

Title	Thrombocytopenia Exacerbates Cholestasis-Induced Liver Fibrosis in Mice
Author(s)	小玉, 尚宏
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/58144">http://hdl.handle.net/11094/58144</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

## 論文内容の要旨

### 〔 目 的 〕

慢性肝炎/肝硬変は肝線維化を病態の中心とする疾患であり、進展すると肝不全や肝細胞がんなどの致死的な疾患を引き起こすことが知られている。肝線維化は、肝臓での慢性的な炎症や肝細胞死などによって惹起される肝星細胞・線維芽細胞の活性化と、それに引き続くコラーゲンなどの細胞外マトリックス産生の亢進がその病態の中心と考えられているが、いまだ不明な点も多い。一方、慢性肝炎/肝硬変では、病態の進行に伴い血小板が減少し、肝線維化と血小板数は非常に密接な負の相関関係にあることが知られている。この血小板減少は、門脈圧亢進に伴う二次性脾機能亢進症により脾臓における血小板破壊が亢進することや、肝臓でのTPO (Thrombopoietin) 産生低下に起因しており、つまり肝線維化が進行した結果であると考えられている。しかし逆に、血小板減少が肝線維化に影響を与えるかどうかについての詳細な検討は行われていない。近年、血小板はその生理学的な凝固・止血機能のみならず、組織修復、血管新生など多彩な機能を有していることが明らかにされており、肝臓領域においても炎症や再生に関与することが報告されているが、肝線維化に対する血小板の作用は明らかにされていない。そこで今回我々は、血小板減少が肝線維化に与える影響を評価し、また血小板自体の肝線維化に対する役割を検討した。

### 〔 方 法 〕

血小板の生命維持に重要な役割を果たすBcl-xL遺伝子を巨核球・血小板特異的に欠損させることで、血小板減少マウスを作成した。この血小板減少マウスと同腹仔に対して総胆管結紮術（以下BDL）を施行し、10日後に肝線維化の評価を行った。また、*in vitro*において、C57BL/6Jマウスから単離した肝星細胞と血小板を共培養し、肝星細胞のI型コラーゲン産生に与える影響を検討した。

### 〔 成 績 〕

巨核球・血小板特異的Bcl-xL欠損マウスは正常に発育し、著明な血小板減少を呈していた。この血小板減少マウスと同腹仔にBDLを施行したところ、血小板減少マウスにおいて有意なI型コラーゲンの産生増加並びに肝線維化の増悪を認めた。I型コラーゲンの主要な産生細胞である肝星細胞と血小板を*in vitro*にて共培養したところ、血小板濃度依存的に肝星細胞のI型コラーゲン産生が抑制された。このメカニズムを検討したところ、血小板は、トロンピン刺激や肝星細胞との共培養により活性化してHGFを放出し、また血小板と肝星細胞の共培養により肝星細胞のMet pathwayが活性化されていることが明らかとなった。そこで肝星細胞のMetをsiRNAにて抑制すると、血小板との共培養により生じた肝星細胞でのI型コラーゲン産生抑制は消失した。これらの結果から、血小板は肝星細胞との共培養により活性化し、HGFを放出して、Met依存的に肝星細胞のI型コラーゲン産生を抑制することが明らかとなった。そこで、血小板減少マウスで認めたBDL後の肝線維化増悪における、HGF/Met pathwayの関与を検討したところ、血小板減少マウスでは同腹仔と比し、BDL後の血漿中HGF濃度が有意に低く、肝組織中のMetのリン酸化も減弱していた。これらのマウスに対して、BDL後recombinantHGFを経腹腔内投与したところ、血小板減少マウスで認めたI型コラーゲンの産生増加並びに肝線維化の増悪は、HGFの補充により同腹仔と同程度にまで改善した。これらの結果から、HGFの低下が、血小板減少マウスでの肝線維化増悪に関与していることが明らかとなった。

### 〔 総 括 〕

血小板には、活性化によりHGFを放出し、肝星細胞のI型コラーゲン産生を抑制するという、新規の抗線維化作用が存在することが明らかとなった。また、血小板減少自体が肝線維化を増悪させることが示されたことから、慢性肝炎/肝硬変に伴発する血小板減少が、肝線維化の進展抑制の為の新規治療標的となりうる可能性があると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

血小板減少は、慢性肝疾患/肝硬変に高頻度で付随する合併症であり、肝線維化進展度と血小板数の間には負の相関関係が存在している。この血小板減少は肝線維化の進行の結果であると考えら

【125】

氏 名	小 玉 嵩 宏
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 4 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Thrombocytopenia Exacerbates Cholestasis-Induced Liver Fibrosis in Mice (血小板減少は胆汁鬱滞性肝線維化を増悪させる)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村伊一郎 (副査) 教 授 金倉 讓 教 授 森 正樹

れているが、逆に血小板減少が線維化に与える影響については不明であった。そこで申請者は、抗アポトーシス蛋白であるBcl-xLを血小板特異的に欠損させることにより血小板減少マウスを作成し、血小板減少が肝線維化に与える影響について検討を行った。申請者は、胆管結紮術後に血小板減少マウスにおいて肝線維化の増悪を認めることを見出し、HGF/Met pathwayの減弱がその原因であることを明らかとした。また血小板の新規抗線維化作用として、血小板がHGF/Metのpathwayを介して肝星細胞のI型コラーゲン産生を抑制することを見出した。血小板減少が肝線維化を増悪させるという知見は、肝線維化の複雑な病態の一面を解明したのみならず、血小板が慢性肝疾患/肝硬変において肝線維化の進行を阻止する新しい治療手段になる可能性を提示したという点においても非常に意義深い研究であり、学位の授与に価すると思われる。