 雄マウスの顎下腺から, はじめに抽出され, 53個のアミノ酸からなる polypeptide といわれている。EGF は, さまざまな上皮細胞の増殖を促すと同時に, 口蓋, 眼裂などの形成を促進するとされている²⁾。また創傷治癒過程では毛細血管新生, 線維芽細胞増殖, コラーゲン合成と代謝, 上皮細胞増殖などの調節に関わっているといわれている^{2)~5)}。

EGF は胃の実験潰瘍の治癒を促進するとされ, その機序には酸分泌抑制, 細胞増殖の促進, 粘膜血流維持作用などが関与していると推定されている^{6)~8)}。そこで同様の機序により, 胃の創傷治癒に対しても EGF が有効に働くという可能性が考えられるが, これに関する報告はみられていない。そこで著者は, 実験的に胃の切開創を作り, その治癒に対する EGF の関与について検討した。創傷治癒の観察に関しては抗張力の

測定, 膠原線維の組織学的観察に加えて, 創傷治癒の初期にとくに重要と思われる切開創近傍の胃粘膜血流量と, 吻合部粘膜下層の血管構築を観察した。その結果, 2, 3の知見を得たので報告する。

対象と方法

Wistar 系雄性ラット(7~8週齢)を4群に分けた。

1. 対照群: 胃切開手術(後述)の前後に, 生理的食塩水のみを尾静脈に投与した (n=20)。
2. EGF 群: ヒト EGF (β -urogastron 日立化成工業社製) 20 μ g/kg を生理的食塩水0.5ml に溶解したのち, 術前1時間, 術後24時間および48時間の計3回, 尾静脈に投与した (n=20)。
3. 両側顎下腺摘出術群(以下 SMR 群): 内因性 EGF の主要な供給源である顎下腺を, 手術の14日前に両側摘出 (bilateral submandibular glands removal, 以下 SMR と略す) し, 術前後に生理的食塩水のみを尾静脈に投与した (n=19)。
4. 顎下腺摘出後 EGF 投与群(以下 SMR+EGF 群とする): SMR を施行したラットに対して, 手術の前後に, EGF 群と同様に EGF の投与を行った (n=20)。各群とも, 24時間の絶食後に pentobarbital sodium

25mg/kg を腹腔内投与し、腺胃体部に10mm の切開創を尖刃刀で作製した。直ちに腸腺(4-0 plane)で4個の全層結節縫合を行って、切開創を閉鎖し、閉腹した。

検討項目は以下の通りであった。

(1) 体重, 血清総蛋白量, アルブミン量

各群において術前, 術後3日目, 7日目に体重, 血清総蛋白量, アルブミン量を測定した(各群ともにn=12)。また, SMR および SMR+EGF 群では, 顎下腺摘出術前および摘出後14日目に同様の測定を行い対照群と比較した。

(2) 切開創抗張力

各群とも, 術後3日目, 7日目に胃を摘出し, 幽門側を結紮, 食道側から空気を注入して, 創傷部の破裂した時点の圧力(mmHg)を測定した(各群n=6)。

(3) 胃切開創部の組織学的検討

各群とも, 術後3日目, 7日目に胃を摘出して固定, パラフィン包埋, 薄切標本作成後, hematoxylin-eosin 染色および膠原線維観察のため trichrome 染色を行い, 組織学的に観察した。

(4) 胃粘膜血流量

術前, 術後3日目, 7日目に, レーザードップラー血流計(CANON 社製 LC-1)により測定した。測定に際しては, pentobarbital sodium 腹腔内投与後に開腹し, 前胃大彎側に5mm の小切開を加え, ここからプローブを挿入した。術前には腺胃体部前壁の3か所, 術後は腺胃体部前壁の創傷部から5mm 以内(以下, 創傷部近傍とする)の2か所と, 創傷から1cm 離れた部位(以下, 創傷離隔部とする)の2か所を測定し, おのおのの平均値を算出した。測定には, 各部位にプローブを1分間固定し, この間の血流計の表示値の平均を, その部位の測定値とした(各群n=12)。

(5) 創傷部血管構築の形態学的観察

術後3日目, 7日目に麻酔下に開腹し, 奥平ら⁹⁾の方法に従い腹部大動脈にポリエチレン細管(ヒビキ印ポリエチレン細管内径1mm)を挿入して先端を腹腔動脈近くに固定した。次いで胸部大動脈を結紮し, 直ちに5% carmine gelatin (特級 gelatin (Difco) 単独体積あたり, 5% の carmine を溶解したもの) 4ml (36°C) をポリエチレン細管から1分間かけて注入した。注入圧は注入路の途中に設けた3方活栓から側路をとり血圧計を利用して圧を監視しながら120mmHg 以下とした。注入終了後, ラットを10%の冷ホルマリン液内に1時間浸漬し carmine gelatin を十分に凝固させてか

ら胃を摘出した。摘出胃から厚さ1~2mm の切片を作製して脱水, 脱脂の後, サリチル酸メチルで透徹し, 実体顕微鏡下に1.5~4.5倍に拡大して観察した。

(6) 胃切開創における肉芽新生血管の定量的観察(carmine 法による)

