

氏 名	ふくしま しゅう 福 州 修
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2042 号
学位授与の日付	平 成 10 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	The frequency of 4977 base pair deletion of mitochondrial DNA in various types of liver disease and in normal liver (種々の肝疾患と正常肝におけるミトコンドリアDNAの4977塩基対欠失の頻度) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 日 合 弘 教 授 千 葉 勉 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

【序論】肝臓のミトコンドリアは肝細胞内でのエネルギー代謝の中核であり、核内の染色体DNAとは別に、呼吸系酵素のサブユニットをコードしている独自のミトコンドリアDNA (mtDNA) を持っている。従来このmtDNAの変異は極めて少ないとされてきたが、PCR法により10種類以上のmtDNAの変異が検出され、特殊な神経筋疾患との関連が証明された。また健康人でも老化に伴い、筋肉、脳、心臓などでmtDNAの4977塩基対の欠失が報告され、DNA変異を持つミトコンドリアの蓄積と、老化による臓器機能低下との関連が注目されている。しかし肝臓においてはmtDNAの変異と腫瘍、肝硬変などの病態や肝機能との関連は無明されていない。本研究では臨床標本を用い肝腫瘍、硬変肝、正常肝において、mtDNAの4977塩基対の欠失をPCR法で検出し、年齢、性別、併存肝疾患、肝機能との関連性を検討した。

【対象と方法】対象は1991年10月から1993年3月までに当科で肝切除術を施行された71例で、肝悪性腫瘍37例、肝良性腫瘍2例、生体肝移植レシピエント16例、同ドナー16例であった。このうち20歳以上の成人は55例、生後3ヵ月から13歳までの小児が16例であった。これらの症例から、肝細胞癌28、大腸癌肝転移4、胆管細胞癌3、嚢胞腺癌2、肝良性腫瘍3、成人硬変肝20、小児硬変肝16 (胆道閉鎖症13、Wilson病1、肝内胆汁うっ滞症1、チロシン血症1)、正常肝35の標本を採取し、フェノール・クロロホルム法にてDNAを抽出した。mtDNAの4977bpの欠失部位をはさむプライマーを用いて、欠失の無い5.83KbのPCR産物を得るために、94℃ 1分、59℃ 1分、72℃ 5分で30サイクルのPCR増幅を行った。同じ標本を用いて、欠失のある852bpの検出のため、94℃30秒、61℃20秒、72℃15秒で35サイクルの増幅を行った。PCR産物はアガロースゲル電気泳動後にEtBrで染色し、ポラロイドカメラで撮影した。肝機能の指標として、術前のICG排泄試験によるICG消失率 (ICG-K値) を算出した。

【結果及び考察】①患者の性別、HBs抗原及びHCV抗体の有無、術前ICG-K値とmtDNA4977塩基対欠失頻度との間に関連性はなかった。②成人肝臓の非腫瘍部での欠失の検出率は、硬変肝では68.4% (13/19)、非硬変肝では63.9% (23/36)であり、肝硬変の有無による差は認めなかった。③成人非腫瘍部では欠失頻度は65.5% (36/55)であったが、13歳以下の小児硬変肝では、mtDNA欠失は全く認められなかった (0/16)。しかし20才以上での年代別欠失頻度に差は認められず、欠失頻度と年代の間には一定の関係を認めなかった。④肝悪性腫瘍部でのmtDNA欠失頻度は24.3% (9/37)であり、非腫瘍部での65.5% (36/55)と比較して有意に低かった。この理由として腫瘍細胞の増殖分化の過程で欠失のあるmtDNAが排除された可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

骨格筋、心筋などではミトコンドリアDNA (mtDNA) の変異と疾患や加齢との関係が報告されているが、肝臓については未だ明らかにされていない。本研究では臨床肝切除標本を用い、肝mtDNAの4977塩基対の欠失をPCR法で検出し、肝mtDNAの欠失と年齢、性別、併存肝疾患、肝機能との関連性を検討した。

①mtDNA4977塩基対欠失頻度と患者の性別、HBs抗原及びHCV抗体の有無、肝硬変の有無とは関連性はなかった。②13歳以下の小児硬変肝では、mtDNA欠失は全く認められなかった (0/16) が、成人非腫瘍部では欠失頻度は65.5% (36/55) であった。しかし20歳以上では欠失頻度と年代の間に一定の関係を認めなかった。③肝悪性腫瘍部でのmtDNA欠失頻度は24.3% (9/37) であり、非腫瘍部での65.5% (36/55) と比較して有意に低かった。

これらの結果より、肝臓においては骨格筋、心筋とは異なり、mtDNA欠失頻度が成人では加齢と相関しないこと、また肝悪性腫瘍では欠失頻度が低いことが判明した。

以上、肝臓におけるmtDNA変異の研究により、肝臓の加齢現象を解明するために重要な知見が得られた。

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10年6月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。