

京都大学	博士（医学）	氏 名	木 村 有 佑
論文題目	Characterization and role of collagen gene expressing hepatic cells following partial hepatectomy in mice （マウス肝切除後のコラーゲン遺伝子発現細胞の特徴と役割について）		
（論文内容の要旨）			
背景と目的：一般臨床において肝切除後に肝再生が起こることは既知の事実であるが、そのメカニズムについては今日明らかでないことも多い。当研究はマウス肝切除後にコラーゲン遺伝子を発現する細胞がどのような特徴を有しているのか、またこれらの細胞が肝再生において果たす役割について明らかにすることを目的としている。 方法：コラーゲン遺伝子プロモーター下に GFP 遺伝子組み込んだトランスジェニックマウス（Col-GFP マウス）をコラーゲン遺伝子発現細胞の同定に用いた。GFP 陽性細胞を FACS により抽出し、シングルセル RNA シークエンスにて網羅的な遺伝子解析を行った。さらにコラーゲン遺伝子プロモーター下に ER Cre 遺伝子を組み込んだマウス（Col-ER Cre マウス）をレポーターマウス（ROSA-RFP マウス、ROSA-DTA マウス）とそれぞれ交配させた仔マウス（Col-ER Cre/RFP マウス、Col-ER Cre/DTA マウス）をコラーゲン遺伝子発現細胞の追跡、もしくはコラーゲン遺伝子発現細胞の細胞死による肝再生への影響の解析に用いた。 結果：肝切除後 3 日目の肝組織標本にて GFP 蛍光面積の増加を認め、7 日目以降では減少した。肝切除後 3 日目の肝組織内の GFP 陽性細胞をシングルセル RNA シークエンスにより解析を行った。コントロールは四塩化炭素による肝硬変モデルにおける GFP 陽性細胞とした。この中でコラーゲン遺伝子を発現する肝星細胞は 3 つのクラスターに分かれることが確認され、それぞれ”Classic myofibroblast cluster”、”Intermediately activated hepatic stellate cell cluster”、”Proliferating hepatic stellate cell cluster”とラベリングした。この Proliferating hepatic stellate cell cluster には四塩化炭素モデル由来の細胞はほぼ認められず、肝切除特異的なクラスターであると考えられた。また Col-ER Cre/RFP マウスに肝切除を行ったところ、術後 28 日目においても術後 3 日目と同様に RFP 陽性細胞の増加を認め、Col-GFP マウスでの結果と合わせて考えると、肝切除後にコラーゲン遺伝子を発現する細胞はその後細胞死を迎えるのではなく、コラーゲン遺伝子の発現が低下し不活性化した状態に戻り、肝組織に残存することが確認された。また Col-ER Cre/DTA マウスにも同様に肝切除を行うと術後 7 日目の肝重量はコントロールと比べ有意に低く、肝再生が阻害されていることが確認された。 結論：肝切除後にコラーゲン遺伝子を発現する肝星細胞は 3 つのクラスターに分類され、その内 1 つは肝切除後に特異的なクラスターであった。またこれらのコラーゲン遺伝子を発現する細胞は肝切除後の肝再生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。			

（論文審査の結果の要旨） 肝切除後に肝再生が起こることは既知の事実であるが、そのメカニズムについては明らかでない。当研究はマウス肝切除後にコラーゲン遺伝子を発現する細胞の特徴、肝再生において果たす役割について明らかにすることを目的とした。 Collagen GFP マウスにおいて肝切除後 3 日目にて GFP 蛍光面積の増加を認めた。それら GFP 陽性細胞をシングルセル RNA シークエンスにより解析した。結果肝星細胞は 3 つのクラスターに分類され、その内 Proliferating hepatic stellate cell cluster は肝切除特異的なクラスターであると考えられた。また Collagen-ER Cre/RFP マウスに肝切除を行ったところ、術後 28 日目においても術後 3 日目と同様に RFP 陽性細胞の増加を認め、肝切除後にコラーゲン遺伝子を発現する細胞は、コラーゲン遺伝子の発現が低下し不活性化した状態に戻り、肝組織に残存することが確認された。また Collagen-ER Cre/DTA マウスにも同様に肝切除を行うと術後 7 日目の肝重量はコントロールと比べ有意に低く、肝再生が阻害されていることが確認され、これらのコラーゲン遺伝子を発現する細胞は肝切除後の肝再生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。 以上の研究は肝切除後のコラーゲン発現細胞の特徴と役割を明らかにし肝切除後肝再生の機序の解明に寄与するところが多い。 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。 なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 8 月 22 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			