

氏 名	田 中 公 章
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 3336 号
学位授与の日付	平成19年3月23日
学位授与の要件	医歯学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目	Prolonged Survival of Mice with Acute Liver Failure with Transplantation of Monkey Hepatocytes Cultured with an Antiapoptotic Pentapeptide V5 (抗アポトーシスペプチドV5を用いた培養サル肝細胞移植による急性肝不全モデルマウスの長期生存)
--------	--

論文審査委員	教授 許 南浩 教授 榎野 博史 助教授 坂口 孝作
--------	----------------------------

#### 学位論文内容の要旨

肝疾患を対象とした肝細胞移植やバイオ人工肝臓といった細胞療法が近年注目されている。細胞療法の発展には、細胞機能を保持した培養法の開発は重要課題である。今回我々は培養肝細胞のアポトーシスを抑制する目的で、DNA 修復因子のサブユニットである Ku70 の Bax 結合部位に相当する 5 個のアミノ酸から合成されたペプチド V5 に注目し、V5 による培養後より低侵襲である肝細胞シートによる移植効果について検討した。初代分離サル肝細胞培養を、細胞接着性を有する PAU で覆われている細胞接着性不織布 (PTFE) 上で V5 非添加 (A)、V5 (50  $\mu$ M) 添加 (B)、V5 (100  $\mu$ M) 添加 (C) の 3 群に分けた。培養後のアルブミン生産能、アンモニア代謝率、リドカインとジアゼパムの代謝活性を比較検討した。パワープロットを使用しアポトーシス関連分子を解析した。90%肝切除による急性肝不全モデルマウスの脾臓表面に不織布で移植し、血糖値、アンモニア値、脳症スコア、生存率を検討した。その結果、アルブミン生産能、アンモニア除去率、リドカイン及びジアゼパム代謝率は 100  $\mu$ M で最も良好であった。V5 添加にて抗アポトーシス蛋白 (Ku70, NF- $\kappa$ B, IKAP, hILP/XIAP, I $\kappa$ B, CAS) の発現増強を認めた。不織布による脾臓への肝細胞シート移植によりマウスの血糖値、アンモニア値、肝性脳症、生存率の有意な改善を認めた。このように抗アポトーシスペプチド V5 は、肝細胞の分化形質を維持するのに有効であった。また、肝細胞シート移植は従来の脾臓内の細胞移植と比較してより観血的でなくより低侵襲で非常に魅力的な方法である。

#### 論文審査結果の要旨

肝細胞移植は肝不全の治療法として有望なものであるが、肝細胞は分離するだけで相当程度のアポトーシスが誘導される。田中公章君は、アポトーシス誘導に働くタンパク質 BAX のペプチド阻害剤 V5 に着目し、V5 存在下でサル肝細胞を細胞接着性不織布上で培養した後、脾臓表面に移植して肝不全状態のマウスを救命できるかどうかを検討した。その結果、V5 の添加が初代培養サル肝細胞の生存・機能保持に有用であること、肝細胞シートの脾臓表面移植により全身状態の改善・肝機能の改善がみられ、明白な救命効果があることを明らかにした。審査委員会は、本研究が肝不全に対する細胞移植療法の確立に向けて重要な意味をもつ研究であると判断した。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。