

京都大学	博士（医科学）	氏名	出口清香
論文題目	Elucidation of the liver pathophysiology of COVID-19 patients using liver-on-a-chips (肝臓チップを用いた COVID-19 患者における肝障害の解明)		
(論文内容の要旨) <p>SARS-CoV-2 はヒトの複数の臓器に感染し、さまざまな臓器障害を引き起こす。なかでも肝障害は、COVID-19 重症化リスクとの関連が示唆されている。さらに、COVID-19 患者における肝障害は部位特異性があり、肝臓の血管周囲では炎症反応がみられる一方で、胆管周囲ではほとんど構造上の異常がみられないことが報告されている。これまでに、COVID-19 患者の肝臓の病態解明は十分に進んでいないため、その病態を再現したモデルを用いた解析が必要である。しかし、既存の in vitro 肝臓モデルとして汎用される肝がん細胞株等は、血管や胆管などの構造を有していないため、血管や胆管周囲の複雑な病態を再現することは困難である。そこで本研究では、生体内の三次元構造を模倣した環境下で細胞培養を可能にする臓器チップ技術を用いて血管や胆管周囲の構造を再現した肝臓チップを開発し、SARS-CoV-2 感染実験に利用することで、COVID-19 患者における肝障害の病態解明および治療薬評価を行った。また、COVID-19 患者の血液検査値の解析を行い、肝臓チップを用いて得られた結果と比較することで、COVID-19 研究における肝臓チップの有用性を検証した。</p> <p>本研究では、二本の流路が多孔質膜で仕切られた構造のマイクロ流体デバイスを用いた。本デバイスの、多孔質膜で仕切られた上側の流路 (top channel) に肝細胞、下側の流路 (bottom channel) に胆管上皮細胞または血管内皮細胞を搭載することで肝内胆管チップ (胆管チップ) または肝内血管チップ (血管チップ) を構築した。免疫染色により両肝臓チップにおいて胆管上皮細胞および血管内皮細胞が bottom channel 内で管状の構造をとり、そこに肝細胞がシート状に隣接する様子が確認された。したがって、胆管および血管付近の三次元構造を再現した、胆管チップおよび血管チップの開発にそれぞれ成功した。</p> <p>肝臓チップの top channel から SARS-CoV-2 を感染させたところ、両チップにおいて、感染後 2 日目には培養上清中からウイルスゲノムが検出されたが、感染後 14 日目にはほとんど検出されなくなった。一方で、細胞傷害性マーカーである乳酸脱水素酵素 (LDH) 産生量は、感染後 2 日目だけでなく 14 日目においても上昇していた。この LDH 産生量の上昇は、胆管チップよりも血管チップにおいてより顕著であった。さらに、感染後の血管チップの肝細胞において脂肪滴の蓄積も増加した。したがって、SARS-CoV-2 は肝臓チップの肝細胞に感染しその後排除されるが、血管チップにおける肝細胞ではウイルス排除後も肝障害が残ることが示唆された。また、これらの血管チップにおける肝細胞障害は、レムデシビル単独作用群では軽減しなかったが、レムデシビルとバリシチニブの併用群では有意に低下したことから、SARS-CoV-2 感染によって引き起こされる肝障害は、レムデシビルとバリシチニブを併用投与することで軽減することが示唆された。</p> <p>最後に、肝臓チップから得られた結果の妥当性を評価するため、COVID-19 患者の血液検査結果との比較を行った。肝障害マーカーの異常は、軽症よりも重症の患者で高頻度に生じたが、胆道系疾患マーカーの異常は軽症および重症患者ともに少なかった。よって、COVID-19 患者における肝障害では、胆汁うっ滞症などの胆道系疾患は生じないことが示唆された。これは、血管チップでは肝細胞障害がみられたのに対し、胆管チップでは細胞障害がみられなかったという 2 種の肝臓チップによる実験結果と一致する傾向を示しており、血管チップで見られた障害が、COVID-19 重症の場合の病態を再現できたことを示唆している。</p> <p>本研究では、胆管や血管の構造をもつ肝臓チップを用いて、SARS-CoV-2 感染時の肝障害を再現した。肝臓チップと臨床検査の結果を用いることで、COVID-19 患者の病態をより詳細に明らかにできると期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、呼吸器をはじめとする様々な臓器に感染し、臓器障害を引き起こす。重症化した SARS-CoV-2 感染症 (COVID-19) 患者のうち、一部では肝障害が報告されている。本研究では、ヒトの肝機能を部分的に再現可能な肝臓チップを開発し、COVID-19 における肝障害の原因究明を試みた。血管および胆管周囲の部位特異的な肝機能を再現するために、マイクロ流体デバイスにヒト肝細胞と血管内皮細胞を搭載した肝内血管チップ、および肝細胞と胆管上皮細胞を搭載した肝内胆管チップを開発した。SARS-CoV-2 は肝内血管および肝内胆管チップのいずれにも感染可能であった。感染成立後に上清中からウイルスが排除された後も、肝内血管チップでは細胞障害マーカーや脂肪滴蓄積量が高かったことから、ウイルス排除後も肝障害が継続することが示された。このような肝障害は、抗ウイルス薬であるレムデシビルおよび抗炎症薬であるバリシチニブの併用により軽減したことから、SARS-CoV-2 感染による肝障害は抗ウイルス薬および抗炎症薬の併用療法により治療できる可能性が示唆された。

以上の研究は、ヒト肝臓モデルを用いた COVID-19 の病態解明に貢献し、感染症をはじめとする疾患研究に資する高精度なヒトモデルの開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 6 年 1 月 17 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降