

森内 博紀 論文内容の要旨

主 論 文

Diverse Effects of FK506 on the apoptosis of hepatocytes and infiltrating lymphocytes in an allografted rat liver.

(ラット肝移植における肝細胞と浸潤リンパ球のアポトーシスに及ぼす FK506 の多様な効果について)

森内 博紀、蒲原 行雄、江口 晋、古 維立、藤岡 ひかる、
山本 孝夫、田島 義証、兼松 隆之、小路 武彦

Journal of Surgical Research in press, 2009 年

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻
(指導教授：兼松隆之教授)

緒 言

肝移植において、アポトーシスは免疫寛容の誘導に対して重要な役割があるとされる。また、アポトーシスは Fas/Fas-ligand, Bcl-2 family などの制御因子によりコントロールされている。

一方、免疫抑制剤である FK506 は臨床の移植領域で広く用いられている薬剤であるが、T 細胞のアポトーシスを増強するという報告もありその作用機序は未解明な点が多い。本研究ではラット肝移植モデルを用いて、FK506 の肝細胞に対する効果をアポトーシスおよびアポトーシス制御因子の点から検討を行った。

対象と方法

実験動物：雄性 Dark Agouti (DA) ラット及び雄性 Lewis (LEW) ラットを用いた。

ラット肝移植：同所性肝移植（鎌田法；胆管はステント、門脈および下大静脈はカフ吻合し、肝動脈は非再建）を行った。

実験群：a. FK506 非投与群 (allo group, DA→LEW)

b. FK506 (0.2mg/kg/day) 投与群 (allo-FK group, DA→LEW)

c. 同系移植群 (syn group, LEW→LEW) の 3 群に分類した。

評価：それぞれ術後 1, 3, 5, 7 日目に各 5 匹ずつ犠牲死させて血液、移植肝を採取し、以下の検討を行った。

- 1) 血清 AST, ALT, T. Bil の推移及び HE 染色にて移植肝の障害度の検討を行った。
- 2) 移植肝について TUNEL 染色を行い、肝細胞および浸潤リンパ球のアポトーシスについて検討した。
- 3) 移植肝において Fas/Fas ligand, Bcl-2/Bax の発現についてウェスタンブロッティング及び免疫組織学的検討を行った。

結 果

1) 血清 AST, ALT, T. Bil 及び H. E. 染色

血清 AST, ALT, T. Bil ; allo-FK group でいずれも低値の傾向を示した。

H. E. 染色 ; 術後を通じて allo-FK group において移植肝の急性拒絶反応は抑えられていた。

2) 移植肝のアポトーシス

TUNEL 染色 ; 術後 5, 7 日目では allo-FK group において TUNEL 陽性の門脈域浸潤リンパ球が多く認められた。また、肝細胞については、allo group において TUNEL 陽性の門脈周辺肝細胞を多く認めた。なお、同系移植群では術後を通じて肝細胞及び浸潤リンパ球のアポトーシスは殆ど認めなかった。

Apoptotic Index (AI) ; 門脈域浸潤リンパ球の AI は allo-FK group では術後 3 日目にピークとなり、以降術後 7 日目まで漸減した。また、術後 5 日目に AI は allo-FK group で有意に高値であった。肝細胞では、a, b 群共に AI は術後漸増傾向がみられたが、allo-FK group で術後 3, 5 日目に有意に低値であった。

3) アポトーシス制御因子のタンパク発現

ウェスタンブロッティング ; Fas は術後 1, 3, 5 日目では allo-FK group に発現の減弱を認めた。Bcl-2 は allo-FK group において術後全般に発現を認め、allo group より強く発現する傾向にあった。

免疫組織染色 ; 門脈周辺肝細胞の Fas 発現は、移植後 3, 5 日目において allo group で高度であった。一方、中心静脈周囲肝細胞の Bcl-2 発現は、移植後を通じて allo-FK group で高度であった。正常肝では中心静脈周囲肝細胞の Bcl-2 発現は見られなかったが、syn group では allo group と比較して術後 1 日目では同程度、術後 5 日目ではより強く発現し、allo-FK group との比較では術後 5 日目の発現は弱かった。

考 察

本研究の結果から FK506 は、門脈周辺肝細胞の Fas 発現を抑制するとともに中心静脈周囲肝細胞に Bcl-2 発現を促進させ、移植肝において有益な抗アポトーシス効果を誘導していることが確認された。

この機序として、FK506 のリンパ球と肝細胞に対する効果が認められ、リンパ球に関しては 1) 浸潤 T リンパ球に対して直接的に pro-apoptotic gene を誘導、2) IL-2 などのサイトカイン産生抑制を介し間接的に活性化 T リンパ球にアポトーシスを誘導、の両者が推測される。一方、肝細胞に対しては直接的に門脈域周辺肝細胞の Fas 抗原発現を抑制し、中心静脈周囲肝細胞には Bcl-2 発現を促進させている可能性が示唆された。

本研究の結果より FK506 には従来のリンパ球を介した免疫反応のみならず多様な直接効果を有することが示唆され、今後の薬剤適応拡大や新規治療法の開発の一助となることが期待される。