

インドメタシン誘発ラット小腸潰瘍における transforming growth factor (TGF) β の発現およびレシチンの治療効果に関する研究

天野 角哉

背景: 小腸粘膜傷害における transforming growth factor (TGF) β の発現は未だ明らかにされていない。そこで、インドメタシン誘発ラット小腸潰瘍モデルにおける TGF- β 発現と本小腸潰瘍モデルに対するレシチンの効果を検討した。

方法: 1) 雄性 Wistar 系ラットにインドメタシンの経肛門的投与で小腸潰瘍を誘発し、経時的に小腸を摘出した。病変部のパラフィン切片を作成し、酵素抗体法を用いて TGF- β を免疫染色した。腸間膜付着側および対側の TGF- β 陽性細胞数をインドメタシン投与群と非投与群で経時的に比較した。2) インドメタシン投与直後より、2.5%エタノールに溶解したレシチン投与群 (lecithin 群)、2.5%エタノール投与群 (vehicle 群) および無治療群に分け、小腸に対する開放性潰瘍の長さ (UIL), 幅 (UIW) と潰瘍中心部の腸壁の厚さ (WT), および TGF- β 陽性細胞数を比較検討した。

結果: 1) TGF- β 陽性細胞は、粘膜固有層および粘膜下層内に認められ、インドメタシン投与3時間後から24時間後にかけては、腸間膜付着側および付着対側とともに陽性細胞数が増加した。3日後と7日後には腸間膜付着対側で、21日後には腸間膜付着側で TGF- β 陽性細胞数が非投与群よりも有意に多かった。2) 14日後の腸間膜付着対側の TGF- β 陽性細胞数は lecithin 群と vehicle 群で無治療群よりも有意に多かった。また、同時期において、lecithin 群は無治療群よりも UIW と WT が有意に低値を示し ($p < 0.05$), UIL も低値をとる傾向を認めた ($p = 0.09$)。

結論: TGF- β は小腸粘膜傷害の初期からその発現が増加すると考えられた。一方、レシチンは小腸潰瘍の治癒を促進し、治癒過程における TGF- β の発現とは無関係に腸管壁の肥厚を軽減させる可能性が示唆された。

(平成12年10月12日受理)

Expression of Transforming Growth Factor (TGF) β During Healing of Indomethacin-Induced Small Intestinal Ulcers in Rats : Effect of Peroral Lecithin

Kakuya AMANO

Background: The role of transforming growth factor (TGF) β in the healing of small intestinal mucosal injury is not clearly understood. The aim of this study was to characterize the

expression of TGF- β and to assess the effect of lecithin on indomethacin-induced small intestinal ulcers in rats.

Materials and methods: 1) Small intestinal ulcers were induced by intracolonic indomethacin in male Wistar rat. The expression and localization of TGF- β protein were determined immunohistochemically. The number of TGF- β positive cells at the mesenteric and anti-mesenteric sides of the small intestine was compared between indomethacin-treated group and control group.

2) After the induction of ulcers, the rats were divided into two treatment groups and an untreated group. The former groups were treated with either lecithin dissolved in 2.5% ethanol solution (lecithin group) or with 2.5% ethanol solution alone (vehicle group). Small intestinal damage was assessed by the ulcer index of length (UIL), the ulcer index of width (UIW), the wall thickness of the ulcer base (WT) and the number of TGF- β positive cells.

Results: 1) TGF- β positive cells were found in the lamina propria and the submucosa. The number of positive cells at both the mesenteric and anti-mesenteric sides increased more significantly in the indomethacin-treated group than in the control group from 3 to 24 hours after the treatment. From 3 to 7 days, positive cells increased only at the anti-mesenteric side. At 21 days, the value was significantly higher at the mesenteric side. 2) The number of TGF- β positive cells at the anti-mesenteric side increased more significantly in the lecithin group and the vehicle group than in the untreated group at 14 days. At this time point, UIW and WT were significantly lower in the lecithin group than in the untreated group.

Conclusion: The expression of TGF- β seems to increase during the early phase of small intestinal mucosal injury. During the healing stage, lecithin possibly reduces wall thickness on the affected site without attenuating the expression of TGF- β . (Accepted on October 12, 2000) *Kawasaki Igakkaishi*

26(4): 223-232, 2000

Key Words ① Transforming growth factor- β ② Lecithin
③ Indomethacin ④ Small intestinal ulcer ⑤ Rat

はじめに

TGF- β は、細胞の増殖や分裂^{1)~5)}および免疫反応への関与^{6)~10)}など種々の機能を有する成長因子である。これらの機能の中でも、組織傷害後の損傷治癒に大きく関与していることが知られており、損傷部の血小板の α 顆粒よりTGF- β が放出され、炎症細胞の遊走能を高め、細胞外マトリックスの合成を促進することにより、治癒を促すとされている^{1), 2), 11)~15)}。消化管領域では、胃潰瘍^{16)~18)}、放射線性腸炎^{19)~22)}、細菌性腸炎²³⁾などの動物実験モデルの治癒過程や、Crohn病ないし潰瘍性大腸炎^{24), 25)}などの疾患でのTGF- β 発現が確認され

