

京都大学	博士（医学）	氏名	久森重夫
論文題目	All- <i>trans</i> -retinoic acid ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice through modulating cytokine production ATRA はサイトカインの産生を調節することで CCl ₄ によって誘導されたマウスの肝線維化を抑制する		
(論文内容の要旨)			
ウイルス感染や薬剤暴露など種々の原因により引き起こされる肝線維症は、不可逆的な増悪傾向を呈し致死的となることが少なくない。肝線維症は、肝星細胞から線維芽細胞への形質変化(活性化)および増殖と、そこから産生される細胞外マトリックスの沈着が中心的な機序と考えられており、この線維化機構を抑制するために臨床上様々な対症療法が応用されているが、治癒を目的とした治療戦略はいまだ検討段階である。 急性前骨髄球性白血病の経口治療薬である All-trans-retinoic acid(ATRA) による放射性及び薬剤性肺線維症の予防効果、並びに放射性腸炎の予防効果が報告されたが、これと同様に今回は四塩化炭素(CCl₄)による薬剤性線維性肝障害のマウスモデルを用い、ATRA を腹腔内投与して肝線維化が抑制されるか否かを検討した。また肝星細胞を分離抽出し、in vitro の実験系で ATRA が星細胞の活性化および増殖を抑制するか否かについても検討した。 まず in vivo の実験では、肝線維化モデル作成のための CCl₄ 投与量は、生存率の推移を観察するために、これまでの文献的報告上最大量の 5ml/kg 週 2 回腹腔内投与とした。CCl₄ 単独投与群、CCl₄+ATRA(0.5mg/匹、週 3 回腹腔内注射) 投与群をそれぞれ 8 週および 12 週間観察した結果、ATRA 投与群では生存率が有意に高く、また病理組織像は Azan 染色、α-SMA 免疫染色にて明らかに線維化の抑制効果が確認された。さらに real-time RT-PCR の結果、過去の報告から線維化に関与するサイトカインと考えられている TGFβ-1、IL-6 の産生が ATRA によって抑制されていた。CCl₄ の投与を続けて肝線維化が完成した後、9 週目からの ATRA 投与群(治療群)においても、病理組織上線維化抑制効果が確認され、マウスの採血結果では ATRA 投与群で LDH、AST、ALT の有意な低下が認められた。In vitro では、分離抽出した星細胞の上清に ATRA を加えて培養した結果、コントロール群に比較して星細胞から線維芽細胞への形質変化ならびに増殖が抑制された。さらに ELISA を用いた実験系で、ATRA 投与群において type I-collagen、TGFβ-1、IL-6 の産生抑制、HGF の産生増加が認められ、TGFβ-1、IL-6 の上流に位置すると考えられる転写因子 NF-κB ならびに p38MAPK の産生も ATRA により抑制されることが示された。 ATRA はすでに臨床応用されている薬剤であり、経口摂取であるためコンプライアンスもよく、重篤な副作用もほとんど見られないことが証明されている。今回の実験結果から、ATRA により肝線維化の予防効果だけでなく治療効果が得られる可能性も示唆されており、今後難治性肝線維症における治療戦略の一助となることが期待できる。			

(論文審査の結果の要旨)

肝線維化に対する有効な治療薬は未だ検討段階である。今回申請者は四塩化炭素 (CCl₄) による薬剤性肝線維化マウスモデルを用いて、all-trans-retinoic acid (ATRA) による線維化抑制効果を検討した。また肝線維化に中心的役割を担う肝星細胞を抽出し、ATRA の in vitro における星細胞活性化抑制効果について検討した。CCl₄ 単独投与群、CCl₄/ATRA 投与群をそれぞれ 12 週間観察した結果、ATRA 投与群では生存率が有意に高く、また病理組織像では Azan 染色、 α -SMA 免疫染色にて明らかに線維化の抑制効果が確認された。Real-time RT-PCR では線維化に関与すると考えられる TGF β -1、IL-6 の産生が ATRA によって抑制されていた。9 週目からの ATRA 投与群(治療群)においても病理組織上線維化抑制効果が確認された。さらに肝星細胞の上清に ATRA を加えて培養した結果、コントロール群に比較して星細胞の myofibroblast 様細胞への変化並びに増殖が抑制され、collagenI、TGF β -1、IL-6 の産生抑制、HGF の産生増加が確認された。加えて TGF β -1、IL-6 の上流に位置する NF-KB 並びに p38MAPK の産生も ATRA により抑制された。今回の実験結果から、ATRA により肝線維化の予防効果だけでなく治療効果が得られる可能性も示唆される。

以上の研究は、肝臓の線維化機序の解明に貢献し、難治性・慢性疾患とされる肝線維化の治療分野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 22 年 1 月 25 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。