

(甲)

## 学位論文抄録

肝類洞内皮細胞の発生に關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)

仁 木 大 輔

熊本大学大学院医学教育部博士課程生体医科学専攻パターン形成学

指導教員

横内 裕二 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻肝臓発生学

## 学位論文抄録

【目的】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る。近年、肝類洞内皮細胞が肝臓の発生や再生、免疫応答への関与が示され、生体におけるその重要性が示された。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。肝類洞内皮細胞の発生機構が明らかになると、その知見は発生生物学の進歩のみでなく、ハイブリッド型人工肝臓の高度化、肝臓内血管系の治療を目的とした再生医療、肝類洞内皮細胞または肝内血管の障害を克服するための新薬のデザインなどの医療応用へと発展することが期待される。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。そこで、私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、検討を行なった。

【方法】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。また、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。

【結果】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た。この胚を用いた組織化学的解析により、肝中皮直下の*Flk-1*陽性細胞の欠損が確認された。また、肝中皮では*CK19*、*Capsulin*の遺伝子発現が減少していた。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。また、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いだした。*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。

【考察】肝芽細胞欠損胚において、肝類洞内皮細胞の起源の1つであると考えられている肝中皮直下の*Flk-1*陽性細胞の欠損が確認された。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、肝臓発生過程において、*Angptl3*が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。

【結論】本研究において、肝芽細胞は肝類洞内皮細胞の発生に関与することが示された。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。