

学位論文抄録

SOX9 contributes to the progression of ductular reaction for the protection from chronic liver injury
(SOX9 は慢性肝障害に対する修復機構としての細胆管反応の進展に貢献する)

嶋田 圭太

指導教員

猪股 裕紀洋 前教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児外科学・移植外科学

日比 泰造 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児外科学・移植外科学

菅原 寧彦 准教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児外科学・移植外科学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: Ductular reaction (DR) is recognized as an essential pathological phenomenon related to repair and compensation for anatomic and functional loss after liver injury. The transcription factor sex-determining region Y-box 9 (SOX9) is a biliary epithelial marker ectopically expressed in hepatocytes (SOX9+hepatocytes). SOX9+hepatocytes are believed to function in DR, recognized as an essential phenomenon related to liver regeneration; however, the functional role of SOX9 and clinical implications of SOX9+hepatocytes in DR progression are unclear.

Methods: We collected data and liver specimens from patients who underwent each operation in our institution. We also conducted animal experiments. Human and mouse liver samples were subjected to immunohistochemical and gene functional analyses to investigate the functional role of SOX9 and the clinical significance of SOX9+hepatocytes.

Results: Many SOX9+hepatocytes were observed in a cholestatic liver injury model using bile duct ligation (BDL), by contrast, a small number SOX9+hepatocytes in a drug-induced hepatocytic liver injury model using CCl₄ administration. Forced Sox9 expression in mouse hepatocytes by hydrodynamic injection converted them into cholangiocyte-like cells. DR progression was slower in liver epithelium-specific Sox9-knockout BDL mice than in wild-type BDL mice. SOX9+hepatocytes were also observed in rare pediatric liver disease biliary atresia (BA). In patients with BA who underwent liver transplantation (LT), the median number of SOX9+hepatocytes at LT was significantly lower than that at Kasai portoenterostomy (KP) performed prior to LT (P<0.001). The high SOX9+hepatocyte group at KP demonstrated significantly better native liver survival rates than the low SOX9+hepatocyte group at a cut-off of 390 cells/mm² (P=0.019, log-rank test).

Conclusions: Ectopic expression of SOX9 in hepatocytes of chronically injured livers may exert protective effects in DR progression. To our knowledge, this is the first study showing that SOX9+hepatocyte count at KP can be a promising biomarker to predict native liver survival after KP in patients with BA.

学位論文抄録

[目的] 細胆管反応は、肝障害後の解剖学的、機能的損失の修復および代償に関与する重要な現状として認識されている。転写因子である sex-determining region Y-box 9 (SOX9)は胆管上皮マーカーであり、肝細胞に異所性に発現することが知られている。SOX9 陽性肝細胞は細胆管反応における肝再生に寄与するとされているが、そのSOX9の機能的役割やSOX9陽性肝細胞の臨床的意義は未だ不明である。本研究では、ヒトの臨床検体・情報およびマウス実験を用い、SOX9の機能解析を行うこととSOX9陽性肝細胞の臨床的意義を検証することを目的とした。

[方法] wild-type マウスと肝上皮細胞特異的 *Sox9* ノックアウトマウス(*Sox9*-knockout マウス)を使用し、loss-of-function 実験を行い、マウス肝での Hydrodynamic injection 法による gain-of-function 実験を行った。また、葛西手術のみ施行された胆道閉鎖症患者と葛西手術後に肝移植を施行された患者と、正常肝として肝移植ドナーを対象とし、肝組織の免疫組織染色と臨床データを解析した。

[結果] マウスの胆汁うっ滞性肝障害モデルである総胆管結紮モデル(BDL マウス)肝で多くのSOX9陽性肝細胞を認めた。一方、薬剤性肝細胞障害モデルである CCL4 投与モデルでSOX9陽性肝細胞は少数観察された。マウス肝細胞への *Sox9* の強制発現で肝細胞が胆管細胞様細胞へ転換した。BDL マウスにおける細胆管反応の進展は、wild-type マウスよりも *Sox9*-knockout マウスで遅延した。肝移植を施行された胆道閉鎖症患者において、肝移植時のSOX9陽性肝細胞数は、肝移植前に施行された葛西手術時よりも有意に低かった($P < 0.001$)。葛西手術時のSOX9陽性肝細胞数が多い群は、少ない群よりも有意に自己肝生存率が高かった(カットオフ値: 390 cells/mm², $P = 0.019$, log-rank test)。

[考察] SOX9 陽性肝細胞は、BDL マウスおよびヒト慢性肝疾患の肝組織でみられ、SOX9の肝細胞への異所性発現は、慢性肝疾患において普遍的にみられる所見であると考えられた。肝上皮細胞における *Sox9* の欠失により細胆管反応の進展が遅延し、肝細胞への *Sox9* の強制発現により胆管細胞様細胞へ転換した結果より、慢性肝障害において肝細胞で異所性に発現したSOX9は、肝細胞の胆管細胞様細胞への転換を促進し、細胆管反応を進展させることで肝の保護作用をもたらすことが示唆された。

[結論] 慢性肝障害におけるSOX9の肝細胞への異所性発現は、細胆管反応を進展させることで肝を保護している可能性がある。また、胆道閉鎖症患者において、SOX9陽性肝細胞数が葛西手術後の自己肝生存を予測するバイオマーカーになる可能性がある。