

氏名・(本籍)	大塚 直彦 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第1032号
学位授与の日付	令和2年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Reg3 α and Reg3 β Expressions Followed by JAK2/STAT3 Activation Play a Pivotal Role in the Acceleration of Liver Hypertrophy in a Rat ALPPS Model (Reg3 α と Reg3 β の発現は JAK2/STAT3 経路を介して ラット ALPPS モデルにおける急速な肝容量増大に重要な役割を果たす)
論文審査委員	(主査) 田中 正光 教授 (副査) 新山 幸俊 教授 後藤 明輝 教授

学位論文内容要旨

論文題目

Reg3 α and Reg3 β Expressions Followed by JAK2/STAT3 Activation Play a Pivotal Role in the Acceleration of Liver Hypertrophy in a Rat ALPPS Model

(Reg3 α と Reg3 β の発現は JAK2/STAT3 経路を介してラット ALPPS モデルにおける急速な肝容量増大に重要な役割を果たす)

申請者氏名 大塚 直彦

研究目的

Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy (ALPPS) は残肝容量が不十分な症例に対する肝切除を可能にするために、Step 1 で門脈右枝結紮に加えて切除予定線に沿った肝離断のみを行い、予定残肝の増大後に Step 2 で実際の肝切除を行う手技として近年開発された。特徴は、門脈結紮術では予定残肝の増大に 8 週間程度を要するが、肝離断を追加するだけの違いで、わずか 10 日ほどで予定残肝が急速に増大することにある。

既に臨床で応用されているが、門脈結紮術よりも急速に予定残肝が増大する機序に関しては、肝離断による炎症性サイトカイン (IL-6, TNF- α) の産生が多いことが報告されているものの、真相は未解明である。今回の研究では、ALPPS の急速な肝容量増大の機序における肝離断追加の意義を解明することを目的とした。

研究方法

肝離断追加の意義が炎症性サイトカインの増加であれば、離断位置を変えても急速な肝容量増大は起きるはずであり、まずそれを検証した。

SD ラットを使用し、3 群を作製した。1) PVL (Portal Vein Ligation) 群、2) ALPPS 群、3) PiLL (Partition inside the Ligated Lobe) 群: PVL に加え、肝実質離断を門脈結紮葉内に置く群。処置後、経時的に犠死させ、肝体重比 (予定残肝/体重)、肝細胞増殖能 (PCNA 標識率、リン酸化ヒストン H3 染色)、IL-6 および TNF- α 量、肝細胞増殖因子 (HGF) の発現量を測定した。IL-6 下の細胞増殖誘導経路として JAK2/STAT3 経路活性化への影響を、JAK2 阻害剤による抑制実験と免疫染色によるリン酸化 STAT3 の発現について検討した。

肝離断による炎症性サイトカイン上昇が必ずしも ALPPS の本質でないことが判明したため、Step 1 後の肝組織の網羅的遺伝子解析を行い、これまでに報告のない遺伝子発現を探索した。

研究成績

ALPPS 群では肝体重比が day 1 の時点で既に PVL 群のみならず、PiLL 群よりも有意に増加し、その後はこの 24 時間以内の増加差分が維持され、ALPPS 群の予定残肝の急速な増大は Step 1 処理後の早期に特徴づけられていた。一方、day 1 での炎症性サイトカインは PiLL 群でも ALPPS 群と同等レベルまで増加しており、PVL 群のそれを圧倒していた。このことは、肝離断による炎症性サイトカインの増加は ALPPS 群と PVL 群の違いの本質ではないことを示していた。3 群における肝細胞増殖能指標の違いは肝体重比増加の違いと平行であったが、炎症性サイトカイン量や HGF の発現量とは平行ではなかった。

ALPPS 群への JAK2 阻害剤投与は肝体重比の増加を PVL 群、PiLL 群と同等なまでに抑制し、リン酸化 STAT3 発現は ALPPS 群でのみ認められたため、ALPPS 群における肝容量増加分のうち、PVL 群および PiLL 群を上回る分については JAK2/STAT3 経路の活性化に負っていると考えられた。

