

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	井上 良介
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 786 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Effect of a neural relay on liver regeneration in mice: activation of serotonin release from the gastrointestinal tract (肝障害時の神経ネットワークを介した、消化管からのセロトニン分泌による肝再生への寄与の検証)
論文審査委員	主査 教授 小松 雅明 副査 教授 高塚 尚和 副査 教授 寺井 崇二

### 博士論文の要旨

#### 【背景と目的】

肝再生のメカニズムに関しては、クッパー細胞などから産生されるサイトカインや増殖因子などの研究が多くなされ、それらが肝細胞の肥大・増殖を起こし、機能を回復すると考えられている。しかしながら、その複雑なメカニズムの全容についてはまだ十分に解明されていない点も多く、サイトカインや増殖因子を用いた肝再生治療は実用化には至っていない。一方で、肝再生における自律神経系の関与は、直接的な肝臓へのシグナル伝達による細胞増殖作用、すなわち遠心性迷走神経肝臓枝を介した副交感神経系の活性化に伴う作用が報告されてきた。一方で、最近、臓器連関による生体の恒常性維持のメカニズムに、これまでに想像しなかった臓器連関が関与していることが示唆されている。例えば、膵臓は部分肝切除後に、求心性交感神経、脳、遠心性迷走神経を介したシグナル伝達により、 $\beta$  細胞の著明な増殖を起こし、血糖値制御のための生体恒常性維持機構を有することが報告されている。そこで我々は、肝障害時に自律神経系のシグナル伝達を介した、肝-脳 (自律神経系) -腸管という臓器間の神経ネットワークによる消化管ホルモン、特に肝再生に寄与することが示唆されているセロトニン分泌の変化、肝再生への関与を検証することを本研究の目的とした。

セロトニンは、副交感神経系の活性化により消化管からの放出が増加する。血小板中の顆粒に含まれ、血小板が肝細胞に接触した際に放出され、肝臓の 5-HT<sub>2</sub> 受容体を介して肝細胞に対して増殖因子として機能することが知られている。

#### 【方法】

肝障害のモデルとして、部分肝切除モデルマウスを対象とした。肝臓からの神経ネットワークシグナルを遮断するため、求心性神経をブロックし、迷走神経の活性化、肝再生、腸管セロトニン分泌について検討した。

求心性の神経経路としては内臓神経、迷走神経肝臓枝を区別し、内臓神経ブロックのためにカプサイシンの腹腔動脈周囲への局所投与を施行し、求心性の迷走神経ブロックのために迷走神経肝

臓枝の切断術を施行した動物モデルを作製し、解析を行った。

#### 【結果】

1. 部分肝切除後の遠心性迷走神経の活性化を確かめるために、膵β細胞の増殖をインスリン免疫染色を用いて検討した。部分肝切除後の1日後と3日後に10000 $\mu\text{m}^2$ 以下の小さなサイズの膵島の数が増加し、内臓神経をブロックした群では、その変化が有意に抑制された。これらの結果により、部分肝切除後、遠心性の迷走神経が活性化したこと、そして、中枢神経にシグナルを送るためには、求心性内臓神経が重要であることが示された。

2. 神経伝達の肝臓再生に対する効果を検討するため、肝細胞のDNA合成を抗BrdU抗体免疫染色、肝細胞の増殖を抗PCNA抗体免疫染色により検討した。部分肝切除を施行すると、2日後と3日後に、BrdUの陽性細胞が増加し、1日後、2日後、3日後にPCNA陽性細胞数が増加するが、内臓神経ブロックによって、有意に抑制されることが示された。一方で、求心性迷走神経の遮断では抑制効果を認めなかった。

肝体重比は、内臓神経ブロック群では、部分肝切除群、求心性迷走神経遮断群に比較して3日後と5日後に、有意に肝体重比の増加が抑制されることが示された。これらの結果は、神経ネットワークが部分肝切除後のDNA合成、細胞分裂、細胞増殖に関係すること、さらには、その過程において求心性内臓神経の伝達が重要であることが示唆された。

