

平成20年2月

前田和範 学位論文審査要旨

主査	山田一夫
副主査	長谷川純一
同	村脇義和

主論文

Preventive effects of ME3738 on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rats

(胆管結紮ラットでのME3738の肝線維化抑制効果)

(著者：前田和範、孝田雅彦、的野智光、杉原誉明、山本了、植木賢、村脇義和、
山下宣之、西山省二)

平成20年 Hepatology Research 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Preventive effects of ME3738 on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rats

(胆管結紮ラットでのME3738の肝線維化抑制効果)

大豆抽出物ソヤサポゲノール A から誘導された ME3738 は、concanavalin A 誘発肝炎モデルで肝障害改善作用が認められている。臨床的にも慢性ウイルス性肝炎治療薬としての開発検討が進められている。今回、胆管結紮 (BDL) によるラット胆汁うっ滞肝線維化モデルを用いて、ME3738 の肝線維化抑制効果について検討した。

方 法

Wistar系雄性ラットを4群 (Sham、Sham+ME3738、BDL、BDL+ME3738) に分けた。BDLおよびBDL+ME3738群のラットは、ネンブタール麻酔下に開腹し、総胆管を2重結紮後切断した。翌日より、Sham+ME3738、BDL+ME3738群には溶剤 (グリセリンと脂肪酸の混合液) に溶解したME3738 (10 mg/ml) 2 mlを、ShamおよびBDL群には溶剤のみ2 mlを胃ゾンデにより連日経口投与した。3週間後に屠殺し、採血および肝組織を摘出した。肝線維化の指標として、Desmet分類での肝線維化評価F0~F4、肝hydroxyproline (Hyp) 量、画像解析での線維化面積を用いた。活性化星細胞は、 α -smooth muscle actin (α -SMA) による免疫染色で評価した。酸化ストレスは、4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) と8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) の免疫染色、thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) 量、heme oxygenase-1 (HO-1) 蛋白質量およびmRNA量で評価した。肝組織中のcollagen-I mRNA、transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) mRNA、tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) mRNA、interleukin-6 (IL-6) mRNAをreal-time PCRで定量した。血液生化学検査では、血清ビリルビン、AST、ALT、ALPを測定した。

結 果

血液生化学検査では、BDL群に比べて、BDL+ME3738群ではALPの減少以外はME3738投与により明らかな変化を認めなかった。組織学的に肝線維化を評価すると、BDL群のFスコアは、 2.86 ± 0.90 に対して、BDL+ME3738群では 2.22 ± 0.97 と肝線維化の進行が抑制される傾向が

みられた。肝Hyp量は、BDL群 12.39 ± 3.91 mg/肝に対し、BDL+ME3738群では 9.40 ± 2.85 と24%減少していた ($P < 0.05$)。またアザン染色で測定した肝線維化面積は、Sham群に比較してBDL群で21.5倍に対し、BDL+ME3738群で13.1倍と39%減少していた ($p = 0.045$)。遺伝子レベルでの検討でもcollagen-I mRNAは、ME3738の投与により83%減少していた ($P = 0.002$)。 α -SMA陽性細胞数を検討すると、ME3738投与によりBDL群に比べて、BDL+ME3738群で40%減少していた ($P = 0.011$)。肝組織のTGF- β 1 mRNAおよび蛋白質量、TIMP-1 mRNA、IL-6 mRNA、肝TBARS量、4-HNEと8-OHdGの免疫染色は、ME3738投与により変化しなかったが、HO-1 mRNAは58% ($P = 0.018$)、また肝HO-1蛋白質量も26% ($p = 0.01$)減少していた。

考 察

今回の研究で、ME3738が肝星細胞の活性化を抑制し胆管結紮に伴う肝線維化の進行を抑制することを明らかにした。活性化星細胞減少の機序について、酸化ストレスおよびサイトカインの面から検討すると、酸化ストレスのマーカーのうち4-HNE、8-OHdG、TBARSは、ME3738投与群で明らかな変化を認めなかったが、HO-1の発現は、mRNAレベルおよび蛋白質レベルにおいて有意に減少しており、ME3738が抗酸化的に作用した可能性が示唆された。なお、酸化ストレスマーカーの変化の相違については、それぞれの感度の差によるものと思われる。サイトカインについては、TGF- β 1およびIL-6ともME3738投与で変化がなかった。ConAの急性肝障害モデルでは、ME3738の投与によりIL-6の増加が抑制されたと報告されているが、今回の慢性肝疾患モデルでは急性肝障害とは異なりサイトカインの関与は少ないものと思われる。

結 語

胆管結紮による肝線維化ラットモデルにおいて、ME3738が肝星細胞の活性化を減少させて肝線維化進行を抑制することが示された。