

## 論文審査の結果の要旨

氏名 勝又 廉

本論文は5つの章からなる。第1章での Introduction、第2章での Materials and Methods に続き、第3章と第4章では研究成果とその考察が、第5章で結論が記されている。

申請者の研究室では、肝臓の病態発症に関する研究を行っており、本論文ではこうした病態の慢性期において共通して見られる現象である「肝線維化」の発症機序に関する新たな知見を報告している。これまで、肝線維化病態においてコラーゲンを含む細胞外マトリックスの主な産生源は、肝星細胞であると考えられていた。一方で、「門脈域線維芽細胞」と呼ばれる細胞種についても、コラーゲンを産生し得ることが近年報告されていたが、この細胞種を明確に定義する細胞マーカーは明らかになっていなかった。その為、肝線維化病態の発症における門脈域線維芽細胞の役割や、その重要性については未だ不明な点が多い。本論文では、セルソーターを用いて細胞表面マーカーを指標とした細胞種の詳細な解析を通じて、門脈域線維芽細胞を分取するのに有用な表面マーカーとして Thy1 を同定している。また、この細胞種が肝線維化病態の進行において重要な働きを担うことを明らかにしている。

肝臓内に Thy1 を発現する細胞種の存在についてはこれまで報告があったが、この細胞種に関する詳細な解析を行った例はなかった。本論文ではまず、肝組織中に存在する Thy1 発現細胞には、細胞形態的が異なる二種類の細胞が存在することを明らかにしている。Thy1 は胸腺細胞、造血幹細胞、神経細胞などのマーカーとしても広く用いられており、肝臓内においても Thy1 単独による細胞種の定義は困難であるとし、血球系細胞のマーカーである CD45 との組み合わせを用いることで、二種類の Thy1 発現細胞を分類している。これにより、Thy1<sup>+</sup> CD45<sup>+</sup> の細胞は T 細胞であったのに対して、Thy1<sup>+</sup> CD45<sup>-</sup> と定義された細胞は、門脈周囲に特異的に存在する線維芽細胞であることを明らかにしている。申請者はこの細胞種を Thy1 MCs と名付け、その詳細な解析を行った。

次に申請者は、Thy1 と CD45 が細胞表面マーカーであることから、その発現の有無を指標に細胞を単離し、*in vitro* 培養系を構築した。その結果、Thy1 MCs は高いコラーゲン産生能を有し、肝線維化病態において中心的な役割を担うと考えられている肝星細胞と似た性質を示すことを明らかにしている。一方で、肝星細胞の代表的な機能として知られるビタミン A の貯蔵が、Thy1 MCs においては認められず、フローサイトメトリー解析によっても、Thy1 MCs は従来の肝星細胞と明確に区別のできる、異なる細胞種であった。肝臓を構成する各細胞種をセルソーターにより分離し、遺伝子発現プロファイリングを行った結果、Thy1 MCs は門脈域線維芽細胞に発現するとされる遺伝子群の発現が他の細胞種と比較して濃縮されていた。このことから、これまで単離法が確立されていなかった門脈域線維芽細胞に対して、Thy1 と CD45 の細胞表面マーカーの組み合わせを用いることが有効であることが示唆された。すなわち、Thy1 MCs は門脈域線維芽細胞を代表する細胞種であることを明らかにしている。

次に、肝障害時における Thy1 MCs の役割について検討している。マウス慢性肝障害のモデルとして、胆汁うっ滞性の肝障害と薬剤性の肝障害をそれぞれ引き起こしたところ、Thy1 MCs は胆汁うっ滞性の肝障害に特異的に応答して増殖していることが明らかとなった。更に、胆汁うっ滞性の肝障害を引き起こした際には、増殖する Thy1 MCs の近傍において、コラーゲンの顕著な蓄積が認められた。一方で、薬剤性の肝障害を引き起こした際には、肝組織中の Thy1 MCs とコラーゲンの蓄積部位が離れていたのに対して、肝星細胞の近傍においてはコラーゲンの顕著な蓄積が認められた。また、コラーゲンの遺伝子発現プロファイリングの結果、胆汁うっ滞性の肝障害時には Thy1 MCs と肝星細胞が、薬剤性肝障害時には肝星細胞が、それぞれコラーゲンの主な産生源であることが明らかとなった。これらのことから、Thy1 MCs は胆汁うっ滞性の肝障害に特異的に応答し、コラーゲンを産生することで、慢性肝障害時における肝線維化病態の進行に重要な役割を担うことが明らかとなった。

これらのことから、これまで慢性肝障害時の線維質形成において中心的な役割を担うと考えられていた肝星細胞に加えて、Thy1 MCs も重要な役割を担うことを明らかにしている。また、肝障害の種類によって線維質の形成を担う細胞種が異なることは、ヒトの病態においても、肝線維化治療を行う上で標的とする

細胞種が異なることを示唆している。このことは、未だ有効な治療法が確立されていない肝線維化病態の治療戦略を構築する上で重要な知見になると考えられ、今後の研究の発展が期待される。

尚、本論文は伊藤暢・宮島篤との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。