

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
米田浩二	主査 教授 宮崎 瑞夫
	主査 教授 谷川 允彦
	副査 教授 芝山 雄老
	副査 教授 樋口 和秀
	副査 教授 花房 俊昭
主論文題名 Significance of chymase-dependent angiotensin II formation in the progression of human liver fibrosis (ヒト肝硬変進展におけるキマーゼ依存性アンジオテンシンII産生機構の重要性)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目的》</p> <p>アンジオテンシン(Ang)IIは、血圧や全身の恒常性を調節する作用だけでなく、組織の線維化にもかかわっており、肝臓の線維化もその1つとされている。最近、アンジオテンシンIIタイプ1レセプター拮抗薬(ARB)とアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬が、ラットの肝臓の線維化進展を抑制したと報告された。臨床研究では、ARB投与により、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)患者の肝線維化を減少させたことが示された。ACEや、肥満細胞の分泌顆粒中にみられるキマーゼは、AngIをAngIIに変換する酵素として知られている。しかしながら、肝臓の線維化進展には、これら2つの酵素のどちらがより関与するかは、不明であった。AngIIの産生経路を同定することは、治療薬を選択する上においても重要である。本研究では、肝硬変の進展と二つのAngIIの産生酵素との関連性を検討した。</p> <p>《方法》</p> <p>ヒト肝切片は、2005年2月から2006年12月の期間、本学一般消化器外科で施行された肝切除手術標本より得た。77症例中の内訳は、男性57人、女性20人で、肝細胞癌53例、転移性肝癌18例、胆管細胞癌1例、限局性結節性過形成1例、自己免疫性肝炎1例、自己免疫性膵炎1例、肝血管腫1例、胆嚢癌1例であった。平均年齢は、66±1.1歳(25～82歳)であった。17例はHBAg陽性、27例はHCV陽性であった。ACE阻害剤の内服症例は除外した。</p> <p>肝臓の線維化の程度は、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を用いて新犬山分類を基準にして評価した。F0(線維化なし): n=16、F1(門脈域の線維性拡大): n=10、F2(線維性架橋形成): n=19、F3(小葉のひずみを伴う線維性架橋形成): n=13、F4(肝硬変): n=13であった。F0グループを正常群、F1+F2グループを中等度線維化群、F3+F4グループを高度線維化群として、3群に分けて検討を行った。キマーゼ活性、ACE活性、AngII産生能は、組織抽出液を用いて、AngI、合成基質hippuryl-His-Leu、AngIをそれぞれ基質に測定した。組織切片の一部は、マロリー・アザン、トルイジンブルーで染色した。キマーゼ陽性細胞とAngII陽性細胞は、抗キマーゼ抗体と抗AngII抗体にて同定した。</p>	

《結果》

組織抽出液中の、キマーゼ活性と総 AngII 活性は、高度線維化群が、正常群、中等度線維化群と比較して有意に上昇していた。しかし、ACE 活性は 3 群間に有意差はみられなかった。また、キマーゼ活性と総 AngII 活性の間には、有意な相関がみられたが、ACE 活性と総 AngII 活性・キマーゼ活性の間には相関は認められなかった。

マロリーアザン染色により定量化した線維化面積率は、正常群、中等度線維化群、高度線維化群と線維化が増強するほどそれぞれ有意な高値を示していた。

組織染色では、キマーゼ陽性細胞とトリイジンブルー染色で染まっている肥満細胞とが一致しているのを確認、AngII 陽性細胞とキマーゼ陽性細胞の一致も確認できた。キマーゼ陽性細胞数は、高度線維化群で、正常群、中等度線維化群と比較して有意に増加していた。また、AngII 陽性細胞数は、中等度線維化群、高度線維化群で、正常群と比較して有意に増えていた。

キマーゼ陽性細胞数と線維化面積率、AngII 陽性細胞数と線維化面積率、キマーゼ陽性細胞数と AngII 陽性細胞数の間には各々有意な相関が認められた。

《考察》

ACE が AngI を AngII に変換する酵素であることは、よく知られているが、キマーゼも AngI を AngII に変換し、その発現もさまざまな臓器におよぶことが確認されている。しかし、肝硬変症例に関与する AngII の産生にはいずれの酵素によるものかは不明であった。今回の検討では、キマーゼ活性と総 AngII 産生活性は、線維化程度が進行するに連れて増加するのに対して、ACE 活性と、線維化の程度との関連性は認められなかった。

