OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	CYP7A1 expression in hepatocytes is retained with upregulated fibroblast growth factor 19 in pediatric biliary atresia
Author(s)	長谷川, 泰浩
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76212
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、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

論文審査の結果の要旨及び担当者

	（申請者氏名）	長谷川泰浩	
	（職）		氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	木蘭 恵一
	副　査	大阪大学教授	竹原徹郎
	副　査	大阪大学教授	奥山宏臣

論文審査の結果の要旨

胆汁酸の生合成は生理的条件下で厳しく制御されている。しかし胆道閉鎖症（BA）などの慢性胆汁鬱滞下の状況にある患者においてその生合成の調節機構は不明である。今回申請者はレーザーマイクロダイセクション(LMD)の手法を用いて肝細胞内での事象にクローズアップすることでBA小児患者における胆汁酸生合成の調節機構を研究した。

申請者はBA小児患者から得られた肝臓及び血清のサンプルを用いて、胆汁酸生合成に関わるシグナル伝達経路の分子制御について解析した。申請者はLMDで作成した肝細胞が豊富な組織において、FGF19シグナル伝達経路を解析している。FGF19シグナルは肝細胞膜にあるFGFR4を活性化させているが、その下流でSPRY2の発現増多によりERK経路が不活性化し、シグナルが途絶し血清胆汁酸濃度が高値であるにもかかわらず胆汁酸生合成が抑制されていないことを見出した。このことはBAにおける急速な肝硬変、肝不全への進行のメカニズムの一因である可能性がある。

以上より申請者は学位に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	長谷川泰浩
論文題名 Title	*CYP7A1* expression in hepatocytes is retained with upregulated fibroblast growth factor 19 in pediatric biliary atresia （小児胆道閉鎖症患者における肝細胞においてCYP7A1の発現は、FGF19の上方制御を伴って保たれている）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

胆汁酸の生合成は生理的条件下で厳しく制御されている。小腸上皮細胞に発現するファルネソイドX受容体に胆汁酸が結合するとFibroblast growth factor (FGF)19の発現が誘導される。FGF19は門脈血流に乗り、肝細胞膜にあるFGF receptor(FGFR) 4とβ klotho(KLB)共受容体に結合し、extracellular signal-regulated kinase (ERK)を介し、胆汁酸の生合成の律速酵素であるcytochrome P450, family 7, subfamily A, polypeptide 1 (CYP7A1)の転写阻害を引き起こすことで胆汁酸の生合成を負に制御している。しかし胆道閉鎖症（BA）をはじめとする小児胆汁鬱滞性疾患などの慢性胆汁鬱滞下の状況にある患者におけるこれらのシグナル伝達経路の調節機構は不明である。また肝臓は肝硬変に進展すると線維組織の割合が増加し、相対的に胆汁鬱滞を制御する場所である肝細胞の割合が減少する。BAでは急速に肝硬変へと進行する。しかし現在までに行われた小児胆汁鬱滞性疾患における肝臓を用いた研究では対象者から採取した肝臓を線維細胞、肝細胞合わせた形で「肝臓」として解析、考察されているため、肝細胞で行われている事象は過小評価されていると考えられる。我々はレーザーマイクロダイセクションの手法を用いて肝臓から肝細胞を抽出し、肝細胞内での事象にクローズアップすることでBA小児患者におけるこれらのシグナル伝達経路の制御を研究した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々は8名のBA小児患者、対照として4名の胆汁鬱滞のない小児疾患コントロールから得られた肝臓及び血清のサンプルを用いて、これらのシグナル伝達経路の分子制御について解析した。

レーザーマイクロダイセクションで作成した肝細胞が豊富な組織(HET)において、*CYP7A1* mRNAの発現はBA小児患者では血清胆汁酸濃度が高値であるにもかかわらず抑制されていなかった。BA小児患者では血清のFGF19タンパク濃度は上昇していた。さらに定量PCRおよび*in situ* hybridizationの方法で*FGF19*mRNAの発現を認めることで、BA小児患者のHETにおいてはFGF19タンパクが合成されていることを認めた。同様の事象は、胆汁鬱滞のない患者では認めなかった。 一方でFGFR4はBAの肝臓においてリン酸化されており、FGF19のシグナルは肝細胞膜までは到達していることが確認できた。しかしその下流のERKのリン酸化が有意に減少し、ERK経路が不活性化されていることを認めた。我々はERK経路がFGFRの下流でどのようにして不活性化されたかを確かめるために、FGFRの下流で阻害的に働くことが知られるSPRY2の発現を調べ、*SPRY2*mRNAがBA小児患者において定量PCRの方法で発現が増加していること、免疫染色法で胆汁鬱滞のない患者で認めない肝細胞での染色を認めることで、SPRY2発現が慢性胆汁鬱滞の状況下にあるBA小児患者において有意に増加していることを認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

レーザーマイクロダイセクションの方法を用いて肝細胞にクローズアップして解析すると、慢性胆汁鬱滞の状況下にあるBA小児患者の肝細胞においては、SPRY2の発現増加によりERK経路が不活性化することでFGF19経路の*CYP7A1* mRNAの適切な発現抑制が起こらず、胆汁酸生合成は抑制されていなかった。このことはBAにおける急速な肝硬変、肝不全への進行のメカニズムの一因である可能性がある。