

(別紙様式第3号)

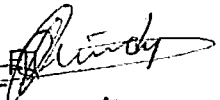
12/17/18

論 文 要 旨

論 文 題 目

Effect of Bcl-2 expression on morphological alteration of hepatic mitochondria in liver regeneration after a partial hepatectomy:
An Immunohistochemical and Ultrastructural study

(部分肝切除後の肝再生におけるBcl-2発現の肝ミトコンドリアの
形態変化に及ぼす影響：免疫組織化学及び電子顕微鏡的研究)

氏 名 TOURE Mamadi 

肝再生においては、肝細胞のミトコンドリアとミトコンドリア膜内に存在する抗アポトーシス蛋白Bcl-2が重要な役割を果たしていることが推測されている。本研究ではこの仮説を検証するため、ラット部分肝切除後の再生肝に、アデノウイルスベクターを用いてBcl-2を遺伝子導入し、この遺伝子の肝再生とミトコンドリアの形態的变化に及ぼす影響について検討した。

体重250gのWistar ラットをエーテル吸入麻酔下に開腹、70%部分肝切除を施行した。同時に陰茎静脈より組み換えアデノウイルスを1ml (1×10^9 pfu) 投与した。Bcl-2導入群（グループ1、n=39）、マーカー遺伝子のLacZ遺伝子導入群（グループ2、n=39）、対象の生食投与群（グループ3、n=13）において、肝臓組織を経時的に採取した（0.5h, 2h, 4h, 12h, 24h, 2d, 3d, 5d, 7d, 9d, 11d, 14d, 21d）。

再生肝内でのマーカー遺伝子導入効果を示すX-gal染色では、陽性細胞数が肝切除後48時間に最高値となったのち漸減し、術後21日目まで認められた（グループ2）。

免疫組織染色でBcl-2蛋白発現は、グループ1で肝切除後12~72時間後に最も強く、グループ2、3で術後5日目に最も強く発現した。発現強度はグループ1がグループ2および3に比べて高く、陽性細胞は肝切除後の時間経過とと

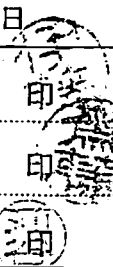

もに、門脈周囲から小葉間領域に広がっていった。

ミトコンドリアの膜構造とクリスタの形態的特徴を電子顕微鏡所見より1から3に分類し（1. RM; regular shaped MC with well preserved cristae and a dense matrix, 2. SM; round shaped and swollen MC with poorly developed cristae and a lucent matrix, 3 IM; Irregular shaped MC with poorly developed cristae and a lucent matrix.）、肝再生時のミトコンドリアの形態学的変化を半定量的に評価した。その結果、ミトコンドリアの形態はBcl-2導入のグループ1で良く保たれ、肝切除後12時間の“RM”の比率は $58 \pm 22\%$ であったのに比し、グループ2で $36 \pm 23\%$ 、グループ3で $29 \pm 11\%$ と、グループ1で有意に高かった。

以上の結果より、ラット70%肝切除後の再生肝におけるBcl-2蛋白の過剰発現が、肝再生時のミトコンドリアの形態保持に寄与し、肝再生の速度を促進したものと考えられた。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	Toure Hamdi
論文審査委員	平成12年12月7日			
	主査教授	伊藤悦男		
	副査教授	奇藤 厚		
	副査教授	苅谷 研一		
<p>(論文題目) Effect of Bcl-2 expression on morphological alteration of hepatic mitochondria in liver regeneration after a partial hepatectomy: An Immunohistochemical and Ultrastructural study</p> <p>(論文審査結果の要旨) 上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p> <p>1, 研究背景と目的 肝再生においては、肝細胞のミトコンドリアとミトコンドリア膜内に存在する抗アポトーシス蛋白Bcl-2が重要な役割を果たしていることが推測されている。本研究ではこの仮説を検証するため、ラット部分肝切除後の再生肝に、アデノウイルスベクターを用いてBcl-2を遺伝子導入し、この遺伝子の肝再生とミトコンドリアの形態的变化に及ぼす影響について検討した。</p> <p>2, 研究内容 体重250gのWistar ラットをエーテル吸入麻酔下に開腹、70%部分肝切除を施行した。同時に陰茎静脈より組み換えアデノウイルスを1ml (1x10⁹ pfu) 投与した。Bcl-2導入群 (グループ1、n=39)、マーカー遺伝子のLacZ遺伝子導入群 (グループ2、n=39)、対象の生食投与群 (グループ3、n=13) において、肝臓組織を経時的 (0.5h, 2h, 4h, 12h, 24h, 2d, 3d, 5d, 7d, 9d, 11d, 14d, 21d) に採取し検索した。 再生肝内でのマーカー遺伝子導入効果を示すX-gal染色では、陽性細胞数が肝切除後48時間に最高値となったのち漸減し、術後21日目まで認められた (グループ2)。</p>				

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 - 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。

論文審査結果の要旨

(2)

免疫組織染色でBcl-2蛋白発現は、グループ1で肝切除後12~72時間後に最も強く、グループ2、3で術後5日目に最も強く発現した。発現強度はグループ1がグループ2および3に比べて高く、陽性細胞は肝切除後の時間経過とともに、門脈周囲から小葉間領域に広がっていった。

ミトコンドリアの膜構造とクリスタの形態的变化を電子顕微鏡所見より1から3に分類し(1. RM; regular shaped MC with well preserved cristae and a dense matrix, 2. SM; round shaped and swollen MC with poorly developed cristae and a lucent matrix, 3 IM; Irregular shaped MC with poorly developed cristae and a lucent matrix.)、肝再生時のミトコンドリアの形態学的変化を半定量的に評価した。その結果、ミトコンドリアの形態はBcl-2導入のグループ1で良く保たれ、肝切除後12時間の“RM”の比率は $58 \pm 22\%$ であったのに比し、グループ2で $36 \pm 23\%$ 、グループ3で $29 \pm 11\%$ と、グループ1で有意に高かった。

3, 研究成果の意義と学術的水準

ラット70%肝切除後の再生肝におけるBcl-2蛋白の過剰発現が、肝再生時のミトコンドリアの形態保持に寄与し、肝再生を補助しているものと考えられた。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。