

## 論文審査の結果の要旨

氏名：松井 理司

本論文では、新規の組織幹/前駆細胞である Biliary Tree Stem/Progenitor Cell (BTSC)の存在部位として注目される胆管周囲付属腺 (Peribiliary gland; PBG) を構成する細胞 (PBG-constituting biliary epithelial cell; PBEC) の生理的役割を解明するために、セルソーターによる PBEC の単離法を確立して PBEC の性状解析を行い、以下の結果を得たことが述べられている。

1. 細胞膜抗原である Trophoblast cell surface protein 2 (Trop2)が管腔を形成する胆管上皮 (Lumen-forming biliary epithelial cell: LBEC) でのみ発現しており、PBEC では発現していなかった。
2. マイクロアレイ解析の結果より、EpCAM 陽性 Trop2 陰性の PBEC は EpCAM 陽性 Trop2 陽性の LBEC と比較して、*Lgr5*などの組織幹/前駆細胞マーカーとして報告されている遺伝子群の発現が高いことが明らかとなった。
3. 単離した PBEC は *in vitro*において LBEC と比較して高いコロニー形成能力と管腔形成能力を有していた。
4. PBEC は Organoid 培養条件下において、LBEC に類似の遺伝子発現様式を示す管腔様構造を形成した。また、形成した管腔様構造に対して胆管機能の一つである Multidrug-resistance protein1 (Mdr1) 依存的な物質輸送の評価を行った結果、蛍光標識された Mdr1 の基質である Rhodamine123 の構造体内部への取り込みが確認された。さらに、この取り込みは Mdr1 の阻害剤の添加によって阻害された。これらの結果より、PBEC は LBEC への分化能を有することが明らかとなった。
5. 胆管障害時における再生応答と Trop2 の関係性の評価を行った。その結果、PBG において Trop2 の発現は胆管障害により速やかに誘導された。また、EpCAM 陽性 Trop2 陽性細胞は、障害前と比較してコロニー形成能が上昇していた。以上の結果より、PBEC は障害後に一過的に増殖して LBEC を供給することで組織再生に寄与することが示唆された。

以上、本研究は、生体組織から PBEC と LBEC を明確に区別して分離することができるマーカー分子を新たに同定したことにより、これまで謎に包まれてき

た PBG の性状と生理的役割の一端が明らかとなった。これにより PBG が発生母地とされる胆道がんなど疾患の研究が発展することが期待される。

本論文は、原田憲一、宮田奈保子、大河内仁志、田中稔、宮島篤との共同研究であるが、申請者が主体となり実験および考察を行ったもので、申請者の寄与が十分であると判断し、博士（理学）の学位を授与できると認める。