

仁木大輔氏の学位論文審査の要旨

論文題目

肝類洞内皮細胞の発生に関与する肝芽細胞由来因子群の存在証明とその同定

(Identification and analysis of hepatoblast-derived signals for hepatic sinusoidal endothelial cell development)

肝類洞内皮細胞は肝類洞壁を構成し、特有の機能を有する肝特異的な細胞であり、最近肝臓の発生や再生、免疫応答への関与など、生体におけるその重要性が示されている。しかしながら、その発生機構はほとんど解明されていない。肝類洞構造は肝芽細胞と肝類洞内皮細胞の細胞間相互作用により形成されると考えられている。本研究では肝芽細胞が肝類洞内皮細胞の発生に関与していると仮定し検討を加えた。まず肝芽細胞欠損ニワトリ胚を用いた *in vivo* の解析と、肝芽細胞培養上清を用いた *in vitro* の解析により、肝芽細胞の肝類洞内皮細胞発生への関与を検討した。この実験では肝内胚葉に Noggin を強制発現させる事により肝芽細胞欠損胚を確立し、この胚では肝類洞内皮細胞の起源の1つと考えられている肝中皮直下の Flk-1 陽性細胞が欠損することが確認された。この結果は、肝芽細胞が肝類洞内皮細胞の発生に関与することを示唆している。また、肝中皮では CK19、Capsulin の遺伝子発現が減少していた。さらに肝芽細胞培養上清とヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いた *in vitro* の解析では、肝芽細胞培養上清中に細胞増殖促進活性と細胞移動促進活性が含まれることが判った。

つぎに肝類洞内皮細胞の発生に関与する肝芽細胞由来の発生因子の探索として、Angiopoietin-like protein(Angptl)family に注目し、その発現様式の解析と機能解析を行った。その結果、孵卵 1-4 日胚のニワトリ胚において Angptl1,2,3,4,7 の発現が検出された。*in situ* hybridization による組織化学的な解析より、Angptl3 が発生過程の肝芽細胞で特異的に発現する事を見だした。Angptl3 強制発現による *in vivo* 解析および、Angptl3 タンパクと HUVEC を用いた *in vitro* 解析により、Angptl3 が肝臓発生過程において血管内皮細胞の移動を促進する因子として働いていることが示された。この結果は、Angptl3 が肝臓内の血管系の発生に関与していることを示唆している。

公開審査では肝芽細胞欠損胚作成の詳細、肝芽細胞培養上清中に存在する細胞増殖促進活性と細胞移動促進活性、また Angiopoietin-like protein(Angptl)family のほかのメンバーと肝臓発生との関連などに関する質問に対して 的確な回答がなされた。

本研究の結果、肝芽細胞が肝類洞内皮細胞発生に関与すること、さらに、肝臓発生初期における肝芽細胞では Angptl3 などの因子が発現し、肝類洞の形成に関与している事が明らかとなった意義は大きいと評価された。

審査委員長 小児科学担当教授

袁藤 文夫

審査結果

学位申請者名： 仁木 大輔

専攻分野： パターン形成学

学位論文題名： 肝類洞内皮細胞の発生に関与する肝芽細胞由来因子群の存在証明とその同定
(Identification and analysis of hepatoblast-derived signals for hepatic sinusoidal endothelial cell development)

指導： 横内 裕二

判定結果：

⓪

不可

不可の場合：本学位論文での再審査

可

不可

平成 22 年 2 月 8 日

審査委員長 小児科学担当教授

遠藤 文夫

審査委員 神経分化学担当教授

田中 芝明

審査委員 組織幹細胞学担当教授

小川 峰太郎