

137-2-40  
(別紙様式第3号)

# 論 文 要 旨

## 論文題目

Up-regulation of Hepatocyte Growth Factor Caused by an Over-expression of Transforming Growth Factor  $\beta$ , in the Rat Model of Fulminant Hepatic Failure

(TGF- $\beta$ を過剰発現させたラット劇症肝不全モデルにおけるHGF発現の増加)

氏名 野里栄治 

【目的】	劇症肝不全では広範な肝細胞壊死と
同時に	残存肝細胞の再生がおこる。肝再生の
研究において、	TGF- $\beta$ 1は強力な肝細胞増殖
抑制因子と	考えられているが、劇症肝不全に
おけるその	作用やHGFをはじめとする他の肝
細胞増殖	因子との相互作用は明らかでない。
本研究では	劇症肝不全におけるTGF- $\beta$ 1の肝
再生へ与	える影響と他の肝細胞増殖因子との
関係を	検討した。
【方法】	ヒト成熟型TGF- $\beta$ 1遺伝子をコード
したア	デノウイルスベクターを作製した。雄
性Wistar	ラットに陰茎背静脈からアデノウ
イルス	ベクターを投与し、その後68%肝切
除+7%	壊死の劇症肝不全モデルを作製した。
対照群	としてマーカーLacZ遺伝子をコード
するア	デノウイルスベクターおよび生理食塩
水を用	いた。12時間から7日後まで経時的
にラ	ットを犠死させ残肝重量体重比、PCNA
染色、	TUNEL染色、血中AST、ALT値および
TGF- $\beta$ 1、	HGF、TGF- $\alpha$ 、EGF、c-Metの各mRNA

の発現を RT-PCR にて定量的に評価した。また、肝組織中 TGF- $\beta$ 1 蛋白レベルを ELISA 法で評価した。また 24 時間後の血中サイトカインレベル (IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ ) を ELISA 法で検討した。

【結果】導入されたヒト TGF- $\beta$ 1 は 0-72 時間まで発現し組織中 TGF- $\beta$ 1 は 12 時間後 128.0  $\pm$  5.7 pg/mg protein まで上昇した (対照群 104.5  $\pm$  0.7 pg/mg protein)。RT-PCR で HGF mRNA の発現は 24 時間後にピークがありその後急速に低下したが、実験群では対照群に比べ高発現であった。TGF- $\alpha$  mRNA の発現は実験群で低かった。EGF、c-Met mRNA の発現には差が見られなかった。PCNA index は対照群は 24 時間後にピークがあり漸減したが実験群では 48 時間後まで低値であった。残肝重量体重比は 24-48 時間後で実験群において有意に低かった。TUNEL 染色、血中 AST、ALT 値においては実験群と対照群に差は見られなかった。24 時間後の血中サ



論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	*課程博第	号	氏名	野里 栄治
論文審査委員	平成16年4月28日			
	主査教授	須加原 一博 (印)		
	副査教授	田中 龍丈 (印)		
	副査教授	森 直樹 (印)		
(論文題目) Up-regulation of Hepatocyte Growth Factor Caused by an Over-expression of Transforming Growth Factor $\beta$ , in the Rat Model of Fulminant Hepatic Failure				
(論文審査結果の要旨) 上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1、研究の背景と目的 劇症肝不全では広範な肝細胞壊死と同時に残存肝細胞の再生がおこる。部分肝切除後肝再生の研究において、TGF- $\beta$ 1は強力な肝細胞増殖抑制因子と考えられているが、劇症肝不全におけるその作用やHGFをはじめとする他の肝細胞増殖因子との相互作用は明らかでない。本研究では劇症肝不全におけるTGF- $\beta$ 1の肝再生へ与える影響と他の肝細胞増殖因子との関係をあきらかにすることを目的とした。				
2、研究内容 ヒト成熟型TGF- $\beta$ 1 cDNAをアデノウイルスベクターに組み込んだ。雄性Wistarラットへこの組換えアデノウイルスを経静脈的に投与して肝臓へ遺伝子導入を行った。その後68%肝切除+7%壊死の劇症				

備考

- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
- 2 要旨は800~1200字以内にまとめること。
- 3 \*印は記入しないこと。

肝不全モデルを作製した。対照群にはマーカー遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターあるいは生理食塩水を投与した。12時間から7日後まで経時的にラットを犠死させ残肝重量体重比、PCNA染色、TUNEL染色、血中AST、ALT値およびTGF- $\beta$ 1、HGF、TGF- $\alpha$ 、EGF、c-Metの各mRNAの発現を半定量的に評価した。また24時間後の血中サイトカインレベル (IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ ) をELISA法で検討した。HGF mRNAの発現は24時間後にピークがあり、実験群では対照群に比べ高発現であった。24時間後の血中サイトカインではIL-6が実験群において有意に高値であった。PCNA indexは対照群は24時間後にピークがあり漸減したが実験群では48時間後まで対照群と比べ低値であった。残肝重量体重比は24-48時間後で実験群において有意に低かった。これらの結果よりTGF- $\beta$ 1遺伝子導入によりIL-6を介してHGFの発現が増加した可能性が考えられた。臨床劇症肝不全においては予後不良な症例ほど、残肝再生不良かつ血中HGFレベルが高値を示すことが指摘されているが、本研究から示唆されるようにTGF- $\beta$ が予後不良劇症肝不全の病態に関与している可能性が考えられた。

### 3、研究成果の意義と学術的水準

肝壊死と同時に残存肝組織の再生をみる安定した動物モデルを独自に作成している。この動物モデルに於いてTGF- $\beta$ がIL-6、HGFの発現を増強させながらも肝再生を抑制することをあきらかにした。本研究は、いまだその機構についてあきらかにされていない劇症肝不全での肝再生について、その一端をあきらかにした点において高く評価される。

以上より、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。