

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2007～2008

課題番号：19591582

研究課題名（和文） 慢性腎不全下における肝切除後肝再生のメカニズムについて

研究課題名（英文） The effects of renal failure on hepatic regeneration following hepatectomy

研究代表者 西尾 秀樹 (NISHIO HIDEKI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：30345897

研究成果の概要：

今回我々は「新たな肝再生因子として報告された血小板由来のセロトニンが、腎不全の肝切除後肝再生能に影響を及ぼすのではないか」という仮説をたて、これを検証することとしていた。しかし、有意差は確認できなかった。一方、門脈枝結紮術後の肝再生においてエストロゲンはセロトニンレセプターの **upregulation** を介することが示唆され、臨床での門脈枝塞栓術におけるエストロゲン補充療法の可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：エストロゲン セロトニン 門脈結紮

1. 研究開始当初の背景

肝切除後の肝再生を阻害する因子はいくつか知られているが、腎障害が肝再生に及ぼす影響についてはあまり知られていない。そこで、我々はラットの慢性腎不全モデルを使用して、腎障害が肝切除後の肝再生にどのような影響を与えるか検討した。その結果、腎障害は

70%部分肝切除後の肝再生を有意に抑制することはなく、慢性腎不全患者に対しても積極的に肝切除術を適応できる可能性が示唆された。ラットの慢性腎不全モデルを使用して、腎障害が肝切除後の肝再生に与える影響を検討した。腎不全摘術による慢性腎不全モデル(CRF群)を作成し、70%部分肝切除術後、

血液および肝臓を解析した。また、肝切除後 7 日目の胆汁中 indocyanine green (ICG) 排出率を測定した。さらに、肝組織における肝再生関連遺伝子の発現を RT-PCR にて評価した。肝切除後 1、2、7 日目における残肝再生率は、CRF 群でやや低い傾向にあるものの有意差は無く、7 日目における ICG 排出率もほぼ同等であった。肝組織における IL-6, TNF- α , HGF, c-fos, c-jun, c-myc の発現は、CRF 群は Sham 群に比べて全て発現が低かったが、経時的な変化率に有意差はみられなかった。腎障害は肝切除後の肝再生を抑制することはなく、慢性腎不全患者に対しても積極的に肝切除術を適応できる可能性が示唆された。そこで、われわれは、新たな肝再生因子として報告された血小板由来のセロトニンに着目して、未だ報告の無い腎不全が肝切除後肝再生能に及ぼす影響を明らかにし、慢性腎不全患者に安全な拡大肝切除術を施行できる補助療法を開発し、その実用化を目指そうとしたが、結果が出なかった。そのため、新たな研究として、門脈枝結紮術後の肝再生におけるエストロゲンに着目し、セロトニンとの関係を検討した。

2. 研究の目的

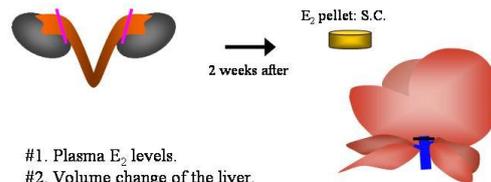
肝切除後の肝再生においてはエストロゲンの関与を示唆する報告がみられる。また近年、血小板由来のセロトニンが肝再生を促進するという報告がなされた。セロトニン (serotonin, 5-hydroxytryptamine, 5-HT) はモノアミン神経伝達物質で視床下部や大脳基底核、延髄の縫線核などに高濃度に分布しているトリプタミン誘導体の一種であり、主に神経系の分野で研究されているが、最近、肝再生に血小板由来のセロトニンが関与していると報告され (Lesurtel M et al, Science, 2006)、肝再生因子の新たな発見

として注目されている。また、人工透析患者では、健常者に比べて血小板由来のセロトニンは減少していることが報告されている (Malyszko J et al, Nephron, 2000)。我々は、雄ラットを用いた門脈枝結紮モデルで門脈枝結紮術後の肝再生におけるエストロゲンおよびセロトニンの役割について検討し、血小板由来のセロトニンおよび肝臓でのセロトニンレセプター発現に着目して、慢性腎不全における肝再生抑制のメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

Methods

Rat ovariectomized model \rightarrow Estrogen replacement therapy & Portal vein branch ligation



- #1. Plasma E₂ levels.
- #2. Volume change of the liver.
- #3. Gene expression of the regenerated liver.
- #4. Measurement of the hepatic blood flow.
- #5. Serotonin receptors expression of the liver.

