The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	EFFECT OF PORTAL HEMODYNAMICS ON LIVER REGENERATION STUDIED IN A NOVEL PORTOHEPATIC SHUNT RAT MODEL
Author(s)	丸橋, 繁
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/46036
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　丸橋　繁（まるばし　しげる）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　19057　号

学位授与年月日　平成16年10月21日

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位論文名　EFFECT OF PORTAL HEMODYNAMICS ON LIVER REGENERATION STUDIED IN A NOVEL PORTOHEPATIC SHUNT RAT MODEL
（ラット門脈－肝静脈シャントモデルを用いた、肝再生に及ぼす門脈血流動態の影響に関する研究）

論文審査委員　（主査）
教　授　門田　守人

（副査）
教　授　林　　紀夫　　教　授　内山　安男

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

肝部分切除後に肝再生が起こる現象は古くより知られている。その機序として hepatocyte growth factor (HGF)、tumor necrosis factor (TNF)-α、interleukin (IL)-6 といったサイトカインが重要な役割を担うことがわかってきたものの、その詳細は不明である。一方、肝部分切除後の門脈圧上昇あるいは門脈血流の増加が、肝再生と密接に関連するとの報告もなされているが、いまだ明確な結論はない。本研究では、ラット門脈肝静脈シャントモデルを考案し、肝部分切除後の肝再生における門脈血行動態の影響とその機序について検討した。

〔　動物および方法　〕

体重280～330 g、生後9～11週の WS ラット（RT_1^k）を用いた。ペントバルビタール麻酔下、左門脈と左肝静脈を、16G 留置針を用いたカフを用いて吻合した後、70%肝切除を行い門脈－肝静脈シャント（PHS）モデルを作成した。対照群では70%肝切除のみを施行した。PHS 群（n＝24）と対照群（n＝24）の2群を作成し、以下の比較をおこなった。

(1) 血流動態の評価：門脈圧及び下大静脈圧を、Electric manometer（日本光電社製）を用いて開腹時、肝切除終了時、術後6、12、18、24時間に測定した。(2)肝傷害と肝再生の評価：術後6、12、18時間後に動物を採血、安楽死させ、肝障害の程度を血清 AST、ALT、LDH 値及び病理組織像（H&E 染色、TUNEL）にて評価した。また、肝再生を評価するため、残肝重量、肝細胞容積、PCNA 指数、BrdU の取り込み率を測定した。さらに肝重量の増加が肝再生あるいは浮腫によるのかを明らかにするために残肝乾燥重量を測定し、湿重量/乾燥重量比を算出した。(3)残肝再生の分子生物学的検討：定量的 RT-PCR 法によるサイトカイン（TNF-α、IL-6）、および Cyclin B の残肝組織における発現量を測定し比較した。(4)血中、肝組織 HGF 濃度の測定：血中及び肝組織 HGF 濃度を、ELISA キット（特殊免疫研究所製）を用いて測定した。さらに、以前の研究から活性化 HGF が肝細胞の肥大を引き起こすことが示されていることから、肝組織における HGF の活性化を比較するため、肝組織より蛋白を抽出し、抗ラット HGF 抗体を用いて Western Blot を行った。

〔　結　　果　〕

PHS モデルの手術は合計60匹に行い、手技成功率は95%以上であった。門脈圧較差（門脈圧－下大静脈圧）は対

照群において開腹時 5.7±1.0 mmHg から 70%肝切除終了時 10.0±1.2 mmHg まで上昇し、その後徐々に低下し術後 18 時間後には術前値に戻った。一方、PHS 群では観察期間中、門脈圧較差はほぼ一定であり、対照群に比し有意差を認めた（$p<0.0001$、術直後、$p<0.05$、6 時間後）。肝障害は生化学的および組織学的に両群で差を認めなかった。残肝重量は PHS 群では増加がほとんど認められず、術後 12 時間より増加を認めた対照群と比し、術後 12、18 時間で有意差を認めた（$p<0.005$）。また、湿重量/乾燥重量比は術後時間に関係なく両群間でほぼ一定であった。PCNA 指数、BrdU 取り込み率は両群で差を認めなかった。TUNEL 法では PHS 群で術後 24 時間に TUNEL 陽性細胞が増加していた。また、IL-6、TNF-α の mRNA は PHS 群で有意に up-regulate されていた。HGF の残肝組織内濃度は両群とも経時的に増加し、差を認めなかった。しかし、PHS 群では対照群と異なり、HGF の活性化が認められなかった。（$p<0.05$）

〔　総　　括　〕

門脈血行動態がほぼ一定に保たれる PHS モデルでは HGF の活性化がみられず、肝細胞の肥大や肝重量の増加がほとんど認められなかった。このことから、肝部分切除後の門脈血行動態の亢進状態は肝組織内 HGF の活性化をもたらし、さらにこの活性化 HGF が肝再生を促進することが示唆された。また、肝切除後の残肝における DNA 合成の指標では PHS 群と対照群間で差がなかった。これは、PHS 群では IL-6、TNF-α の残肝内 mRNA 発現が対照群に比べ有意に増加した一方で、PHS 群で活性化 HGF 濃度が上昇しなかったことや Apoptosis が多く認められたことが総合的に残肝での DNA 合成に関与している可能性が考えられた。

以上から、肝切除後早期の門脈血行動態の亢進は肝再生に必須であり、それには肝組織内での HGF 活性化が関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

肝切除後に肝再生が起こることは古くから知られているが、そのメカニズムについては現在も尚不明な点が多い。肝再生は Hepatocyte growth factor（HGF）、Interleukin-6（IL-6）、Tumor necrosis factor-α（TNF-α）といった成長因子、サイトカインが密接に関与することがわかった一方で、門脈血行動態の肝再生への関与する可能性が報告されてきた。本研究では、ラットにおける門脈－肝静脈シャントと同時に 70%肝切除を行うモデル（PHS モデル）を考案し、門脈血行動態の肝切除後肝再生への影響を明らかにすることを目的とした。通常の肝切除のみの対照群では、70%肝切除後門脈圧が約 12 時間にわたって上昇したが、PHS モデルでは術後門脈圧がほぼ一定に保たれた。肝重量の増加は対照群で認められた一方で、PHS 群ではほとんど認められなかった。この肝重量の上昇は、乾燥重量の測定から、単なる浮腫ではなく実質の増加と考えられた。PCNA 指数、BrDU 取り込み率では両群で差がなく、DNA 合成は同様に始まっていた。HGF は血中、肝組織中ともに両群で上昇し、差は認められなかった。一方、肝内活性型 HGF 濃度は対照群で上昇していたものの、PHS 群では上昇が認められなかった。肝内 IL-6、TNF-α mRNA は術後両群で上昇していたが、PHS 群で著明であった。以上より肝切除後早期の門脈圧の上昇は肝再生に必須であり、それには肝組織内での HGF の活性化が関与していると考えられた。本研究は、これまで明らかにされていなかった門脈圧上昇が HGF の活性化を介して肝再生を促進することを *in vivo* で示したもので、肝切除術後肝再生のメカニズムを明らかにする上で重要な研究であり、学位授与に値するものと考える。