

論文審査の結果の要旨

氏名 塚原 由布子

本論文は五つの章からなる。第一章は序論であり、肝臓における幹細胞の概説および傷害肝臓に出現するオーバル細胞の同定と分離法、オーバル細胞に発現する EpCAM および TROP2 についてのこれまでの知見、また TROP2 の機能解析で用いた胎仔腎臓の発生メカニズムについての概要が述べられている。第二章の材料と方法に続き、第三章にてオーバル細胞に特異的に発現するマーカー分子 (TROP2) の同定と成体肝臓における幹細胞についての解析がなされ、第四章では腎臓の発生における TROP2 の新たな機能を明らかとしている。第五章の結語では、これらの結果を総括し、さらに TROP2 が傷害肝臓オーバル細胞に発現する意義について考察している。

申請者は本論文で大きく2つのテーマに取り組んでいる。すなわち、マウス成体肝臓における肝幹/前駆細胞の実体を明らかとすることおよびオーバル細胞のマーカー分子として見出された TROP2 の分子機能を解明することである。成体肝臓が重篤な傷害を受けた際に出現するオーバル細胞は遺伝子発現パターンから肝幹/前駆細胞であると推測されていたが、詳しい性状は不明であった。また、正常の成体肝臓においても幹/前駆細胞の存在が示唆されていたが、マーカー分子が未同定であったことなどからその実体は不明であった。このような成体肝臓の幹/前駆細胞の実体を解明することは、肝幹/前駆細胞が関わる疾患への理解や再生医療への応用などにおいても重要と考えられる。申請者の所属する研究室ではセルソーターを用いてオーバル細胞を厳密に分離し性状解析を行うべく、オーバル細胞に発現する細胞表面抗原の探索が行われており、申請者らはそれら候補分子の中からオーバル細胞特異的に発現する TROP2 を見出した。また、細胞表面抗原の発現を指標としてオーバル細胞の性状解析を行い、オーバル細胞の大部分は限られた増殖能をもつ前駆細胞集団であるが、わずかながら肝幹細胞としての性質を示す細胞が含まれることを明らかにしている。また、本論文では正常肝臓にも幹細胞としての性質をもつ細胞が少数存

在することを示しており、肝疾患や肝再生における肝幹細胞の役割の解明や治療への応用など組織幹細胞研究や医療分野への寄与が期待される。

次に、オーバル細胞に特異的に発現する TROP2 の機能解析を行っている。細胞増殖の促進など既報の TROP2 の機能はオーバル細胞に当てはまらなかった。一方、TROP2 の発現解析によりマウス胎仔腎臓で特徴的な発現パターンを示すことを見いだしたので、胎仔腎臓において機能解析を進めた。TROP2 を強く発現する尿管芽細胞は細胞外マトリックスに対する接着性が低下することを見出した。また腎臓由来の MDCK 細胞を用いた解析により、TROP2 の発現によって細胞の接着、運動、樹状構造の形成が有意に抑制されることを明らかにした。さらに、このとき TROP2 が細胞と細胞外マトリックスの接着や運動に関わるインテグリンシグナルを抑制する可能性を示している。

本研究により見出された TROP2 の新たな機能は、尿管芽の樹状構造の形成に関わる分子メカニズムの一端を明らかにするものである。また、傷害肝臓においてオーバル細胞はうっ滞した胆汁を排出するために管状構造を形成するが、TROP2 がオーバル細胞の管構造の形成にも寄与する可能性も考えられた。このように、TROP2 が細胞の挙動を制御する機構は、組織発生学にとどまらず病態の解明など医療分野への貢献が期待される成果である。

なお、本論文の第三章は、岡部繭子、田中稔、鈴木香、齋藤滋、神谷淑子、辻村亨、中村康介、宮島篤との共同研究であり、また第四章は、田中稔、宮島篤との共同研究であるが、本論文の内容は申請者が主体となって実験および考察を行ったものであり、申請者の寄与が十分であると判断する。

よって、博士（理学）の学位を授与できると認める。