

論 文 要 旨

論 文 題 目

Role of the Fas system in liver regeneration after
a partial hepatectomy in rats

(ラット肝部分切除後の肝再生におけるFasシステムの役割)

氏 名 平 良 薫



近年アポトーシスは細胞周期における細胞死の調節を担っているといわれ、各種アポトーシス関連蛋白が報告されている。その機能として各種組織や臓器の恒常性に関与しているといわれている。そこで我々はアポトーシス関連蛋白の中で胎生期の発達や正常細胞周期に役割を担っていると考えられる Fas, Fasリガンドについて検討した。また、アポトーシス抑制に働いていると知られている Bcl-2 を検討した。対象臓器として活発な再生能を有することから知られている肝臓を用いた。我々はラット肝臓を用いて肝再生時の *in vivo* におけるアポトーシス関連蛋白の役割について検討した。

方法として、まず、雄性 Wistar ラットに対してエーテル麻酔下に開腹し 70% 肝切除を行い肝再生モデルを作製した。対照として麻酔下に開腹のみを行った群を作製した。各ラットを肝切除後 1 2 時間から 2 8 日まで経時的に犠牲死させ肝組織を採取した。採取した

肝組織で Fas, Fas リガンドおよび Bcl-2 に
対して RT-PCR, 免疫組織染色を行い解析し
た.
PCNA 染色では肝切後 1 日から 3 日目が陽
性ピークを示し, 5 日以降 28 日まで漸減し
た. 一方肝細胞のアポトーシスがみられる
TUNEL 染色では肝切後 1 日目までは見ら
れず, 7 日目以降増加傾向であった. 免疫染
色では, Fas は 12 時間後に弱陽性を示すが
1 日から 3 日目まで陰性. 3 日目から 5 日
目まで陽性を示し以後漸減した. Fas リガンド
は 3 日から 5 日目まで陽性が見られ以降は漸
減した. 両蛋白ともに中心静脈域周囲は全経
過中弱陽性であった. 一方 Bcl-2 は肝全体
に陽性分布を示し, 1 日目をピークに以降漸
減した. 対照群ではいずれも全経過中陰性で
あった. RT-PCR の検討では, Fas は肝切後
早期から 1 日目まで減少し, 3 日目から 5 日
目を陽性ピークとし, 以後一定であった.
Fas リガンドは肝切後 3 日目までは低値を示

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	平良 薫
		平成 13 年 10 月 26 日		
論文審査委員		主査教授	田中 勇悦	(印)
		副査教授	斎藤 厚	印
		副査教授	菅見 直己	(印)
(論文題目)				
Role of the Fas system in liver regeneration after a partial hepatectomy in rats.				
(論文審査結果の要旨)				
<p>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、学術的水準などにつき慎重かつ公正に検討し、以下の審査結果を得た。</p> <p>1. 研究の背景と目的</p> <p>近年アポトーシスは多細胞生物の細胞に備わった機能であり老化した細胞や余剰に用意された正常細胞を除去したり、免疫機構によるガン細胞やウイルス感染細胞を排除する役割を担っている。近年その機能の一つとして各種組織や臓器の恒常性に関与していることが示唆されている。</p> <p>平良等はアポトーシス関連蛋白の中で胎生期の発達や正常細胞周期に役割を担っていると考えられるFas,Fas リガンドについて肝再生時の関与を明らかにする目的でその発現のカイネティクスを検討した。またアポトーシス抑制蛋白であるBcl-2についても同様に検討した。研究材料として活発な再生能を有する部分肝切除のラット肝臓を用いた。</p>				

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

2, 研究内容

【方法】 雄性Wistar ラットに対し, 70%肝切除術を行い肝再生モデルを作製した。対照として非肝切除群を作製した。各ラット群を肝切除後12時間から28日まで経時的に犠牲死させて, それぞれ肝組織を採取した。採取した肝組織でFas, FasリガンドおよびBcl-2を検出するrT-PCR及び免疫組織染色を行った。アポトーシスはTUNEL染色で検出した。

【結果】 肝切除群のPCNA染色では1日から3日目に陽性細胞数がピークを示し, 5日目以降漸減した。TUNEL染色では1日目まで陽性細胞が認められず, 7日目以降陽性細胞数の増加がみられた。Fas染色では12時間後に弱陽性を示す細胞群が見られたが1日から3日目までは陰性であった。そして, 3日目から5日目まで陽性細胞群が見られたが, 陽性細胞数はその後漸減した。Fasリガンド染色では3日から5日目まで陽性細胞が見られるが5日目以降は漸減した。Bcl-2染色では肝全体に陽性細胞分布を示し, 肝切除後1日目をピークに以降漸減した。一方, 非肝切除群の対照群ではFas, Fasリガンド, Bcl-2のいずれも全経過中低発現であった。RT-PCRによるmRNAの発現量の比較検討では, 各mRNAの発現カイネティクスは免疫染色と同様のパターンを示した。

【考察】 肝再生時には一斉にアポトーシスが進行することは無いが, 肝再生終了のメカニズムにはFas・Fasリガンドの関与の可能性が示唆された。一方肝再生早期には肝細胞数の減少を防ぐ目的に強力なアポトーシス抑制が必要であり, アポトーシス抑制活性のあるBcl-2の発現が同時期に強陽性であることは, Bcl-2蛋白がFas/Fasリガンドによる負の調節を抑制することによって肝再生早期の細胞増殖を正に調節することが示唆された。

【結語】 肝再生早期においては, Bcl-2蛋白が増殖肝細胞のアポトーシスを抑制することにより肝再生を促進し, 肝再生後期においてはFas/Fasリガンド等によるアポトーシスあるいは未知のシグナル伝達によって肝再生が終了することが示唆された。

3, 研究成果の意義と学術的水準

ラット肝再生モデルを用いてアポトーシス関連蛋白の経時的変化を解析検討し得られた研究結果から, 肝再生終了のメカニズムにFas/Fasリガンドシステムが関与する可能性が示唆された。この成果は, 今後肝再生のメカニズムを追求する上で有意義であると考えられ, また国際的に認められる水準であると判断された。

以上により, 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。