

氏名	ところまぶちみゆき 所(馬) 美 雪
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	論薬博第700号
学位授与の日付	平成15年11月25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	Insulin-like growth factor- I の新規生理活性, 胆汁分泌促進作用に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 佐藤公道 教授 辻本豪三 教授 川寄敏祐

論 文 内 容 の 要 旨

骨減少に対する Insulin-like growth factor (IGF- I) の作用を検討している過程で、予期していなかった IGF- I の胆汁分泌促進作用を発見した。さらに、免疫抑制薬 FK506 の胆汁分泌促進作用に IGF- I が関与しているという新たな知見を得、肝移植における IGF- I の薬理学的意義についても考察した。以下に、これらを3章に分けて論述する。

1 IGF- I の胆汁分泌促進作用の発見

慢性肝疾患では、肝障害による IGF- I の低下に伴い、成長障害および骨減少などが認められる。慢性肝疾患の動物モデルであるラット胆管結紮モデルは、成長障害のよいモデルであることは知られているが、骨減少症のモデルとなり得るか否かについての報告はない。著者はこの点について検討し、胆管結紮ラットでは骨密度の低下、血中 IGF- I 濃度の著しい低下なども発症することを明らかにした。これらのことから、ラット胆管結紮モデルが慢性肝疾患に伴う骨減少症のモデルとなり得ることが示唆される。また、骨減少の程度と血中 IGF- I 濃度低下との相関から、胆管結紮による骨減少は肝臓での IGF- I 産生低下に起因する可能性が想定された。

そこで、ラット胆管結紮モデルに IGF- I を投与したところ、予測に反して成長促進作用および骨減少軽減作用は認められなかったが、胆管結紮部位に胆汁が多量に貯留することを見出した。この結果より、IGF- I が胆汁分泌促進作用を有するのではないかと仮説を立て、以下の検討を行った。

正常ラットに IGF- I (10mg/kg) を単回皮下投与すると、胆汁流量は投与1時間後には増加し、1.5~3.5時間後まで有意差が認められた。さらに IGF- I の作用をより明確にする目的で 320 μ g/rat/day を浸透圧ポンプを用いて1週間持続的皮下投与したところ、胆汁流量および胆汁酸排泄量が有意に増加したことから、IGF- I は胆汁酸依存性の胆汁分泌促進作用を有することが考えられる。

胆汁分泌における IGF- I の生理的意義に関して、IGF- I を欠損する下垂体摘除ラットを用いて検討した。その結果、下垂体摘除後には胆汁流量および胆汁酸排泄量は有意に低下したが、このラットに IGF- I (320 μ g/rat/day) を1週間持続的皮下投与すると、それらはいずれも有意に回復した。すなわち血中 IGF- I 濃度の増減と胆汁流量および胆汁酸排泄量の増減とがよく一致していたことから、IGF- I が胆汁分泌に生理的に重要な役割を果たしていることが示唆される。

以上の実験結果から、IGF- I が肝臓において胆汁分泌促進作用というこれまで報告のなかった新規の生理作用を有することが明らかになった。

2 IGF- I と既存の利胆薬 prednisolone および ursodeoxycholic acid との比較

IGF- I の胆汁分泌促進作用の作用強度について、正常ラットを用い、IGF- I (10mg/kg, 皮下投与) の作用を既存の利胆薬である prednisolone (PDN) (10mg/kg, 皮下投与) および ursodeoxycholic acid (UDCA) (32mg/kg, 静脈内投与) のそれと単回投与により比較検討したところ、同等以上の薬効を示した。さらに IGF- I をこれらの利胆薬と併用すると、相加的に胆汁流量が増加した。

次に、IGF- IあるいはPDNを投与された正常ラットでの分泌された胆汁中の胆汁酸濃度を測定したところ、IGF- Iによってはほとんど変化が認められなかったが、PDNでは用量依存的な低下が認められた。また、胆汁酸排泄量はIGF- Iでは増加する傾向にあったが、PDNにおいては変化が認められなかった。これらのことより、IGF- Iの胆汁分泌促進作用のメカニズムは胆汁酸非依存性の水利胆薬であるPDNとは異なることが示された。

以上の結果から、IGF- Iは既存の利胆薬とは異なるメカニズムで胆汁分泌を促進し、単独であるいは既存の利胆薬と併用して利胆薬として使用可能であると考えられる。

3 免疫抑制薬FK506によるIGF- I産生を介した胆汁分泌促進作用

FK506は肝移植においてシクロスポリンAに勝る肝生着率を示しており、その一因として肝移植後の胆汁流量および胆汁酸排泄の回復の早さが関与している可能性が報告されている。そこで、FK506が胆汁分泌促進作用を有し、その胆汁分泌促進作用にIGF- Iが関与しているのではないかと仮説を立て検討した。