ている。しかし、小腸潰瘍の治癒におけるTGF- β については、十分な検討がなされていない。

Crohn病は原因不明の慢性炎症性腸疾患で、特に小腸型Crohn病では治癒過程での過剰な線維化のため、著明な狭窄をきたすことがある。一方、近年大豆レシチンに含有される phosphatidylcholine (PC) が肝繊維症²⁶⁾や大腸炎モデル²⁷⁾において、過剰な線維化を抑制することが報告されている。

そこで、今回小腸潰瘍の治癒過程における、TGF- β の発現とレシチン投与の効果をインドメタシン誘発小腸潰瘍モデルを用いて検討した。

材料と方法

実験動物および小腸潰瘍の作成

5 週齢の雄 Wistar 系ラットを用いた。小腸潰瘍誘発までは、常温に保たれた飼育室で、1 匹ずつプラスチック製ケージに入れ、通常飼育用の餌と水道水を与え、一週間飼育した。

インドメタシンによる小腸潰瘍の誘発は、Matsumoto ら²⁸⁾の報告に準じて、アモバルピタール (100 mg/kg) 腹腔内投与による麻酔下に、1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 液に懸濁したインドメタシン (10 mg/ml) を 24 mg/kg の投与量で経肛門的に投与した。

なお、以下の実験は川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け (No. 99-014)、川崎医科大学の動物実験指針に基づき実施した。

実験プロトコール

1) 小腸潰瘍モデルにおける TGF-β 発現

小腸潰瘍誘発ラットおよび対照として 1% CMC 液 (10 mg/ml) のみを投与したラットを 3, 6, 12, 24 時間後及び 3, 7, 14, 21 日後にアモバルピタールを腹腔内に投与して屠殺した。全小腸を摘出し、ホルマリン液に入れ 24 時間固定後、肉眼的に粘膜病変を計測した。さらに、インドメタシン投与群では主病変部の、非投与群では中部小腸の横断面でパラフィン包埋を行った後、厚さ 4 μm のパラフィン切片で、後述の TGF-β 免疫組織染色を行った。

2) レシチンの効果の検討

小腸潰瘍を誘発後に、レシチン投与群 (lecithin 群, n = 27)、レシチンの溶媒として用いたエタノール投与群 (vehicle 群, n = 25)、および無治療群 (n = 29) の 3 群に分け、下記の項目を比

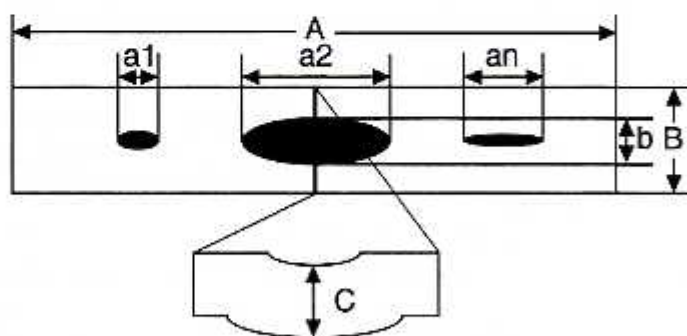
較検討した。

Lecithin 群は 2.5% エタノールに溶解したレシチン (5 mg/ml; 和光社, 大阪) を、vehicle 群には 2.5% エタノールのみをいずれも自由摂取の形で経口投与した。一日摂取量は給水ビンの残存量で確認した。経時的に体重を測定し、小腸潰瘍誘発後 7, 14, 21 日後に小腸を摘出し、ホルマリン固定した。後述の方法で小腸病変の評価後に主病変部のパラフィン切片を作成し、TGF-β 免疫染色および hematoxylin eosin (HE) 染色を行った。

病変の評価法として全小腸の長さと同長さ潰瘍の長さを測定し、小腸に対する開放性潰瘍の長さの比率 (ulcer index of length: UIL) を算出した。また、主病変部の小腸の幅と同長さ潰瘍の最大幅を計測し、同様に ulcer index of width (UIW) を算出した。一方、HE 染色標本を 200 倍の観察下に、計測器 (オリンパス社製 CSM 21) を用いて、潰瘍部における潰瘍底と漿膜の距離、すなわち腸壁の厚さ (wall thickness: WT) を測定した (Fig. 1)。