Kimura ら¹⁰⁾の肉芽新生血管内に分布する carmine 色素の定量法を応用し¹¹⁾, 胃切開創近傍の新生血管量の定量を行った。各群6匹について, 術後3日目, 7日目に麻酔下に開腹し, 下大静脈に10% carmine gelatin (特級 gelatin 100g に carmine 10g を溶解したもの) 2.5ml を注入した後, ラットを冷蔵庫内に数時間放置し carmine gelatin を凝固させた。その後に胃を摘出し, 胃切開線を中心として, 左右3mm の短冊型の切片を作り, 試料とした。試料から carmine 色素を抽出し分光光度計により比色定量した (Table 1)。

(7) 統計学的処理

すべての数値は mean±SD で表し, 有意差の検定は, Student's t-test を用い, 危険率5%以下を有意差とした。

結 果

(1) 体重, 血清総蛋白量, アルブミン量

① 顎下腺摘出前後の比較: いずれも, SMR 前, および SMR 後14日目とも, SMR ラットと対照に有意差は認めなかった (Fig. 1-1, 2-1)。

② 胃手術: いずれも, 術前, および術後3日目, 7日目で, 各群間に有意差は認めなかった (Fig. 1-2, Fig. 2-2)。

Table 1 Measuring method of carmine in specimens

Dissolving of specimen from each rat in 10ml of 3 N-NaOH solution for 30min at room temperature.
↓
In hot water (50°C) for 10min.
↓
Shaking for 10min at room temperature to completely digest the specimens.
↓
Filtration of digested samples through millipore-filter.
↓
Measurement of filtrates spectrophotometrically at 530nm.
↓
Calculation of the quantity of carmine in the filtrates from calibration curve between carmine concentration and the degree of absorbance (530nm).

Fig. 1-1 Changes of body weight before and after removal of submandibular glands.

Fig. 1-2 Changes of body weight before and after gastrotomy.

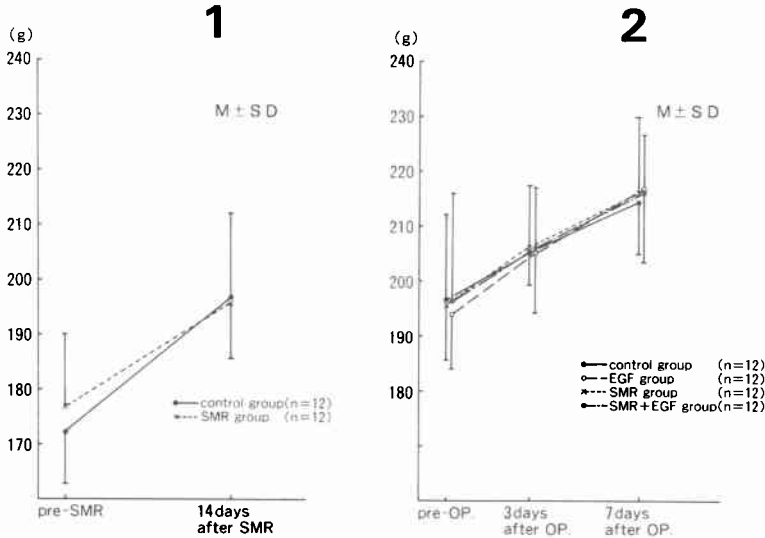
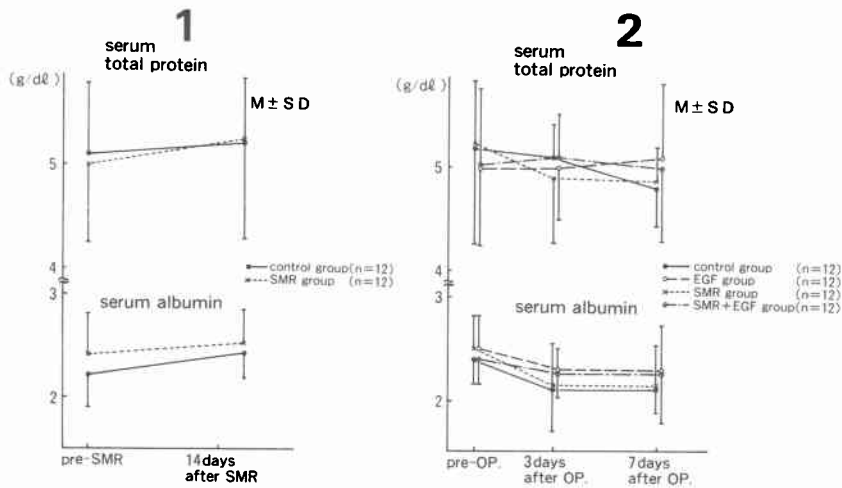


Fig. 2-1 Changes of serum total protein and serum albumin before and after removal of submandibular glands.

Fig. 2-2 Changes of serum total protein and serum albumin before and after gastrotomy.



(2) 創傷部抗張力

① 術後3日目：SMR群の創部抗張力は他の3群に比較して有意に低値であった(p<0.01). EGF群と、対照群の間に有意差は認められなかったが、SMR+EGF群は、対照群に比較して有意に低値であった(p<0.01) (Fig. 3).

② 術後7日目：4群とも3日目に比較して抗張力の増加を認めたが、SMR群では、他の3群に比較して、有意に低値であった(p<0.01). 一方、SMR+EGF群と対照群との間には、有意差は認められなかった (Fig. 4).

