

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 遠藤 大昌

本研究は、肝再生の過程で、肝細胞に対しては増殖の停止に重要な関与が知られているアクチビン A と、それに拮抗するフォリスタチンの系が、類洞内皮細胞に対してどのような作用を及ぼしているかについて解析を行ったものであり、また、それに加えて、ラット 90%肝切除モデルを利用して、この系の、さまざまな細胞に対する異なる作用が、全体として *in vivo* でどのような影響を生じるかの解析を行っており、これらによって以下の結果を得ている。

1. ラットより初代培養で得た類洞内皮細胞を使用して、アクチビン-フォリスタチン系の作用を調べた結果、

1) 類洞内皮細胞は血管内皮増殖因子 (VEGF) を加えるとアポトーシスが生じずに生存し、増殖を引き起こされることがすでに知られていたが、アクチビン A (25ng/ml) は単独でもある程度アポトーシスを抑制し、また少量の VEGF (5ng/ml) とともに加えると、VEGF 単独で最大限の増殖を引き起こす濃度 (50ng/ml) に匹敵する増殖効果が得られた。

2) コラーゲンゲル内で 3 次元培養を行い、管腔形成作用を解析したところ、アクチビン A (25ng/ml) は単独では管腔形成作用を持たないが、VEGF 単独でもっとも管腔形成を生じる場合 (50ng/ml) と比較して、両者 (VEGF50ng/ml およびアクチビン A25ng/ml) を加えた場合、有意に管腔形成の程度が大であった。

3) ウェスタンブロットにより、アクチビン A は VEGF の産生には影響しないが、VEGF の受容体である Flt-1 および Flk-1 のアップレギュレーションを生じていることがわかり、これは類洞内皮細胞に対するアクチビン A の作用の機序の少なくとも一部であると考えられた。VEGF のほうは、アクチビン A の産生を引き起こした。

4) アクチビン A は投与後 24 時間を過ぎてからフォリスタチンの産生を引き起こしていた。

2. ラット 90%肝切除というモデルを利用して、肝細胞の増殖は抑制し、類洞内皮細胞の増殖には促進的に働くアクチビン A、およびその作用を阻害するフォリスタチンが、*in vivo* でどのような影響を及ぼすか調べた結果、

1) フォリスタチンを投与すると、コントロールやアクチビン A を投与した群と比較して、細胞の DNA 合成の指標である BrdU ラベリング指数や、肝重量の増加を反映する肝再生率からみると、肝再生を亢進させるが、これに伴って、血清のビリルビン値が高値、グルコース値が低値となり、生体に不利益を生じている一面があると考えられた。また、120 時間後の組織像では、フォリスタチンを投与した群のみ、類洞構造が回復していない状態であった。

2) アクチビン A を投与すると、BrdU ラベリング指数や肝再生率は低下し、肝再生は抑制されたが、有意ではないもののコントロールよりも血清のビリルビン値は低値、グルコースは高値となり、類洞構造も回復していて、生体にとってはむしろ好ましい作用を生じている可能性が示唆された。

以上、本論文は、*in vitro* で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を明らかにし、また *in vivo* ではラット 90%肝切除モデルにおいて、フォリスタチンが肝再生を亢進させるものの、生体に不利と考えられる作用を生じることを明らかにした。本研究は、肝再生において、さまざまな因子が織り成す複雑なネットワークの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。