

（様式6-A） A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

萩原 慶 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目

A New Liver-Regeneration Molecular Mechanism Involving Hepatic Stellate Cells, Kupffer Cells, and Glucose-Regulated Protein 78 as a New Hepatotrophic Factor

（肝星細胞、クッパー細胞および新たな肝再生因子であるGRP78を介した新たな肝再生の分子機序の解明）

Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences 2022(in press)

Kei Hagiwara, Norifumi Harimoto, Takahiro Yamanaka, Norihiro Ishii, Takehiko Yokobori, Mariko Tsukagoshi, Akira Watanabe, Kenichiro Araki, Tomoharu Yoshizumi, and Ken Shirabe

論文の要旨及び判定理由

肝臓は高い再生能力を持つ臓器であるが、肝切除後の肝不全は依然として臨床的に大きな問題である。本研究では肝再生において重要な役割を持つことが知られている肝星細胞 (hepatic stellate cells; HSC) とクッパー細胞 (Kupffer cells; KC) の活性化メカニズムに注目し、HSC由来のMac-2-binding protein glycan isomer (M2BPGi)により活性化されたKCが肝再生を促進する分子機序を解明することを目的として検討が行われた。

生体肝移植ドナーの術後3日目の血清M2BPGiは術後7日目の肝再生率および切除肝重量と正の相関関係を示した。肝細胞培養液へのM2BPGi添加は肝細胞のBrdU取り込みに影響を与えなかったが、KC培養上清添加は肝細胞のBrdU取り込みを促進し、M2BPGi処理後のKC培養上清添加は肝細胞のBrdU取り込みを更に促進した。M2BPGi処理後のKC培養上清を質量分析計にて解析したところ、M2BPGi添加によりKCから上清中への分泌が促進されるタンパクとしてGlucose-Regulated Protein 78 (GRP78)が同定された。培養上清にGRP78を添加した結果、肝細胞のBrdU取り込みは促進した。

次に、GRP78と肝再生の関係を明らかにするためにマウス肝切除モデルを用いて解析を行った。マウスに対して70%肝切除を施行すると術後12時間をピークとする血清GRP78の上昇を認め、切除肝の免疫染色では α -SMA (HSCマーカー)、F4/80 (KCマーカー)、M2BP、GRP78いずれも術後12時間をピークとする発現亢進を認めた。また、70%肝切除後にマウスの腹腔内にGRP78を投与することで、肝細胞のBrdU取り込み促進ならびに肝再生率の改善が観察された。クロドロン酸リポソームを用いて肝臓に存在するKCを枯渇させると、70%肝切除術後の血清GRP78が低下し肝再生も抑制された。しかし、このKC枯渇により引き起こされた肝再生抑制効果はGRP78投与により解除された。また、致死的肝切除モデルである90%肝切除術モデルマウスにGRP78を投与することで、術後の生存率が有意に改善した。

これまでに活性化HSC/KC/GRP78を介した肝再生機序の報告はなく、本研究では新たな肝再生因子としてGRP78を同定した。本研究により、1) 肝切除術後には活性化されたHSCよりM2BPGiが分泌、2) M2BPGiにより活性化したKCがGRP78を分泌、3) GRP78により肝細胞の増殖能が促進、という新たな肝再生分子機序を明らかにすることができた。

本研究は、肝再生における新たな分子機序を明らかにし今後の肝不全治療の発展に寄与すると認められ、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

令和4年6月6日

審査委員

主査	群馬大学教授（医学系研究科） 応用生理学分野担任	鯉淵 典之	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） 消化器・肝臓内科学分野担任	浦岡 俊夫	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） 臨床検査医学分野担任	村上 正巳	印

参考論文

1. Hepatic stellate cell as a Mac-2-binding protein-producing cell in patients with liver fibrosis
(肝線維症患者におけるMac-2結合蛋白産生細胞としての肝星細胞)
Hepatology Research. 2021 Oct;51(10):1058-1063.
Dolgormaa Gantumur, Norifumi Harimoto, Ryo Muranushi, Kouki Hoshino, Chingun Batbayar, Kei Hagiwara, Takahiro Yamanak, Norihiro Ishii, Mariko Tsukagoshi, Takamichi Igarashi, Akira Watanabe, Norio Kubo, Kenichiro Araki, Takehiko Yokobori, Shinichi Aishima, Ken Shirabe
2. Mac-2 Binding Protein Glycosylation Isomer as a Prognostic Marker for Hepatocellular Carcinoma With Sustained Virological Response
(Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体はmTORシグナル伝達を活性化することで肝細胞癌の悪性を促進する)
British Journal of Cancer. 2020 Sep;123(7):1145-1153.
Gantumur Dolgormaa, Norifumi Harimoto, Norihiro Ishii, Takahiro Yamanaka, Kei Hagiwara, Mariko Tsukagoshi, Takamichi Igarashi, Akira Watanabe, Norio Kubo, Kenichiro Araki, Tadashi Handa, Takehiko Yokobori, Tetsunari Oyama, Hiroyuki Kuwano, Ken Shirabe
3. Preoperative Mac-2 binding protein glycosylation isomer level predicts postoperative ascites in patients with hepatic resection for hepatocellular carcinoma
(術前の血清Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体値は肝細胞癌に対する肝切除術後の術後腹水の予測因子である)
Hepatology Research. 2019 Dec;49(12):1398-1405.
Norihiro Ishii, Norifumi Harimoto, Kenichiro Araki, Ryo Muranushi, Kouki Hoshino, Kei Hagiwara, Dolgormaa Gantumur, Takahiro Yamanaka, Mariko Tsukagoshi, Takamichi Igarashi, Hiroshi Tanaka, Akira Watanabe, Norio Kubo, Ken Shirabe