(3) 創傷部の組織学的所見

Fig. 3 Bursting Pressure of the gastrotomy wound. (3 days after gastrotomy)

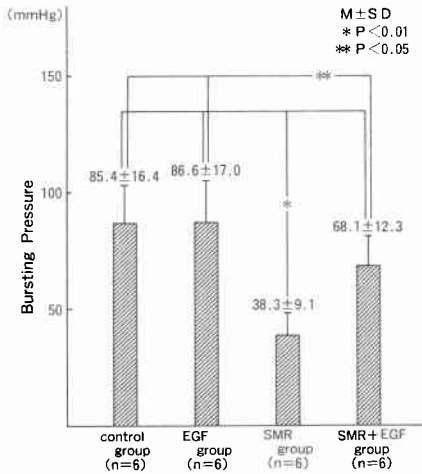
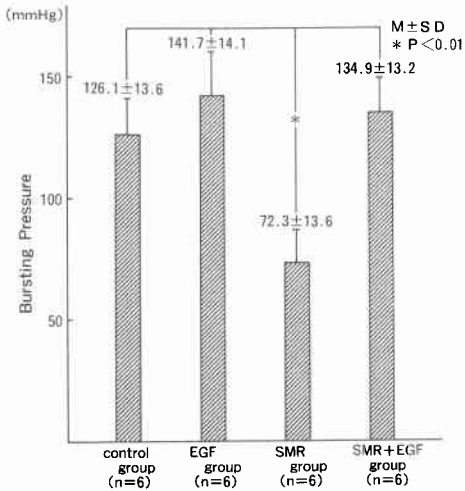


Fig. 4 Bursting Pressure of the gastrotomy wound. (7 days after gastrotomy)



Hematoxylin-eosin 染色：対照群では術後 3 日目から創傷直下の粘膜下層を中心に高度の多核球の浸潤を認めた。粘膜面では粘膜の再生により欠損部の癒合が始まっていた。7 日目では細胞浸潤は減少して、紡錘形の線維芽細胞の増生を認め、再生粘膜の高さも正常部位とはほぼ同様であった。EGF 群は対照群と同様であった。SMR 群では術後 7 日目の多核球浸潤が対照群に比べて多かった。また再生部の粘膜の高さも正常部位に比較して、低かった。しかし SMR+EGF 群では、術後 7 日目には、3 日目までにみられた比較的高度な炎症は消失し、線維芽細胞の増生、再生粘膜の高

Fig. 5 a) Submucosa at the gastrotomy wound (↓). b) Marked accumulation of collagen fibers. Control, 7 days after gastrotomy. (trichrome Masson's stain)

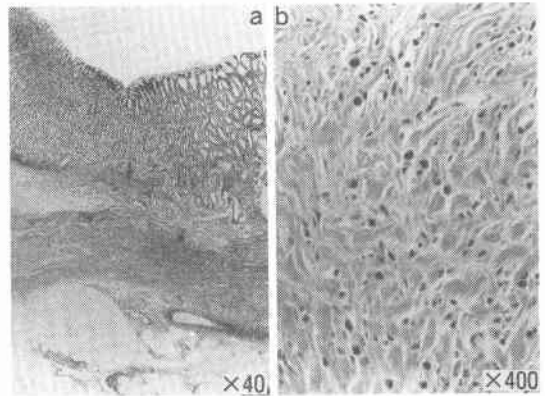
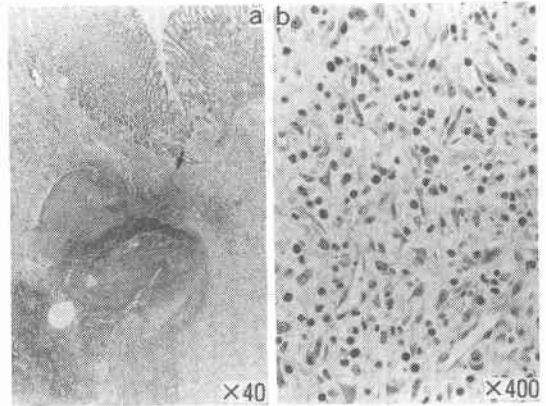


Fig. 6 a) Submucosa at the gastrotomy wound (↓). b) Infiltration of inflammatory cells and poor accumulation of collagen fibers. SMR group, 7 days after gastrotomy. (trichrome Masson's stain)



さ、なども対照群と同様の所見であった。

Trichrome 染色：膠原線維の増生は術後 7 日目で、対照群 (Fig. 5) と EGF 群の間に差はなかった。しかし SMR 群では術後 7 日目で膠原線維の出現は極端に少なかった (Fig. 6)。これに対し SMR+EGF 群では術後 7 日目では、対照群とはほぼ同様に膠原線維の増生が認められた (Fig. 7)。

(4) 胃粘膜血流量

① 術前：対照群では 4.91 ± 0.20 , EGF 群では 4.83 ± 0.23 , SMR 群では 4.81 ± 0.16 , SMR+EGF 群では 4.88 ± 0.11 で 4 群間に有意差を認めなかった

Fig. 7 a) Submucosa at the gastrotomy wound (↓). b) Accumulation of collagen fibers same as control, SMR+EGF group, 7 days after gastrotomy. (trichrome Masson's stain)

