OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Significance of Alanine Aminopeptidase N (APN) in Bile in the Diagnosis of Acute Cellular Rejection After Liver Transplantation
Author(s)	金, 致完
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53901
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	金 致完
論文題名 Title	Significance of Alanine Aminopeptidase N (APN) in Bile in the Diagnosis of Acute Cellular Rejection After Liver Transplantation (肝移植術後、急性拒絶反応の診断における、胆汁中アラニンアミノペプチダーゼNの重要性について)

論文内容の要旨

〔目 的 (Purpose)〕

肝移植は末期肝硬変および肝不全に対する有効な治療法として確立された。しかしながら、依然として移植医療における拒絶反応は患者の生命予後を左右する重大な課題である。現在、拒絶反応に対する唯一の確定診断法は、侵襲的検査である肝生検による組織診であり、その侵襲性がしばしば問題となるため、非侵襲的かつ客観的診断法の開発が急務である。そこで本研究の目的は、肝移植術後の拒絶反応診断において移植術後の胆汁中蛋白に着目し、網羅的解析による拒絶反応特異的な蛋白の同定を行い、その臨床的意義を明らかにすることとした。方法

〔方法ならびに結果 (Methods/Results)〕

〔方法〕

（１） 生体肝移植術後に拒絶反応を来した症例の拒絶前、拒絶時、および安定期にそれぞれ採取した胆汁を用いて、^{18}O同位体を用いた網羅的蛋白変動解析を行い、急性拒絶時に関連した候補蛋白を同定した。候補蛋白に対し、胆汁中の蛋白発現の経時的変化をWestern blot法で確認した。さらに、候補蛋白の酵素活性値と蛋白量との相関を検討した。

（２） 健常人胆汁（肝提供者：正常コントロール）（n＝9）、組織診断で拒絶と診断された肝機能障害胆汁（ACR群）（n=10）、拒絶と診断されなかった肝機能障害胆汁（LD群）（n=96）の、胆汁中候補蛋白濃度を測定した。また、胆汁中の候補蛋白濃度（酵素活性値）の推移を、ACR群（n=5）とLD群（n=4）に分け比較した。さらに、肝組織における候補蛋白の発現をACR群（n=5）とLD群（n=4）で評価した。

〔結果〕

（１） 網羅的蛋白解析の結果、拒絶前、拒絶時、安定期の胆汁において共通した78種類の蛋白を同定した。78種類の蛋白のうち、急性拒絶反応時に増加していた蛋白のうち、最も顕著であったAlanine Aminopeptidase（APN、CD13）を候補蛋白とした。胆汁中APNの蛋白発現は、拒絶診断の数日前より経時的には増加を認め、治療により前値に復した。また胆汁中APNの酵素活性値は蛋白量と有意に相関し（R=0.88）、胆汁中APN活性について簡便かつ測定可能であることが示された。

（２） 急性拒絶反応時（ACR群）における胆汁中APNの酵素活性値は、健常人胆汁（肝提供者）及び拒絶と診断されなかった肝障害時胆汁（LD群）の酵素活性値と比較すると有意に高値を示した(P=0.004)。また、ACR群では拒絶診断の数日前(3～4日)から経時的に胆汁APNの酵素活性値が増加する傾向がみられたが、LD群では胆汁中APNの増加は見られなかった。肝組織におけるAPNの発現解析では、急性拒絶時に毛細胆管上皮および胆管上皮に沿って有意に発現が増加していた。

以上より肝移植後、急性拒絶反応時に胆汁中APN濃度（酵素活性値）が増加すること、また、この増加は、急性拒絶反応が臨床的に顕在化する数日前より認められることが示された。一方、組織学的検索により、毛細胆管上皮および胆管上皮にAPNの発現上昇が認められ、急性拒絶反応時に障害を受けた胆管上皮のAPNの発現が増加し、APNが胆汁中に逸脱することが推察された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 金 致完

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	森 正樹
副　査	大阪大学教授	梅下 浩司
副　査	大阪大学教授	竹原 徹郎

論文審査の結果の要旨

本論文は肝移植患者の胆汁中における蛋白発現を網羅的に解析することで、移植後に見られる急性拒絶反応の診断に有用な蛋白を同定し、その臨床的意義を初めて明らかにしたものである。

胆汁中蛋白解析の結果、同定された78種類の蛋白の中から肝移植後急性拒絶反応の臨床経過と連動して変化するAlanine Aminopeptidase（APN, CD13）に着目し、その蛋白定量と酵素活性値に正の相関があることを示した。また、胆汁中におけるAPN酵素活性値の経時的推移が移植グラフトの免疫モニタリングとして応用できる可能性を示すとともに、免疫染色を用いて肝組織内におけるAPNの局在を明らかにし、グラフト拒絶時における有意な発現上昇を確認した。これまでにこの分子に着目した研究はなく、今後の臨床応用が期待される。

以上のように、本研究は肝移植患者における肝グラフト急性拒絶反応に関連する分子として初めて胆汁中Alanine Aminopeptidase（APN）を同定し、非侵襲的な診断方法としての有用性を示したものであり、博士（医学）の学位授与に値すると考える。