ここまででは ALPPS 群でのみ JAK2/STAT3 経路を活性化させる因子が何であるのか不明であったため、day 1 における肝組織で網羅的遺伝子解析を行い、ALPPS 群で PVL 群より増幅されている遺伝子を探索した。その中で、細胞増殖に関わるものとして Regenerating islet-derived (Reg) 3 α 、Reg3 β に着目した。興味深いことに、Reg3 (特に Reg3 β) は ALPPS 群でのみ発現が認められ、3 群における肝体重比増加の差異のみならず肝細胞増殖能指標の差異とも極めてよく一致した。Reg3 の作用は JAK2/STAT3 経路を介することが報告されていることから、先に述べた ALPPS 群における JAK2/STAT3 経路の活性化機序を支持するものであった。

結論

ALPPS 手術で肝離断の追加が急速に予定残肝を増大させる機序の本質は、炎症性サイトカインの増加ではなく、早期の JAK2/STAT3 経路の活性化にあり、そこには Reg3 (特に Reg3 β) の発現が強く関わっていることが示唆された。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査： 田中正光

申請者： 大塚直彦

論文題名： Reg3 α and Reg3 β expressions followed by JAK2/STAT3 activation play a pivotal role in the acceleration of liver hypertrophy in a rat ALPPS model (Reg3 α と Reg3 β の発現はJAK2/STAT3 経路を介してラット ALPPS モデルにおける急速な肝容量増大に重要な役割を果たす)

要旨

著者の研究は、論文内容要旨に示すように、肝切除において残肝容量の短期間で増大を期待できる ALPPS 術式の、残肝増大機序を分子的に検証したものである。ALPPS では初回に切除予定線に沿った肝離断を行う事が特徴である。この肝離断による残肝細胞の増殖誘導が、何に起因するのかを研究した。最初に、産生される炎症性サイトカインの量についてラットを用いたモデルで他の術式と比較したが有意差はない事を証明した。阻害剤投与の検討から、ALPPS 群の急速な肝細胞増殖は JAK2/STAT3 経路の活性化に依存する事を見出した。その責任因子を探索するため、術後肝組織の網羅的遺伝子解析を行い、Reg3 α および Reg3 β を抽出し、さらに肝組織内発現パターンから特に Reg3 β を介した JAK2/STAT3 経路の活性化が ALPPS による残肝細胞増殖に重要であることを発表した。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

ALPPS は残肝容量を急速に誘導させ、肝切除の適応症例を広げる新しい術式であるが、その基礎研究は報告が少なく、なぜ残肝容量が早期に増大してくるのか不明であった。発表者らは、これまでに示唆されていた炎症性サイトカインによる肝細胞の増殖誘導の差が原因であるという点をラットモデルで検証し、それが本質ではない事に気付いた。独自に ALPPS を施行した肝組織から網羅的遺伝子解析を行い、細胞増殖に関連する因子として Reg3 α お

よび Reg3 β が発現誘導される事を見出した。特に Reg3 β は ALPPS 群でのみ発現上昇する分子であり、その残肝組織での発現パターンも特徴的である事を見出した。最終的に Reg3/JAK2/STAT3 経路の活性化が ALPPS 群における残肝容量の早期増大に重要である事を初めて明らかにした点で新規性が高い。

2) 重要性

新しい ALPPS 術式の臨床的有用性は知られていても、その長所である残肝容量の急速増加の機構はよく理解されていなかった。そのメカニズムとして、これまで報告のなかった Reg3/JAK2/STAT3 経路を同定した事は、学術的にも重要性が高い。今後、これを踏まえた薬剤開発がさらに肝切除法の改善、ステップアップに貢献する可能性もあり、臨床に還元される事が期待される。

3) 研究方法の正確性

ALPPS を出発にした問題提起を解決するため、ラットを用いてよくデザインされた外科的処置の比較実験を行った。先行報告の検証的実験から開始し、網羅的遺伝子解析から責任分子の抽出まで、論理的に進められている。

4) 表現の明瞭さ

研究目的、方法、実験結果の表現は適切であり、これまでの肝切除療法の問題点の解説や、ALPPS 術式における将来の展望を含めた考察に対しても、明瞭に発表したと考える。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。