

氏名	うえき まさる 植 木 賢
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第499号
学位授与年月日	平成17年 3月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	ラット胆管結紮肝線維化モデルにおけるangiotensin-II系抑制薬の肝線維化阻止効果
学位論文審査委員	(主査) 平井和光 (副査) 長谷川純一 村脇義和

## 学位論文の内容の要旨

近年、強力な血管収縮物質である angiotensin-II (AT-II) が心筋由来線維芽細胞、メサンギウム細胞などに作用し、コラーゲンの生成を促進することが示されている。肝でも細胞外マトリックスの主要な産生細胞である肝星細胞に AT-II type 1 receptor (AT-R1) が発現し、AT-II 添加により肝星細胞の収縮とともに増殖を促進することが明らかにされている。その後、AT-II 系抑制薬が肝線維化の進行を阻止することが相次いで報告された。今回、各種実験的肝線維化モデルのうち、実際にヒトでも認められる胆管結紮 (bile duct ligation: BDL) による胆汁うっ滞性肝線維化モデルを用い、angiotensin converting enzyme (ACE) 阻害薬である perindopril (PE) と AT-R1 拮抗薬である candesartan (CA) の肝線維化抑制効果およびその機序について検討した。

### 方 法

ラット肝より分離培養した肝星細胞より total RNA を抽出し ACE、renin、AT-R1 の mRNA を RT-PCR にて検討した。さらに ACE、renin の遺伝子発現量は、ラットの総胆管を二重結紮後切断した 3 週間後の BDL 肝で測定した。次にラットを 4 群 (Sham、BDL、BDL+PE、BDL+CA) に分け、薬剤投与群は、CA 2 mg/kg または PE 2 mg/kg を BDL 処置翌日から連日それぞれ経口投与した。3 週間後に採血と肝摘出を行い、Azan 染色による線維化面積の測定と、 $\alpha$ -smooth muscle actin 染色による活性型星細胞数を定量した。さらに肝組織中の hydroxyproline (Hyp)、transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 蛋白、および collagen-I mRNA、TGF- $\beta$ 1 mRNA、connective tissue growth factor (CTGF) mRNA の発現量を測定した。血液生化学では血清の Bilirubin、ALP、AST、ALT を測定した。

## 結 果

活性化した星細胞から抽出した total RNA において ACE、renin、AT-R1 の mRNA の発現をそれぞれ単一のバンドとして確認した。in vivo において ACE の遺伝子発現量は、BDL 線維肝で増大していた。Azan 染色による肝線維化面積と肝 Hyp 量および活性型星細胞数は、Sham 群に比べて BDL 群で著明に増加したが、BDL+CA 群、BDL+PE 群において有意に減少した。肝組織中 TGF- $\beta$ 1 蛋白量は、BDL 群に比べて BDL+CA 群、BDL+PE 群においてわずかに減少傾向を認めた。また collagen-I mRNA の発現は、BDL+CA 群で著明に減少した。TGF- $\beta$ 1 mRNA、CTGF mRNA の遺伝子発現量は、BDL 群に比べ BDL+CA 群においてわずかに平均値の低下を認めた。3 週後の血液生化学検査は、胆管結紮を行った 3 群で AST、ALT に差を認めなかった。

## 考 察

今回の検討では、胆管結紮肝線維化モデルラットにおいて ACE 阻害薬、AT-R1 拮抗薬の投与が肝線維化の進行を抑制することが確認された。この成績は、他の線維化モデルの報告と同様であった。これら薬物の線維化抑制機序を明らかにするため検討した成績では、活性型星細胞数の減少とともに TGF- $\beta$ 1 蛋白量、TGF- $\beta$ 1 mRNA、CTGF mRNA 発現量の平均値の低下を認めた。したがって、AT-II 系抑制薬は、肝星細胞の活性化を抑制し、これにより線維化促進性サイトカイン TGF- $\beta$ 1、CTGF が減少し、肝線維化の進行が抑制されたものと推測された。

今回、肝星細胞培養系で renin angiotensin system コンポーネントの発現を調べたところ、ACE、renin、AT-R1 とともに遺伝子発現を検出し、さらに 3 週間後の胆管結紮ラット肝においては、ACE の遺伝子発現は亢進していた。したがって胆汁うっ滞性肝線維化モデルにおいて、局所の renin angiotensin system が作動し AT-II が炎症部位自体で産生され、肝線維化に関与しているものと考えられた。なお今回の実験で、CA、PE の投与によっても血清中 AST、ALT に差が認められなかったことより、CA、PE の肝線維化抑制作用は肝細胞障害の軽減によるものではないことが示された。これらの薬剤はともに降圧薬として承認されており、その安全性は確認されていることから今後ヒトへの臨床応用が期待される。

## 結 論

今回の検討で、ACE 阻害薬 PE、AT-R1 拮抗薬 CA が胆汁うっ滞肝線維化モデルの活性型星細胞を減少させ、肝線維化を抑制することを示した。この線維化抑制効果は、サイトカイン TGF- $\beta$ 1、CTGF の発現低下と関連していることが推察された。

## 論文審査の結果の要旨

近年、強力な血管収縮物質である AT-II が心、腎などの臓器の線維化を促進することが示されている。本研究は、AT-II 系抑制薬を用いて、肝の線維化に対する効果を検討した。細胞外マトリックスの主要な産生細胞である肝星細胞に AT-R1 が発現していることを遺伝子発現で確かめ、ラット線維肝モデルに AT-II 系抑制薬を投与すると、活性型星細胞数減少とともに肝線維化進行の抑制が示された。同時に線維化促進性サイトカイン TGF- $\beta$ 1、CTGF の遺伝子レベルでの減少が認められた。

本研究は新知見に富むものであり、その結果は肝線維化研究に貢献するとともに学術の水準を明らかに高めたものと認める。