HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	硫化水素は生存シグナルの増強とNrf2の核内移行を介して肝温虚血再灌流障害を軽減する［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	島田, 慎吾
Description	配架番号：2124
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11600号
Issue Date	2014-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57782
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shingo_Shimada_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏名　島　田　慎　吾

審査担当者　主査　教授　坂　本　直　哉
副査　教授　武　冨　紹　信
副査　教授　志　田　壽　利
副査　准教授　松　本　美　佐　子

学 位 論 文 題 名

硫化水素は生存シグナルの増強と Nrf2 の核内移行を介して肝温虚血再灌流障害を軽減する

(Hydrogen Sulfide Ameliorates Hepatic Warm Ischemia and Reperfusion Injury via Augmentation of Survival Signals and Nuclear Translocation of Nrf2)

学位申請者　島田慎吾は、硫化水素 (H_2S) の肝保護作用、抗酸化・抗炎症・抗アポトーシス作用、その機序および肝再生に与える影響についてマウス肝部分温虚血モデルを用いて評価した。再灌流 10 分前に H_2S 供与体である硫化水素ナトリウム (NaHS) を静脈投与した。予備実験として、① モデルの評価のため虚血時間を 45 分、60 分、75 分、90 分で群分けし、1 週生存率、ALT を評価した。結果から虚血時間は 75 分とした。既報の文献と比較し、モデルは適切と考えられた。② NaHS の至適用量決定のために投与量 (mg/kg) を 0、0.5、1.0、3.0 で群分けし、ALT を評価した。1.0 mg/kg で最も ALT 上昇が抑制されたが、3.0 mg/kg では 6 匹中 3 匹が死亡し、毒性と考えられたため、NaHS 投与量は 1.0 mg/kg と設定した。本実験ではマウスを NaHS (+) 群、NaHS (-) 群、Sham 群に群分けした。NaHS 投与によって組織学的障害と ALT 上昇が軽減された。血漿中サイトカイン・ケモカインの上昇や組織アポトーシス、脂質過酸化も NaHS 投与によって抑制された。NaHS 投与で p-Akt、p-mTOR、p-p70s6k といった生存シグナルの著明な増強が証明された。さらに、Nrf2 の核内移行増強が起こることも証明しえた。PCNA 染色の結果より、NaHS 投与によって肝再生が促進される可能性が示唆された。H_2S は PI3K/Akt/p70S6k カスケードを増強させ、Nrf2 の核内移行を促進することで抗酸化、抗炎症、抗アポトーシス効果を示し、肝虚血再灌流障害を軽減するのみならず、肝再生にも有益な効果を与える可能性が示唆された。

学位審査会では、本研究の意義及び結果解釈、臨床応用に向けた課題について質疑応答がなされた。

副査の松本准教授から、①本研究で新たに明らかとされたことは何かという質問があり、申請者は H_2S が温虚血再還流傷害を抑制する機序について、肝臓においては PI3K/Akt/p70S6k カスケードの亢進と、Nrf2 の核内移行を介することを示した点であると回答した。②H_2S が、Nrf2 の核内移行にどう関わっているのかとの質問があり、申請者は Akt のリン酸化を介した間接的な効果はあると考えるが、直接的に働いている可能性もあ

りうると回答した。③H_2S の臨床応用の可能性について質問があった。申請者は、効果は有望であるが臨床応用のために、大動物モデルを用いた実験や簡便な血中濃度のモニタリング法の開発が必須であると回答した。

副査の志田教授からは、① H_2S の本来の化学反応、その最初のターゲットはという質問があり、申請者は化学反応からは H_2S は強力な還元剤であり、ターゲットは酸化ストレスを受けた肝細胞であると回答した。② H_2S を抗酸化剤として考えたとき、他の抗酸化剤では代わりにならないのかとの質問があった。申請者はビタミン C や E も抗酸化剤としては有用ではあるが、H_2S は抗酸化作用のみならず本実験で示した生理活性を示し、臓器保護に有用であると考えること、さらに近年では同じくガス分子である水素ガスが強力な抗酸化作用を有し、かつ副作用がほとんどないと報告されていることを回答した。③ 免疫系では STAT3 は再生につながらないが、肝再生では STAT3 がどのような機序で働くのかと質問があり、申請者は Jak/STAT3 を介したサイクリン D1 の活性化などが関わるとされていると回答した。

副査の武冨教授から、① 予備実験で6匹中3匹死亡した死因は何かという質問があった。申請者は全例、痙攣→呼吸停止であったと回答した。② 組織においてどの細胞種に効果を及ぼしているのかという質問があり、申請者は肝細胞自体に効果を与えているとは考えているが、虚血再灌流障害の最初のターゲットとなるクッパー細胞や類洞内皮細胞に与える影響については、細胞種毎の in vitro の実験が必要であると回答した。

主査の坂本教授から、① 当科で研究している重水含有保存液との関連について質問があり、申請者は、今回は全く別の実験であるが冷虚血再灌流障害への効果も想定されていることを回答した。② NaHS 投与による生存率への寄与、肝重量の変化は評価したかの質問があり、申請者は、今回は評価していないが対照群の生存率が 100%でない以上は評価をすべきであったと回答した。③ 本実験系の問題点、限界についての質問があり、申請者は in vitro や knock out マウスを用いた、より細胞や作用点に特異的な解析をする余地があったと回答した。④ 臨床応用の際の想定される投与法に関する質問があり、申請者は、全身投与はモニタリングなどの制約があるために、まずは保存液と併用した臓器特異的な投与を想定していると回答した。⑤ NaHS 投与後の半減期に関する質問があり、申請者は NaHS 自体の生体内での半減期の報告に関しては検索しえなかったが、H_2S ガス吸入による半減期は肝での半減期は有酸素下では 2.0 分、無酸素下では 5.4 分との報告があると回答した。

この研究の詳細は Surgery Today に掲載され、今後の臨床応用の可能性も期待される。研究発表の内容及び質疑応答を通して、申請者は当該領域に関する深い見識と研究遂行能力を有すると判断し、審査員一同はこれらを総合的に評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。