

氏 名	中 尾 禎 造
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2752 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 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 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Heparin accelerates liver regeneration following portal branch ligation in normal and cirrhotic rats with increased plasma hepatocyte growth factor levels に関する研究 (正常及び肝硬変ラットにおいて血漿肝細胞増殖因子レベルの上昇を伴う門脈結紮後のヘパリンによる肝再生増強効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

臨床において術前門脈枝塞栓術 (PTPE) は、塞栓葉の萎縮と非塞栓葉の代償性再生肥大を図り、塞栓葉肝切除術後の肝不全を防止する方法である。しかし、PTPE後も非塞栓葉が期待するほど再生肥大しない症例もある。肝細胞増殖因子 (以下 HGF) は、最も強力な肝再生促進因子で、PTPEを想定した硬変肝ラットの門脈枝結紮 (以下 PBL) モデルにおいて肝再生促進効果が報告されているが、半減期が短く、未だ、臨床応用されていない。一方、ヘパリンが細胞外基質 (ECM) 内に貯留している HGF を遊離させ血漿 HGF 値が上昇することが報告された。申請者は、ヘパリン投与により ECM から遊離される内因性 HGF が、PBL 後の肝再生を促し拡大肝切除術の安全性に有用か否かを検討した。

8 週齢雄性 Wistar ラットを用いた。正常肝ラットにヘパリン 300, 600, 1000 U/kg を腹腔内投与し、各 30, 60, 120, 240 分後の血漿 HGF 値を測定した ($n=4$)。600, 100 U/kg の投与で 30, 60, 120 分での血漿 HGF 値 (ng/mg) はそれぞれ $1.4 \pm 0.3^*$, $1.6 \pm 0.2^*$, $1.7 \pm 0.2^{**}$ および $1.8 \pm 0.5^*$, $4.5 \pm 1.4^*$, $3.8 \pm 0.2^*$ であり、コントロール群の 0.4 ± 0.1 , 0.5 ± 0.2 , 0.4 ± 0.2 (mean $\pm$ SEM, *: $p < 0.05$ vs. control, **: $p < 0.005$ vs. control, Student's t test) に比べて有意に上昇した。正常肝ラットの肝左側及び正中葉枝に PBL を施行し、2 時間後ヘパリン 1000 U/kg を腹腔内投与して 4, 12, 24, 72, 168 時間後に犠死させた ($n=5$)。肺非結紮葉重量/総肝重量比 (%) は 24, 72, 168 時間後 $43.2 \pm 0.2^{**}$, $74.5 \pm 2.1^*$, $82.5 \pm 0.5^{**}$, BrdU labeling Index (%) は 24, 72 時間後 $13.1 \pm 1.1^{**}$, $6.0 \pm 0.5^*$, 血漿 HGF 値は 4, 12 時間後 $9.1 \pm 1.3^{**}$, $4.0 \pm 0.7^*$, コントロール群の各々, 41.2 ± 0.4 , 66.7 ± 1.7 , 77.8 ± 0.6 および 6.0 ± 0.7 , 3.9 ± 0.5 および 3.6 ± 0.2 , 1.6 ± 0.2 に比べて有意に増加した。dimethylnitrosamine を週 3 回、4 週腹腔内投与し肝硬変ラットモデルを作成した。PBL 後、12 時間毎にヘパリン 1000 U/kg を腹腔内投与して、4, 24, 72, 168 時間後に犠死させた ($n=5$)。非結紮葉重量/総肝重量比は 72, 168 時間後 $51.9 \pm 0.6^*$, $60.2 \pm 1.2^*$, BrdU labeling Index は 24 時間後 $6.1 \pm 0.7^*$, 血漿中の HGF 値は 4, 24 時間後 $14.3 \pm 3.1^*$, $9.0 \pm 1.9^*$, コントロール群の各々, 46.3 ± 1.4 , 52.9 ± 2.6 , および 2.6 ± 0.7 および 1.1 ± 0.3 , 0.9 ± 0.2 に比べて有意に増加した。両モデルとも肝機能測定ではヘパリン投与群とコントロール群との間に有意差は認めなかった。上記肝硬変ラット PBL モデルを用い 12 時間毎にヘパリンの投与を行った ($n=8$)。72 時間後に開腹し結紮葉切除を行いコントロール群との生存率を比較検討したところ、ヘパリン投与群では生存率が有意に上昇した ($p=0.0023$, Kaplan-Meier 法, log-rank test)。

以上ヘパリンは、PBL 後の比結紮葉肝再生を正常肝および硬変肝において促進させた。また結紮葉切除術後の肝不全を防止し生存率を上昇させた。従って臨床においてヘパリンを PTPE 後に使用して拡大肝切除症例の適応拡大を図れる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

門脈枝塞栓術 (PTPE) は残存肝の代償性再生肥大を図り、術後の肝不全を回避する肝切除術の術前に施行する手技であ

る。肝細胞増殖因子（以下HGF）は、強力な肝再生促進因子であるが、この目的のためには使用されていない。申請者は、ヘパリン投与により細胞外基質から遊離される内因性HGFが、門脈枝結紮（PBL）後の肝再生作用を増強し拡大肝切除術の安全性に寄与するか否かを検討した。

正常肝ラット（n=4）にヘパリンを腹腔内投与し、血漿HGF値が上昇することを確認した。正常肝ラット（n=5）及び肝硬変ラット（n=4）にPBLを施行後ヘパリンを腹腔内投与し、血漿HGF値、BrdU labeling Index、肝非結紮葉肺非結紮葉重量/総肝重量比を経時的に検討した。各項目は、正常肝ラットでは各4^{*}、12^{*}時間後、24^{**}、72^{*}時間後、24^{**}、72^{*}、168^{*}時間後に、肝硬変ラットでは各4^{*}、24^{*}時間後、24^{*}時間後、72^{*}、168^{*}時間後に有意上昇した（^{*}：p<0.05，^{**}：p<0.005）。肝硬変ラットPBLモデルにヘパリンを投与し72時間後に開腹し結紮葉切除を行い生存率を比較検討した。ヘパリン投与群では生存率が有意に上昇した。（p=0.0023）。

以上の研究はヘパリンによる血漿HGF値上昇を伴う肝再生の解明に貢献し、臨床においてヘパリンをPTPE後に使用して拡大肝切除症例の適応拡大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16年2月18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。