

平成24年9月

# 近江奈央 学位論文審査要旨

主 査 汐 田 剛 史  
副主査 二 宮 治 明  
同 佐 藤 建 三

## 主論文

A crucial role of bone morphogenetic protein signaling in the wound healing response  
in acute liver injury induced by carbon tetrachloride

(四塩化炭素急性肝障害の損傷修復反応における骨形成因子シグナルの重要な役割)

(著者：近江奈央、谷口(天野)久美子、金井(宮下)肖美、安永茉由、中西友子、佐藤建三)

平成24年 International Journal of Hepatology Article ID 476820 10 pages

# 学 位 論 文 要 旨

A crucial role of bone morphogenetic protein signaling in the wound healing response in acute liver injury induced by carbon tetrachloride

(四塩化炭素急性肝障害の損傷修復反応における骨形成因子シグナルの重要な役割)

肝臓は再生能力が高い臓器であり、肝障害、肝切除では肝臓細胞の同調的な増殖と分化によって急速な修復が引き起こされる。しかし、肝炎ウイルスや薬物摂取などにより繰り返される肝細胞の損傷と修復は、結果的に肝炎を肝硬変へと至らしめる。四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) 急性肝障害は、ラットの肝臓での損傷修復のモデルとして使用されている。また、CCl<sub>4</sub>は肝細胞でP450に代謝され、活性酸素種を発生させることで、肝細胞を壊死させ、肝障害を起こさせる。これまでに、ラットCCl<sub>4</sub>肝障害においてCCl<sub>4</sub>投与後6時間-24時間での骨形成因子 (BMP) 2/4の一過性の発現を報告した。また、BMP2/4は肝臓発生に重要である。それらのことから、肝障害における一過性のBMP発現の生理学的意味を検討した。

## 方 法

BMP2/4の受容体である*BMPRIA*のノックアウトマウスは胎生致死であることから、コンディショナルにノックアウトマウスを使用した。*BMPRIA*の遺伝子のエクソン4がLoxP配列ではさまれた*BMPRIA*<sup>Flox</sup>マウスに組換え酵素Cre発現アデノウイルスを尾静脈投与し、2週間後、肝特異的にノックアウトした。*BMPRIA*コンディショナルノックアウト (KO) マウスにCCl<sub>4</sub>を腹腔内投与し、肝障害を誘導した。また、コントロールマウスには*LacZ*発現アデノウイルスまたは生理的食塩水を尾静脈投与した。CCl<sub>4</sub>投与後、0時間、24時間、72時間後に肝臓を回収し、組織学的解析、遺伝子発現を検討した。

## 結 果

肝障害の血清マーカーaspartate aminotransferase (AST) とalanine aminotransferase (ALT) は*BMPRIA* KOマウス、コントロールマウス共にCCl<sub>4</sub>投与後24時間で上昇し、72時間で低下した。ヘマトキシリン・エオジン染色像において、CCl<sub>4</sub>投与後72時間後では、コントロールマウスでは回復しているが、KOマウスでは損傷、空胞化が観察された。また、リアルタイム RT-PCRの結果、コントロールマウスではCCl<sub>4</sub>投与後24時間、72時間で、BMPシグナルの標的遺伝子である*ID*遺伝子の発現が増加するが、KOマウスでは発現増加が見られな

かった。アルブミンなど肝機能遺伝子はCCl<sub>4</sub>投与後24時間後、コントロールマウス、KOマウス共に発現が低下し、CCl<sub>4</sub>投与後72時間後にコントロールマウスでは発現が回復したが、KOマウスでは発現回復が見られなかった。さらに、細胞増殖マーカーPCNAの遺伝子発現は、CCl<sub>4</sub>投与後72時間後、コントロールマウスでは増加するが、KOマウスでは増加が見られなかった。この結果は、細胞増殖マーカーKi67による免疫組織化学染色の結果によっても支持された。

## 考 察

血清AST、ALTとCCl<sub>4</sub>投与後24時間後のヘマトキシリン・エオジン染色像はKOマウス、コントロールマウスで同じように肝障害が誘導された。さらに、CCl<sub>4</sub>投与後72時間後では、コントロールマウスの組織像は回復しているが、KOマウスは回復が遅延していることが示された。さらに、肝機能遺伝子発現の解析から、アルブミンなどの遺伝子はBMPシグナルの影響下で速やかに回復するが、72時間では回復が見られない遺伝子があり、BMPシグナルがすべての肝機能の回復に関与しているとは言えないが、多くの肝機能遺伝子発現の回復に関与することが示された。また、細胞増殖マーカーPCNAの発現や、Ki67の免疫染色陽性率がKOマウス肝臓で低下していることから、BMPシグナルが細胞増殖の誘導にも関与することが示された。BMPシグナルは肝障害からの回復を部分的に担っていると考えられる。

BMPシグナルは初期胚の発生過程における肝臓形成でFGFと共に前腸内胚葉からの肝芽の形成と肝細胞の誘導に重要な因子であるが、肝障害からの回復過程において、一過性に発現し、障害を受けた肝細胞の回復や、肝芽細胞の増殖分化を介して、肝機能の修復に関与していると考えられる。

## 結 論

本研究において、BMPシグナルは急性肝障害の回復過程において、肝機能を回復させ、増殖シグナルを誘導することで重要な役割を果たしていることが示された。