TGF-β 免疫組織染色

酵素抗体法に従い免疫組織染色を行った。バ



$$UIL = \left(\frac{\sum_{i=1}^n a_i}{A} \right) \times 100$$

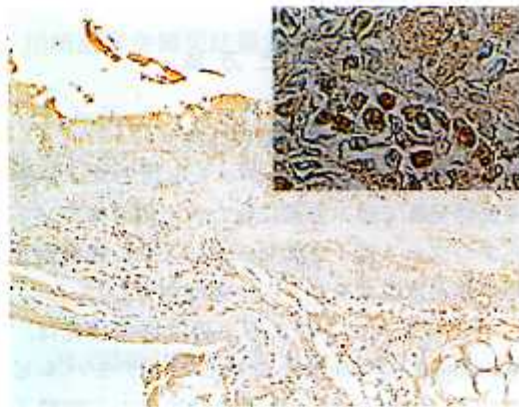
$$UIW = \left(\frac{b}{B} \right) \times 100$$

$$WT = C$$

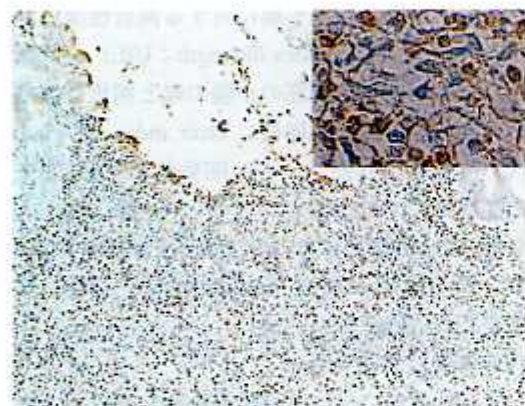
Fig. 1. Scheme for the assessment of small intestinal damage. Ulcer index of length (UIL) represents percentage of sum of longitudinal length in ulcers against total length of the small intestine. Ulcer index of width (UIW) represents percentage of circumferential length in the largest ulcer against width of small intestine. Wall thickness (WT) represents the largest transmural length at ulcerative area.



A



B



C

Fig 2. Immunohistochemical staining for TGF- β at the mesenteric side of the small intestine. ($\times 200$; inset $\times 1000$)

A : Few TGF- β positive cells can be seen in the lamina propria and the submucosa in an untreated rat.

B and C : At 24 hours (B) and 21 days (C) after treatment, numerous TGF- β positive cells can be seen in the lamina propria and the submucosa. The positive cells are predominantly neutrophils.

ラフィン切片を脱パラフィンし、ストレプトアビジン-ビオチン化ペルオキシダーゼ複合体法 (SAB法) を用いて免疫組織染色した。すなわち、3%過酸化水素加メタノール液に5分間浸し、内因性ペルオキシダーゼ活性のブロックを行った。Phosphate-buffered saline (PBS) 溶液に浸した後、hyaluronidase 溶液 (1 mg/ml; Sigma 社, 米国) に室温で30分間浸した。次に、ヒストファイン SAB-PO(M) キット (424022; ニチレイ社, 東京) を用い、10%ウサギ血清で非特異的抗体のブロックを行い、一次抗体として抗 TGF- β モノクローナル抗体 (431835; Genzyme 社, 米国) を用いて4℃の冷蔵庫内で18時間反応させた。その後、ビオチン標識マウス IgG 抗体に浸し、ストレプトアビジン-ビオチン化酵素に反応させた後、3,3'-

diaminobenzidine により発色した。なお、正常マウス IgG (X 0931; DAKO 社, デンマーク) を一次抗体とした陰性対照標本を作成し、染色性のないことを確認した。

TGF- β 発現は腸間膜付着側および対側部における陽性細胞数で評価した。計測にあたっては、各部位で約 0.2 mm² 内の陽性細胞数を任意の3箇所計測し、その平均値を指標とした。統計学的解析

2群間の比較にはt検定を用いた。また、レシチンの効果の検討では、無治療群とlecithin群および無治療群とvehicle群との間でt検定を用い比較検討した。いずれの比較においてもp値0.05未満を有意差ありと判定した。

結 果

1) 小腸粘膜傷害と TGF- β の経時的変化

1. 肉眼所見

インドメタシン投与3時間後より中部小腸の腸間膜付着側に一致してびらんが出現し、24時間後には縦走潰瘍が形成された。縦走潰瘍は、7日後までは開放性潰瘍であったが、14日以後より著明に縮小し、21日後にはほぼ癒着化していた。

2. TGF- β 陽性細胞

TGF- β 陽性細胞は、インドメタシン非投与ラットでは粘膜固有層および粘膜下層内にわずかに認められたのみであった (Fig. 2A)。しかし、インドメタシン投与ラットでは病変部の粘膜固有層ないし粘膜下層に陽性細胞が多数観察された (Fig. 2B, C)。陽性細胞は好中球を主体とする炎症細胞で、上皮細胞は染色されなかった。

