

氏名	王 燕 慶		
学位の種類	博 士 ( 医 学 )		
学位記番号	第 3938号		
学位授与年月日	平成13年 3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者		
学位論文名	Inhibition of hepatic stellate cell proliferation and activation by the semisynthetic analogue of fumagillin TNP-470 (フマジリン誘導体TNP-470によるラット肝星細胞増殖および活性化の 制御)		
論文審査委員	主 査 教 授	平川 弘聖	副主査 教 授 福島 昭治
	副主査 教 授	木下 博明	

### 論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕肝障害に際して肝星細胞は活性化、増殖を経て多量の細胞外基質を産生し、その結果肝線維化をもたらす。それゆえ、肝星細胞の活性化、増殖を抑制することは肝線維化の治療にとって重要である。今回、血管新生阻害剤として知られるTNP-470による抑制効果を四塩化炭素及びN-ニトロソジメチルアミン (DMN) による肝線維化ラットモデルならびに培養細胞系を用いて検討した。

〔方法〕Wistar系雄ラットに四塩化炭素 (1ml/kg・体重) を週2回皮下に7、9週間、あるいはDMN (10ml/kg・体重) を週3回腹腔内に4週間注射した。肝組織切片を免疫染色し、陽性細胞数をカウントした。培養実験はコラーゲナーゼとプロナーゼのかん流により分離した星細胞をPDGF-BB添加あるいは非添加の10%FBS-DMEMで培養し、TNP-470 (1000ng/ml) を加えて免疫染色ならびに生化学的分析を行った。

〔結果〕四塩化炭素並びにDMNによる肝線維化において、TNP-470投与により線維化領域は小さくなった。また活性化星細胞 (=  $\alpha$  SMA陽性細胞) やBrdUを取り込んだ間質細胞の数は有意に減少した。培養星数の $\alpha$  SMAの発現ならびBrdUの取り込みは、PDGF-BBの存在の有無によらず、TNP-470の添加により有意に減少した。またTNP-470は肝星細胞のcyclin D1, D2およびEの発現を抑制した。さらに $\alpha$  SMA及びPDGF-receptorの発現も抑制した。以上の結果により、TNP-470は細胞周期G1をブロックすることによって星細胞の増殖を抑制することが示唆され、また肝星細胞の活性化を押さえることが示された。

〔結論〕TNP-470は細胞周期G-1をブロックすることによって肝星細胞の増殖、活性化を抑制することによって肝線維化を遅延させることが示された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

肝障害に際して肝星細胞は活性化、増殖を経て多量の細胞外基質を産生し、その結果肝線維化をもたらすとされる。それゆえ、肝星細胞の活性化、増殖を抑制することは肝線維化の治療の一つとして考えられる。本研究では血管新生阻害剤として知られるTNP-470による抑制効果を四塩化炭素及びN-ニトロソジメチルアミン (DMN) による肝線維化ラットモデルならびに培養肝星細胞系を用いて検討している。Wistar系雄ラットを用いて四塩化炭素 (1ml/kg・体重) を週2回皮下に7、9週間、あるいはDMN (10ml/kg・体重) を週3回腹腔内に4週間注射した。肝組織切片をデスミン、 $\alpha$ -SMAおよびBrdUの抗体を用いて免疫染色し、陽性細胞数をカウントしている。in vitroの検討では分離星細胞をPDGF-BB添加あるいは非添加の10%FBS-DMEMで48、60、72時間に培養し、TNP-470 (0.1, 10, 1000ng/ml) を加えて免疫染色ならびに

生化学的分析をおこなっている。その結果、四塩化炭素並びにDMNによ肝線維化はTNP-470投与により線維化の抑制がみられ、また活性化星細胞(=  $\alpha$  SMA陽性細胞)やBrdUを取り込んだ間質細胞数は有意に減少した。培養星数の $\alpha$  SMAの発現ならびBrdUの取り込みは、PDGF-BBの存在の有無によらず、TNP-470の添加により有意に減少した。またTNP-470は肝星細胞のcyclin D1, D2およびEの発現を抑制した。さらに $\alpha$  SMA及びPDGF-receptorの発現も抑制した。以上の成績は、TNP-470が細胞周期G1をブロックすることによって星細胞の増殖を抑制することを示唆したものであり、また肝星細胞の活性化を押さえることが示されている。

本論文は、肝障害時に肝星細胞が増殖、活性化されて肝線維化の原因となる課程において、TNP-470が肝星細胞の増殖、活性化を抑制して肝線維化を遅延させることを示したもので、肝線維化を抑制することで、その治療に寄与するものと考えられる。よって、著者は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定された。