

論文内容要旨

論文題目

「Epiregulin の肝再生における役割と機能解析」

責任講座： 内科学第二 講座

氏名 富田 恭子

【内容要旨】 (1, 200 字以内)

【背景】 これまで研究室では骨髄単核球細胞と肝前駆細胞の共培養の検討で FGF2 が肝前駆細胞から幹細胞への分化に重要な要素であることを示した。さらに、同研究での骨髄細胞遺伝子発現解析の結果、肝前駆細胞への作用を示す成長因子の候補として、EGF family に属する増殖因子である Epiregulin を見出した。しかし、Epiregulin の肝再生における役割は不明な点が多い。本研究の目的は、肝再生における Epiregulin の役割を明らかにすることである。

【方法】 肝疾患患者の血清 Epiregulin 値を測定し検討した。マウスに DDC を含む飼料を与え肝前駆細胞を誘導し、血清 Epiregulin 値および Epiregulin 発現を評価した。In vitro の検討では、Recombinant Epiregulin 投与下の EpCAM 陽性肝前駆細胞株の増殖能について検討した。最後に、Epiregulin の in vivo での効果を評価するために HTVi 法を用いマウス肝で Epiregulin を過剰発現させ、肝での DNA 合成能および肝前駆細胞発現について検討した。

【結果】 急性肝不全性患者においては、血清 Epiregulin 値は健常コントロールと比較して有意に上昇していた。DDC マウス肝において CK19 陽性肝前駆細胞は DDC 食開始後門脈域に出現を認めた。Epiregulin は DDC 食開始後肝前駆細胞からなる偽胆管周囲に発現を認めた。さらに DDC マウス肝において、Epiregulin 発現細胞の一部は間葉系細胞のマーカーと共染色を示した。DDC マウス血清 Epiregulin 値も DDC 食開始後徐々に増加した。In vitro において、Recombinant Epiregulin は、用量依存的に肝前駆細胞株の増殖能を促進していた。HTVi による Epiregulin 遺伝子強発現下では、PCNA 陽性細胞は遺伝子導入後有意に増加していた。さらに遺伝子導入後、門脈周囲に CK19 陽性肝前駆細胞増生を確認した。

【結論】 Epiregulin は高度肝障害時に、門脈域の肝前駆細胞で構成された偽胆管周囲の間葉系細胞を含む stem-cell niche から発現していた。Epiregulin は肝前駆細胞出現を誘導し、肝細胞の DNA 合成能を促進させることで肝再生に寄与している可能性が示唆された。さらに、急性肝不全患者と DDC マウス血清において Epiregulin の有意な上昇しており、肝前駆細胞を伴うような高度な肝障害において重要な因子と考えられ、肝再生時の有用なバイオマーカーとなる可能性がある。

平成 26 年 1 月 20 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 富田 恭子

論文題目： Epiregulin の肝再生における役割と機能解析

審査委員： 主審査委員

木村 理



副審査委員

浅尾 裕信



副審査委員

上野 美之



審査終了日：平成 ²⁶~~25~~ 年 1 月 7 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

【背景】これまで骨髄単核球細胞と肝前駆細胞の共培養の検討で FGF2 が肝前駆細胞から肝細胞への分化に重要な要素であることを示した。同研究での骨髄細胞遺伝子発現解析の結果、肝前駆細胞への作用を示す因子の候補として、EGF family に属する増殖因子の Epiregulin を見出した。本研究の目的は、肝再生における Epiregulin の役割を明らかにすることである。

【方法】肝疾患患者の血清 Epiregulin 値を測定し比較検討した。C57BL/6 マウスに 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine(DDC)を含む飼料を与え、肝前駆細胞を誘導し、血清 Epiregulin 値および Epiregulin 発現を評価した。recombinant Epiregulin 投与下の EpCAM 陽性肝前駆細胞株の増殖能について検討した。さらに Epiregulin の効果を評価するために Hydrodynamic Tail Vein Injection (HTVi) 法を用いマウス肝で Epiregulin を過剰発現させ、肝での DNA 合成能および肝前駆細胞発現について検討した。

【結果】急性肝不全患者においては、血清 Epiregulin 値は健常者と比較して有意に上昇していた。DDC マウス肝において CK19 陽性肝前駆細胞は DDC 食開始後 1 週目より門脈域に出現し始め 4 週で最大となった。Epiregulin は DDC 食開始 5 週目をピークに肝前駆細胞からなる偽胆管周囲に発現を認め、Epiregulin 発現細胞の一部は間葉系細胞マーカーである Thy1 と共染色を示した。DDC マウス血清 Epiregulin 値も DDC 食開始後徐々に増加し 4 週でピークを示した。Recombinant Epiregulin は、容量依存的に肝前駆細胞株の増殖を促進していた。HTVi による Epiregulin 遺伝子強発現下では、PCNA 陽性細胞は遺伝子導入後 3 日、7 日で有意に増加し、遺伝子導入 3 日から 21 日後において門脈周囲に CK19 陽性肝前駆細胞増生を確認した。

【結語】Epiregulin は高度肝障害時に、門脈域の肝前駆細胞で構成された偽胆管周囲の間葉系細胞を含む stem-cell niche から発現していた。Epiregulin は肝前駆細胞出現を誘導し、肝細胞の DNA 合成を促進させることで肝再生に寄与している可能性がある。急性肝不全患者と DDC マウス血清の Epiregulin 値が有意に上昇しており、肝前駆細胞を伴う高度肝障害において重要な因子と考えられ、肝再生の有用なバイオマーカーとなる可能性がある。

本研究は Epiregulin が高度肝障害時に肝前駆細胞周囲の間葉系細胞から発現し、肝前駆細胞を誘導し増殖することで肝再生に寄与しているという新たな知見を示すものである。DDC マウスモデルは特殊な肝障害モデルであり、DDC の肝細胞に対する影響やヒトの肝障害との共通点と相違点を言及して研究の限界を考察すること、Epiregulin が血中に出現する場合、分泌型なのか、産生細胞が壊れて出現するのかを出来る範囲で考察すること、今後ヒト障害肝での Epiregulin 産生細胞や肝前駆細胞の免疫組織学的検討が必要であることを考察に加えることで、審議会は学位（医学博士）を授与するに値するものと判定した。