インドメタシン投与群は非投与群に比べ、TGF- β 陽性細胞数が3、6、12、および24時間後のいずれの時点でも、腸間膜付着側および対側の両者で有意に増加していた (Fig. 3A)。さらに、インドメタシン投与群では72時間後に減少傾向がみられ、その後7、14、21日後の経過で腸間膜付着側で著増した (Fig. 3B)。なお、腸間膜付着側で21日後、腸間膜付着対側で3日後と7日後で投与群と非投与群の間に有意差を認めた。また、14日後の腸間膜付着対側ではインドメタシン投与群で陽性細胞数が有意に低値をした。

2) レシチンの効果

Lecithin 群および vehicle 群のラットの飲水量は各々一日平均 31.7 ml と 31.8 ml で、2 群間で飲水量に有意な差はなかった。lecithin 群の飲水量から、摂取したレシチンの内服量は一日平均 158.4 mg で、PC としては平

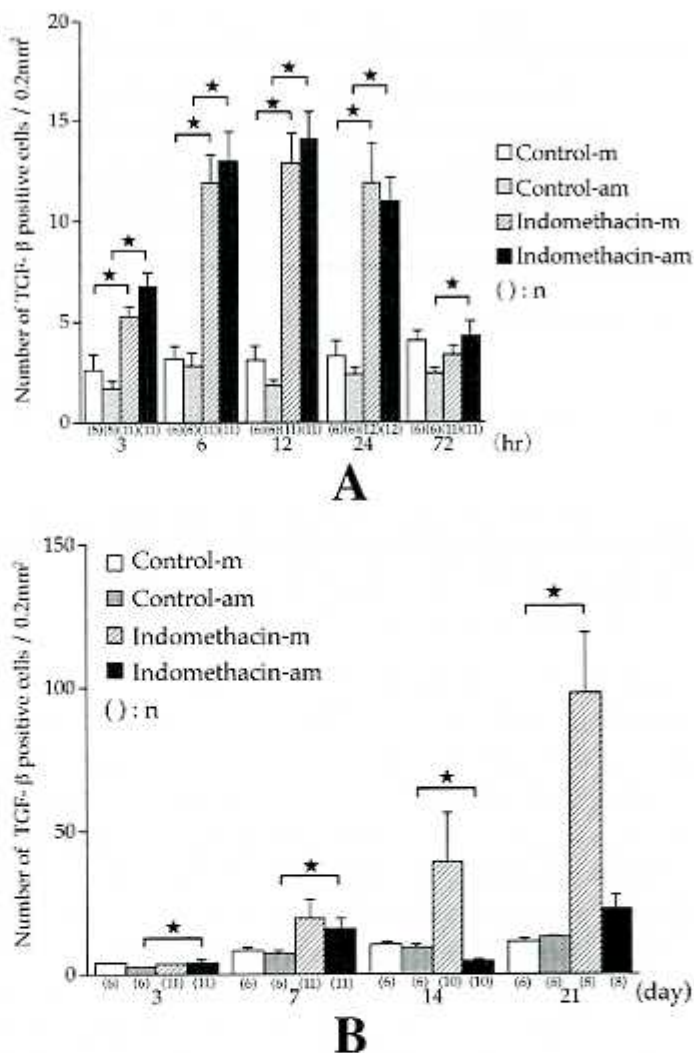


Fig. 3. Comparison of the number of TGF- β positive cells at the mesenteric side (-m) and the anti-mesenteric side (-am) of the small intestine between indomethacin-treated and control groups.

A: Number of positive cells up to 72 hours after treatment. Asterisk indicates a significant difference between two groups ($p < 0.05$). Figures in parentheses refer to number of rats in each group.

B: Number of positive cells from 3 to 21 days after treatment. Asterisk indicates a significant difference between two groups ($p < 0.05$). Figures in parentheses refer to number of rats in each group.

均 87.1 mg の経口摂取量と算出された。一方、通常飼育用の餌から摂取した PC は一日平均 15.3 mg で、lecithin 群は無治療群や vehicle 群に比べ、約 6.7 倍の PC を摂取していた。

Table 1. Comparison of body weight and mucosal damage among three treatment groups

	Untreated group			Vehicle group			Lecithin group		
	7days (n=11)	14days (n=10)	21days (n=8)	7days (n=10)	14days (n=8)	21days (n=7)	7days (n=10)	14days (n=8)	21days (n=9)
BW (g)	191.8±8.3	214.0±17.0	293.1±12.4	179.5±8.0	243.8±9.9	300.0±9.1	196.0±6.0	244.4±12.3	293.3±13.4
UIL (%)	5.6±1.1	4.2±1.5	0.5±0.2	6.0±1.2	1.6±0.7	1.1±0.6	4.8±1.0	1.1±0.7 ^a	0.6±0.6
UIW (%)	42.6±7.9	27.5±4.9	13.2±2.8	37.8±8.5	20.4±4.7	21.1±4.8	33.8±8.3	13.5±3.9 ^b	11.1±2.5

BW ; Body weight. UIL ; Ulcer index of length.