Wister 雌ラット(220~250g)を用いて両側卵巣摘出 (OVx) 2 週間後に PBL を施行し、同時にエストロゲン補充療法を行う群 (E+) と行わない群 (non-E group) を作成し、

1. 血清中のエストラジオールレベルの測定。
2. PBL 後の肝再生率の測定
3. 再生肝における肝再生関連遺伝子の測定。
4. セロトニンレセプターの発現をリアルタイム RT-PCR にて解析。
5. 小腸におけるトリプトファンヒドロキシナーゼの発現をリアルタイム RT-PCR にて解析
6. Microsphere による臓器血流測定。
7. セロトニンレセプターアンタゴニスト(ケタンセリン)を投与した時の肝再生率の測定。以上 7 項目の実験を行った。

4. 研究成果

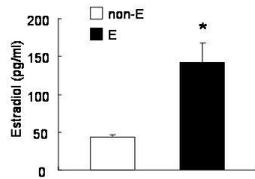


Fig. 1

Fig.1

卵巣摘出後エストロゲン補充療法を行う群 (E+) と行わない群 (non-E group) の血清中のエストラジオールは、エストロゲン投与群において有意に上昇することが確認された。

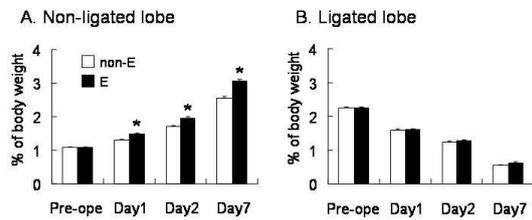


Fig. 2

Fig.2

体重あたりの再生肝重量は、PBL 後エストロゲン投与群は非投与群に比べて有意に高かった。 Fig.2

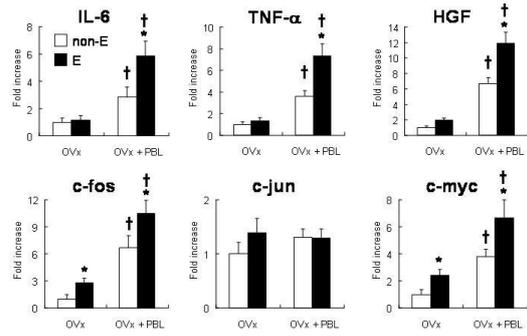


Fig. 3

Fig.3

再生肝組織における肝再生関連遺伝子の発現も非投与群に比べて投与群で有意に高かった。

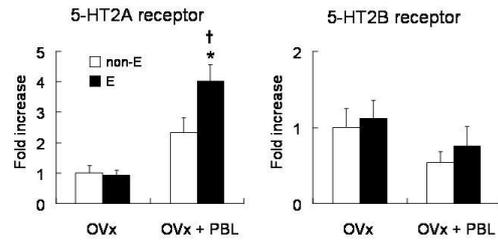


Fig. 4

Fig.4

7 日目の再生肝組織におけるセロトニンレセプター2a の発現も非投与群に比べて投与群で有意に高かった。

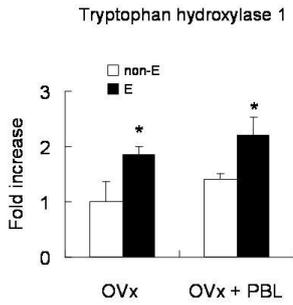


Fig. 5

Fig. 5

7日目の小腸におけるトリプトファンヒドロキシナーゼの発現も非投与群に比べて投与群で有意に高かった。Fig5

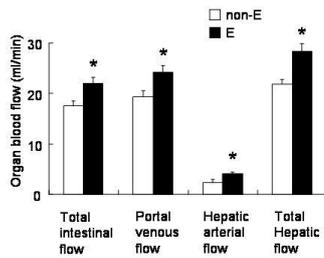


Fig. 6

Fig. 6

Microsphere による臓器血流測定の結果、PBL 後エストロゲン投与群は非投与群に比べて有意に高かった。

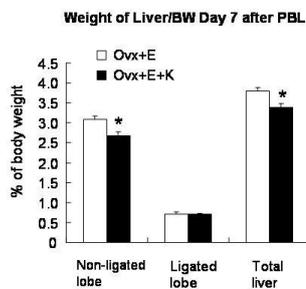


Fig. 7

Fig. 7

PBL後セロトニンレセプターアンタゴニスト(ケタンセリン)を投与した時の体重あたりの再生肝重量は、エストロゲンのみ投与群比べて有意に低かった。

以上よりエストロゲン補充療法によるPBL後の肝再生促進のメカニズムのひとつに、セロトニンレセプターのupregulationを介することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Kitagawa T, Yokoyama Y, Kokuryo T, Kawai T, Watanabe K, Kawai K, Nagino M. ESTROGEN PROMOTES HEPATIC REGENERATION VIA ACTIVATING SEROTONIN SIGNAL, In press 2009.

査読有

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西尾秀樹 (NISHIO HIDEKI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：30345897

(2) 研究分担者

安部 哲也 (ABE TETSUYA)

愛知県がんセンター・胸部外科部・医長
研究者番号：90378092

横山 幸浩 (YOKOYAMA YUKIHIRO)

名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80378091

棚野 正人 (NAGINO MASATO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：20237564