

氏名	おおえしょうしろう 大江正士郎
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1782号
学位授与の日付	平成14年5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	1. Continuous intravenous infusion of deleted form of hepatocyte growth factor attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. (dHGFの持続静注による肝虚血再灌流障害の軽減に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 田中 紘一 教授 今村 正之 教授 山岡 義生

論文内容の要旨

研究の背景：肝臓の虚血再灌流障害は、門脈合併切除を伴う拡大肝切除時や、肝移植の際に不可避な障害で、その軽減は消化器外科学における課題の1つである。近年、肝細胞増殖因子とその変異体である dHGF の様々な肝障害に対する有益な報告がなされつつあるものの、肝の虚血再灌流障害に対する効果は未だ確立されていなかった。そこで、dHGF のラット肝における虚血再灌流障害への作用を検討した。dHGF は、HGF 遺伝子のスプライシングの一種として自然発生する、第1クリンゲル構造の5アミノ酸残基が欠失した HGF 変異体で、生物学的活性は HGF 類似であるが、肝細胞に対する増殖活性は約1.4倍高い事が報告されている。

研究の方法：Sprague-Dawley ラットの全肝温阻血(20分)にて、コントロール群では、80%の生存率を認める。この障害モデルを用いて、①ヒトリコンビナント dHGF 16 μ g/ml/時(高濃度群)、②8 μ g/ml/時(低濃度群)、③PBS(コントロール群)を肝阻血の20時間前より、経静脈的に持続投与した。肝虚血前と再灌流3時間後、及び、6時間後の肝組織と血液検体を用いて、1)血清中のヒト由来 dHGF 濃度、2)鈴木らの報告に準じる肝組織像(類洞鬱血、細胞質の空胞化、肝細胞壊死)、3)肝逸脱酵素(AST, ALT, LDH, CK-BB)、4)肝組織中の還元型グルタチオン活性、5)免疫組織学的検討(ICAM-1, 8-OHdG, c-Met)を行った。

研究の結果：①dHGF 高濃度群、②低濃度群では、それぞれ100%、90%の生存率を得た。①dHGF 高濃度群、②低濃度群、③コントロール群における肝虚血再灌流開始3時間後の血中ヒト由来 HGF 濃度は、①6.3 \pm 1.3 ng/ml、②3.8 \pm 0.7 ng/ml、③0.4 ng/ml 以下であった。肝虚血再灌流障害では、i)類洞の鬱血、gai 972b)細胞質の空胞化、iii)肝細胞の壊死のすべてにおいて、高濃度群、低濃度群ともに有為な改善を認めた。血清逸脱酵素は AST, ALT, LDH において dHGF 濃度依存性の有為な減少を認めたが、類洞内皮障害の指標である CK-BB は高濃度群でのみ有為な低下を認めた。免疫組織学的検討では、高濃度群に肝類洞内皮と中心静脈内皮における ICAM-1 発現の低下を認めるとともに、肝組織中での還元型グルタチオン活性の亢進と ICAM-1 転写に関与するとされる肝組織中酸化ストレスの軽減を認めた。これらが投与した dHGF の肝類洞内皮への直接的な保護効果かを検討すべく、c-Met の免疫染色を行ったが、類洞内皮には発現しておらず、dHGF 投与群では肝虚血前より肝細胞上の c-Met は down regulation しており、コントロール群では逆に肝虚血再灌流障害部位の肝細胞にて発現増強されることが示され、dHGF の c-Met を介した効果が肝細胞のみならず、類洞内皮細胞にも影響を与えていることが示唆された。

研究の結論：dHGF の静脈内持続投与により、肝虚血再灌流後も肝組織中の高い還元型グルタチオン活性を可能とすることで、酸化ストレスが軽減され、肝虚血再灌流障害を軽減し、肝類洞内皮細胞にも間接的に保護効果を持つことが示唆された。

この実験結果は、dHGF の新たな肝障害モデルへの有効性を示したものであり、消化器外科学の発展に寄与するものと思われる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、肝保護作用を有するとされる肝細胞増殖因子の5アミノ酸欠失変異体（dHGF）の肝虚血再灌流障害に対する効果が検討された。SDラットに20分間全肝血行遮断の20時間前より、dHGF 16 μg / 時、8 μg 時、または、リン酸緩衝液を経静脈的に持続投与し、3、および6時間の再灌流の後、肝組織障害、肝逸脱酵素、ICAM-1発現、還元型グルタチオン活性、酸化ストレス傷害、c-Met発現を検討した。dHGF投与群では、類洞の鬱血、肝細胞質の空胞化、肝細胞の壊死において著明な組織像の改善を認め、肝細胞障害の指標であるAST、ALT、LDHは濃度依存性の有意な低下を認めた。類洞内皮障害の指標であるクレアチンキナーゼ-BBはdHGF 16 μg / ml / 時投与群で有意な低下を認め、内皮細胞のICAM-1発現も有意に減少した。dHGFによる再灌流障害の軽減の機序として、肝組織中の還元型グルタチオン活性の上昇と酸化ストレス傷害の軽減が示唆された。また、dHGFの類洞内皮細胞への効果は、c-Metが発現していないことより、細胞間相互作用を介したものである可能性が示唆された。

以上の研究はdHGFによる肝虚血再灌流障害の軽減作用の解明に貢献し、消化器外科学の発展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14年3月18日実地の論文内容とそれに関連した研究分野並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。