UIW ; Ulcer index of width. Values are expressed as mean ± SEM.

a ; 0.05 < p < 0.1 vs untreated group. b ; p < 0.05 vs untreated group.

体重は、無治療群、lecithin 群、vehicle 群の3群間に有意な差はなかった。UILは14日後において、lecithin 群が無治療群よりも低値をとる傾向を認め（無治療群；4.2±1.5、lecithin 群；1.1±0.7、 $p=0.09$ ）、同時点のUIWは、lecithin 群が無治療群よりも有意に低かった（無治療群；27.5±4.9、lecithin 群；13.5±3.9、 $p<0.05$ ）（Table 1）。また、lecithin 群のUILとUIWはいずれの時間でもvehicle 群よりも低値を示した。WTは、いずれの時間においてもlecithin 群が他の2群より低値で、特に14日後では無治療群とlecithin 群の間で有意差を認めた（無治療群；1410.9±184.5 μm 、lecithin 群；757.4±188.5 μm 、 $p<0.05$ ）（Fig. 4）。

腸間膜付着側におけるTGF- β 陽性細胞数は、3群間に有意差はなかった（Fig. 5A）。しかし、腸間膜付着対側におけるTGF- β 陽性細胞数は、14日後にlecithin 群とvehicle 群の2群に比べ無治療群で陽性細胞数が有意に少なかった（Fig. 5B）。

考 察

ラットにインドメタシンを経肛門的に投与す

ることにより、全消化管に潰瘍性病変が発生し、特に小腸にはヒトのCrohn病に類似した縦走潰瘍が生じることが知られている²⁸⁾、Honda²⁹⁾は、この過程を電子顕微鏡で観察し、インドメタシン投与2時間後より中部小腸に粘膜の欠損が起こり、12時間後には腸間膜付着側に潰瘍形成を認めたと報告している。今回の実験においてもインドメタシン投与3時間後より中部小腸を中心にびらんが発生し、24時間後には腸間膜付着側に一致して開放性縦走潰瘍が発生した。その後、潰瘍は7日後より徐々に縮小し、21日後には著明な治癒傾向を認めた。

皮膚や消化管の損傷治癒において、TGF- β は損傷部の血小板の α 顆粒より放出され、炎症細胞の遊走能を高め損傷部への炎症細胞浸潤を促進する。その後、損傷部に集簇する炎症細胞よりさらにTGF- β が産生され、細胞外マトリックスの合成を促進し、癒着を促すとされている^{1), 2), 11) - 15)}。

一方、Crohn病や潰瘍性大腸炎などの慢性炎症性腸疾患では病変部粘膜固有層の炎症細胞でTGF- β の発現が増加していることから、TGF- β が活動期の炎症の調節に関与していることが示唆されている^{24), 25)}。従って、TGF- β は腸管

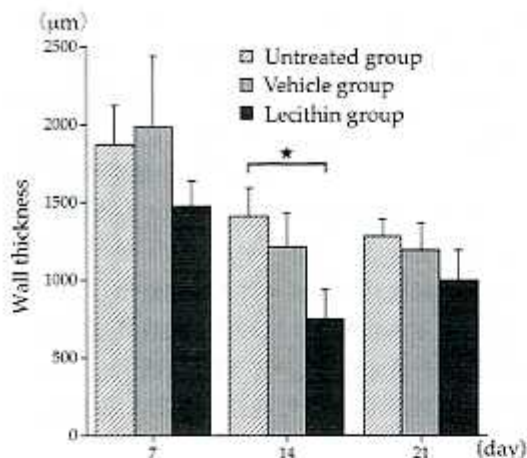


Fig. 4. Comparison of the wall thickness (WT) among three groups

Asterisk indicates significant difference between two groups ($p < 0.05$)

における炎症性病変の発生と治療に深く関与すると考えられる。本研究の結果から、インドメタシン誘発小腸潰瘍においては TGF- β 陽性細胞が投与後 3~24 時間後と 7 日後以降の 2 相性に増加することが明らかとなった。

TGF- β は腸管上皮細胞の増殖を抑制する^{30), 31)}が、腸管上皮細胞自体が TGF- β を発現するか否かは一定の結論を得ていない。今回の研究では、正常ラット小腸および病変部の上皮細胞には TGF- β の発現はみられず、粘膜下層および粘膜固有層内の炎症細胞の細胞質に発現を認め、Coerper ら³⁸⁾および Richter ら²⁰⁾の報告に矛盾しない結果となった。

インドメタシン投与後 3 時間から 24 時間までの TGF- β 陽性細胞数の増加は腸間膜附着側と対側の両方で認められ、急性期における炎症細胞浸潤によるものと考えられた^{17), 25)}。一方、実験胃潰瘍では潰瘍発生から 11 日以後にマクロファージないし繊維芽細胞由来の TGF- β 産生増加が報告されている¹⁶⁾。これに対し、今回遅発性に増加した TGF- β 陽性細胞は繊維芽細胞よりも好中球を主体とした炎症細胞であった。同様の結果は放射線性小腸炎の動物実験²⁰⁾でも報告されており、小腸の潰瘍性病変と胃潰瘍では TGF- β 発現細胞の動態が異なる可能性が示

