

氏 名（本籍）	うち 内	やま 山	てつ 哲	ゆき 之
学位の種類	博 士（医 学）			
学位記番号	医 博 第 1 5 5 6 号			
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 25 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻			
学位論文題目	Interleukin-10 Induction After Combined Resection of Liver and Pancreas. （肝臓同時切除術後の Interleukin-10 誘導について の検討）			

（主 査）

論文審査委員	教授 松 野 正 紀	教授 里 見 進
	教授 大 井 龍 司	

論 文 内 容 要 旨

【背景および目的】

進行肝・胆道系悪性腫瘍に対する拡大手術として肝切除および膵頭十二指腸切除を同時に施行する肝膵同時切除術が施行されることがあるが、術後に高率に肝不全を併発し、臨床成績は必ずしも満足すべきものではない。肝不全発生には肝再生抑制と遅延が複雑に関与しているものと考えられる。力山は、HPx 術後1時間後のラット血清を加えてKupffer細胞を培養すると、加熱により失活する液性因子が放出され、この培養上清が初代培養肝細胞のDNA合成能を低下させることを明らかとした。本実験では、この液性因子の本態を明らかとすることを目的としてサイトカインネットワーク、特に肝再生のinitiation factorと考えられているTumor necrosis factor (TNF)- α とその抑制因子Interleukin (IL)-10に注目しHPx術後の肝再生抑制機構の解明を試みた。

【材料および方法】

動物は、体重200~250gのSprague-Dawley (SD)系雄性ラットを用い、これを以下の3群に分けた。70%肝切除施行のHx群、70%膵切除施行のPx群、さらにこの双方を一期的に施行した群をHPx群。術後1, 3, 6, 12, 24時間後に犠死させ門脈血を採取し各種検討を行った。サイトカイン濃度は各々rat TNF- α ELISA kit, rat IL-10 ELISA kitを用いて測定した。また、各群の手術後0, 1, 3, 6時間後の肝・腎・脾・膵・肺からRNAを分離し、これをIL-10cDNAをプローブとしてNorthern blotting法にてIL-10 m-RNAの発現について比較検討した。

【結 果】

- 1) 濃縮Kupffer培養上清による初代肝細胞培養系におけるDNA合成能の比較検討；各群の手術後1時間後の門脈血清で刺激したKupffer培養濃縮上清で初代培養肝細胞を刺激すると、そのDNA合成能はHx群とPx群ではコントロールと有意差がないのに対して、HPx群では有意にDNA合成能が低下した。また、この抑制活性を持つ濃縮上清を56°C30分で処理すると、この抑制活性は失われた。
- 2) Kupffer細胞培養上清中のTNF- α 濃度；術後1時間後の血清で刺激したKupffer細胞培養上清中のTNF- α 濃度はHx群血清刺激の場合はHPx群血清刺激よりも有意に低値であった。Px群はHx群と有意差がなかった。

3) Kupffer 培養上清中の IL-10 濃度 ; Hx 群血清刺激に対して, HPx 群血清刺激では有意に高値であった。Px 群血清刺激では Hx 群と有意差がなかった。

4) 門脈血清中の IL-10 濃度 ; Hx 群と Px 群では, 全経過を通してほぼ術前値と同等で推移するのに対して, HPx 群では術後 6~12 時間後で有意に著しい高値を示した。

5) Northern blot analysis ; 肝で HPx 術後に IL-10 mRNA の発現が強いことが確認されたが, さらに脾で HPx 術後には IL-10 mRNA の発現が非常に強く認められた。

6) recombinant IL-10 による Kupffer 細胞の TNF- α 産生抑制についての検討 ; Kupffer 細胞培養系において Hx 群術後 1 時間の血清に加えて recombinant IL-10 を 0, 0.1, 1.0, 10, 100ng/ml 添加すると濃度依存性に培養上清中の TNF- α 濃度が低下することが明らかとなった。

【結 語】

以上より, HPx 術後には, Kupffer 細胞及び脾臓から IL-10 が過剰産生され, これが TNF- α の産生抑制をきたすために肝細胞の G0 から G1 への移行を阻害し肝再生抑制効果を発現しているとの仮説が考えられた。

審査結果の要旨

進行肝・胆道系悪性腫瘍に対する拡大手術として肝切除および膵頭十二指腸切除を同時に施行する肝膵同時切除術が施行されることがあるが、術後に高率に肝不全を併発し、臨床成績は必ずしも満足すべきものではない。肝不全発生には肝再生抑制と遅延が複雑に関与しているものと考え、その抑制機構の本態を明らかとすることを目的としてサイトカインネットワーク、特に肝再生の initiation factor と考えられている。Tumor necrosis factor (TNF)- α とその抑制因子 Interleukin (IL)-10 に注目し肝膵同時切除術後の肝再生抑制機構の解明を試みている。

ラットモデルで70%肝切除施行の Hx 群、70%膵切除施行の Px 群、さらにこの双方を一期的に施行した群の HPx 群の3群を設定している。術後門脈血を採取し培養実験およびサイトカイン濃度測定を、また肝・腎・脾・膵・肺から RNA を分離し、Northern blotting 法にて IL-10-mRNA の臓器発現について比較検討している。

各群の手術後1時間後の門脈血清で刺激した Kupffer 細胞培養濃縮上清で初代培養肝細胞を刺激すると、その DNA 合成能は Hx 群と Px 群ではコントロールと有意差がないのに対して、HPx 群では有意に低下した。また、この抑制活性を持つ濃縮上清を 56°C30 分で処理すると、この抑制活性は失われた。さらに、術後1時間後の血清で刺激した Kupffer 細胞培養上清中の TNF- α 濃度は HPx 群血清刺激の場合は Hx 群血清刺激よりも有意に低値であった。IL-10 濃度は Hx 群血清刺激に対して、HPx 群血清刺激では有意に高値であった。次に、門脈血清中の IL-10 濃度を比較検討すると、Hx 群と Px 群では、全経過を通してほぼ術前値と同等で推移するのに対して、HPx 群では術後6-12 時間後で有意に著しい高値を示した。Northern blot analysis による検討では、肝で HPx 術後に IL-10 mRNA の発現が強いことが確認されたが、さらに脾で HPx 術後には IL-10 mRNA の発現が非常に強く認められた。また、肝細胞と Kupffer 細胞の混合培養系において Hx 群術後1時間の血清に加えて recombinant IL-10 を添加すると濃度依存性に培養上清中の TNF- α 濃度が低下することが明らかとなった。

以上より、HPx 術後には、Kupffer 細胞及び脾臓から IL-10 が過剰産生され、これが TNF- α の産生抑制をきたし、肝細胞の G₀ から G₁ への移行を阻害し肝再生抑制効果を発現しているとの仮説を得ている。

肝膵同時切除術後の肝再生抑制についての報告は散見されるようになってきているが、いまだその抑制のメカニズムについて解明を試みた報告は皆無である。また本研究はその抑制機構の解明から肝膵同時切除術後の肝不全回避という命題に対して大きく前進させようのものであり、その意味で学位論文に値する重要な研究といえる。