慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Transfer of the interleukin-1 receptor antagonist gene into rat liver abrogates hepatic ischemia-reperfusion injury.
Sub Title	ラット肝へのインターロイキン1受容体拮抗物質遺伝子導入による虚血再灌流障害の抑制
Author	原田, 裕久
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.43-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0043

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Transfer of the interleukin-1 receptor antagonist gene into rat liver abrogates hepatic ischemia-reperfusion injury.

（ラット肝へのインターロイキン１受容体拮抗物質遺伝子導入による虚血再灌流障害の抑制）

原　田　　裕　久

内容の要旨

【緒言】炎症性サイトカインInterleukin（IL）-1の受容体拮抗物質、IL-1 receptor antagonist（IL-1Ra）の門脈内投与によってラットの肝虚血再灌流障害は抑制される。本研究では、ラット肝へのヒトIL-1Ra遺伝子導入による虚血再灌流障害の抑制効果について検討した。

【材料、方法】ヒト分泌型IL-1RaのcDNAを発現プラスミドベクターにクローニングした。続いてIL-1Ra cDNAを挿入した発現コスミドカセットと親ウイルスゲノムのco-transfectによる相同組換えにて、組換えアデノウイルスを作製した。プラスミドDNAとカチオニックリポソームによるリポフェクション法、あるいは組換えアデノウイルスベクターによるAdex法を用いて、Wistar系雄性ラットに導入ベクターの門脈内注入による遺伝子導入を行った。遺伝子導入24時間後ラットを開腹し、70％部分肝虚血を施行、90分後再灌流した。再灌流180分後に血漿および肝組織標本において、障害程度および炎症性サイトカイン産生の評価を行った。さらに、再灌流後に非虚血肝を部分切除した致死的モデルにおいて、IL-1Ra遺伝子導入の７日間生存率への影響を検討した。

【結果】IL-1Ra遺伝子導入後、ラット血中ヒトIL-1Ra濃度は、いずれの導入法においても有意に上昇し、24時間後に最高値を認めた。Adex法における血中最高濃度は、リポフェクション法の約1,000倍に達した。肝虚血再灌流180分における肝障害、および炎症性サイトカインTNF-αとIL-6の産生は、IL-1Ra遺伝子導入によって対照と比較して有意に抑制された。二つの遺伝子導入法を比較すると、リポフェクションに比べてより高度なIL-1Ra発現の得られたAdex法において障害抑制は有意に高度であった。またAdex法による遺伝子導入は、ラットの７日間生存率を有意に改善した。

【考察】ラット肝へのIL-1Ra遺伝子導入を試みたのは本研究が初めてである。遺伝子導入は、単回の導入操作によって一定の期間持続的な目的物質の発現が得られるという大きな利点があるが、一方発現のタイミングや発現量の制御は困難であるという重大な欠陥がある。本研究ではIL-1Ra遺伝子導入によって大量のIL-1Ra発現が得られた結果、ラットの肝虚血再灌流障害は有意に抑制されたが、それによるラット生体への明らかな悪影響や、導入操作そのものによる肝障害も見られなかった。これらのことからは、本研究で用いたIL-1Ra遺伝子導入の治療への応用の可能性が示唆される。

【結語】ラット肝への遺伝子導入による有意なIL-1Ra発現と、それによる肝虚血再灌流障害の抑制が示された。今後、本法による肝移植後の虚血再灌流障害の抑制を目指した応用の可能性がある。

論文審査の要旨

肝虚血再灌流障害の抑制は、特に肝移植の臨床における大きな課題である。本研究においては、遺伝子導入法を用いてinterleukin-1 receptor antagonist（IL-1Ra）を過剰に発現させることにより虚血再灌流障害の抑制を試みた。

審査では、IL-1Raの体内動態や特徴に関する質問がなされた。IL-1Raは急性炎症などの際には急性相反応物質の一つとしてすばやく大量に誘導されること、大量誘導時においてもIL-1受容体拮抗作用以外知られていないこと、炎症反応をコントロールするための負のフィードバック機構などの作用機序が説明された。また、AdexによるIL-1Ra遺伝子導入下で、IL-1の上流に位置するとされるTNF-αの発現が抑制されていることのメカニズムを問われたが、これに関してはIL-1Raの大量発現下における未知のTNF-α抑制機序の存在が示唆されるが明らかでなく、また少なくともIL-1Raの主な作用機序としてTNF-αの抑制が重要ではない旨が説明された。さらに、TNF-αあるいはIL-6は肝再生に寄与することがわかっているが、IL-1Raによるこれらの抑制は肝再生にとって不利に作用しないかとの指摘がなされ、今後の重要な研究課題と考えられた。

一方、遺伝子導入の効果に関する質疑も行われた。まずは二つの導入法間での障害抑制効果の比較を表立って行うべきという指摘があった。さらにリポフェクション法では主にKupffer細胞のみに導入されているにもかかわらず、有意に障害が抑制されていることより、肝細胞自体での発現は必須ではないということかとの指摘がなされ、これに対し障害抑制効果はむしろ血中IL-1Raタンパク濃度の上昇に伴うものと考えられるため、網内系、あるいはKupffer細胞への導入でも結果的に効果が出ているものと説明された。これに関連して、経門脈的に導入ベクターを投与することの必要性が問われたが、過去の文献に倣った手法ではあるが必須ではないと説明された。

さらには、論文中の肝組織X-gal化学染色写真の質が低く、counter stainを行って脈管等の構造を明らかにするべきであり、また対照群では脈管を同等に含んだ部分を用いるべきとの指摘がなされた。一方虚血再灌流後の肝組織像においては、炎症性細胞浸潤や中心静脈領域での虚血性障害像が見られず、臨床における肝組織像と合致しない旨が指摘されたが、それに対して、急性の肝虚血再灌流は類洞のブロック機構や血行動態の急変によってむしろ門脈領域の急性障害として特徴付けられるので、それを論文中で説明すべきとの指摘もあった。

以上のように、本研究は論文中の組織標本写真や一部手法に改善すべき点が指摘され、なお検討すべき課題は残しているが、単一の遺伝子導入のみによって生体への悪影響なく肝の虚血再灌流障害を抑制し得たという点で、今後の肝移植に関する遺伝子治療の発展に寄与する有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　北島　政樹
　　内科学　石井　裕正　　医化学　末松　　誠
　　病理学　岡田　保典　　病理学　坂元　亨宇
学力確認担当者：北島　政樹、石井　裕正
　　審査委員長：石井　裕正

試問日：平成15年４月22日