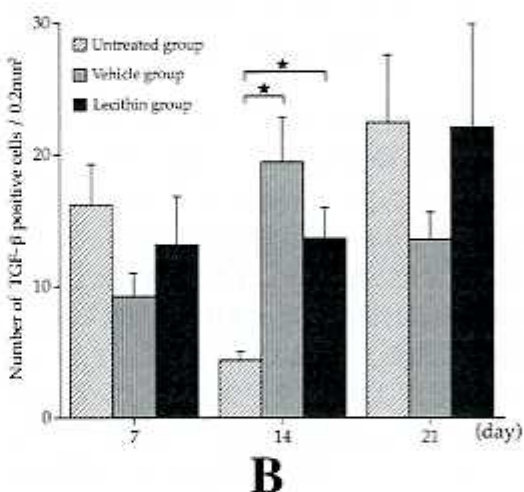
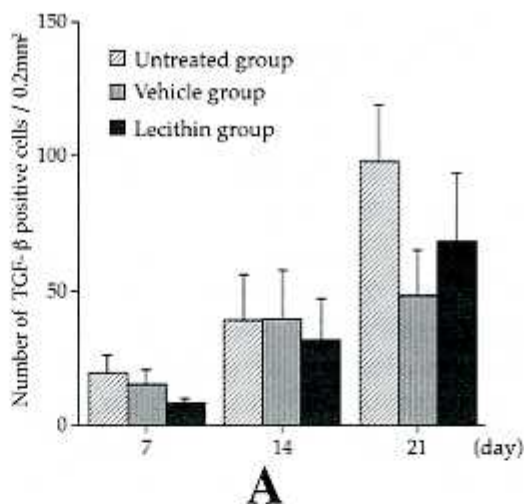


Fig. 5. Comparison of the number of TGF- β positive cells among three groups

A ; Number of positive cells at the mesenteric side

B ; Number of positive cells at the anti-mesenteric side

Asterisk indicates significant difference between two groups ($p < 0.05$)

唆される。

本研究では 3 日後および 7 日後では腸間膜附着対側における TGF- β 陽性細胞数が有意に増加していたが、14 日後に同部の陽性細胞数が低下し、21 日後には腸間膜附着側で増加していた。従って、本小腸潰瘍モデルの潰瘍が腸間膜附着

側に発生することを考慮すると、潰瘍辺縁で TGF- β の発現が顕著である可能性が示唆された。消化管粘膜傷害の修復は損傷部の辺縁より始まるとされており³²⁾⁻³⁶⁾、本実験で認められた TGF- β 発現は潰瘍辺縁からの治癒を強く支持するものと考えられる。

大豆レシチンの55%~60%は PC で、近年 PC が組織中の collagenase 活性を上昇させ、肝繊維化を抑制することが報告されている²⁶⁾。さらに、Mourelle ら²⁷⁾ は、trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) によるラット大腸炎モデルに PC 100 mg を経口投与したところ、TGF- β の蛋白発現を抑制することなく、collagenase 活性上昇を介して潰瘍治癒における腸管狭窄を軽減したと報告している。そこで、本研究では Mourelle らの投与方法と投与量に準じてレシチンを調剤した。

本研究では、いずれの時点においても lecithin 群は vehicle 群よりも UII と UIW が低値をとっていた。さらに、14日後において lecithin 群は無治療群よりも UII が低値をとる傾向があり、UIW は有意に低かった。また、同時点における腸間膜付着対側の TGF- β 陽性細胞数は lecithin 群が無治療群よりも有意に高かったことから、lecithin 群では潰瘍治癒が促進されていたと考えられた。消化管領域での PC の潰瘍治癒の促進作用は、ラット酢酸胃潰瘍モデルでも報告されており³⁷⁾、本研究の結果もレシチン自体に潰瘍治癒促進作用がある可能性が示唆された。しかし、14日後における腸間膜付着対側の TGF- β 陽性細胞数は vehicle 群でも無治療群よりも有意に高く、同時点での TGF- β 陽性細胞数の増加には、レシチンだけではなくエタノールの影響も考えられた。また、本研究ではいずれの治療群においても21日後まで開放性潰瘍を認めたことから、レシチンの治療効果をより明らかにするためにはより長期の治療経過を検討し、治癒期間を比較する必要がある。

一方、WT は lecithin 群で7日、14日、21日のいずれの時点でも無治療群および vehicle 群に比べ低値を示し、14日後には無治療群よりも

有意に低値であった。従って、レシチンは TNBS 大腸炎²⁷⁾と同様に小腸の腸管壁肥厚を軽減させると考えられた。しかし、この作用は TGF- β の発現抑制を介しているとは考えにくく、既報^{26), 27)}のようにレシチンによる細胞外マトリックスの産生抑制が関与している可能性がある。本研究では、コラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞外マトリックスを定量化していないので、本実験モデルにおける細胞外基質に与える影響を含めたレシチンの作用機序をさらに解明し、臨床応用の可能性を検討する必要がある。