正常ラットにFK506 (10mg/kg)を静脈内投与すると1時間後をピークとして有意に胆汁流量が増加するのに対し、シクロスポリンA (100mg/kg)静脈内投与では有意に低下し、両薬剤は胆汁分泌に関して逆の作用を示すことが明らかになった。また下垂体摘除ラットにおいてもFK506 (10mg/kg, 静脈内投与)は正常ラットと同程度の胆汁分泌促進作用を示したことから、FK506の作用は視床下部一下垂体系を介さない肝臓への直接作用によるものと考えられる。一方、血中IGF- I濃度はFK506静脈内投与30分後をピークとして有意に増加した。さらにFK506 (10mg/kg)の1日1回1週間反復経口投与により、血中および肝臓中のIGF- I濃度は有意に増加した。

これらの結果から、FK506が胆汁分泌促進作用を有し、その作用に肝臓でのIGF- I産生促進作用が関与していることが示唆される。こうしたFK506の胆汁分泌促進作用は、肝移植での良好な生着率に関与していると推察される。

本研究において、IGF- Iが胆汁分泌促進作用という新規の生理作用を有し、その作用は既存の利胆薬と同程度の有効性を示すこと、FK506がIGF- I産生を介して胆汁分泌を促進することを見出し、これらの作用が移植肝の機能回復に寄与している可能性を指摘した。以上の成績は、胆汁うっ滞治療および移植肝の生着率向上を目指す上での重要な基礎的知見であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

慢性肝疾患の動物モデルとして用いられるラット胆管結紮モデルにおける骨減少に関する検討の過程で、著者はInsulin-like growth factor-1 (IGF- I)が胆汁分泌促進作用を有していることを発見し、さらに、肝移植手術後の免疫反応抑制のために用いられているFK506 (タクロリムス)の胆汁分泌促進作用にIGF- Iが関与していることを見出す等の興味ある新知見を得た。

第一章 IGF- Iの胆汁分泌促進作用の発見

ラット胆管結紮モデルにおいて骨減少および血中IGF- I濃度の著しい低下を観察し、両者に相関性があることから、肝臓におけるIGF- I産生低下が骨減少の原因ではないかと考えて、ラット胆管結紮モデルにIGF- Iを投与したところ、骨減少軽減作用は全く観察されず、ラットの全身状態悪化および結紮部位での多量の胆汁の貯留を認めた。この予想外の結果から、IGF- Iが胆汁分泌を促進させるのではないかと仮説を立てて検証を試みた。正常ラットにIGF- Iを単回皮下投与(10mg/kg)または1週間持続的皮下投与(0.32mg/rat/day)したところ、胆汁流量/胆汁酸排泄量は有意に増加したので、IGF- Iが胆汁酸依存性の胆汁分泌促進作用を有していることが明らかになった。

IGF- Iを欠損状態にする下垂体切除を行うと胆汁流量および胆汁酸排泄量は有意に低下すること、この動物にIGF- I(0.32mg/rat/day)を1週間持続的皮下投与すると、いずれも有意に回復することを認めた。これらの結果は、IGF- Iが胆汁分泌において生理学的に重要な役割を演じていることを示唆している。

第二章 IGF- Iと既存の利胆薬prednisoloneおよびursodeoxycholic acidとの比較

正常ラットに各薬物を諸種用量にて皮下注射または静脈内注射し胆汁分泌促進作用強度を比較検討した結果、IGF- Iは既存利胆薬とほぼ同等またはそれ以上の薬効を示すことが明らかになった。さらに、IGF- Iをこれらの既存利胆薬と併用すると、相加的効果が認められた。また、IGF- Iが胆汁酸依存的な胆汁分泌促進作用を惹起するのに対して、

prednisoloneは胆汁酸非依存的な利胆作用を示すことを明らかにした。

第三章 免疫抑制薬FK506によるIGF- I 産生を介した胆汁分泌促進作用

肝移植において、FK506はシクロスポリンAよりも優れた肝生着率をもたらすことが報告されている。その一因として肝移植後の胆汁流量および胆汁酸排泄の回復の早さの差異が指摘されてきた。著者は、FK506がIGF- I を介して胆汁分泌促進作用を起こしているのではないかと仮説を立て、検証を試みた。その結果、(1) 正常ラットにFK506 (10mg/kg) を静脈内注射すると1時間後をピークとする有意な胆汁流量の増加が惹起されるが、シクロスポリンA (100mg/kg) を静脈内注射すると逆に胆汁流量は有意に減少すること、(2) 下垂体摘除ラットでもFK506は正常ラットと同様の胆汁分泌促進作用を示すこと、(3) FK506 (10mg/kg) の単回静脈内注射あるいは1日1回1週間反復経口投与により血中/肝臓中のIGF- I 濃度が有意に上昇すること、などを示した。これらの結果は、FK506が肝臓への直接作用によりIGF- I 産生を促進させ、これが胆汁分泌促進に繋がっていることを強く示唆している。

以上著者は、IGF- I に胆汁分泌促進作用という新規の生理作用を持つことを発見し、その薬理作用は既存の利胆薬と遜色ない強さであることを示し、さらに、FK506がIGF- I 産生を増加させ、胆汁分泌を促進させることにより、移植肝の機能回復に寄与する可能性を指摘した。これらは、胆汁うっ滞治療および移植肝の生着率向上にとって有益且つ重要な知見であると考えられる。

よって、本論文を博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。さらに、平成15年10月27日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。