

【目的】 本研究では、肝細胞に生じる遺伝子発現変化やエピジェネティック変化などについて解析を行い、それら多階層オミクスデータの統合的解析から肝再生メカニズムの理解を深めることを目的とする。また、得られる情報を活用することで、肝再生不全による疾患の発症機構やリプログラミング誘導による肝細胞の創生に関する研究もを行い、がん治療や再生医療への貢献を目指す。

【方法】 1. 肝再生制御因子過剰発現マウスの作製と解析：細胞の運動や分化、増殖、生存などにおいて重要な機能を有する転写因子 *Snail* の分解が肝再生時の肝細胞増殖活性化のトリガーとなることがわかっている。そこで本研究では、肝細胞において *Snail* が過剰に発現し続けると肝臓にどのような影響が生じるのかを明らかにするため、任意の時間で肝臓や肝細胞特異的に *Snail* を過剰発現できるマウスを作製し、肝臓に生じる表現型を解析した。2. 肝細胞リプログラミングを誘導する分子メカニズムの解析：線維芽細胞から「誘導肝細胞 (iHepC)」へのダイレクトリプログラミングでは、誘導因子の導入後、迅速かつ劇的に細胞の運命転換が進行するが、その分子メカニズムは不明であった。そこで本研究では、iHepC へのダイレクトリプログラミングを誘導する転写因子の挙動を詳しく解析するとともに、線維芽細胞が肝細胞の運命を獲得する過程で生じる遺伝子発現変化やクロマチン状態変化、エピゲノム状態変化などを統合的に解析した。3. ヒト iHepC 誘導法の開発：iHepC の誘導技術は、将来、肝疾患治療への応用が期待されることから、マウス iHepC に続き、ヒト iHepC の作製を試みた。誘導された候補細胞の性状については、生体外における遺伝子/タンパク質発現解析や種々の肝機能解析、並びに生体内における肝臓組織再生能の解析によって評価した。

【結果】 1. 新規肝発がんモデルの発見とメカニズムの解明：作製された肝臓・肝細胞特異的 *Snail* 過剰発現マウスは脂肪肝とそれに続く肝がんを発症し、死に至ることが判明した。当該マウスにおいて、*Snail* は *Cldn3* や *occludin* などの遺伝子発現を抑制するとともに、胆汁酸合成に関わる酵素の遺伝子発現も抑制することで、肝細胞間に形成される毛細胆管構造を破壊し、異常な胆汁酸の血中放出を促すことが判明した。その結果、当該マウスは黄疸を呈し、胆汁酸による肝障害が続くことで脂肪肝や肝がんを発症すると考えられた。2. 肝細胞誘導メカニズムの解明：iHepC 誘導において、導入した転写因子の DNA 結合から始まる一連のダイナミックな細胞状態変化の全容を解明し、さらに *Foxa* 転写因子ファミリーの作用機序の違いについて興味深いデータを得ることに成功した。3. ダイレクトリプログラミングによるヒト肝前駆細胞の直接誘導：作製したヒト iHepC の増殖能が低いことから、高い増殖能と分化能を有する肝前駆細胞をダイレクトリプログラミングの手法によって作製できないかと考え、実験を行った。その結果、3種類の転写因子をヒトの血管内皮細胞に導入することで、長期培養による安定的な増殖と、肝細胞・胆管上皮細胞両者への分化能を併せ持つ「誘導肝前駆細胞 (iHepPC)」を作製することに成功した。

肝細胞特異的な *Snail* の過剰発現による脂肪肝・肝がんの発症