

氏 名	にし お とし ひろ 西 尾 敏 弘
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1835 号
学位授与の日付	平 成 15 年 9 月 24 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	Increased Expression of Collagenase in the Liver Induced Hepatocytes Proliferation with Cytoplasmic Accumulation of β -Catenin in the Rat (コラゲナーゼ強制発現による β -カテニン細胞内集積を伴ったラット肝細胞 増殖の誘導)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 武 藤 誠 教 授 田 中 紘 一

論 文 内 容 の 要 旨

肝臓は再生する臓器として知られており、その再生メカニズムに関して多くの研究がなされてきた。現在までに、TNF- α およびIL-6をはじめとしたサイトカインやHGFおよびEGFなどの増殖因子と、肝細胞増殖および肝再生との関連について多くの報告がなされている。一方で、細胞外マトリックス (ECM: extracellular matrix) の変化が、肝細胞増殖に影響を及ぼす可能性が*in vitro*の実験系を中心に指摘されているが、この方面の*in vivo*における研究は進んでいないのが現状である。本研究ではラット肝臓内に細胞外マトリックス、主にコラーゲンtype Iおよびtype IIIの分解酵素であるmatrix metalloproteinase (MMP)-1を一過性に強制発現させ、肝ECMの状態を人為的に変化させることにより、*in vivo*において肝細胞増殖が誘導されるかを検討し、肝ECMによる肝細胞増殖制御機構の存在を証明し、そのメカニズム探ることを目的とした。

ラット肝臓内にMMP-1を強制発現させる方法としては、ヒトMMP-1cDNAをアデノウイルスベクターに組み込んだAd5MMP-1 (5×10^8 PFU/rat) を雄性Sprague-Dawleyラットの尾静脈より投与した。対照アデノウイルスベクターとして、 β -galactosidase発現アデノウイルスAd5LacZ (5×10^8 PFU/rat) を用いた。肝細胞増殖の評価はBrdU labeling index, mitotic index, 肝乾燥重量を用いて行い、肝細胞傷害との関連を血液生化学データおよび組織学的検討にて行った。その結果、アデノウイルス感染後48時間頃より、MMP-1導入群において、LacZ導入群および無処置群に比し有意な肝細胞増殖の誘導が確認され、肝乾燥重量も増加した。また、一過性の肝細胞傷害を96時間以降1週間をピークに認めたが、肝細胞傷害の出現より前に肝細胞増殖が誘導されたことから、肝細胞傷害が増殖の直接の引き金になったとは考えにくい結果であった。以上の結果より、*in vivo*において、肝内MMP-1活性の人為的上昇に伴う肝ECM変化が肝細胞増殖を誘導することが証明された。

ついで上記現象のメカニズムを解明するために、まず、肝ECMに多量に結合し、肝細胞増殖との関連がもっとも強く指摘されている増殖因子である肝細胞増殖因子 (HGF) の関与を検討したが、MMP-1発現後肝臓内活性型HGFの増加はみられなかった。次に、ECMの細胞表面レセプターであるintegrinとその細胞内ドメインに結合するキナーゼ活性分子 (focal adhesion kinaseおよびintegrin-linked kinase) の発現変化を検討すると、MMP-1発現群で両キナーゼ活性分子とも一過性に消失し、integrinを介したシグナル伝達が存在が推測された。また、細胞間接着因子であるE-cadherinとその裏打ち蛋白で細胞増殖と関連する β -cateninの変化を検討したところ、MMP-1導入後にE-cadherinの発現は一過性に減少し、 β -cateninの細胞質内への移行を認めた。つまり、MMP-1による肝細胞増殖誘導のメカニズムとして、細胞間接着因子の状態変化の関与が推測された。

今後、integrin下流のシグナル伝達、他の増殖因子の関与について検討を加え、*in vivo*におけるECMによる肝細胞増殖制御機構のメカニズムを明らかにしたい。

論文審査の結果の要旨

申請者は、細胞外マトリックス (ECM: extracellular matrix) の変化が、直接細胞増殖に影響を及ぼす可能性に着目して本研究を行った。正常ラット肝臓内に線維性コラーゲンの分解酵素であるmatrix metalloproteinase (MMP)-1を強制発現させ、肝ECMの状態を変化させ、*in vivo*における肝細胞増殖誘導の有無を検討した。ヒトMMP-1発現アデノウイルスベクター: Ad5MMP-1 (5x10⁹PFU/rat) を雄性SDラットの尾静脈より投与し、肝臓における活性型MMP-1の発現を得た。48時間頃より、MMP-1導入群において、有意な肝細胞増殖の出現が見られ、肝乾燥重量も増加した。MMP-1発現による一過性の肝細胞傷害を認めたが、apoptosisのみで壊死を伴わないこと、肝細胞増殖の開始が先行すること、肝臓内で活性型HGFが増加しないことなどから、肝細胞傷害が増殖の直接原因ではないと考えた。一方、細胞間接着因子: E-cadherinの発現は一過性に減少し、その裏打ち蛋白で細胞増殖と直接関連する β -cateninの細胞質内への移行を認めたことから、申請者は肝細胞増殖誘導のメカニズムとして、細胞間接着因子の状態変化に伴う細胞内シグナル伝達の関与があると結論した。

以上の研究は肝ECMによる肝細胞増殖調節機構の解明に貢献し、肝再生研究の進歩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15年8月4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。