

## 論文審査の要旨および学識確認結果

| 報告番号  | 甲 第 号   | 氏 名          | 坂田 幸太郎           |
|---|---|--------------|------------------|
| 論文審査担当者：  | 主査  | 慶應義塾大学教授     | 農学博士 井本 正哉       |
|   | 副査  | 慶應義塾大学教授     | 工学博士 岡 浩太郎       |
|   |   | 慶應義塾大学准教授    | 博士(地球環境科学) 土居 信英 |
|   | 慶應義塾大学准教授   | 博士(工学) 清水 史郎 |                  |
|   | 独立行政法人理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>特別ユニットリーダー 理学博士 小嶋 聡一   |              |                  |
| <b>(論文審査の要旨)</b>  |   |              |                  |
| <p>学士（農学）、修士（農学）坂田幸太郎君提出の学位請求論文は、「New Insights in Molecular Mechanism under Progression of Liver Fibrosis（肝線維症進展の新しい分子機構解明）」と題し、4章から成っている。</p> <p>肝線維症は、コラーゲンをはじめとする細胞外基質の過剰な蓄積により引き起こされ、肝硬変や肝癌へと進展する病態である。著者は、線維化誘導サイトカインである TGF-<math>\beta</math> に着目し、これまで不明であった C 型肝炎ウイルス（HCV）の感染ならびに血管新生が肝線維症を進展させる分子機構を新たに解明した。</p> <p>第 1 章は序論であり、肝線維症の病態進展機構ならびにその主要因子である TGF-<math>\beta</math> について、従来研究をまとめている。さらに肝線維症の主たる発症要因である HCV、および線維化と並行して起こることが昨今注目されている血管新生について概説している。</p> <p>第 2 章では、HCV の NS3 プロテアーゼによる肝線維化促進の分子機構を解析している。著者は、NS3 プロテアーゼが TGF-<math>\beta</math>2 の抗原性ならびに生物活性（TGF-<math>\beta</math> 疑似活性）を有していることを見出し、その TGF-<math>\beta</math> 疑似活性が肝線維化を促進しているのではないかと作業仮説を立て、検証を行った。TGF-<math>\beta</math> 応答性リシフェラーゼ発現細胞において、リコンビナント NS3 タンパク質は TGF-<math>\beta</math> I 型受容体依存的、プロテアーゼ活性非依存的に TGF-<math>\beta</math> 疑似活性を発現することを示した。また、C 型肝炎患者において高い血中濃度を示す炎症性サイトカイン TNF-<math>\alpha</math> が、TGF-<math>\beta</math> I 型受容体の発現を亢進することにより正常肝細胞における NS3 感受性を誘導することを見出した。続いて HCV 感染肝癌細胞株を用い、ウイルス由来の NS3 が細胞表面において TGF-<math>\beta</math> I 型受容体と相互作用することを示した。さらに、NS3 と TGF-<math>\beta</math> I 型受容体のドッキングシミュレーションにより予測結合サイトに対する抗 NS3 抗体を作製し、同抗体が HCV 感染ヒト肝細胞移植キメラマウスにおける肝線維化進展を抑制することを示した。以上より、HCV NS3 プロテアーゼは TGF-<math>\beta</math> を模倣し、その I 型受容体と結合して下流のシグナルを活性化させ、肝線維症の進展に寄与していることが示唆された。</p> <p>第 3 章では、血管新生による肝線維化促進の分子機構について述べている。VEGF 投与による血管新生モデルマウスにおいて、内皮細胞の指標である CD31 の発現亢進に加えてコラーゲンを多量に産生する活性型肝星細胞の指標である <math>\alpha</math>-SMA の発現亢進、コラーゲンを構成する特徴的アミノ酸であるヒドロキシプロリン含量の増加が観察された。活性化していない初代培養肝星細胞（HSCs）に VEGF を処理しても <math>\alpha</math>-SMA は亢進しなかったが、初代培養肝類洞内皮細胞（LSECs）の培養上清を HSCs に処理した結果 <math>\alpha</math>-SMA の発現が亢進し、その効果は TGF-<math>\beta</math>1 中和抗体により抑制された。さらに LSECs の培養上清中には潜在型の TGF-<math>\beta</math> が多量に含まれており、それらが HSCs の細胞表面において活性型へと変換されることを見出した。これらの結果より、新生血管は潜在型 TGF-<math>\beta</math> を供給することにより、肝線維症促進に寄与していることが示唆された。</p> <p>第 4 章では、本研究で得られた結果から HCV と血管新生との関連について線維症を主とした肝疾患研究の展望を議論し総括としている。</p> <p>本論文では、HCV 感染ならびに血管新生による肝線維症進展の分子機構を見出したことに限らず、新規治療法の可能性を示したことにまで及ぶ。本研究成果は、今後の肝線維症における病態学研究、ウイルス学研究、血管生物学研究に貢献するものである。よって、本論文の著者は博士(理学)の学位を受ける資格があるものと認める。</p> |   |              |                  |
| 学識確認結果  | <p>学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査会委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。</p> <p>また、語学（英語）についても十分な学力を有することを確認した。</p> |              |                  |