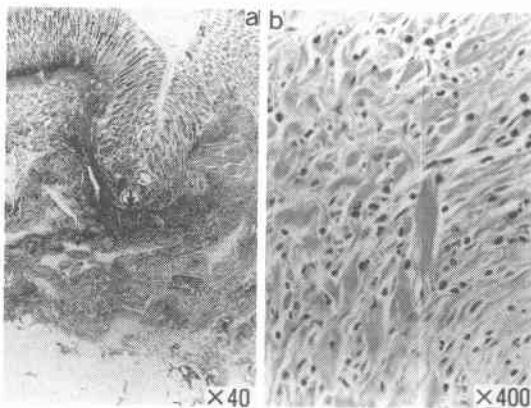
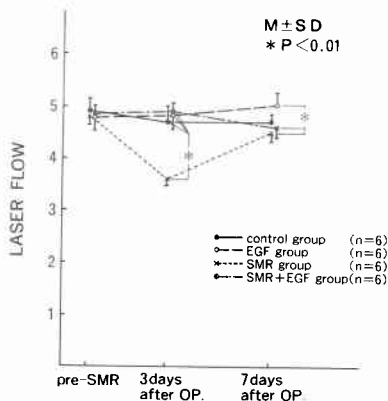


Fig. 8 Changes of gastric microcirculation. (1cm more distant from gastrotomy wound)



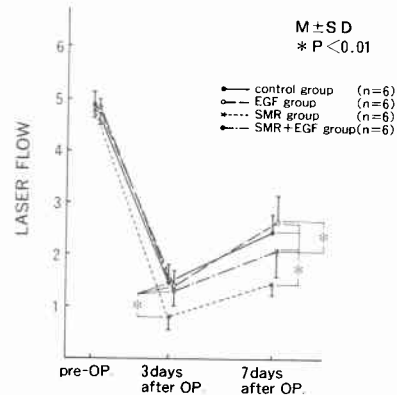
(Fig. 8, 9).

② 創傷離隔部

1) 術後3日目：対照群では 4.71 ± 0.33 , EGF 群では 4.85 ± 0.21 , SMR 群では 3.61 ± 0.12 , EGF+SMR 群では 4.86 ± 0.11 であり, SMR 群では, ほかの3群に比較して, 有意な粘膜血流量の低下が認められた($p < 0.01$) (Fig. 8).

2) 術後7日目：対照群では 4.71 ± 0.16 , EGF 群では 5.03 ± 0.21 , SMR 群では 4.52 ± 0.15 , SMR+EGF 群では 4.61 ± 0.13 であり, SMR 群の血流は, 対照群と同値に回復した. また EGF 投与群の血流量は, ほかの3群に比較して有意に高値であった ($p < 0.01$) (Fig. 8).

Fig. 9 Changes of gastric microcirculation. (Within 0.5cm from gastrotomy wound)



③ 創傷部近傍

1) 術後3日目：対照群では 1.47 ± 0.29 , EGF 群では 1.40 ± 0.16 , SMR 群では 0.82 ± 0.11 , SMR+EGF 群では 1.35 ± 0.21 であり4群とも前値に比較して著しく低下した. また SMR 群では, 他の3群に比較して有意に低かった ($p < 0.01$) (Fig. 9). EGF 群, SMR+EGF 群と対照群の間には, 有意差はなかった.

2) 術後7日目：対照群では 2.46 ± 0.30 , EGF 群では 2.65 ± 0.46 , SMR 群では 1.44 ± 0.19 , SMR+EGF 群では 2.28 ± 0.44 であり, 4群とも3日目に比較して血流の回復が認められたが, SMR 群の回復は悪く, ほかの3群に比較して有意に低値をとった ($p < 0.01$). また EGF 投与群, SMR+EGF 投与群と, 対照群との間に有意差はなかった (Fig. 9).

(5) 創傷部の血管鋳型

① 術後3日目：対照群, EGF 群, SMR+EGF 群では, 創傷直下の粘膜下層に血管の増生を認めた. 一方 SMR 群では粘膜下層の血管増生が認められず, 創部の癒合も不良であった.

② 術後7日目, 対照群の血管増生は創傷部直下の粘膜下層を中心に認められた(Fig. 10)が, EGF 群(Fig. 11), SMR+EGF 群(Fig. 12)の2群では, 創傷部直下の粘膜下層を中心とした血管増生が, 対照群に比較して, さらに顕著であった. 創部直下の粘膜下層の血管は創傷の癒合部を中心にして放射状に広がる傾向を示した. 一方 SMR 群 (Fig. 13) では創傷の粘膜下層の血管増生は軽微であった.

(6) 新生血管量

① 術後3日目：SMR 群では, ほかの3群に比較し

Fig. 10 Vascular structure of gastric wall (carmine gelatin cast). vasculature in submucosa at the anastomosis (←). Control, 7 days after gastrotomy (×4.0).

