

論文の内容の要旨

論文題目 アクチビン A-フォリスタチン系による

肝再生の調節

指導教官 幕内雅敏 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成12年4月入学

医学博士過程

肝胆膵外科学専攻

氏名 遠藤大昌

肝臓は再生能が高い臓器である。部分肝切除を行った場合は、比較的短期間のうちに残存肝の再生(正確には代償性肥大)が生じて、もとの肝重量まで回復する。しかしながら、臨床の場で、その再生能をさらに補助・コントロールできれば、と思われることが多い。そうすれば、これまで切除不能であった肝腫瘍の手術適応の拡大や、生体肝移植のドナー不足の解消につながると考えられる。このためには、肝再生の仕組みについて、さらなる理解が必要である。本研究では、特にアクチビン A-フォリスタチン系に着目して、肝再生のメカニズムを調べた。

アクチビン A は、肝細胞で産生・分泌され、肝細胞に対しては、部分肝切除後の肝

再生終了時の増殖停止に寄与したり、平常時の肝容積を一定に保つ働きを持っていることが知られている。また、肝星状細胞のマトリックス産生を促す働きもある。しかし、類洞内皮細胞に対する作用については知られていない。肝再生には、肝細胞の増殖だけでは不十分で、上記の如く、非実質細胞の増殖、またさまざまな細胞の配置・関係が正しく制御され、肝の組織構築(小葉構造)が正しく形作られることが、再生した肝臓が正常な機能を果たすために必要である。この構造は、肝再生の過程でいったん失われ、その後、再び形成される。この構造では、肝の類洞と呼ばれる構造が重要であり、したがって、この再構築の過程で、(肝細胞とともに)類洞内皮細胞が重要な役割を果たしていると考えられる。類洞内皮細胞の制御には、肝細胞で作られる VEGF が重要な働きを果たしているが、血管内皮細胞の増殖を抑制することを考えると、類洞内皮細胞に対して、何らかの作用を持っている可能性は十分考えられる。このため、今回まず、類洞内皮細胞に対するアクチビン A-フォリスタチン系の作用について、研究を行った。

ラット肝を、コラゲナーゼ溶液で灌流して細胞を分離し、遠心操作によって、主に類洞内皮細胞を含む分画を分離して、これを培養した。単層培養では、アクチビン A は VEGF と相乗的に働いて、細胞の生存を改善し、アポトーシスを防ぐことがわかった。また、コラーゲンゲル中の培養では、やはり VEGF と相乗的に働いて、毛細管構造形成を生じた。いずれもアクチビン A 単独では効果がなかったことから、その機序を調べたところ、アクチビン A は VEGF の発現には影響していなかったが、VEGF の受容体である Flt-1 および Flk-1 の発現を増加させていることが判明した。また、VEGF は、アクチビンの β A サブユニットの発現を増加させた。逆に、VEGF の作用は、アクチビンのアンタゴニストであるフォリスタチンによって阻害された。以上のように、肝細胞に対しては増殖抑制因子として働いているアクチビン A が、類洞内皮細胞に対しては、VEGF の受容体の発現を通して、増殖促進および分化誘導に働いていることがわかった。

続いて、フォリスタチンは、肝再生を著しく亢進させるが、以前の実験で、ラットの 90%肝切除モデルにおいて、血清ビリルビンの値の上昇が見られたことから、この肝再生亢進が、生体にとって本当に有益であるかどうかを調べることにした。これが、実際には有害であるとすると、逆に(少量のアクチビン A を投与して)肝再生を適度に抑制することが有益である可能性があるかと予想した。90%肝切除時に、門脈内にフォリスタチン 300ng またはアクチビン A 100ng を投与して、コントロール群(生理食塩水を投与)と比較した。その結果、フォリスタチン群では、肝細胞の DNA 合成(BrdU 標識に

より判定)は著明に亢進し、残肝重量から計算した肝再生率も高い値となった。これに対して、アクチビン A 群では、コントロールよりもさらに DNA 合成が抑えられ、肝再生率は低値であった。しかし、フォリスタチン群では、血清ビリルビン値は有意に上昇し、血清グルコース値は有意に低下した。アクチビン群ではコントロール群と比較して有意差はないものの、より血清ビリルビン値は低く、血清グルコース値は高く保たれる傾向にあった。また、120 時間後の残肝の組織像は、コントロール群およびアクチビン群では、類洞構造が再構築され、肝細胞索構造が見られるのに対して、フォリスタチン群では、類洞構造が未だ作られておらず、肝細胞はバラバラに並んでいる状態であった。以上から、90%肝切除モデルにおいて、フォリスタチン投与によって肝再生を亢進させることは、生体にとって、かえって有害であることを示した。アクチビン A の投与では、有意差は生じなかったものの、より血清ビリルビン値は低く、血清グルコース値は高く保たれる傾向にあったことから、少量のアクチビン A の投与により、適度に肝再生を抑制することによって、おそらくはアクチビン A の分化誘導能を介して、生体にとってより有益な状態に導くことができる可能性があると考えられた。