

氏名 (本籍)	前 田 晃 男 (新潟県)
学 位 の 種 類	博 士 (医学)
学位授与番号	乙 第 1 0 7 6 号
学位授与日付	平成 8 年 9 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Treatment with a novel lipid A analogue, FS-112, and partial hepatectomy causes submassive liver necrosis and impaired liver regeneration in mice.
審 査 委 員	(主査) 教授 武 藤 泰 敏 (副査) 教授 高 見 剛 教授 野 間 昭 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

劇症肝炎なかでも亜急性型は、現在の集学的治療によっても、極めて予後不良とされている。その原因のひとつとして、最も強力な肝細胞増殖作用を有するhepatocyte growth factor (HGF) が血中で極めて高値であるにもかかわらず、壊死後の肝再生が障害されていることが指摘されている。従って、劇症肝炎における肝再生不全の機序の解明は、劇症肝炎患者の救命率の向上にとって、臨床的にも極めて重要な課題のひとつと考えられる。肝再生に関しては、肝部分切除後と肝壊死後ではHGFの動態が異なることが報告されており、肝再生の機構が正常肝の部分切除後と肝壊死後では異なることも推定されている。従って劇症肝炎における肝再生不全の機序の解明にとっては、広範あるいは亜広範肝壊死とともに肝再生不全を認める動物モデルでの検討が必須となる。

そこで申請者は、エンドトキシンの活性部分とされるlipid Aの新規誘導体を静脈内投与した後に70%肝部分切除を施行し、肝障害ならびに肝部分切除後の肝再生について検討し、劇症肝炎における肝再生不全の機序の解明にとって有用なモデルであるか否かについて検討した。

#### 対象及び方法

動物モデルは、雄性Balb/cマウスに新規lipid A誘導体 (FS-112) を5%propyleneglycol, 5%ethanol, 5%glucose溶液 (vehicle) に溶解し、30mg/kgを静脈内投与し、その2日後に70%肝部分切除を施行することにより作製した (FS-112群)。そしてFS-112に換えvehicleのみを投与し、同様に肝部分切除を施行したマウスを対照とした (vehicle群)。肝再生の指標としては、抗PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体あるいは抗BrdU抗体を用いた免疫染色をおこない、全肝細胞に占めるこれら陽性肝細胞の割合を算出しlabelling indexとして表示した。また肝再生に関してはD-galactosamine hydrochloride (GalN) ; 800mg/kgを腹腔内投与したマウスとの比較検討を行った。さらに雄性Balb/cマウスから肝細胞を分離し、FS-112添加による<sup>3</sup>H-thymidineの肝細胞への取り込みに及ぼす影響についてin vitroでの検討も行った。

#### 結果ならびに考察

FS-112の単独投与では、血清総ビリルビン (T. Bil) 濃度ならびにALT (GPT) 活性の上昇は見られず、組織学的には肝細胞障害は観察されなかった。すなわち、FS-112は直接的な肝細胞障害活性は有しないものと考えられた。しかしFS-112の投与により著しい肝脾腫を認め、組織学的には肝小葉内への著明な単核球の浸潤が認められた。

従来より急性肝不全の動物モデルとして使用されているGalN投与マウスにおける肝再生について検討したところ、投与48時間ならびに60時間後の肝細胞でのPCNA labelling indexはそれぞれ $3.3 \pm 0.7$ ,  $10.0 \pm 1.4\%$ であり、正常マウスの肝細胞でのPCNA labelling indexが0.15%であったことから、同モデルでの壊死後の肝再生は良好であると考えられた。従って、劇症肝炎に見られる肝再生障害の機序の解明には、肝壊死とともに肝再生不全を示す新たな動物モデルを用いた検討が必要となる。そこでFS-112投与と肝部分切除を施行したマウスに

おける肝障害ならびに肝再生について検討したところ、FS-112群における血清T. Bil濃度は肝部分切除1日、3日、5日、7日、9日後でそれぞれ $1.5 \pm 1.4 \text{ mg/dl}$ 、 $2.6 \pm 2.4 \text{ mg/dl}$ 、 $8.1 \pm 3.7 \text{ mg/dl}$ 、 $12.9 \pm 2.1 \text{ mg/dl}$ 、 $11.6 \pm 2.3 \text{ mg/dl}$ であり、vehicle群に比し5日後、7日後および9日後では有意な高値を認め、FS-112群の肝部分切除3日後、5日後および7日後の血清ALT (GPT) 活性もvehicle群に比べて有意な高値を認めた。また組織学的にもFS-112群では著明な単核球浸潤を伴う亜広範性肝壊死が認められた。さらにFS-112群における肝部分切除1日後のPCNAならびにBrdU labelling indexはそれぞれ $7.9 \pm 4.2\%$ 、 $8.6 \pm 4.3\%$ であり、vehicle群の $26.5 \pm 10.5\%$ 、 $25.8 \pm 3.8\%$ に比し、いずれも有意に低値であった (PCNAでは $P < 0.05$ 、BrdUでは $P < 0.01$ )。すなわちFS-112投与後に肝部分切除を施行したマウスは肝壊死とともに肝再生不全を示し、劇症肝炎に見られる肝再生障害の機序の解明にとって有用な動物モデルと考えられた。そこで同モデルにおける肝再生不全に及ぼすFS-112の影響について検討した。その結果、マウス分離肝細胞への $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みはFS-112添加群では $1673 \pm 153 \text{ dpm/hour} / 2.5 \times 10^5 \text{ cells}$ であり、無添加群の $1608 \pm 118 \text{ dpm/hour} / 2.5 \times 10^5 \text{ cells}$ と有意な差異は認められず、FS-112は肝細胞でのDNA合成に対する直接的な抑制作用はないものと考えられた。

肝部分切除モデルを用いた検討から、肝再生の停止機構の一つとして、natural killer (NK) 細胞あるいは胸腺外分化T細胞の再生肝細胞に対する障害活性の存在が指摘されている。FS-112の単独投与により著しい肝脾腫を認め、肝小葉内への著明な単核球の浸潤を認めたことから、FS-112投与後に肝部分切除を施行したマウスでは、FS-112によってNK細胞あるいは胸腺外分化T細胞の活性化がもたらされ、肝部分切除後の再生肝細胞に対し障害活性を発揮することによって肝再生障害が生じる可能性が推定される。いずれにしても、FS-112投与後に肝部分切除を施行したマウスは亜広範肝壊死とともに肝再生不全を示し、劇症肝炎に見られる肝再生障害の機序の解明にとって有用な動物モデルと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 前田晃男は、エンドトキシンの活性部分とされるlipid Aの新たな誘導体 (FS-112) を静脈内投与し、その後70%肝部分切除を施行する動物モデルを作製した。その結果、同モデルは従来の急性肝不全モデルと異なり、亜広範肝壊死とともに肝再生不全を示し、劇症肝炎に見られる肝再生障害の機序の解明にとって有用な新たな動物モデルであることを明らかにした。これらの新知見は肝臓病学の進歩に少なからず寄与するものと認める。

---

#### 【主論文公表誌】

Treatment with a novel lipid A analogue, FS-112, and partial hepatectomy causes submassive liver necrosis and impaired liver regeneration in mice.

Journal of Gastroenterology and Hepatology 11 : 471~477, 1996