

氏名(本籍)	まつ お りょう た (千葉県) 松 尾 亮 太 (千葉県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4506 号		
学位授与年月日	平成 19 年 11 月 30 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 Strongly Induce Hepatocyte Proliferation with IGF-1 and HGF <i>in Vitro</i> (血小板は IGF-1 および HGF によって肝細胞増殖を強力に促進する)		
主 査	筑波大学教授	博士 (医学)	大根田 修
副 査	筑波大学准教授	医学博士	小 島 寛
副 査	筑波大学准教授	医学博士	正 田 純 一
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	三 好 浩 稔

論 文 の 内 容 の 要 旨

目 的：血小板は凝固止血機能のみならず，組織修復に重要な働きをしている。我々はこれまで，切除後の肝に多数の血小板が集積していること，さらに血小板増多マウスにおいて切除後の肝再生が有意に促進されることを報告してきた。本研究では，その詳細なメカニズムおよび血小板に含まれるエフェクター因子が何であるかを明らかにすることを目的に解析を行った。

材料と方法：BALB/c マウスから分離した初代培養肝細胞とマウス不死化肝細胞株 (TLR2) を用いて実験を行った。血小板は同マウスから抗凝固剤として ACD 液を用い，遠心分離により採取し，任意の濃度に調整して使用した。実験①：血小板に肝細胞に対する増殖促進効果があるか，培養肝細胞に血小板を添加し，肝細胞の 3H-thymidine および Bromodeoxyuridine (BrdU) の取り込みを測定した。実験②：肝細胞に対する DNA 合成促進効果を発揮するために両者の接触が必要であるか，チャンバーを用いて接触を阻止した共培養の系を用いて検討した。実験③：血小板を破碎し，膜と液性因子に分けそれぞれの肝細胞に対する増殖促進効果を検討した。実験④：チャンバーの上で血小板と肝細胞を接触させ，これらとは接触していないチャンバー下の肝細胞に対する増殖促進効果を，比較検討した。実験⑤：血小板により肝細胞のどのようなシグナル伝達系が活性化するか，Akt 経路，ERK1/2 経路および STAT3 経路について検討した。

実験⑥：血小板の液性因子のなかでどのような成分が実際に肝細胞増殖を促進するか検討した。実験⑦：血小板に含まれる液性因子を単独で肝細胞に添加し，実際に Akt, ERK1/2 や STAT3 などのシグナルを活性化するか検討した。

結 果：血小板添加により肝細胞の DNA 合成は有意に促進され，その効果は添加する血小板数に用量依存的であり，接触することが必要であった。血小板の膜成分には増殖促進効果はなく，液性因子には有意に増殖促進効果が認められた。血小板添加により，速やかに Akt 経路と ERK1/2 経路が活性化した。STAT3 経路は全く活性化されなかった。強い増殖活性を示す分画には，HGF と IGF-1 が含まれており，特に IGF-1 に強

い活性が認められた。HGF や IGF-1, VEGF は強力に Akt や ERK1/2 経路を活性化した。血小板に多量に含まれている PDGF や 5-HT ではシグナルの活性化は認められなかった。

考 察：血小板は肝切除後に肝細胞と接触する形で多量に集積し，増殖因子（例えば HGF あるいは IGF-1）などの液性因子を放出していると考えられる。この現象により，生体内で効率よく肝細胞に対する増殖活性を**発揮**していることが予想される。血小板による肝細胞増殖促進は，増殖因子をリガンドとし，その下流の Akt や ERK1/2 経路を介したものと考えられる。VEGF も強力に Akt や ERK1/2 経路を活性化するが，血小板中に非常に微量しか含まれていないことから，主として肝細胞増殖促進に作用する可能性は低いものと考えられる。

結 論：血小板は，強力な肝細胞増殖促進作用を有しており，血小板に含まれる HGF および IGF-1 によるものであることが分かった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は，血小板に含まれる肝細胞増殖因子をゲル濾過法により単離・同定し，HGF と IGF-1 であることを明らかにした。また，これらの増殖因子が，Akt や ERK1/2 経路を活性化することで，肝細胞増殖促進に作用していることを見出した。今後，研究の進展に際し，これら増殖因子の生体内への投与方法を含めた臨床応用に向けた研究開発が望まれる。

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。