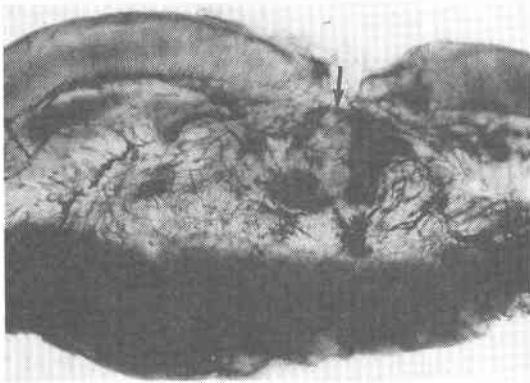


Fig. 11 Vascular structure of gastric wall (carmine gelatin cast). vasculature in submucosa at the anastomosis (←). EGF group, 7 days after gastrotomy (×3.5).

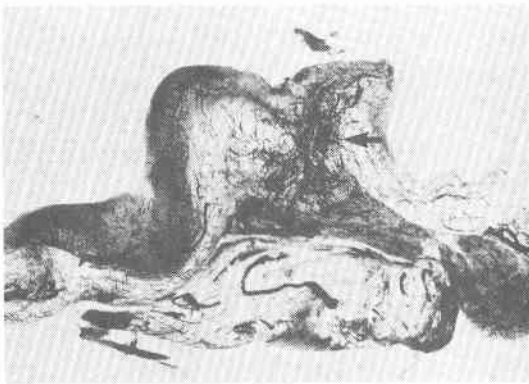


Fig. 12 Vascular structure of gastric wall (carmine gelatin cast). vasculature in submucosa at the anastomosis (↓). SMR+EGF group, 7 days after gastrotomy (×4.0).

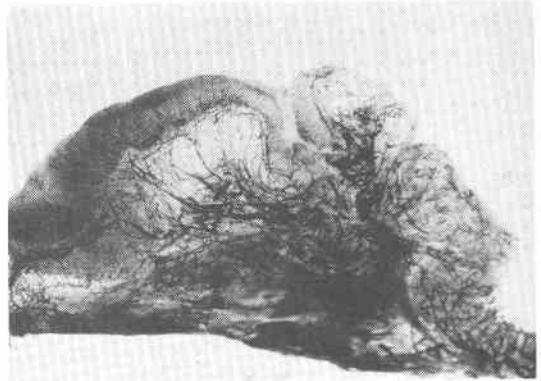
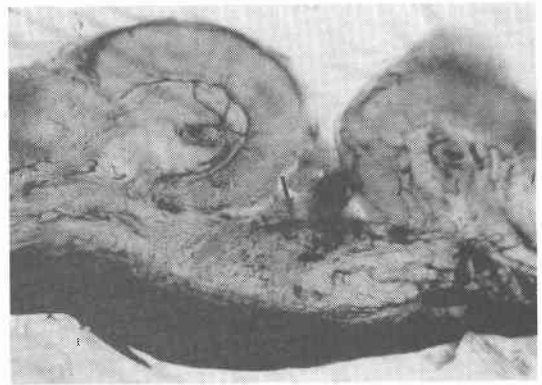


Fig. 13 Vascular structure of gastric wall (carmine gelatin cast). vasculature in submucosa at the anastomosis (↓). SMR group, 7 days after gastrotomy (×4.0).



て、有意に低値であった($p < 0.01$)。EGF群, SMR+EGF群の2群は、対照群と有意差を認めなかった(**Table 2**)。

② 術後7日目: SMR群では対照群, EGF群, SMR+EGF群に比較して有意に低値 ($p < 0.01$) であり、対照群, EGF群, SMR+EGF群の3群間には有意差を認めなかった(**Table 2**)。

考 察

近年、細胞成長因子の一つであるEGFが、角膜損傷¹²⁾、鼓膜損傷¹³⁾、熱傷による皮膚損傷¹⁴⁾、などで上皮損傷の修復を促進するという報告がみられている。Brownら¹⁵⁾によるとラットの皮膚切開創に対する

Table 2 The quantity of newly formed blood vessels in the gastrotomy wound. (Carmine dye method)

mg/lg dry weight	3 days after OP.	7 days after OP.
control group (n=6)	1.21±0.42	1.43±0.41
EGF group (n=6)	1.25±0.31	1.78±0.40
SMR group (n=6)	0.42±0.35—*	0.68±0.36—*
SMR+EGF group (n=6)	1.10±0.52	1.30±0.23

(M±SD * $p < 0.01$)

EGFの局所投与はとくに初期の創部抗張力を増加させるといい、創傷治癒に対してEGFは促進的に働く

という。一方、EGF は胃の創傷治癒にも強く関与していると考えられる。特に胃潰瘍治癒の促進効果は明らかであり、EGF は、すでに潰瘍治療薬として製品化されている。しかし手術操作などによる消化管吻合創に対する EGF の影響は報告がない。そこで著者は胃に作製した切開創をモデルとして、その治癒に対する EGF の意義を、術後 3 日、7 日の早期段階で検討した。

上部消化管の創傷治癒と顎下腺由来の EGF とは密接な関係があると考えられる。健常ラットでは、EGF は顎下腺以外に、十二指腸、腎臓、血小板内などにも存在しているというが、消化管内にある EGF のほとんどは顎下腺由来で、唾液を介して消化管粘膜に働くと考えられている¹⁶⁾¹⁷⁾。また顎下腺摘出ラットにおける実験潰瘍、すなわち塩酸潰瘍¹⁸⁾、システアミン潰瘍¹⁶⁾は重症であり、EGF 投与によりこれらが改善する。従って顎下腺由来の EGF が胃粘膜損傷修復に大きく関与しているものと考えられる。そこで著者は、対照に対する EGF の効果を検討するとともに、顎下腺摘出により、胃への内因性 EGF の供給を減じたもの (SMR 群) および SMR ラットに対して外来性の EGF を投与したもの (SMR+EGF 群) の創傷治癒についても検討した。

