

氏名	林 千 紘
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第 1075 号
学位授与の日付	平成27年 3 月12日
学位論文題名	Effects of edaravone, a radical scavenger, on hepatocyte transplantation. 「肝細胞移植におけるエダラボンの効果」 Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences (in press)
指導教授	堀 口 明 彦
論文審査委員	主査 教授 杉 岡 篤 副査 教授 吉 岡 健太郎 教授 松 浦 晃 洋

論文内容の要旨

【緒言】

肝移植による治療効果は確立されているが、ドナー不足が大きな問題となっている。その解決策として、肝細胞移植の肝移植へのブリッジとしての役割が期待されているが、その効果は確立されていない。その原因として、経門脈的に投与された移植肝細胞によって、組織の梗塞が引き起こされることで、フリーラジカルが産生され、その結果、細胞膜障害によってアポトーシスが誘導され、肝細胞の生着を妨げていると考えられている。エダラボンは、フリーラジカルスカベンジャーであり、アポトーシス抑制効果により移植肝細胞の生着向上が期待されるが、これまでそのような検討はなされていなかった。

【目的】

エダラボン投与が、移植肝細胞のアポトーシスを抑制し、生着が改善するかどうかをラットモデルで検討する。

【対象及び方法】

細胞分離はルイスラットの肝臓を二段階コラゲナーゼ灌流法で行った。肝細胞移植は 30×10^6 個の肝細胞を、無アルブミンラット(NAR)の脾臓に直接注入した。FK506は移植時から24時間ごとに1 mg/kgを筋肉内投与した。エダラボン(3 mg/kg)は移植24時間前、直後、24時間後に静脈内投与した。

実験1. NARを3つのグループに分けた。グループA; 移植なし(生理食塩水1 mlを脾臓に直接注射)。グループB; 肝細胞移植+FK506。グループC; 肝細胞移植+FK506+エダラボン投与。移植48時間後、各グループの肝臓を細胞分離し、Annexin VとPropidium Iodideを用い、アポトーシスを起こしている細胞をFACSで測定した。

結果1. 肝臓の肉眼所見は、グループCは、グループBと比較し壊死部分が減少していた。

FACSによる生細胞の割合は、グループAは54.35%、グループBは11.52%で、グループBは低下したが、グループCは32.68%でグループBより増加した。

実験2. NARを3つのグループに分けた。グループ1; 肝細胞移植のみ。グループ2; 肝細胞移植+FK506投与。グループ3; 肝細胞移植+FK506投与+エダラボン投与。各グループの肝臓を、移植48時間後、TUNEL染色、移植14日後にアルブミン蛍光染色を施行し組織学的検討を行った。また、移植細胞機能を確認するため、移植後14日目まで、血清アルブミン値を測定した。

結果2. TUNEL染色で、グループ3はグループ2と比較しアポトーシスを起こしている組織の割合が減少した。アルブミン蛍光染色では、グループ3はグループ2と比較し、染色された細胞数が4倍以上増加していた。血清アルブミン値は、グループ3では14日目まで有意に上昇していた。

【考察】

本研究で、肝細胞移植時にエダラボンを投与することで、生細胞の割合が増加し、TUNEL染色でアポトーシスが抑制され、また、アルブミン蛍光染色陽性細胞数や血清アルブミン値が上昇したことから、エダラボンにより移植肝細胞の生着と機能発現が向上していることが示された。

【結語】

エダラボンは、ラット肝細胞移植におけるアポトーシスを抑制し、移植肝細胞の生着と機能発現を向上させることが明らかとなった。本研究により、肝細胞移植の臨床応用における発展が期待される。

論文審査結果の要旨

肝細胞移植は全肝移植へのブリッジとして期待される治療法であるが、生着細胞数が少ないことが課題であった。本論文は、急性期脳梗塞の治療に用いられるradical scavengerであるエダラボンが、無アルブミンラットを用いた肝細胞移植モデルにおいてアポトーシス抑制を介して移植肝細胞の生着に有効であることをはじめて示した論文である。まず、レシピエントのグラフトにおいてエダラボン投与により肉眼的な壊死巣は有意に減少し、FACSによるAnnexinVとPIの割合の測定とTUNEL染色により、移植肝細胞及び肝実質細胞のアポトーシスを有意に抑制していることが証明された。次に、肝細胞移植後の血清アルブミン値の経時的測定により、エダラボン投与群において非投与群に比して有意に高値となり、アルブミン蛍光染色においてもエダラボン投与群は4倍以上のアルブミン産生細胞数を示したことから、エダラボンが移植された肝細胞の生着及び機能発現に寄与していることが示された。

本論文は、肝細胞移植において移植肝細胞が生着、機能するためにエダラボンが有効であることを初めて示したものであり、今後、臨床応用への発展も期待できることから、学位論文に値するものと評価された。