

氏名・(本籍) 近藤浩之(愛知県)  
学位の種類 博士(医学)  
学位記番号 博士第326号  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
学位授与年月日 平成11年6月29日  
学位論文題目 Effects of Deletion Type Human Hepatocyte Growth Factor on Murine Septic Model

(ラット CLP モデルに対する肝細胞増殖因子 (dHGF) の効果 : タンパク合成能維持と類洞内皮細胞障害予防)

審査委員 主査 教授 堀池 喜八郎  
副査 教授 馬場 忠雄  
副査 教授 小玉 正智

## 論文内容の要旨

### 【目的】

敗血症は、多臓器障害発症の主因として知られており、なかでも肝臓は、感染ストレスによって、傷害を受けやすく、長期化すると、タンパク合成障害を合併して致死的となる。したがって、敗血症性肝障害の予防、治療は救命率向上につながると考えられ、きわめて重要である。一方、肝においては、感染などの侵襲にさらされると、肝細胞の傷害と同時に、肝修復・再生機構が働き、肝再生促進因子として肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) が注目されてきた。しかし、敗血症モデルを用いた臓器障害に対する HGF の効果は、これまでに報告されていない。我々は、敗血症モデルとして、CLP (cecal ligation and puncture) 法を用いた腹膜炎ラットを作成し、deletion type human hepatocyte growth factor (dHGF) による死亡率改善効果およびその機序につき検討することを目的とした。

### 【方法】

ラットに中心静脈カテーテルを留置し、1週間後に CLP モデルを作成した。dHGF 1000  $\mu$ g/kg 及び溶媒 1 ml/kg を 1 日 2 回 12 時間毎に投与した。dHGF の投与時期により以下の 4 群に分けて静脈内投与した。I 群 (溶媒投与群) : CLP 作成前後に溶媒を 6 日間静注。II 群 (前後投与群) : CLP 作成前後に dHGF を 6 日間静注。III 群 (前投与群) : CLP 作成前に dHGF を 3 日間、CLP 作成後に溶媒を 3 日間静注。IV 群 (後投与群) : CLP 作成前に溶媒を 3 日間、CLP 作成後に dHGF を 3 日間静注した。

実験 1 では I 群~IV 群の 4 群に対して、CLP 術後 7 日目までの生存率につき検討した。

実験 2 では実験 1 と同様のプロトコール下に dHGF 及び、溶媒を投与し、CLP 術後 72 時間目の生存例に対し、内頸動脈から脱血犠死せしめ、直後に肝の一部を摘出し、血液検体と組織を採取して血液生化学検査および組織学的所見を検討した。また、単開腹のみで CLP は作成せず、I 群同様に溶媒投与した群を V 群 (単開腹群) とし、開腹術後 72 時間目に検体を採取し同様に検討した。

### 【結果】

実験 1 : CLP 後 3 日目の生存率は、I 群に対し、dHGF 投与群 (II、III、IV 群) において、有意に生存率改善効果が認められた。4 日目以後については、I 群に対して II 群のみが有意な改善を示した。III 群と IV 群間には、有意差はなかったものの、4 日目以後については、IV 群に生存率の改善傾向が認められた。実験 2 : 血液生化学検査において、肝障害の指標となる GPT の上昇は、I 群に比し dHGF 投与群で有意に抑制されており、また、肝におけるタンパク合成能の指標となる TP、T-Cho についても dHGF 投与群で有意に高値を保っていた。凝固系についても、I 群に比し dHGF 投与で有意な改善が見られ、血小板数の低下も有意に抑制された。また組織酸素代謝の指標としての血中乳酸値については I 群に比し II 群、IV 群で有意に低値であった。血液生化学検査上は、III 群

とIV群間に有意差はなかったものの、IV群において改善傾向がみられた。組織学的検討については、生存率及び、血液生化学検査から最も顕著な差があると予想されたI群とII群間での検討を行った。HE染色所見から、II群ではI群のような肝細胞の強い変性所見は見られなかった。免疫染色結果において、II群では、Thrombomodulin (TM) が類洞内皮に一致し、正常肝とほぼ同様に強く染色された。I群では肝細胞の索条配列が比較的保たれ、類洞内皮が正常と思われた部位で評価しても、TMの染色性は非常に弱く、中心静脈内皮上にわずかな発現を見るのみで、類洞内皮上のTMの消失が確認された。

#### 【考 察】

これまでに、HGFが種々の肝障害モデルに対し、障害抑制効果を持つことが報告されてきたが、その機序については十分解明されておらず、敗血症性臓器障害に対するHGFの効果についてはこれまでに報告されていない。

本実験では、CLP法による腹膜炎ラットを用い、dHGFの死亡率改善効果、タンパク合成能維持効果、血管内皮の抗血栓性を担うTMの肝類洞内皮での発現につき検討した。dHGFは、本モデルの死亡率を改善し、その機序の一つとして、敗血症時に、類洞内皮におけるTMの発現を維持して抗血栓性を保ち、微小循環障害による肝障害を抑制すること、また、障害肝の修復・再生機構促進因子として作用し、タンパク合成などの肝固有機能を維持することが示唆された。つまり、凝固能改善効果は、凝固因子としてのタンパク合成能維持効果と血管内の抗血栓性維持による凝固因子消費が改善したためと考えられた。

さらに、正常ラットでは肝細胞のほとんどが静止期にあり、障害を受けて細胞周期に入らなければHGFの細胞増殖促進因子としての効果は少ないと考えられているが、我々の実験結果から、dHGFは静止期の肝細胞に対しても作用するが、傷害を受け、コンピテンス状態にある肝細胞において、より有効に作用したと考えられた。

以上より、dHGFは今後、種々の肝障害や敗血症性臓器障害の予防、治療において、有効な薬剤となり得る可能性が示唆された。

#### 【結 論】

dHGFは、敗血症時に傷害を受けた肝細胞の修復、増殖促進因子として作用するのみでなく、血管内皮のTMの発現を維持して、内皮の有する抗血栓性を保ち、微小循環の破綻、さらには、臓器障害への移行を抑制したと考えられた。また、肝障害に対しては、障害発生後に修復力を高めるのみならず、前投与においてもタンパク合成の予備能力を高め有効に作用することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、敗血症性臓器障害（特に肝障害）の予防や治療の方法をさぐるため、盲腸結紮穿孔法による腹膜炎ラットを用いて、肝細胞増殖因子（deletion type human hepatocyte growth factor、dHGF）の効果を検討したものである。

その結果、次のことが明らかになった。dHGFは、1) 肝細胞におけるタンパク質合成能の維持効果を示すのみならず、2) 類洞内皮細胞のトロンボモジュリンの発現を維持し、内皮細胞の抗血栓性を保ち、微小循環の破綻による臓器障害を抑制する。3) こうして、dHGFは敗血症ラットの生存率を改善する。

本研究は、敗血症性臓器障害に対する肝細胞増殖因子の効果をはじめ明らかにしたものであり、本症の予防や治療において本因子は有効な薬剤となりうる可能性を示した。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年5月31日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。