創傷治癒の実験系では EGF を創傷局所に投与した報告が多く、Brown ら¹⁵⁾は 10 μ g/kg の皮膚創傷部への 1 回投与が治癒を促進したと報告している。本実験では胃壁に対する局所への連続投与が困難であり、また EGF の血管に対する効果を検討の目的としたので静脈内を投与経路とした。静脈内投与による EGF の胃に対する影響では、Leonard ら¹⁹⁾が 60 μ g/kg/2days の EGF 投与で健常ラットの胃組織内 DNA, RNA の合成が促進したとしている。また片村ら⁷⁾は 20 μ g/kg の 3 回/2days の静脈内投与が、胃の酢酸潰瘍周辺部組織の DNA, RNA 量を増加させ治癒を促進したとしている。酢酸潰瘍は人工的な胃粘膜の創傷とも考えられる。以上を参考にして本実験の EGF 投与量は 20 μ g/kg の 3 回投与とした。

創傷治癒に関連し、栄養状態を判定するため、各実験群の体重、血中総蛋白量、アルブミン量を測定したが、4 群間に差は認められず各群とも栄養状態による影響はないものと考えられた。

創傷治癒に対する効果判定には、対象となる臓器の特性により、いくつかの方法がある²⁰⁾が、今回は消化管手術創の治癒判定に有用な抗張力の検討²¹⁾を行うとともに、組織学的検索を行い、とくに組織の膠原線維の

増生の検討のために trichrome 染色を行った²²⁾。その結果著しく抗張力の弱かった SMR 単独群では膠原線維の出現が少なく、これに EGF を投与すると膠原線維が増加し同時に抗張力も対照群と同程度まで回復した。以上より、EGF は胃切開創の創傷治癒過程に大きな影響を持つと考えられた。

創傷治癒はさまざまな過程をとる。毛細血管新生などにより創傷部の血流が維持され、線維芽細胞が遊走、増殖し、コラーゲンの合成、代謝が起り、上皮細胞の遊走増殖による欠損部の補填が行われる。EGF はこれらすべての過程に関わるといわれる²³⁻²⁵⁾が Brown ら¹⁵⁾が指摘している、EGF がとくに強く関与するらしい創傷初期では、創部の血流維持、新生血管の増生が重要と考えられる。そこで著者は、胃切開創の血流、血管構築、血管新生に与える EGF の影響を検討した。胃粘膜血流量の測定に使用したレーザードップラー血流計は、比較的簡単に、繰り返し、リアルタイムの血流測定が可能で、プローブの接触を一定にすれば再現性の高い値が得られる。その測定値は絶対値表示はされないが、水素ガスクリアランス法による測定値との相関も高い²³⁾ため今回もこれを用いた。また消化管の創傷治癒で、重要な役割を果たすと考えられる血管構築の変化、とくに粘膜側からの血流測定では反映されにくい粘膜下層の血管増生を観察するために血管鋳型を作製した。さらに創部全体の新生血管量の定量的ために carmine 法を採用した。鋳型作製とは異なり、なるべく毛細血管内のみ carmine が貯留するよう、静脈内投与とした。これにより一部は肺に取り込まれるが、大循環に乗った carmine は肉芽組織中の新生血管に取り込まれ、定量を可能にすると考えられる。Kimura ら¹⁰⁾は同様の方法により肉芽組織中の新生血管を定量し良好な結果を得ている。

創傷部の組織血流は、創傷治癒に影響する 1 因子である。天野²⁴⁾は虚血性腸管の吻合に際し、吻合部の組織酸素分圧の低下にしたがって縫合不全が増加してくると報告している。また坂元ら²⁵⁾はアスピリン投与により創傷治癒が遅延すると創傷部の組織血流の低下が認められるという。

今回の結果で胃粘膜血流量は術後 3 日、7 日目とも術前に比較して低下したが、とくに内因性の EGF の欠乏 (SMR 群) では低下が著しかった。SMR+EGF 群では対照群と同程度に回復しており、EGF の欠損が粘膜血流量の低下を抑制するものと考えられた。ただし対照に対する EGF の投与 (EGF 群) は胃粘膜血流

を改善させなかった。

血管平滑筋細胞には EGF receptor²⁶⁾があるという。このため EGF は血管平滑筋に作用して、血管作動性にはたつき²⁷⁾²⁸⁾粘膜血流に影響を与えた可能性も考えられる。今回の実験では、血流維持に対する prostaglandin の検討はしなかったが、Muramatsu ら²⁹⁾によれば、EGF の血管作用は indomethacin により阻害され、作用機序には prostaglandin を介する可能性があるともいわれている。

