

氏名	かな ぎん ざわ たく あき よし 宣
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1687号
学位授与の日付	平成11年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	The Beneficial Effect of Phosphocreatine Accumulation in the Creatine Kinase Transgenic Mouse Liver in Endotoxin-induced Hepatic Cell Death. (肝特異的クレアチンキナーゼ発現トランスジェニック・マウスを用いたエンドトキシン誘導肝細胞死に対するフォスフォクレアチン集積の有効性に関する研究)
	(主査)
論文調査委員	教授 千葉 勉 教授 光山 正雄 教授 山岡 義生

論文内容の要旨

【目的】術後合併症の一つである敗血症の病態は複雑であり、病態解明のために多くの検討がなされている。それらの中で敗血症時に肝エネルギー状態が低下することは既に知られているが、肝エネルギー状態の低下と肝細胞障害・細胞死との関連についての報告はない。本研究において、本来肝臓に存在しないクレアチンキナーゼを肝細胞特異的に遺伝子導入したトランスジェニックマウス(以下CK-TGマウス)を用いることによって、肝臓にフォスフォクレアチン・クレアチンシステムを誘導し、肝細胞におけるエネルギー状態と敗血症における肝障害の関係を検討した。

【方法】D-ガラクトサミン(600mg/kg)+リポポリサッカライド(LPS)(0.2mg/kg)をCK-TGマウスに腹腔内投与し肝不全モデルを作成した。これらをGroup 1; 通常食飼育群, Group 2; 高クレアチン含有食(10%)飼育群の2群に分け、肝フォスフォクレアチン, ATPレベル, 血中肝逸脱酵素(AST, ALT)値, 血中Tumor necrosis factor (TNF)-alpha値, 肝組織像, 肝細胞のアポトーシスの有無とその肝内分布について検討した。

【結果】D-ガラクトサミン(600mg) 或いはLPS(0.2mg)の単独投与では、両群において死亡したマウスは認められず肝障害も生じなかった。D-ガラクトサミン+LPS投与48時間後においてGroup 1の生存率は0%でいずれも投与後12時間以内に死亡したが、Group 2では48時間後においても生存率80%であった。薬剤投与前に高クレアチン食飼育されたGroup 2は通常食飼育されたGroup 1に比較して肝内のフォスフォクレアチンおよびATPレベルが有意に高値であった。フォスフォクレアチンレベルはGroup 1ではD-ガラクトサミン+LPS投与4, 8時間後のいずれもにGroup 2に比較して有意に低値を示した。ATPレベルもGroup 2ではD-ガラクトサミン+LPS投与後8時間にわたって高値に保たれ、Group 1の薬剤投与前値よりも高値を示した。肝逸脱酵素では投与4時間後までは両群間に差は認められなかった。しかし8時間後にはGroup 1でAST値, ALT値ともに高度な上昇を認めたが、Group 2では投与前と変化を認めなかった。血中TNF-alpha値では投与1, 3, 6時間後のいずれにおいても両群間に有意差を認めなかった。HE染色標本において、Group 1では広範囲の出血を伴った肝組織壊死を認めたが、Group 2では肝細胞の壊死像は殆ど認められず、組織構造も良く保たれていた。TUNEL染色ではGroup 1において、中心静脈を主としてアポトーシスの所見が多数認められたが、Group 2では一部アポトーシスの所見を認めるものの、肝内全域において頻度は有意に低かった。

【結語】肝特異的にクレアチンキナーゼを発現したトランスジェニックマウスにおいて肝臓にフォスフォクレアチンを集積させることにより、敗血症の状態でも肝細胞のATPレベルを高値に維持する事が可能であった。これにより肝細胞壊死を軽減し肝障害や生存率を改善した。また血中TNF-alpha値が両群間で有意差無く上昇していたにもかかわらず、フォスフォクレアチン・クレアチンシステム誘導マウスにおいては肝細胞のアポトーシスが抑制されていた。このことより肝エネルギー状態の維持がアポトーシスを抑制することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

クレアチンキナーゼを肝細胞特異的に遺伝子導入したトランスジェニックマウス（以下CK-TGマウス）は高クレアチン食飼育により肝臓にフォスホクレアチン・クレアチンシステム（以下PCr/Crシステム）を誘導し、肝細胞を高エネルギー状態に維持することが可能である。本研究においてCK-TGマウスにD-galactosamine+lipopolysaccharideを投与して肝不全モデルを作成し、Group 1；通常食飼育群，Group 2；高クレアチン含有食飼育群の2群に分け、CK-TGマウスの敗血症での肝障害に対する有用性を検討した。Group 1と比較してGroup 2では肝組織のフォスホクレアチンおよびATPレベルは高値に維持されていた。両群において血中TNF- α 値の上昇は有意差を認めなかったが、Group 2では肝細胞の壊死及びアポトーシスが抑制されており48時間後の生存率も良好であった。このことよりPCr/Crシステムの肝への誘導が、敗血症における肝障害・肝壊死を軽減し、さらにアポトーシスも抑制することが示唆された。

以上の研究より、劇症肝障害や敗血症での肝不全の治療においてクレアチンキナーゼの遺伝子導入の効果が期待され消化器病学、肝臓外科に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年3月10日実施の論文内容とそれに関連した研究分野ならびに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。