



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肝臓GVHDは、TGF β を介してオルガノイド形成肝臓幹細胞を標的とする [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	長谷川, 祐太
Description	配架番号 : 2636
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14616号
Issue Date	2021-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82964
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuta_Hasegawa_review.pdf, 審査の要旨



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 長谷川 祐太

	主査	教授	橋野 聡
審査担当者	副査	准教授	外丸 詩野
	副査	准教授	北條慎太郎

学 位 論 文 題 名

肝臓 GVHD は、TGF β を介してオルガノイド形成肝臓幹細胞を標的とする
(GVHD targets organoid-forming liver stem cells via a TGF- β -dependent manner)

申請者はマウスモデルを用いて、同種造血細胞移植 (hematopoietic cell transplantation, HCT) 後の合併症である移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) では、肝臓において TGF- β 1 を介して胆管上皮 (biliary epithelial cell, BEC) の幹細胞が傷害されることを明らかにした。また、matrix metalloproteinase 7 (MMP7) が肝臓 GVHD による BEC 傷害を反映して上昇し、疾患マーカーとして有用である可能性を示した。さらに、TGF- β 阻害薬や R-spondin1 が肝臓 GVHD の新規治療薬として期待されることを発表した。

審査にあたり、まず副査の外丸准教授から、マクロファージを除去すると肝臓 GVHD は改善するのかという質問があった。申請者は、現時点では検討できていないが、マクロファージを除去することで肝臓 GVHD が改善する可能性はあり、今後検討していくことを回答した。続いて、TGF β 1 を産生するマクロファージはドナー由来と言えるのかという質問があった。申請者は、HCT 後各時期のキメリズムをフローサイトメトリーで解析を行った結果、day+7 以降、マクロファージは一貫してドナー由来に置き換わっていることから、ドナー由来のマクロファージが TGF β 1 を産生していると考えたと回答した。また、移植後門脈域には T-cell も浸潤しているが、今後の治療開発としてマクロファージを抑制することを進めていくのかという質問があった。申請者は、T-cell も BEC 傷害に関与していることが推測されるので、既存の T-cell を抑制する治療薬に併用する形で、TGF β 阻害薬を肝臓 GVHD に対して使用することを想定していると回答した。

次に、副査の北條准教授より、マクロファージを除去するにあたりクロドロン酸リポソームを使用してみてもどうかという質問があった。申請者は、移植後にクロドロン酸リポソームを投与する実験を行ったが、炎症時にはマクロファージの動員が急速で、2 日毎の投与でも除去しきれなかったため、今後、抗 CSF 抗体によるマクロファージの除去や CCR2 ノックアウトマウスを用い

て実験を行う予定であると回答した。また、マクロファージの TGF β 1 産生を促進させている因子は何を想定しているのかという質問があった。申請者は、T-cell や BEC によるサイトカインが想定されるが、現在は答えを持ち合わせおらず今後検討を行っていくと回答した。最後に、TGF β を阻害することで、T-cell の活性に影響は与えないのかという質問があった。申請者は、HCT 後に TGF β が制御性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg) の分化を促すことが報告されており、その懸念があったと回答した。しかし、SMAD2/3 の阻害を介して TGF β レセプターのシグナルを阻害する SB-431542 投与群と非投与群で day+28 時点の T-cell のフローサイトメトリー解析を行ったが、両群の CD4⁺Treg の総数に有意差がなかったと回答した。また、Day+14 時点で Treg は既に誘導されていることが予想されたこと、T-cell の総数、CD4/8 比にも違いは認めなかったこと、また、マウスモデルにおいて両群の GVHD score や体重に差はなく、組織所見上も明らかな BEC 傷害の増悪は認められなかったことも回答した。

最後に、主査の橋野教授より、SB-431542 は現在臨床応用されているのかと質問があった。申請者は、肺線維症及び肝硬変の治療薬として治験が計画されていると聞いていると回答した。次に、SB-431542 を投与し TGF β を阻害することによる副作用は何が考えられるかと質問があった。申請者は、長期的な投与実験は行っていないが、HCT 後 day+14 から day+28 においては投与群、非投与群で GVHD score や体重減少などの明らかな副作用は認められなかったと回答した。しかし、TGF β は Treg の分化を促すことから、移植後の投与時期によっては Treg 産生を抑制し、GVHD が悪化する危険性があることが考えられることも回答した。最後に、R-spondin1 を入手した経緯について質問があった。申請者は、自身が所属する研究グループが、腸管における Lgr5 陽性幹細胞が GVHD のターゲットになることを報告し、Lgr5 のリガンドで Wnt 作動薬である R-spondin1 に注目したことがきっかけであること、協和発酵キリンより R-spondin1 の提供を受け、実験を行っていることなどを回答した。

この論文は、肝臓 GVHD において TGF- β 1 を介して BEC 幹細胞が傷害されることを明らかにしただけでなく、TGF β 阻害薬や R-spondin1 による治療法の開発にまで発展させている点において高く評価され、今後さらなる肝臓 GVHD メカニズムの検討及び臨床応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ、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。