

論文審査の結果の要旨

氏名 金子 洸太

本論文は5つの章からなる。第一章での序論に続き、第二章では材料と方法、第三章は研究結果が、第四章では考察、第五章では結論が記述されている。

肝臓は薬物や代謝異常による障害に対し、高い再生能力により機能を素早く回復することが出来る。その再生過程として、肝実質細胞の増殖や肥大以外に、胆管増生という現象が知られる。胆管増生は、胆管上皮マーカー陽性の細胞が異常に増生する現象で、ヒトの病態やマウスモデルでの重篤な障害肝において認められる。これらの細胞は **Liver progenitor cell (LPC)** と呼ばれ、肝幹/前駆細胞を含み、肝再生に寄与すると考えられている。また、胆管増生が誘導されない各種の遺伝子改変マウスモデルでは障害が重篤化することが報告されていることから、胆管増生は、肝障害からの再生に重要であると考えられた。しかしながら、その実体に関しては不明な点が多い。特に、LPC の出現様式や、胆管との関係などは未解明であった。

申請者は、この課題に対するアプローチとして **LPC** と胆管の空間的位置関係に着目し、胆管を中心にマウス肝臓の組織構造を三次元的に解析する新たな手法を確立した。本研究において申請者は、①胆管の脈管構造をインクで標識し、三次元的に観察する方法、②標識したインクを切片において免疫染色と組み合わせて観察する方法、③厚みのある組織片またはホールマウントでの免疫染色による三次元的解析、を組み合わせた総合的なアプローチにより、障害時の肝臓の組織構造の動態を解析した。既存の解析法では、胆管の構造自体が不明瞭であったが、申請者は、胆管の脈管構造をインクで標識し、肝臓全体を透明化することで胆管の詳細な三次元構造を初めて明らかにした。正常肝において胆管には、門脈におよそ1:1で沿って走る太い管と、網状に門脈周りを取り囲んでいる細い管が存在していた。次に、インクの注入により、**LPC** と胆管との接続の有無を検討した。**LPC** を誘導する典型的な肝障害モデルである **DDC** 食餌投与モデルにおいて、胆管へのインク注入後に組織切片を作製し、胆管/**LPC** マーカー**CK19** に対する免疫染色を行なった結果、ほとんど全ての **CK19** 陽性細胞がインクにより標識されていた。このことは、これらの **LPC** が元から存在する胆管に接続された脈管構造を形成していることを示している。さらに、他の様々な慢性的肝障害モデルについても検討し、同様の結果を得た。また、インクによる新規可視化法を利用し、**DDC** 食餌投与モデルにおける胆管の樹状構造を三次元レベルで観察した。その結果、胆管の樹状構造が顕著に変化しており、実質域へと枝を広げた構造をとっていることが明らかとなった。

以上のことから、組織切片を用いた二次元的な組織学において観察され、定義されてきた LPC は、三次元的な観測では胆管の組織構造のリモデリングの結果として出現していることが示された。次に申請者は、胆管増生の制御因子として報告されている FGF7 や TWEAK が胆管の三次元構造に与える影響に着目した。これらの因子を、肝細胞への遺伝子導入により肝臓に強制発現させ、胆管組織の動態を解析した。その結果、FGF7 と TWEAK は、ともに CK19 陽性細胞の増殖を誘導するが、前者にのみ、胆管の分岐構造を変化させるという後者とは異なる作用があることが明らかとなった。このような例は、胆管増生の制御メカニズムの解析において、本研究で確立された三次元的解析法が有用であることを示している。また、肝臓は様々な種類の薬物や代謝異常により、多様な障害を受けるため、申請者は、様々な障害モデルにおいて胆管樹状構造の動態を比較した。その結果、障害のパターンに応じて、胆管の構造変化の形態が大きく異なることを見出した。さらに本研究では、障害部位付近において、LPC の一部が肝細胞に分化することを細胞系譜解析によって観測しており、障害に応じた胆管の構造変化は、障害部位付近における効率的な肝前駆細胞による再生につながる可能性が考えられる。

本研究によって、肝臓は成体においても、薬物や代謝異常といった環境の変化に応じて上皮の三次元的組織構造を変える能力を有していることが示唆された。この組織構造の可塑性が、肝臓の強い再生能に寄与していることが考えられる。本研究の成果は、多様なストレス環境に対する組織応答の理解を進展させる非常に意義深いものである。

なお、本論文は、神元健司、宮島篤、伊藤暢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なったものであり、申請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。