結 語

インドメタシン誘発ラット小腸潰瘍モデルを用いて、TGF- β の発現とレシチン投与の効果を検討した。

- 1) TGF- β 陽性細胞は、粘膜固有層および粘膜下層に認められた。
- 2) 潰瘍誘発3時間後から24時間後では、腸間膜付着側および付着対側とともに TGF- β 陽性細胞数が非投与群よりも有意に増加した。
- 3) 3日後と7日後には腸間膜付着対側で、21日後には腸間膜付着側で TGF- β 陽性細胞数が非投与群よりも有意に増加した。
- 4) 14日後の腸間膜付着対側の TGF- β 陽性細胞数は lecithin 群と vehicle 群で無治療群よりも有意に多かった。
- 5) Lecithin 群で14日後の UIW と WT が無治療群よりも有意に低値を示した。

以上より、TGF- β は小腸粘膜障害の初期からその発現が増加すること、およびレシチンは潰瘍治癒を促進させる可能性があり、TGF- β 発現と無関係に腸壁の肥厚を軽減させることが明らかとなった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御指導と御鞭撻を賜りました川崎医科大学消化器内科Ⅱ教室 飯田三雄教授に

深甚なる謝意を表します。また、研究に協力をいただいた川崎医科大学病理部 三上芳喜先生、九州大学光学医療診療部 松本主之先生ならびに川崎医科大学消化器内科Ⅱ教室の諸兄に深く感謝します。なお、本研

究の一部は、大学院重点特別経費（平成10年度）および川崎医科大学プロジェクト研究費（10-608, 11-607）の援助によって行われたことを付記し深謝します。

文 献

- 1) Sporn MB, Roberts AB : The transforming growth factor- β s. In Peptide growth factors and their receptors I. New York, Springer-Verlag. 1990, pp 419-472
- 2) Burnard JA, Lyons RM, Moses HL : The cell biology of transforming growth factor β . *Biochim Biophys Acta* 1032 : 79-87, 1990
- 3) Schröer MF, Müller G, Birchmeier W, Bölen P : Transforming growth factor-beta inhibits endothelial cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 137 : 295-302, 1986
- 4) Shipley GD, Pinelkow MR, Wille JJ Jr, Scott RE, Moses HL : Reversible inhibition of normal human prokeratinocyte proliferation by type β transforming growth factor-growth inhibitor in serum-free medium. *Cancer Res* 46 : 2068-2071, 1986
- 5) Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB : Type β transforming growth factor : a bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 : 119-123, 1985
- 6) Ahuja SS, Paliogianni F, Yamada H, Balow JE, Boumpas DT : Effect of transforming growth factor- β on early and late activation events in human T cells. *J Immunol* 150 : 3109-3118, 1993
- 7) Bellone G, Amezaga MA, Trinchieri G, Rodeck U : Regulation of NK cell functions by TGF- β 1. *J Immunol* 155 : 1066-1073, 1995
- 8) Rich S, Seelig M, Lee HM, Lin J : Transforming growth factor β 1 costimulated growth and regulatory function of staphylococcal enterotoxin B-responsive CD8⁺ T cells. *J Immunol* 155 : 609-618, 1995
- 9) Ebert EC : Inhibitory effects of transforming growth factor-beta (TGF- β) on certain functions of intracutaneous lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 115 : 415-420, 1999
- 10) Ishizaka S, Kimoto M, Kanda S, Saito S : Augmentation of natural killer cell activity in mice by oral administration of transforming growth factor- β . *Immunology* 95 : 460-465, 1998
- 11) Border WA, Noble NA : Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 331 : 1286-1292, 1994
- 12) Postlethwaite AE, Oja JK, Moses HL, Kang AH : Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor β . *J Exp Med* 165 : 251-256, 1987
- 13) Wahl SM, Hunt DA, Wakefield LM, Francis NM, Wahl LM, Roberts AB, Sporn MB : Transforming growth factor type β induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 : 5788-5792, 1987
- 14) Chen TL, Bates RL, Xu Y, Ammann AJ, Beck LS : Human recombinant transforming growth factor- β 1 modulation of biochemical and cellular events in healing of ulcer wounds. *J Invest Dermatol* 98 : 428-435, 1992
- 15) Assoian RK, Sporn MB : Type β transforming growth factor in human platelets : release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. *J Cell Biol* 102 : 1217-1223, 1986
- 16) Tominaga K, Arakawa T, Kim S, Iwao H, Kobayashi K : Increased expression of transforming growth factor- β 1 during gastric ulcer healing in rats. *Dig Dis Sci* 42 : 616-625, 1997
- 17) Ernst H, Konturek PCH, Brzozowski T, Konturek SJ, Hahn EG : Subserosal application of transforming growth factor- β 1 in rats with chronic gastric ulcers : effect on gastric ulcer healing and blood flow. *J Physiol Pharmacol* 47 : 443-454, 1996
- 18) Coerper S, Sigloch E, Cox D, Starlinger M, Köcker G, Becker HD : Recombinant human transforming growth factor beta 3 accelerates gastric ulcer healing in rats. *Scand J Gastroenterol* 32 : 985-990, 1997

