

学位論文の内容の要旨

久保 憲生 印

(学位論文のタイトル)

Conophylline Suppresses Hepatic Stellate Cells and Attenuates Thioacetamide-induced Liver Fibrosis in Rats

(コノフィリンは肝星細胞を抑制し、ラットにおいてチオアセトアミドで誘導される肝嚢線維化を抑制する)

Liver International 2013 (accepted)

Kubo N, Saito R, Hamano K, Nagasawa M, Aoki F, Takei I, Umezawa K, Kuwano H, Kojima I

(学位論文の要旨)

1) 研究背景と目的

肝硬変は原因に関わらず慢性肝障害の終末像であり致命的な病態である。肝星細胞は肝障害時に活性化され、大量のコラーゲンを産生して肝線維化を進行させる細胞であり、肝星細胞を標的とした抗線維化療法が注目されている。タイ原産の熱帯植物 *Ervatamia microphylla* の葉から単離されたコノフィリンは、臍β細胞の分化誘導作用を持ち、また臍星細胞を抑制し臍β細胞の線維化を抑制する作用を持つことが報告されている。今回、コノフィリンの投与により肝星細胞を抑制し、肝線維化が抑制されるか検討した。

2) 研究方法

肝星細胞の細胞株 Lx-2 とラット肝組織より抽出した肝星細胞に対してコノフィリンを投与し、肝星細胞の活性化の指標である α SMA、線維化の指標である collagen-1 を定量した。また Lx-2 細胞の DNA 合成や apoptosis に対するコノフィリンの効果についても検討した。動物実験として、チオアセトアミドの腹腔内投与により肝に線維化を起こし、コノフィリンを併行投与した群と vehicle のみ投与した control 群とを比較検討した。

3) 結果

コノフィリンの投与により、ラット肝組織由来肝星細胞と Lx-2 細胞において、 α SMA と collagen-1 の発現低下が western blot、Sircol red assay にて確認された。またコノフィリンは caspase-3 を活性化さ

せapoptosisに誘導することがFRET、DNA ladder、TUNEL assayの実験結果から確認された。チオアセトアミドにより肝線維化を誘導したラットにおいて、コノフィリンを投与したラットでは、コントロール群と比較して、肉眼的に肝表面の凹凸が軽減されており、また組織切片の検討においても、コントロール群で認める偽小葉構造や胆管周囲の線維化といった所見が、コノフィリン投与群では減少していた。Masson染色を行い、fibrotic areaとして測定して検討した結果、有意に減少していた。肝組織に含まれるコラーゲン量をSircol red assayで測定すると含有されるコラーゲン量が著名に低下しており、コラーゲン量を反映するHydroxyprolineも有意に低下していた。 α SMAの免疫染色にて染色される部位がコントロール群と比較し、減少していることから、in vivoでも肝星細胞の活性化が抑制されていることが示された。

4) 考察

活性化肝星細胞は多量の線維を産生し肝線維化を促進する細胞であるが、今回の検討で肝星細胞による線維化をコノフィリンが抑制することが示された。またコノフィリンにより肝星細胞の活性化が抑制され、apoptosisに誘導されることが示された。コノフィリンによりMAPKの活性化が確認されたが、MAPKの活性化は肝星細胞の活性化に繋がるとの報告があり、コノフィリンはapoptosis誘導等の作用機序を介し、肝星細胞を抑制することが示唆され今後の検討課題である。また動物実験においては、コノフィリンによる副反応等は観察されず、肝線維化が抑制されることが示された。

5) 結語

コノフィリンはin vitro、in vivoにおいて肝線維化を抑制することが示された。また肝星細胞の活性化を抑制し、線維の増生を低下させるとともに、apoptosisに誘導することが示された。