この神経ネットワークの過程でのエフェクターとして、活性化された遠心性迷走神経が消化管ホルモン、特に肝再生に寄与するセロトニンの分泌増加に関与するか、検討した。小腸の腸クロム親和性細胞のセロトニン分泌を、免疫染色により、染色陽性細胞数を比較することによって検討した。部分肝切除の1日後、2日後、3日後にセロトニン陽性細胞の数が有意に増加し、この変化は、内臓神経ブロック群で、有意に抑制され、求心性迷走神経の遮断では抑制されなかった。

以上の結果から、肝障害後の求心性内臓神経、脳、遠心性迷走神経の活性化による腸クロム親和細胞におけるセロトニン分泌増加が、肝からの求心性内臓神経を介して引き起こされたことが示唆された。

#### 【考察と結論】

肝障害時、肝-内臓神経求心路-中枢神経-迷走神経遠心路-腸管という神経ネットワークを介した神経伝達が消化管のセロトニンの放出を引き起こし、肝再生を促進することが示された。これらの結果を直接臨床に適用することは難しいが、申請者らは、この研究が肝再生を促進する治療法の開発に寄与すると考えている。

#### 審査結果の要旨

【背景と目的】 最近、生体の恒常性維持のメカニズムに、これまでに想像しなかった臓器連関が関与していることが明らかになってきた。本研究では、肝障害時における自律神経系のシグナル伝達を介した消化管ホルモン、特に肝再生に寄与することが示唆されているセロトニン分泌の変化、肝再生への影響を検証することを目的とした。

【方法】 肝障害のモデルとして、部分肝切除モデルマウスを対象とした。肝臓からの神経ネットワークシグナルを遮断するため、求心性神経をブロックし、迷走神経の活性化、肝再生、腸管セロトニン分泌について検討した。求心性の神経経路としては内臓神経、迷走神経肝臓枝を区別し、内臓神経

ブロックのためにカプサイシンの腹腔動脈周囲への局所投与を施行し、求心性の迷走神経ブロックのために迷走神経肝臓枝の切断術を施行した動物モデルを作製し、解析を行った。

**【結果】** 部分肝切除後の遠心性迷走神経の活性化を確かめるために、既報に従い膵β細胞の増殖をインスリン免疫染色により検討した。その結果、部分肝切除後の1日後と3日後に $10000\mu\text{m}^2$ 以下の小さなサイズの膵島の数が上昇し、内臓神経をブロックした群では、その変化が有意に抑制されていた。

神経伝達の肝臓再生に対する効果を、抗BrdU抗体免疫染色、抗PCNA抗体免疫染色により検討した。部分肝切除を施行すると、2日後と3日後に、BrdUの陽性細胞が増加し、1日後、2日後、3日後にPCNA陽性細胞数が増加した。それらは、内臓神経ブロックによって有意に抑制された。一方で、求心性迷走神経の遮断は抑制効果を示さなかった。肝体重比は、内臓神経ブロック群では、部分肝切除群、求心性迷走神経遮断群に比較して3日後と5日後の肝体重比の増加が有意に抑制された。

この神経ネットワークの過程において、活性化された遠心性迷走神経がセロトニンの分泌増加に関与するか否かを小腸の腸クロム親和性細胞のセロトニン免疫染色により検討した。部分肝切除の1日後、2日後、3日後にセロトニン陽性細胞の数が有意に増加し、この変化は、内臓神経ブロック群で、有意に抑制され、求心性迷走神経の遮断では抑制されなかった。

**【考察と結論】** 肝障害時、肝-内臓神経求心路-中枢神経-迷走神経遠心路-腸管という神経ネットワークを介した神経伝達が消化管のセロトニンの放出を引き起こし、肝再生を促進することが示唆された。

**【学位論文としての価値の有無】**

上述の新規性を鑑みて、学位論文としての価値を有すると判断した。