病理組織的検討の結果は、線維化面積の増加に一致してキマーゼ陽性細胞数と AngII 陽性細胞数の増加を示していた。また、AngII 陽性細胞の多くは、キマーゼ陽性細胞と一致していた。さらに、キマーゼ陽性細胞数と AngII 陽性細胞数と線維化面積率の 3 群間にも、それぞれ相関性がみられた。このことから、肝線維化の病因にキマーゼ依存性の AngII が、かかわっている可能性が高いと考えられた。

以前の報告で、AngII は肝星細胞を活性化して肝線維化に関与することが指摘されており、本研究で認められた AngII 陽性細胞数と肝線維化の相関はこれを裏付けている。

キマーゼは、AngII 産生酵素として知られているだけでなく、TGF β 1 を前駆物質から活性化することも知られている。以前の *in vitro* の実験で、キマーゼはヒトの線維芽細胞を有意に増殖させた。この細胞増殖は、ARB ではなくキマーゼ阻害薬で抑制された。このことは、キマーゼによる線維化には、AngII 産生以外の機序も介在する可能性を示唆している。

本研究では、キマーゼ依存性 AngII が、肝線維化で重要な役割をしている可能性が示唆された。今後、キマーゼ阻害薬の肝線維化の進展予防薬としての可能性が期待される。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	米 田 浩 二
論文審査担当者		主 査 教 授 宮 崎 瑞 夫	
		主 査 教 授 谷 川 允 彦	
		副 査 教 授 芝 山 雄 老	
		副 査 教 授 樋 口 和 秀	
		副 査 教 授 花 房 俊 昭	
主論文題名			
Significance of chymase-dependent angiotensin II formation in the progression of human liver fibrosis (ヒト肝硬変進展におけるキマーゼ依存性アンジオテンシン II 産生機構の重要性)			
論文審査結果の要旨			
<p>肝硬変の進展に関わっているさまざまな要因のなかで、近年、アンジオテンシン(Ang)II の重要性が注目されている。しかし、AngII の産生機構として AngI を AngII に変換する酵素として知られているアンジオテンシン変換酵素(ACE)と肥満細胞の顆粒中にみられるキマーゼのどちらがより関与しているかは不明であった。本研究では、肝硬変の進展における AngII の産生酵素の動態を、肝切除手術標本の非腫瘍部を用いて検討している。</p> <p>線維化の程度は、ヘマトキシリン-エオジン染色標本を用いて新犬山分類を基準に正常群、中等度線維化群、高度線維化群に分類している。組織抽出液中の、キマーゼ活性と総 AngII 活性は、高度線維化群が、正常群、中等度線維化群と比較して有意に上昇していたが、ACE 活性には 3 群間に有意差を認めていない。また、キマーゼ活性と総 AngII 活性の間には、有意な相関をみるが、ACE 活性と総 AngII 活性の間には相関は認めていない。</p> <p>組織染色において、マロリーアザン染色により定量化した線維化面積率は、正常群、中等度線維化群、高度線維化群と線維化が増強するほどそれぞれ有意に高値を示していた。キマーゼ陽性細胞とトリジンブルー染色に染まっている肥満細胞が一致しており、AngII 陽性細胞とキマーゼ陽性細胞の一致も確認している。高度線維化群は、正常群、中等度線維化群と比較してキマーゼ陽性細胞数は有意に増加していた。また、AngII 陽性細胞数は、中等度線維化群、高度線維化群で、正常群と比較して有意に増加した。キマーゼ陽性細胞数と AngII 陽性細胞数と線維化面積率の間には各々有意な相関を認めている。</p> <p>組織抽出液を用いた検討では、キマーゼ活性と総 AngII 活性のみが、線維化程度の進行に連れて増加していることから、キマーゼ活性の上昇が組織 AngII 産生の上昇ならびに組織線維化に関連する可能性を示唆している。病理組織的検討では、線維化面積の増加に相関してキマーゼ陽性細胞数と AngII 陽性細胞数が増加し、多くの AngII 陽性細胞の局在が、キマーゼ陽性細胞に一致している。このことは、キマーゼ陽性肥満細胞が、局所 AngII 産生と密接に関連することを示している。</p> <p>以上から、肝硬変の進展には、キマーゼ依存性の AngII が、強くかかわっている可能性を唱えている。肝硬変において、線維化進展の予防薬としてキマーゼ阻害薬の新たな可能性を提示している。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 9 条に定める所の博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p>			
(主論文公表誌) Hepatology Reserch : in press			