

京都大学	博士（医学）	氏 名	祝迫 恵子
論文題目	Loss of Sept4 exacerbates liver fibrosis through the dysregulation of hepatic stellate cells (Sept4 の欠失は肝星細胞の機能障害を介して肝線維化を悪化させる)		
(論文内容の要旨)			
目的：肝線維化はウィルス、自己免疫、アルコール、脂肪性など、病因のいかんに関わらず慢性肝疾患に生ずる共通の病態である。肝星細胞は、肝線維化において、筋線維芽細胞様に形質転換し、細胞外基質を産生するという重要な役割を果たすが、その機能には不明な点が多い。この研究の目的は、星細胞に発現しているセプチン 4(Sept4) というタンパク質に着目し、星細胞の活性化および肝線維化と Sept4 の関わりについて明らかにすることである。 方法：<i>in vitro</i> 野生型マウスと Sept4 ノックアウトマウスから分離した肝星細胞初代培養系を用いた。培養 1, 3, 7 日目に肝星細胞活性化の指標とされる増殖能、α 平滑筋アクチンの発現、細胞外基質（コラーゲン）産生、ならびに Sept4 の発現について比較した。<i>in vivo</i> 肝障害モデルとして汎用されている四塩化炭素腹腔内投与、総胆管結紮による胆汁うっ滞型肝線維症、メチオニンコリン欠乏食投与による非アルコール性脂肪性肝炎の 3 種のモデルで肝線維化を比較した。線維化の評価は、肝組織のマッソン・トリクロム染色とヒドロキシプロリンの定量で行った。 臨床検体を用いて、ヒト肝組織の Sept4 発現についても免疫組織染色で検討した。 結果：野生型の肝星細胞初代培養系で、Sept4 の発現は、培養に従って低下することがわかった。Sept4 ノックアウトマウスから分離した肝星細胞は、野生型と比較して、早期からα 平滑筋アクチンを発現し、コラーゲンをより多く産生した。増殖能は Sept4 ノックアウトマウスの星細胞がわずかに勝るが有意はなく、明らかな形態学的変化は認められなかった。 3 種全ての線維化モデルで、Sept4 ノックアウトマウスの肝線維化が有意に促進していた。総胆管結紮モデルでは、野生型と比較して、末梢血の T-bil、ALT の上昇には差がないことから、Sept4 ノックアウトマウスの黄疸および肝障害は同等であることが示された。メチオニンコリン欠乏食投与では、体重減少には差がないが、肝重量/体重比は、Sept4 ノックアウトマウスで有意に低下し、肝萎縮が認められた。臨床検体で、正常肝の星細胞にのみ Sept4 の発現が認められた。慢性肝炎、肝線維症、肝硬変では発現が認められないことから、ヒト肝組織においても、Sept4 は静止期の肝星細胞に特異的に発現し、活性化に従って発現が低下することが示唆された。 結論：本研究において、Sept4 は静止期の肝星細胞に特異的に発現し、肝星細胞活性化および肝線維化に対して、抑制的に働いていることが明らかとなった。Sept4 は、肝星細胞の静止期を維持する何らかのメカニズムに関わっていると考えられる。			

（論文審査の結果の要旨） 慢性炎症に伴う組織線維化の制御は重要な医学的課題であるが、その病態には不明な点が多い。肝組織における線維化の中心事象は「星細胞(伊東細胞、レチノイド貯蔵)→筋線維芽細胞(コラーゲン産生・平滑筋型アクチン合成)」という分化転換である。学位申請者は星細胞のみがスカフォールド蛋白質 Sept4 を発現することをマウス肝の免疫組織染色で見出し、細胞分画法で確認した。さらに、初代培養星細胞の分化転換に伴う Sept4 の顕著なダウンレギュレーションを認めた。さらに、星細胞の分化転換ないし肝線維化におけるこの事象の意義を探索するため Sept4 欠損マウスと臨床検体を用い、1) 星細胞の初代培養系において、Sept4 欠損により分化転換が亢進する、2) 個体レベルでも、四塩化炭素による化学的肝障害、閉塞性黄疸、脂肪肝の 3 つの慢性肝炎モデルで Sept4 欠損マウスの肝線維化傾向が亢進する、3) Sept4 の星細胞特異的発現はヒト正常肝でも認められたが、慢性肝炎、肝線維症、肝硬変の検体では検出できず、ヒト星細胞の分化転換に伴って発現が抑制されている、ことを示した。 以上の研究は、分化転換前の静止期の星細胞に Sept4 というこれまで知られていない細胞骨格タンパクが特異的に発現していること、肝線維化をもたらす分化転換に Sept4 が抑制的に作用すること、を示し肝線維化・肝星細胞の分化転換のメカニズム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、平成 20 年 10 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			