HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	非アルコール性脂肪性肝疾患におけるマクロファージ関連肝線維化バイオマーカーの探索［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	正司, 裕隆
Description	配架番号：2385
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13006号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70292
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hirotaka_Shoji_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　正司　裕隆

審査担当者	主査　教授	坂本　直哉
	副査　教授	本間　明宏
	副査　教授	平野　聡
	副査　教授	豊嶋　崇徳

学 位 論 文 題 名

非アルコール性脂肪性肝疾患におけるマクロファージ関連肝線維化バイオマーカーの探索
(Study on the macrophage-related biomarkers for liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease)

本研究において、申請者はNAFLD患者群において、IL-34をはじめとするマクロファージ関連バイオマーカーの血清濃度が線維化の進行に伴い上昇すること、IL-34は優れた線維化診断能を有し、線維化独立寄与因子として抽出されたこと、さらにIL-34を用いた線維化予測式は良好な線維化診断能を有することを示した。線維芽細胞はIL-34の産生細胞であることを示すとともに、TNF-α刺激によってIL-34の発現が亢進することを免疫染色やPCR法を用いて発表した。

審査にあたり、副査の平野教授から、①IL-34が線維芽細胞以外の細胞から産生されている可能性と主産生細胞であると考えた理由、②線維化予測式の有用性について質問がなされた。申請者は、①血管内皮細胞からIL-34が産生されるという報告があり、肝組織においても同細胞から産生されている可能性があること、今後各細胞を分離培養し免疫染色やIL-34発現の定量評価を行うことが望ましいこと、②各stageで独立寄与因子が異なるためstage別の線維化予測式を作成することでより優れた予測式作成の可能性があるが、実臨床における汎用性といった観点から一つの予測式を作成したこと、線維化予測式は各線維化マーカーより診断能が優れていたことが統計学的に示されたが、その有用性については今後別コホートでの再検証が必要であると回答した。その他、本文中の脚注と図番号の不一致、一人称複数形を修正するように指摘があった。

次に副査の本間教授から、①IL-34が上昇する疾患、②IL-34の上昇が線維化亢進に繋がる可能性の有無、③ROC解析の解釈、④使用抗体について、⑤ウイルス性肝炎とNAFLDの肝線維化の違いについて質問がなされた。申請者は、①リウマチ患者や炎症性腸疾患患者の血清IL-34が上昇すること、②既報論文でIL-34の線維化亢進能が報告されており、その可能性があること、③既報論文ではAUC値による比較が多いこと、④学位論文中の説明が不足していたため追加記載すること、⑤ウイルス性肝炎は門脈領域から線維化が始まるのに対してNAFLDでは肝細胞周囲から線維化が始まることが報告されていると回答した。

次に、副査の豊嶋教授から、①単球培養実験でのコントロールがないこと、②C型肝炎

患者血清での検討を行った理由、③肝線維化と骨粗鬆症発症リスクの報告について、④IL-34 発現量の比較実験について単位細胞あたりと培養細胞総和のどちらのデータであるか、⑤線維化が亢進した線維芽細胞から IL-34 が強発現している理由について質問があった。申請者は、①単球は無刺激では長期生存が困難でありコントロールをおくことが困難であったこと、②既報論文で報告のある C 型肝炎患者血清でも測定し、実験系が work していることを確認する必要があったこと、③調べたかぎりではそのような報告はなかったこと、④PCR の結果は単位細胞あたりの発現量であること、⑤樹立した線維芽細胞株が少ないため樹立細胞株を増やして再検討を行う必要があると回答した。

最後に、主査の坂本教授から①IL-34 は NAFLD 特有ではなく、肝線維化全般にわたるバイオマーカーという認識でよいのか、②健常人の定義について、③対象として除外した疾患、④健常人と比較して上昇していた液性因子群が反映しているもの、⑤IL-34 と炎症 grade との相関、⑥作成した線維化予測式の別コホートでの検証の有無について、⑦LX-2 と線維芽細胞の活性化評価についての質問があった。申請者は、①C 型肝炎の検討数が少ないが、NAFLD と同様の結果であったことから肝線維化全般にわたるバイオマーカーである可能性が高いこと、②検診結果などから NAFLD が否定された群であること、③NAFLD 以外の肝疾患とリウマチや炎症性腸疾患を除外したこと、④IFN-γ, IL-1βといった炎症性サイトカインの上昇を認めたことから炎症を反映した可能性、⑤IL-34 は病理学的な Activity grade と相関していたこと、⑥別コホートでの検証は行っていないこと、⑦線維芽細胞は LX-2 よりもα-SMA を強発現していたこと、また TNF-α刺激後のこれらの細胞のα-SMA は測定していないと回答した。また、今回作成した線維化予測式を独立した別コホートで検証する必要があるとの指摘があった。

いずれの質問に対しても、申請者は Scientific Reports に発表した自らの実験結果や既報論文を引用し回答した。本研究の結果は今後の NAFLD における新たな線維化診断法としての可能性を提供することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。