

氏 名	佐 藤 誠 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1868 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	Energy Metabolism and Regeneration in Transgenic Mouse Liver Expressing Creatine Kinase after Major Hepatectomy. (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 における肝切除後の肝エネルギー代謝と肝再生に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 今 村 正 之 教 授 中 西 重 忠 教 授 西 川 伸 一 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

【序論】肝再生の促進は、肝不全の治療、肝臓外科の分野において最重要課題の1つである。肝再生促進を目的として、各種の成長因子の投与が基礎的に研究されているが、十分な結果は得られていない。一方、従来より肝再生の過程では、肝 ATP 量は低下し、ミトコンドリアの酸化的リン酸化に大きな影響を与える肝 free ADP ($\mu\text{mol/L}$) は正常の3倍までに増加し、肝エネルギー動態が低下する事が知られている。本研究では、この点に着目し、肝臓以外の脳・心臓などの臓器に存在し ATP のリザーバーとして作用しているフォスフォクレアチン (PCr) / クレアチン (Cr) 系を触媒とするクレアチンキナーゼ (CK) を Prealbumin-promotor により肝臓特異的に発現させた transgenic(TG)-mice を用いて、PCr 存在下の肝切除後のエネルギー代謝、肝再生を検討した。

【方法】使用した CK・TGmice は、正常食による飼育では肝臓に PCr の集積をほとんど認めないが、5日間10% Cr 食投与で肝臓に PCr の集積を認める。この性質を利用して、通常食飼育 TGmice を Group 1 とし、術前5日間10% Cr で飼育した TGmice を Group 2 とした。各 group に対して Sham 手術、70% 肝切除、80% 肝切除を行った。術前及び手術後24時間での残存肝 PCr, Cr, アデニンヌクレオチドを HPLC にて測定した。酸素電極を使用して70%肝切除後の再生中の肝ミトコンドリアの酸化的リン酸化能を測定した。これらの測定値から、肝 free ADP を求め肝エネルギー動態を評価した。Flowcytometry による再生肝の BrdU (bromodeoxyuridine) DNA 標識率と再生肝重量を測定し肝再生を評価した。

【結果】70%肝切除24時間後の肝 ATP ($\mu\text{mol/g wet liver}$) は、Group 1 : 2.15 ± 0.12 , Group 2 : 2.8 ± 0.12 であり、肝エネルギー状態は、PCr の集積により肝切除後も有意に良好に保たれた。Group 1 では従来の報告と一致して、肝切除後に ATP 消費の増加を代償するミトコンドリアの酸化的リン酸化能の亢進を認めた。Group 2 では、ミトコンドリア内アデニンヌクレオチドの上昇を伴う、酸化的リン酸化能

の亢進を術前から認め、そのレベルは70%肝切24時間後も維持された。肝 free ADP ($\mu\text{-mol/L}$) は、Group 2 では術前 89.7 ± 11.8 , 70%肝切除24時間後 84.4 ± 9.1 と安定しており、80%肝切除後も肝エネルギー動態の低下は認めなかった。70%肝切除24時間後の BrdU による再生肝の DNA 標識率は Group 1 : $10.26 \pm 1.1\%$, Group 2 : $18.86 \pm 2.0\%$ であった。Group 2 では、Group 1 と比較し有意に速やかな肝重量 (g liver/100 g BW) の回復を認めた。(70%肝切除168時間後肝重量 Group 1 : 4.12 ± 0.21 , Group 2 : 5.15 ± 0.10)

【考察】肝臓への CK の導入と引き続く PCr の集積は、術前より肝ミトコンドリアの ATP 産生能を亢進させ、肝切除後の肝再生時の ATP の低下を有意に軽減させた。また、肝 free ADP は、PCr の存在により肝切除後も変化しなかった。肝 free ADP により評価される肝エネルギー動態は80%肝切除後も安定した値を示した。一方、PCr の存在により再生中の肝臓の DNA 合成は亢進し、肝重量の回復が速まった。以上より、肝臓への CK の導入と引き続く PCr の集積は、肝切除後の肝エネルギー代謝を強化し、速やかな肝再生につながる事が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、肝臓に存在しないフォスフォクレアチン (PCr) / クレアチン (Cr) 系を触媒するクレアチンキナーゼ (CK) を肝臓特異的に発現させた transgenic (TG)-mice を用いて、PCr 存在下の肝切除後のエネルギー代謝、肝再生を検討した。本 CK・TGmice は、正常食では肝臓に PCr の集積を認めないが、Cr 投与で肝臓に PCr の集積を認める。通常食飼育群を Group 1, 術前高 Cr 食飼育群を Group 2 とした。この2群に Sham 手術, 70%肝切除, 80%肝切除を行った。Group 1 に対し Group 2 では、肝切除後も肝エネルギー状態は有意に良好に保たれ、酸化的リン酸化能は術前から亢進し、そのレベルは70%肝切24時間後も維持された。肝 free ADP は PCr の存在により肝切除後も上昇せず、肝エネルギー動態は安定した。Group 1 に対し Group 2 では70%肝切除24時間の BrdU の DNA 標識率は高値を示し、速やかな肝重量の回復を認めた。

以上の研究は、肝臓への PCr の集積は、肝切除後の肝エネルギー代謝を強化し、速やかな肝再生につながることを解明し、肝臓外科及び肝不全治療に寄与するところが多い。

従って、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9年2月10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。