

論文内容の要旨

Ductular reactions in the liver regeneration process with local inflammation after physical partial hepatectomy

(物理的肝切除後の再生過程では、局所の炎症反応を背景として細胆管反応が誘導される)

(鈴木悠地, 片桐弘勝, 王挺, 柿坂啓介, 久米浩平, 西塚哲, 滝川康裕)

(Laboratory Investigation 96 巻, 11 号 平成 28 年 11 月掲載)

I. 研究目的

外科的治療の一つである肝切除は、残存成熟肝細胞の代償性肥大と分裂により肝再生が成立することを前提として行われる。肝の再生過程における機能解析には、マウス肝臓が分葉構造である解剖学的特徴を利用し、各葉の根部を結紮し切離するいわゆる部分肝切除モデルが用いられてきた。一方、ヒトのような分葉構造を持たない肝臓に対してはこのような結紮による肝切除ではなく、物理的損傷を伴う術式が用いられる。従来のマウス肝切除モデルでは、障害部位局所での組織修復を伴った肝再生とは異なる過程を観察していたため、ヒトの肝切除後肝再生を反映する系が求められていた。

本研究では、肝組織修復および肝再生に関わる重要な組織構造として、肝細胞と胆管上皮細胞に分化する能力を持つ肝前駆細胞を含む細胞からなると考えられている細胆管に着目した。細胆管が増生する反応（細胆管反応）は、肝臓全体に障害が及び、成熟肝細胞による再生が阻害された際に出現すると考えられている。今回、ヒト肝切除を模倣した物理的肝切除モデルを用い、肝臓全体に障害が及んだ際に特異的に見られる細胆管反応が、肝切除後の局所での肝組織修復および再生の過程で誘導される可能性について分子生物学的手法を用いて検証した。

II. 研究対象ならび方法

C57BL/6J マウス, C. B-17/ICR-SCID マウスを用い、超音波凝固切開装置で肝左葉を切離する 20-30%物理的肝切除モデルを作製した。術後 24, 48, 72 時間に切離肝を摘出し、肝重量および肝細胞肥大を定量的に評価した。細胆管反応/肝前駆細胞マーカーである Cytokeratin 19 (CK19) を免疫組織染色で評価した。組織修復過程における遺伝子発現を DNA マイクロアレイおよび定量的 RT-PCR で経時的 (24, 48, 72 時間) に解析した。遺伝子発現解析の結果をもとに、細胞外マトリックスのリモデリングに関わる活性化星細胞と matrix metalloproteinase (MMP) に着目した。活性化星細胞のマーカーである α -smooth muscle actin (α -SMA) と MMP9 の局在を免疫組織染色で評価した。また、肝切離境界部で有意な遺伝子発現上昇が見られた tumor necrosis factor- α (TNF- α) について、培養肝前駆細胞に添加し、細胞増殖能および NF- κ B シグナル伝達経路に与える影響を解析した。

Ⅲ. 研究結果

1. 肝切除後、肝重量は時間依存性に増加した。その主たる理由として、肝切除 24 時間後から肝細胞が肥大することを確認した。72 時間後には細胞周期関連タンパク Ki67 陽性肝細胞数の有意な増加を認めた。
2. 肝切除 48 時間後、切離面に沿って CK19 陽性細胞が出現し、72 時間までその数は増加した。CK19 陽性細胞の一部は細胆管を形成し、肝前駆細胞が動員されたと考えられた。
3. 細胆管反応が観察された肝切離境界部では、非切離葉と比較して炎症性サイトカインおよび細胞外マトリックス関連遺伝子の発現上昇を認めた。
4. 切離面に沿って α -SMA 陽性の活性化星細胞の集積を認め、その周辺では MMP9 に染色される領域が見られた。
5. 培養肝前駆細胞は TNF- α 添加により細胞増殖が亢進し、NF- κ B 経路タンパクであるリン酸化 I κ B タンパク量増加が認められた。NF- κ B 阻害剤である BAY11-7082 の添加により、リン酸化 I κ B タンパク量は減少した。

Ⅳ. 結 語

ヒト肝切除を模倣した超音波凝固切開装置による物理的肝切除後の組織修復過程においても、細胆管反応/肝前駆細胞が出現することが明らかとなった。損傷組織での、局所の炎症反応を背景とした細胞外マトリックスのリモデリングが、細胆管反応/肝前駆細胞の誘導に関与し、肝再生に寄与することが示唆された。また、損傷組織で誘導される TNF- α は、NF- κ B シグナルを介して肝前駆細胞の増殖を制御することが示された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 千葉 俊美 (口腔医学講座関連医学分野)

副査 教授 前沢 千早 (腫瘍生物学研究部門)

副査 教授 増田 友之 (病理学講座機能病態学分野)

外科的治療の一つである肝切除は、残存成熟肝の代償性肥大により肝再生が成立することを前提として行われる。筆者らは、ヒト肝切除後の再生過程を再現した物理的肝切除モデルを確立した。本研究本論文は、肝前駆細胞を含む細胞からなると考えられている細胆管に着目し、肝臓全体に障害が及んだ際に特異的に見られる細胆管反応が、肝切除後の局所の組織修復および再生過程で誘導される可能性を検証した論文である。肝切除後から 48 時間後、切離面に沿って CK19 陽性肝前駆細胞が出現し、細胆管を形成した。さらに、損傷組織での局所の炎症反応を背景とした細胞外マトリックスのリモデリングが、細胆管反応/肝前駆細胞の誘導に関与し、肝再生に寄与することが示唆された。In vitro の実験系では、損傷組織で誘導される tumor necrosis factor- α が NF- κ B シグナルを介して肝前駆細胞株の増殖を促進することが示された。本研究により、ヒト肝臓切除を模倣した物理的肝切除後の組織修復過程において、細胆管反応/肝前駆細胞が出現することが明らかになった。本研究結果は、物理的肝切除後の再生過程を理解する上で意義深い。学位に値する研究である。

試験・試問の結果の要旨

肝切除後残存肝における肝細胞肥大と細胞増殖マーカー増加の意義について、肝切離境界における肝前駆細胞誘導の機序について、特に細胞外マトリックスのリモデリングの関与について試問を行い、適切な回答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。

参考論文

- 1) Acute coronary syndrome caused by coronary vasospasms associated with Churg-Strauss syndrome: effects of betamethasone therapy. (チャージスト劳斯症候群に合併した冠攣縮性狭心症による急性冠症候群：ベタメタゾンによる治療効果) (鈴木悠地 他 5 名と共著) Internal Medicine, 53 巻, 7 号 (2014): p717-720.
- 2) ツツガムシ病の 2 例 (鈴木悠地 他 4 名と共著) 岩手県立病院医学会雑誌, 53 巻, 1 号 (2013): p21-26.
- 3) Nucleus accumbens associated 1 is recruited within the promyelocytic leukemia nuclear body through SUMO modification. (NACC1 蛋白質の SUMO 化は PML nuclear body への取り込みに関連する) (館道芳徳 他 9 名と共著) Cancer Science, 106 巻, 7 号 (2015): p848-856.
- 4) Efficacy of hepatic arterial infusion chemotherapy using 5-fluorouracil and systemic pegylated interferon α -2b for advanced intrahepatic cholangiocarcinoma. (ペグインターフェロンと 5FU を併用した肝動注化学療法の内胆汁管癌への治療効果) (葛西和博 他 10 名と共著) Annals of Surgical Oncology, 21 巻, 11 号 (2014), p3638-3645.