

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	五 十 嵐 亮
論文審査担当者 主 査 医化学 佐 藤 俊 朗 病理学 関 根 茂 樹 生理学 森 實 隆 司 内科学 林 香 学力確認担当者： 審査委員長：関根 茂樹 試問日：2025年 6月24日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：Generation of human adult hepatocyte organoids with metabolic functions (代謝機能を保持した成人肝細胞オルガノイドの樹立法の確立)				
成人肝細胞の体外培養は困難であったが、肝細胞オルガノイドの増殖因子としてオンコスタチンMを同定し、長期培養を可能とした。また試験管内での分化誘導法を開発し、糖新生や尿素産生、胆汁酸分泌、薬剤代謝などの肝細胞機能を評価する系を構築し、生体内に匹敵する機能を有することを実証した。肝障害マウスへの移植を行い、部位別の代謝機能の再現を免疫染色で確認した。 審査では、まず増殖についての質問があり、オンコスタチンMを用いた理由は、肝細胞癌の変異情報から選択したと回答された。Integrinβ4の誘導の意義は、試験管内のマトリゲルでの増殖にヘミデスモソームが重要であることが示唆されたが、生体内の増殖との関連は今後の検討課題である。LATS inhibitorで出現するCK19陽性細胞は胆管細胞と同じであるか質問され、遺伝子発現からは異なると考えていると回答された。樹立における他の細胞の混入について指摘されたが、凍結初代肝細胞は99%以上肝細胞であるが胆管細胞も混入しており、フローサイトメトリーで分離し、2種類の上皮細胞オルガノイドの形成が示された。肝組織からの樹立については肝細胞の分離にはコラゲナーゼ灌流が必要であり、患者検体では灌流可能な組織の入手が困難と回答された。またマウス移植についての質問は、年齢とともに置換率が低下する原因を問われたが、年齢依存的な増殖能力の低下やテロメアによる分裂回数限界のためと考えていると答えられた。移植細胞のマウス体内でのzonation形成は免疫染色にてzonation markerの発現を示された。分化についての質問は、コントロールについて指摘され、各機能解析は初代凍結肝細胞を使用した。初代細胞であっても機能評価が困難であることが現在の問題点でもあり、機能評価の目標としては生体内推定値を用いたと回答された。増殖や分化におけるミトコンドリアの数や機能の変化を質問されたが、細胞外フラックスアナライザーで増殖時よりも分化時にミトコンドリア機能の活性化が示された。iPS細胞由来オルガノイドとの比較は、客観的な比較指標を用いて、肝臓特異的遺伝子の発現が成人肝細胞オルガノイドの方が高いと提示された。シングルセル解析については、今回は比較的単一な集団であると考え実施していないと回答された。zonationにおける勾配形成に対する知見はオルガノイドから得られたかと質問されたが、勾配形成は再現できていないと回答された。Wnt添加による脂肪酸合成以外の機能については、糖新生や尿素回路の遺伝子発現は低下すると示された。今後の展望として、脂肪性肝疾患を中心とした疾患モデルの作成と病態解明を行いたいと回答された。 以上、本研究は検討すべき課題は残すものの、成人肝細胞の増殖や分化誘導法の確立、再生医療への応用可能性が示された点で、有意義な研究であると評価された。				