- 19) Ruifrok ACC, Mason KA, Lozano G, Thames HD : Spatial and temporal patterns of expression of epidermal growth factor, transforming growth factor alpha and transforming growth factor beta 1-3 and their receptors in mouse jejunum after radiation treatment. *Radiat Res* 147 : 1-12, 1997
- 20) Richter KK, Langberg CW, Sung CC, Jensen MH : Association of transforming growth factor β (TGF- β) immunoreactivity with specific histopathologic lesions in subacute and chronic experimental radiation enteropathy. *Radiother Oncol* 39 : 243-251, 1996
- 21) Wang J, Zheng H, Sung CC, Richter KK, Jensen MH : Cellular sources of transforming growth factor- β isoforms in early and chronic radiation enteropathy. *Am J Pathol* 153 : 1531-1540, 1998
- 22) Potten CS, Booth D, Haley JD : Pretreatment with transforming growth factor beta-3 protects small intestinal stem cells against radiation damage in vivo. *Cancer Res* 75 : 1454-1459, 1997
- 23) Mourelle M, Salas A, Guarner F, Crespo E, Lafuente AG, Malagelada JR : Stimulation of transforming growth factor β 1 by enteric bacteria in the pathogenesis of rat intestinal fibrosis. *Gastroenterology* 114 : 519, 526, 1998
- 24) Babyatsky MW, Rossiter G, Podolsky DK : Expression of transforming growth factors α and β in colonic mucosa in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 110 : 975-984, 1996
- 25) Xian CJ, Xu X, Mardell CE, Howarth GS, Byard RW, Moore DJ, Miettinen P, Read LC : Site-specific changes in transforming growth factor- α and- β 1 expression in colonic mucosa of adolescents with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 34 : 591-600, 1999
- 26) Lieber CS, Robins SJ, Li J, Decarli LM, Muk KM, Fasulo JM, Leo MA : Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Gastroenterology* 106 : 152-159, 1994
- 27) Mourelle M, Guarner F, Malagelada JR : Polyunsaturated phosphatidylcholine prevents stricture formation in a rat model of colitis. *Gastroenterology* 110 : 1093-1097, 1996
- 28) Matsumoto T, Iida M, Nakamura S, Hizawa K, Kuroki F, Fujishima M : An animal model of longitudinal ulcers in the small intestine induced by intracolonic administered indomethacin in rats. *Gastroenterol Jpn* 28 : 10-17, 1993
- 29) Honda K : A scanning electron microscopic study of the morphological changes in rat small intestinal mucosa treated by intracolonic indomethacin. *Med Electron Microsc* 30 : 138-147, 1997
- 30) Kurokawa M, Lynch K, Podolsky DK : Effects of growth factors on an intestinal epithelial cell line : transforming growth factor β inhibits proliferation and stimulates differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 142 : 775-782, 1987
- 31) Barnard JA, Beauchamp RD, Coffey BJ, Moses HL : Regulation of intestinal epithelial cell growth by transforming growth factor type β . *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 1578-1582, 1989
- 32) Géc M, Zuk A, Podolsky DK : Regulation and function of extracellular matrix in intestinal epithelial restitution in vitro. *Am J Physiol* 271 : G 729- G 740, 1996
- 33) Shahin M, Gillessen A, Pohle T, Schuppan D, Herbst H, Domschke W : Gastric ulcer healing in the rat : kinetics and localisation of de novo procollagen synthesis. *Gut* 41 : 187-194, 1997
- 34) Lacy ER : Epithelial restitution in the gastrointestinal tract. *J Clin Gastroenterol* 10 (Suppl. 1) : S 72- S 77, 1988
- 35) Moore R, Carlson S, Madara JL : Rapid barrier restitution in an in vitro model of intestinal epithelial injury. *Lab Invest* 60 : 237-244, 1989
- 36) Nakamura M, Oda M, Inoue J, Nishizaki Y, Tsuchiya M : Roles of muscularis mucosae and myofibroblasts in the healing process of acetic acid-induced ulcer. *J Clin Gastroenterol* 12 (Suppl. 1) : S 39- S 47, 1990
- 37) Kurinets A, Lichtenber L : Phosphatidylcholine-associated aspirin accelerates healing of gastric ulcers in rats. *Dig Dis Sci* 43 : 786-790, 1998