



Title	Slow-Release Prostacyclin Agonist-Immersed Sheet Implantation Suppresses Liver Fibrosis via Hippo Signaling Pathway Activation
Author(s)	藤井, 渉
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105286
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	藤井 渉
論文題名 Title	Slow-Release Prostacyclin Agonist-Immersed Sheet Implantation Suppresses Liver Fibrosis via Hippo Signaling Pathway Activation (徐放性プロスタサイクリン作動薬浸漬シート移植はHippo Signaling Pathwayを介して肝線維化を抑制する)
論文内容の要旨	
〔目 的(Objective)〕	
肝硬変は、肝臓の線維化を主体とする病態で、様々な慢性肝疾患の終末像であり、肝不全や肝癌など致死的な病態を引き起こす。その治療の一つとして肝移植があるが、ドナー不足などの理由により十分に普及しているとは言えず、肝硬変に対する新たな治療法が求められている。ON01301はプロスタグランジン製剤であり、Prostaglandin I (IP) 受容体を賦活化し、様々な臓器において再生誘導作用を示すことが報告されている。今回、このON01301の徐放性剤であるON01301 slow releasing form (ON01301SR) を浸漬したアテロコラーゲンシートを肝臓表面に貼付することによる新たな肝硬変に対する治療を考案し、その治療効果を評価した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
C57BL/6J雄マウスにThioacetamide (TAA) を週2回腹腔内投与し、慢性薬剤性肝障害モデルマウスを作成した。投与開始後1週目に、小開腹下に肝表面へON01301SR浸漬シートを貼付したマウス(ONO-SR群)と、プラセボ薬を浸漬したシートを貼付したマウス(コントロール群)の2群を作成し、投与開始後3週目および5週目での両群の肝組織および血液を用いて、組織学的検査 (Hematoxylin & Eosin (HE) 染色・Sirius red染色)、RT-PCR (<i>Collagen α 1</i> 、 <i>Acta2</i>)、血液生化学検査を行った。組織学的検査では、3週目では両群間で有意差を認めなかったものの、5週目ではONO-SR群でHE染色にて肝障害の抑制が認められ、Sirius red染色にて肝線維化面積が有意に減少した(11.65% vs 6.6%, p<0.05)。またRT-PCRではONO-SR群で肝線維化の指標である <i>Collagen α 1</i> 、 <i>Acta2</i> の有意な発現低下を認めた(0.311倍, p<0.05 ; 0.377倍, p<0.05)。血液生化学検査では、コントロール群に比べONO-SR群でAST、ALTが有意に低値であり(51.8±3.2 IU/L vs 45.4±2.2 IU/L, p<0.05 ; 57.4±2.3 IU/L vs 41.0±4.6 IU/L, p<0.05)、肝障害の抑制が示唆された。さらにONO-SR群における肝障害抑制効果は、ON01301SR浸漬シートを貼付していない遠隔部の肝組織においても貼付部と同様であった。3週目に採取された肝組織のRNA sequence解析では、ONO-SR群において肝障害に特異的な遺伝子の発現抑制が認められ、Ingenuity Pathway Analysisにおいて、ONO-SR群でp53の活性化、コントロール群でYAPの活性化が予測された。さらに既報マイクロアレイデータ (GSE49384) を用いたYAP/TAZ下流遺伝子のGene Set Enrichment Analysisにおいても、ONO-SR群においてYAP/TAZ下流遺伝子の発現が有意に抑制され、これらの結果はともにHippo Signaling Pathwayの活性化を示唆していた。また、Western Blot解析と免疫組織化学染色にて、ONO-SR群においてYAPの蛋白発現と核内移行が抑制され、さらにRT-PCRでYAP/TAZの代表的な下流遺伝子 (<i>Ctgf</i> 、 <i>Cyr61</i>) の有意な発現低下を認めた(0.231倍, p<0.05 ; 0.441倍, p<0.05)。次にこれらの結果を検証するために細胞株を用いたin vitro実験を行った。まずヒト由来肝細胞株と肝星状細胞株におけるIP受容体の発現をWestern Blot解析にて確認した。ヒト由来肝細胞にTAAを投与して作成した薬剤性障害肝細胞株にON01301を投与するONO群と投与しないコントロール群を作成し、これらを比較したところ、ONO群で細胞生存率の改善、YAPの核内移行の抑制が確認された。また肝星状細胞株で同様の比較を行うと、ONO群では肝線維化の指標である <i>Collagen α 1</i> 、 <i>Acta2</i> の発現が抑制された(0.688倍, p<0.05 ; 0.813倍, p<0.05)。さらに、薬剤性障害肝細胞と共培養した場合でも、ONO群の肝細胞と共培養した肝星状細胞の肝線維化マーカー遺伝子の発現抑制が確認された。この結果はON01301が肝星状細胞への直接的な作用だけでなく、肝細胞を介して間接的にも肝星状細胞の活性化を抑制している可能性を示唆した。	
〔総 括(Conclusion)〕	
ON01301SRは、肝細胞および肝星状細胞に作用し、Hippo signaling pathwayの活性化を介して肝線維化を抑制すると考えられ、ON01301SRの局所投与が肝線維化抑制治療の選択肢となり得る可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤井 渉				
論文審査担当者	(職) 氏 名			
	主 査	大阪大学教授	江口 英利	署 名
	副 査	大阪大学教授	新谷 康	署 名
	副 査	大阪大学教授	三善 英知	署 名
論文審査の結果の要旨				
本研究では、プロスタグランジン製剤ONO1301の徐放性剤であるONO1301SRの浸漬シートを慢性肝障害モデルマウスの肝臓に貼付した後の肝組織を調べ、ONO1301SRの肝線維化抑制効果を評価した。チオアセトアミド腹腔内投与により慢性肝障害を誘導したC57BL/6Jマウスを作成し、ONO1301SRの浸漬シートを肝表面に貼付したONO群、プラセボ薬の浸漬シートを貼付した対照群を比較した。その結果、ONO群では線維化面積が有意に減少し、AST、ALT、LDHが有意に低値を示した。肝組織のRNA sequence解析では、ONO群においてHippo Signaling Pathwayの活性化を認めた。さらに、In vitro実験では、ヒト肝細胞株Fa2N4、肝星状細胞株LX2にONO1301を投与するとHippo Signaling Pathwayが活性化し、肝星状細胞の活性化が抑制された。以上より、ONO1301SR局所投与は、Hippo Signaling Pathwayを介して肝線維化を抑制する可能性が示唆された。本研究は、肝線維化治療薬として臨床応用も期待される重要な研究成果であり、学位の授与に値すると考えられる。				