

学位授与番号：甲 1064 号

氏 名：朴 鍾熾

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 2 月 28 日

学位論文名：

Alpha-1 antichymotrypsin is involved in astrocyte injury in concert with arginine-vasopressin during the development of acute hepatic encephalopathy.

(α 1-アンチキモトリプシンはバソプレシンと協調して致死的肝性脳症におけるアストロサイト障害を惹起する)

学位論文審査委員長：教授 坪田昭人

学位論文審査委員：教授 岩本武夫 教授 繁田雅弘

論文要旨

氏名	朴 鍾赫	指導教授名	松浦 知和
----	------	-------	-------

主論文

Alpha-1 antichymotrypsin is involved in astrocyte injury in concert with arginine-vasopressin during the development of acute hepatic encephalopathy.

(α 1-アンチキモトリプシンはバソプレシンと協調して致死的肝性脳症におけるアストロサイト障害を惹起する)

Jonghyuk Park, Takahiro Masaki, Yoshihiro Mezaki, Hiroshi Yokoyama, Mariko Nakamura, Haruka Maehashi, Takahiko J. Fujimi, Sabine S. Gouraud, Keisuke Nagatsuma, Madoka Nakagomi, Naofumi Kimura, Tomokazu Matsuura
PLoS ONE. 2017; 12(12): e0189346.

要旨

【背景・目的】 劇症肝炎などの急性肝不全に伴う肝性脳症は、急速な脳浮腫により昏睡から呼吸停止、死亡に至る重篤な病態である。肝性脳症時に認められる脳浮腫の本態は、星状膠細胞（アストロサイト）障害に伴う細胞浮腫とされている。急性肝不全時に血中で上昇するアンモニア、グルタミンはアストロサイト障害、浮腫を引き起こす原因物質として考えられているが、肝性脳症の発症機構及びその誘発因子に関しては未だに不明な点が多い。本研究の目的は、肝性脳症の発症に関与する新規因子を同定し、アストロサイト障害および浮腫との関連性を明らかにすることである。

【方法】 肝性脳症誘発因子を同定するために、キノコ毒素である α -amanitin と LPS の経門脈的投与により急性肝不全を惹起したミニブタモデルを作製した。肝不全発症前、脳症発症時、バイオ人工肝臓による体外循環施行後のミニブタよりそれぞれの血漿を回収し、比較プロテオーム解析を行った。次に培養ヒトアストロサイトを用いて、アストロサイト浮腫の形成に関連する水チャネルタンパク質 AQP4 の細胞内発現および細胞障害性を解析した。

【結果】 比較プロテオーム解析により、脳症発症時に血中で上昇し体外循環後に減少するタンパク質として ACT を同定した。培養ヒトアストロサイトを用いた実験では、ACT の添加により細胞増殖が有意に抑制され、また細胞障害が惹起された。さらに、ACT の添加は AQP4 の mRNA 発現量およびタンパク質レベルを増加させた。次に、急性肝不全時に血中で増加する AVP に着目し、アストロサイト障害および細胞内 AQP4 の発現を解析したところ、AVP 単独添加では細胞障害、AQP4 の発現誘導を認めなかった。しかし興味深いことに、ACT と AVP の併用添加により、ACT 単独添加以上にアストロサイト障害および AQP4 発現が増強した。これらの AVP の増強作用は AVP レセプター阻害剤 (OPC-21268) の添加によりキャンセルされたことから、ACT は AVP と協調してアストロサイト障害を誘発する可能性が示唆された。

【結論】 急性肝不全ミニブタモデルを用いたプロテオーム解析により肝性脳症発症への関与が示唆されるタンパク質として ACT を同定した。本研究をさらに発展させることにより、致死的肝性脳症の発症機構解明、新規診断・治療法開発への道が拓ける可能性が示された。

学位論文審査結果の要旨

朴 鍾燦氏の学位請求論文は主論文 1 編 1 冊よりなり、その表題は「Alpha-1 antichymotrypsin is involved in astrocyte injury in concert with arginine-vasopressin during the development of acute hepatic encephalopathy (α1-アンチキモトリプシンはバソプレシンと協調して致死的肝性脳症におけるアストロサイト障害を惹起する)」であり、PLoS ONE 誌 (2017 年) に発表された。指導教授は臨床検査医学講座の松浦知和教授である。

平成 30 年 1 月 22 日に主査：坪田昭人 (東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター基盤研究施設 教授)、副査：繁田雅弘 (東京慈恵会医科大学精神医学講座 教授) および岩本武夫 (東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター基盤研究施設 教授) の審査委員により公開学位審査が開催された。朴氏による研究概要の発表に続いて口頭審査を実施された。

席上、以下の質疑が為された。

- ・動物モデルに対する毒素投与はヒトの病態を反映しているのか？
- ・動物モデルとしてのミニブタの特徴について
- ・肝性脳症・脳浮腫の進展・回復は何をモニターして判断したのか？
- ・アストロサイトの浮腫のみで実際の脳浮腫をどれだけ説明できるのか？
- ・人工肝による体外循環後は、蛋白が希釈され濃度が低下しているのではないのか？
- ・人工肝による体外循環後にむしろアンモニアが上昇している理由は？
- ・化学構造的に α1-アンチキモトリプシン (ACT) の作用機序をどう考えているのか？
- ・ACT や NH₄Cl の細胞傷害性は AQP4 の発現増加によると考えてよいか？
- ・そうであるならば、その分子機序は？

等々、細部にわたり数多くの質疑がなされたが、それぞれに対して朴氏より適切かつ的確な回答がなされた。本論文の特筆すべき点は、

- ・大動物モデルであるミニブタにより肝性脳症・脳浮腫を再現し、その原因物質である α1-アンチキモトリプシン (ACT) を同定したこと、
 - ・その ACT がアストロサイトに対して細胞障害性を示し、アクアポリン-4 (AQP4) の発現を増強することを初めて示したこと、
 - ・ACT とアルギニン-バソプレシン (AVP) の関連性を初めて明らかにしたこと、
- が挙げられる。なお、本論文の内容は第 29 回世界病理臨床検査医学会連合会議 (World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine) で Best Presentation Award を受賞している。

学位審査委員会は慎重審議の結果、本論文を学位論文として十分価値があるものと認めた次第である。なお、Thesis に専門用語の不正確さ、及び文脈や文章の構成におかしな部分があったため、後日修正がなされた。修正された内容を各審査員が確認・承認後に再提出がなされた。