

京都大学	博士 (医学)	氏名	山本 玄
論文題目	Pancreatic Stellate Cells Have Distinct Characteristics from Hepatic Stellate Cells and Are Not the Unique Origin of Collagen-Producing Cells in the Pancreas (膵星細胞は肝星細胞と異なる特徴を持ち、膵臓の線維産生細胞の唯一の起源ではない)		
(論文内容の要旨)			
<p>慢性膵炎は、炎症細胞の浸潤、膵実質細胞の脱落及び線維化が生じることにより膵内外分泌機能が破綻し糖尿病や消化吸収障害を引き起こす疾患である。持続する炎症、線維化は膵癌発症とも関わっており、本邦での有病者数は年々増加傾向にある。膵線維化におけるコラーゲン産生細胞の起源については、いまだ議論がある。肝臓においては肝星細胞 (HSC) が主なコラーゲン産生細胞の起源と言われている。膵星細胞 (PSC) は HSC の膵臓におけるカウンターパートとして認識されており、膵線維化においてコラーゲンを産生すると言われているが、HSC との相同性、異同性については諸説ある。また、肝臓では線維産生細胞の起源として HSC 以外の細胞の存在が示されており、膵臓でも PSC 以外のコラーゲン産生細胞が存在する可能性がある。本研究は、マウス膵線維化モデルを用い膵臓における線維産生細胞の特徴を明らかにすることを目的とした。</p> <p>コラーゲンタイプ 1α1 プロモータ下に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現するトランスジェニックマウスを用いた。コレシストキニンアナログであるセルレインを腹腔内に反復投与することで膵線維化を誘導し、細胞分離は濃度勾配遠心により行った。</p> <p>線維化の進行によりコラーゲン陽性細胞 (即ち GFP 陽性細胞) は増加し、flow cytometry でも GFP 陽性細胞の比率は 16% から 40% へと増加していた。この増加した GFP 陽性細胞は筋線維芽細胞のマーカである α SMA にも陽性であった。PSC のマーカーである Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) 陽性細胞も線維化とともに増加していたが、GFP 陽性細胞のうち GFAP 陽性細胞の比率は約 20% に過ぎず、この結果から PSC 以外のコラーゲン産生細胞の存在が確かめられた。</p> <p>HSC は細胞質中にビタミン A の脂肪滴を持つ。分離した非実質細胞及び組織切片にて、肝臓では蛍光顕微鏡でビタミン A の自家蛍光を観察できるのに対し、膵臓では自家蛍光を認めなかった。flow cytometry にて、HSC においてはほぼすべての細胞が自家蛍光陽性となるのに対し、PSC においては自家蛍光を認めず、HSC に比してビタミン A 含有量が極めて少ないことが判った。</p> <p>質量分析を用い retinyl palmitate (細胞質内でのビタミン A 貯蔵の主形態) の定量を行うと、PSC における含有量は HSC に比べ非常に少ないことが判った。また retinol のエステル化に必須の酵素である Lecithin retinol acyltransferase (Lrat) の mRNA 発現が PSC において非常に低いことも明らかとなった。</p>			

<p>FACS 解析では、HSC は内部構造の複雑さを表す側方散乱光 (SSC) が高いのに対し、PSC では SSC が低い。透過型電子顕微鏡を用い観察すると、PSC における脂肪滴は、HSC のそれに比し、非常に小さく、少ないということが判った。金コロイド法により、GFP 陽性かつ脂肪滴を持つ細胞を同定したが、同様に脂肪滴は少なく小さいものであった。</p> <p>これまで PSC 以外の線維産生細胞について言及した報告はほとんどない。本研究では、線維産生細胞が GFP でラベルされるトランスジェニックマウスの有用性を活かし、PSC 以外のコラーゲン産生細胞の存在を示したのみならず、HSC の膵カウンターパートとされる PSC の、HSC とは大きく異なる特徴を明らかにした。膵線維化の病態生理の一端を解明した点で、非常に意義深い結果が得られたものと考えられる。</p>
(論文審査の結果の要旨)
<p>膵星細胞 (PSC) は肝星細胞 (HSC) の膵カウンターパートとされ、膵線維化における主たる線維産生細胞と言われているが、HSC との相同性については諸説ある。また、肝臓において HSC 以外のコラーゲン産生細胞の存在が示されており、膵臓でも PSC 以外のコラーゲン産生細胞が存在する可能性がある。本学位論文申請者は、コラーゲンタイプ 1α1 プロモータ下に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現するマウスを用い、膵臓における線維産生細胞の特徴を明らかにすることを目的とし研究を行った。</p> <p>PSC のマーカーである Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) 陽性細胞は線維化とともに増加するが、GFP 陽性細胞中の GFAP 陽性細胞の比率は約 20% に過ぎず、明らかに形態上 PSC と異なる細胞を認めた。HSC と異なり PSC ではビタミン A の自家蛍光は認めず、質量分析にても retinyl palmitate 含有量は極微量であることが判った。また Lecithin retinol acyltransferase (Lrat) の発現も低値であった。透過型電子顕微鏡では、PSC と HSC の微細構造上の差異が明らかとなった。以上の研究により、PSC 以外のコラーゲン産生細胞の存在が示唆され、HSC の膵カウンターパートとされる PSC の、HSC との相違が明らかとなった。以上の研究は膵臓における線維産生細胞の解明に貢献し膵線維化の病態生理の解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 12 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>