EGF には創傷部毛細血管新生作用があり、創傷部の血流回復に影響を与えると考えられる。血管新生には、①血管内皮細胞の protease 活性発現による基底膜の消化、②血管内皮細胞の間質への遊走、③血管内皮細胞の増殖分化、管腔形成という段階が必要とされるが、EGF は *in vitro* では、このすべてを促進するという⁵⁾。新生血管の役割は、一時的に肉芽形成を促進し創傷による欠損部位を速やかに補填し、これによって細胞外基質の増加を促し、創傷部の強度を高めることにある。今回の血管鑄型の観察によると、対照群、EGF 群、SMR+EGF 群の粘膜下層で明らかな血管増生を認めた。これは粘膜血流の低下という結果とは異なるが、時相的なずれとも考えられる。まず粘膜下層の血管増生がおこり、ついで粘膜血流の増加が起こる可能性もあるため、7日目以降の粘膜血流の測定も必要と考えられた。EGF 群は粘膜下層の血管増生が対照群に比較して顕著であるようであったが、新生血管の定量値には、この2群間で差はなかった。一方 SMR 群では、術後3日目も7日目も粘膜下層の血管増生は乏しかったが、これに EGF を投与したところ (SMR+EGF 群) 粘膜下層の血管増生が認められ、SMR 群では低下していた新生血管の定量値も SMR 群に比較して有意に高くなり、対照群との間に有意差を認めなくなった。

消化管の創傷治癒では、粘膜下層を中心とした新生血管の増生が重要な役割を果たすといわれる³⁰⁾。消化管の創傷治癒過程においては、粘膜下層の方が漿膜筋層に比べて血流分布が多い³⁰⁾³¹⁾。また治癒過程にある消化管の粘膜下層は新生血管が多く、間質の反応も旺盛であるという。本実験の結果でも、EGF がとくに強く作用したのは、粘膜血流の増加作用よりも、粘膜下層を中心とした血管増生作用であると考えられた。ただし、新生血管の定量値で、EGF が明らかに効果を示したのは内因性 EGF 低下に対する投与 (SMR+EGF 群) であり、対照群と EGF 群の比較に関しては抗張力、組織所見ともに有意差がなかった事と同様に、粘

膜血流、新生血管量にも有意差はなくこの点での健常ラットに対する EGF の効果については不明であった。これには EGF の投与量に関与しているのかもしれない。Leonard ら¹⁹⁾は健常ラットに対する EGF の静脈内投与は 120 μ g/kg/2days まで容量依存的に胃組織内 DNA 量を増加させるという。健常ラットの皮膚では EGF の創傷治癒に対する効果が明らかであるので、投与量を増加させる事が胃切開創の治癒を促進させるかもしれない。しかし今回投与量でも、EGF 群の粘膜下層の血管増生は対照群に比較して顕著であった事も事実であり、粘膜下層の新生血管の微細な検討など健常ラットに対する EGF の影響は、さらに詳細な研究が必要であると考えられた。

以上から、EGF は胃切開創の治癒に重要な役割をもつものと考えられた。特に内因性の EGF の欠乏が創傷治癒の遅延をもたらし、これに外来性の EGF を投与すると創傷治癒機転が回復する事が確認された。EGF は創傷治癒に際して、創傷部の粘膜血流低下を防ぎ、粘膜下層を中心とした血管増生に必要な物質と考えられた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました横浜市立大学医学部外科学第2講座、土屋周二教授に、深甚なる謝意を捧げます。また、直接ご指導いただきました、救命救急センター、杉山貢助教授、ならびに第2外科学教室の各位に、心から謝意を表します。

なお本論文の要旨は第90回日本外科学会総会 (1990. 5. 札幌) において発表した。

文 献

- 1) Cohen S: Isolation of a mouse submaxillary gland accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 237: 1555-1562, 1962
- 2) 相馬良直: 皮膚線維芽細胞と細胞成長因子. *皮膚* 32: 537-544, 1990
- 3) Hata R, Sunada H, Arai K et al: Regulation of collagen metabolism and cell growth by epidermal growth factor and ascorbate in culture human skin fibroblast. *Eur J Biochem* 173: 261-267, 1988
- 4) Grotendorst GR, Soma Y, Takehara K et al: EGF and TGF- α are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptide are present at sites of tissue regeneration. *J Cell Physiol* 139: 617-623, 1989
- 5) Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R: Transforming growth factor- α : A more potent angiogenic mediator than epidermal growth fac-

