

氏名(本籍)	むら た そういちろう 村 田 聡一郎 (神奈川県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4433 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Platelets Promote Liver Regeneration in Early Period after Hepatectomy in Mice (血小板は肝切除後早期の肝再生を促進する)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	兵 頭 一之介
副 査	筑波大学教授	医学博士	松 井 陽
副 査	筑波大学助教授	博士(薬学)	本 間 真 人
副 査	筑波大学講師	医学博士	正 田 純 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

目的：血小板には血小板増殖因子（PDGF）や肝細胞増殖因子（HGF）などの様々な増殖因子が α 顆粒内に含まれている。これまで血小板の機能の解析は止血に関するものが多く、肝臓の再生に関する報告はほとんどない。本研究の目的は血小板が肝切除後早期の肝再生に与える影響を個体を用いて解析することである。

対象と方法：BALB/c 雄性 8 週齢マウスを用いて Higgins and Anderson 法による 70% 肝切除術を行った。血小板を増加又は減少させた群において、切除後の残存肝の再生速度を比較した。マウスは以下の 3 群に分け、各群 8 匹ずつ解析した。

- ・血小板正常群：肝切除 5 日前に生理食塩水 0.5ml を腹腔内投与し、肝切除を施行した。
- ・血小板増加群：肝切除 5 日前に血小板増加因子トロンボポエチン（thrombopoietin）0.5 μ g（20 μ g/kg）を腹腔内投与した。
- ・血小板減少群：肝切除 24 時間前に抗血小板抗体を投与した。

検討項目として

- ・術前血小板数
- ・肝切除 48 時間後の肝体重比
- ・肝切除 48 時間後の肝組織の mitotic index, PCNA labeling index, Ki-67 labeling index
- ・肝切除後の増殖に関連したシグナル伝達系の解析
- ・肝切除時の肝内 HGF, PDGF 濃度
- ・肝切除直後の肝内への血小板集積

結果：肝切除時の平均血小板数は血小板減少群 10 万/ μ l, 血小板正常群 79.7 万/ μ l, 血小板増加群 181.1 万/ μ l で各群に有意な差を認めた。肝切除 48 時間後の解析では、肝体重比は血小板増加群が血小板正常群および血小板減少群より有意に増加し、血小板減少群は血小板正常群より有意に減少した。肝組織の mitotic

index は血小板増加群が他の 2 群より有意に増加した。Ki-67 labeling index は血小板増加群が血小板正常群および血小板減少群より有意に増加し、血小板減少群は血小板正常群より有意に減少した。

肝切除後の増殖に関連したシグナル伝達系の解析では、血小板増加群で Akt のリン酸化およびその下流の GSK3 β のリン酸化が増強した。一方、血小板減少群では Akt のリン酸化が低下した。肝切除時の肝内 HGF および PDGF 濃度は血小板増加群が他の 2 群より有意に増加していた。

肝切除直後の肝には血小板集積が認められ、血小板増加群が他の 2 群より有意に集積を認めた。血小板減少群ではほとんど血小板集積を認めなかった。電子顕微鏡にて血小板が類洞内皮細胞の小孔を越えて肝細胞と接触している像を認めた。

考察：血小板の肝再生に与える作用として、肝切除直後に血小板が肝内に集積し、一部が肝細胞に接触することにより、PI3K/Akt の活性化および、その下流の GSK3 β を活性化し、肝細胞増殖を促進させることが考えられた。血小板の肝への集積は、肝切除後早期に類洞内皮細胞の小孔が拡大することが関係している。また P-selectin などの接着分子は刺激後数時間しないと発現しないことが分かっており、肝切除後の血小板集積とは関連がないと考えられる。

血小板増加因子トロンボポエチンは肝細胞で合成されるが、その受容体は肝細胞には発現しておらず、肝内では類洞内皮細胞で発現が確認されている。血小板増加群で肝内 HGF と PDGF が有意に増加していた理由のひとつとして、血小板に含まれる増殖因子の他に、トロンボポエチンが類洞内皮細胞に作用して HGF や PDGF の産生が亢進した可能性もある。

血小板の肝再生促進効果の臨床応用としては、肝切除直前に血小板輸血を行うこと、また手術施行数日前にトロンボポエチンを投与することが考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

血小板減少群、正常群における電子顕微鏡による血小板の血管内皮通過過程の観察について、凝固や凝集と研究結果との関連について、トロンボポエチンの長期投与に関する毒性について、血小板からの HGF 放出以外の機序について、70%肝切除の実験への影響について、サイトカインとの関連性について、各種液性因子のレセプターの検討について、ホルモン、増殖因子、チロシンキナーゼ活性について等、様々な観点から質疑が行われた。審査対象者は論文の考察で述べた内容を含めて、これら質疑に対し十分な返答を行った。審査員一同は血小板肝再生促進効果の臨床応用へ向けた基礎的研究として意義ある論文と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。