

論文審査の結果の要旨

氏名 高瀬比菜子

本論文は5つの Chapter からなる。Chapter 1 は序論、Chapter 2 は材料と方法、Chapter 3 は実験結果、Chapter 4 は考察、Chapter 5 は結論について記述されている。

申請者の所属する研究室では成体肝幹／前駆細胞 (liver progenitor cell : LPC) に着目し、その性状を解析するために、表面抗原の同定、セルソーターを用いた分離法の確立、*in vitro* における分化能の評価等を行ってきた。申請者はこれらの評価系を用いて解析を進め、LPC の出現と増殖に必須な増殖因子として fibroblast growth factor 7 (FGF7) を同定し、さらに遺伝学的手法を用いた解析により LPC が肝障害下で再生へ寄与していることを示した。

重篤な障害を受けた肝臓では、LPC と呼ばれる特殊な細胞が出現することが知られている。LPC は未分化マーカーを発現することから成体肝幹／前駆細胞とみなされているが、実際に肝再生に寄与しているのか明確ではなく、またその発生機構や動態については不明な点が多く残されていた。本論文では、LPC を制御する分子メカニズムを明らかにし、さらに LPC の肝再生への関与を検証することを目指し、詳細に解析している。

申請者の所属する研究室では LPC 特異的マーカーとして Trop2 を同定している。肺の発生過程においては FGF10 が Trop2 の発現を誘導することが知られており、申請者は LPC の制御に FGF ファミリーの関与する可能性を考え、これを検討した。その結果、3,5-Diethoxycarbonyl-1,4-Dihydrocollidine (DDC) 投与等のマウス肝障害モデルにおいて、LPC の出現に伴い、その周囲で FGF7 の発現が強く誘導されることを見いだした。FGF7 欠損マウスは、通常の飼育条件下では目立った表現型が見られず、肝臓も正常に発生する。しかしながら、FGF7 欠損マウスでは肝障害に伴う LPC の誘導が顕著に抑制されており、長期間の DDC 食餌投与により肝障害が増悪化し、致死率が有意に上昇した。この結果は、FGF7 が LPC の誘導に必須の因子であること、さらに FGF7 を介した

LPC が肝臓の再生に積極的に寄与することを示すものと考えられる。

一方で、FGF7 の肝臓での強制発現系を用いた解析から、FGF7 により正常肝でも LPC 様の細胞が出現することが判明した。FGF7 の過剰発現により出現する LPC 様の細胞は、その一部が LPC 特異的マーカーTrop2 を発現することから、この細胞は肝障害時に現れる LPC に近い性質を持っていると推測された。さらに、血液生化学検査により、FGF7 の過剰発現は DDC 投与による肝障害を軽減させることが判明した。この結果は FGF7 の発現あるいは投与により LPC を誘導あるいは活性化することで、肝障害の軽減化、肝機能の回復を促すことができる可能性を示すものである。

一般的に、組織幹／前駆細胞はニッチと呼ばれる微小環境によって制御される。上記の結果は FGF7 が LPC のニッチシグナルであることを示しており、申請者はニッチを形成する細胞群を同定することを試みた。免疫染色の結果から、LPC の周囲には Thy1 陽性の間葉系細胞が存在し、障害に応答して LPC の出現に先立って増殖することが見出された。さらに、フローサイトメーターを用いて肝臓構成細胞を分画して遺伝子発現解析を行ったところ、Thy1 陽性の間葉系細胞が FGF7 を産生し、LPC は FGF7 の特異的受容体である FGFR2b を発現していることが明らかとなった。したがって、Thy1 陽性細胞は LPC のニッチを形成していると考えられる。

以上の結果から、障害肝において Thy1 陽性細胞が FGF7 の産生を介して LPC を誘導すること、誘導された LPC は肝障害からの回復・再生に重要な役割を担うことが強く示唆された。本研究は、LPC の制御機構の分子細胞生物学的実体を明らかにし、FGF7 の臨床応用の可能性を示したという点で意義深い。この成果は、肝臓、幹細胞、再生医療の研究分野の進展に寄与することが大いに期待される。

なお、本論文の Chapter 3 は伊藤暢、宮島篤との共同研究であるが、申請者が主体となって実験及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。