- tor. Science 232 : 1250—1253, 1986
- 6) 杉山 貢, 石川 孝, 土屋周二ほか: Epidermal growth factor の胃粘膜病変に対する効果. Prog Med 9 : 1041—1045, 1989
 - 7) 片村 宏, 杉山 貢, 国崎主税ほか: 酢酸潰瘍に対する Epidermal Growth Factor の組織修復作用. 消化管ホルモン研究会編. 消化管ホルモン (VIII). 医学図書出版, 東京, 1989, p654—659
 - 8) Konturek SJ, Cieszkowski M, Jaworek J: Effects of epidermal growth factor on gastrointestinal secretions. Am J Physiol 246 : G580—G586, 1984
 - 9) 奥平雅彦, 佐々木憲一, 中 英男: 注入法による血管構築検査法. 臨検 21 : 357—365, 1977
 - 10) Kimura M, Amemiya K, Yamada T et al: Quantitative method for measuring adjuvant-induced granuloma angiogenesis in insulin-treated diabetic mice. J Pharmacobiodyn 9 : 442—446, 1986
 - 11) 嵯峨克昌, 佐藤伸子, 雨宮功治: Carmine 色素法による肝血管の定量と D-ガラクトサミン-四塩化炭素併用による実験的慢性肝障害下での Pronase 肝血管増生効果. 薬理と治療 16 : 3123—3126, 1988
 - 12) Frai L: Selective binding of the epidermal growth factor and its specific effects on the epithelial cells of the cornea. Exp Eye Res 14 : 804—809, 1974
 - 13) 老木浩之: モルモット鼓膜穿孔の治癒過程における細胞成長因子の影響. 近畿大医誌 14 : 485—499, 1989
 - 14) 上田正和, 安井慎一, 相川直樹ほか: 熱傷水泡液中に含まれる線維芽細胞に対する増殖因子について. 最新医 43 : 1849—1850, 1988
 - 15) Gregory L, Brown MD, Luke J et al: Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF- β . Ann Surg 208 : 788—794, 1988
 - 16) Olsen PS: Role of submandibular salivary epidermal growth factor in gastric cytoprotection. Gastroenterology 87 : 103—108, 1984
 - 17) 平松正彦, 佐藤顕正, 柏俣正典ほか: 成熟マウスの顎下腺摘出および epidermal growth factor 投与の影響. Jpn Oral Biol 29 : 215—220, 1987
 - 18) 今井新平, 伊東 誠, 勝見康平ほか: 内因性 EGF の胃酸分泌, 胃粘膜内粘液及び塩酸潰瘍に対する作用. 日消病会誌 84 : 1573—1578, 1987
 - 19) Leonard RJ, Paul DG: Stimulation of rat oxyntic gland mucosal growth by epidermal growth factor. Am J Physiol 238 : G45—G49, 1980
 - 20) 坪井良治: 創傷治癒と血管新生. 実験医 9 : 133—138, 1991
 - 21) 西郡広道: 創傷治癒に関する実験的研究—殊に高カロリー輸液が創傷治癒におよぼす影響について—, 久留米医会誌 49 : 849—861, 1986
 - 22) Mooney DP, O'Reilly M, Gamelli RL: Tumor necrosis factor and wound healing. Ann Surg 211 : 124—129, 1990
 - 23) 斉田 宏, 村上元庸, 関 真理ほか: レーザードップラー法によるラット胃粘膜血流測定の見直し. 日消病会誌 81 : 16—21, 1984
 - 24) 天野 洋: 虚血性腸管の創傷治癒に関する実験的ならびに臨床的研究. 日外会誌 83 : 1398—1410, 1982
 - 25) 坂元晴彦, 佐藤克典, 朝倉昭人ほか: アスピリン投与による創傷治癒遅延について. 日口腔外会誌 32 : 1382—1386, 1986
 - 26) Tomita M, Hirata Y, Uchihashi M: Characterization of epidermal growth factor receptors in cultured vascular smooth muscle cells of rat aorta. Endocrinol Jpn 33 : 177—184, 1986
 - 27) 並木 温, 中村正人, 諸井雅男ほか: Epidermal Growth Factor の内皮細胞依存性血管平滑筋弛緩作用. 血管 10 : 167—174, 1987
 - 28) Gan BS, Hollenberg D, MacCannell KL et al: Distinct vascular action of epidermal growth factor-urogastrone and transforming growth factor- α 1. J Pharmacol Exp Ther 242 : 331—337, 1987
 - 29) Muramatsu I, Hollenberg MD, Lederis K: Vascular actions of epidermal growth factor-urogastrone: Possible relationship to prostaglandin production. Can J Physiol 63 : 994—999, 1985
 - 30) 丸山圭一: 消化管吻合における創傷治癒. 最新医 37 : 285—292, 1982
 - 31) 杉町圭蔵, 八坂 朗, 中村輝久: 異常環境下での消化管吻合法. 日消外会誌 9 : 32—38, 1976

The Effect of Epidermal Growth Factor on the Wound Healing after Gastrotomy

Yasushi Ichikawa

The Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine

The role of epidermal growth factor (EGF) in wound healing of the stomach was studied in Wistar rats. The animals were divided into 4 groups. 1) control, 2) EGF group: Administration of EGF (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 1 hour before and 24 and 48 hours after the operation, 3) SMR group: Bilateral total removal of submandibular glands 14 days before the operation, 4) SMR + EGF group. An incision was made in stomach wall and sutured primarily with cat gut. The following examinations were performed 3 and 7 days after the operation in each group: 1) measurement of bursting pressure, 2) histopathological examination of local collagen production, 3) measurement of microcirculation (Laser Doppler method), 4) observation of vascular structure (carmine gelatin cast), 5) quantitative measurement of neovascularization (carmine dye method). No statistically significant differences were noted in any parameters between the control and the EGF group. In the SMR group, all 4 parameters were markedly decreased compared with the control. Administration of EGF to the SMR group (SMR + EGF) improved all parameters, making them almost the same as those of the control. EGF is an essential factor for gastric wounds of rats to heal normally at least during the initial stage of the healing process. Normally it gives rise to neovascularization and maintains competent microcirculation at the wound.

Reprint requests: Yasushi Ichikawa The Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine
3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, 236 JAPAN
