

## 肝臓の中で胆管ができる仕組みを解明

胆管は、肝細胞でつくられた胆汁を肝臓の中から小腸へ運ぶ管です。胆管の内壁を覆う胆管上皮細胞は肝細胞と共通の前駆細胞から分化しますが、肝臓全体に分布する肝細胞とは異なり、門脈と呼ばれる静脈に沿うように分化します。その分子機構を解明しました。人工臓器開発にも貢献する成果です。

胆管は、肝細胞でつくられた胆汁を肝臓の中から小腸へ運ぶ管です。ヒト胎児の肝臓では、門脈と呼ばれる静脈を取り囲むように胆管上皮細胞ができ、その外側に肝細胞ができることで胆管が形成されます。胆管上皮細胞も肝細胞も共通する前駆細胞（肝芽細胞）が分化してできます。この時、肝芽細胞の細胞膜上にある Notch と呼ばれる受容体に、門脈細胞から出た分子（リガンド）が働きかける（これを Notch シグナル伝達経路と言います）ことで、胆管上皮細胞に分化することは知られていました。しかし、門脈に沿ってだけ胆管上皮細胞への分化が起きる分子機構は分かっていませんでした。

本研究では、ヒト胎児の肝臓の公開データを解析しました。ヒト胎児の肝臓を構成する主要な細胞は門脈細胞、肝芽細胞、主に赤血球となる造血細胞の3種類でした。大人の赤血球は骨髄で作られますが、胎児では肝臓で作られています。

これらの細胞が Notch シグナル伝達経路の構成要素として働く能力を調べたところ、門脈の細胞だけが、主要なリガンドであるタンパク質 JAG1 を発現してシグナルを送る能力を持っていました。また、主要な受容体である NOTCH1 や NOTCH2 を発現してシグナルの受け手となる能力を持つ細胞は肝芽細胞に限られました。造血細胞はどちらの能力も持っていませんでした。

これらの結果は、門脈に沿って存在する肝芽細胞は Notch シグナルを受け取って胆管上皮細胞に分化する一方、門脈から離れた場所には造血細胞や肝芽細胞が障壁となってシグナルが伝わらず、胆管上皮細胞への分化が起きないことを意味します。

本研究チームはこれまで、Notch シグナルが組織内で広く伝播したり局限したりする条件を数理解析によって検証してきました。本研究の結果は、数理解析で得られた Notch シグナルが局限する条件（リガンドまたは受容体の産生速度が遅いこと）に一致しており、これまでの数理解析結果を分子生物学的に裏付けるものとなりました。

肝臓で胆管がつくられる分子機構を解明したことは、人工臓器の開発にも貢献すると期待されます。

### 研究代表者

筑波大学医学医療系

高橋 智 教授

## 研究の背景

肝臓には、血中の脂溶性老廃物から胆汁をつくる働きがあります。胆汁は、胆管という管によって肝臓の中から小腸へと運ばれ、腸管内に捨てられます。肝臓の中で胆管がうまくつくられないと、胆汁がたまって、黄疸という症状を引き起こすことがあります。胆管を構成する細胞の一つである胆管上皮細胞（胆管の内側を覆う細胞）は、リガンド-受容体系の一つである Notch シグナル伝達経路<sup>注1</sup>）を介して発達することが知られています。実際、Notch シグナル伝達経路を構成するリガンドの JAG1 や受容体の NOTCH2 の遺伝子異常により、黄疸が引き起こされます。

発生過程の胆管上皮細胞には、胆汁をつくる細胞（肝細胞）とは異なり、門脈と呼ばれる静脈に沿って限局して存在する、という解剖学的特徴があります。Notch シグナル伝達経路について長年研究対象となってきたショウジョウバエの神経発生では、同伝達経路が、ごま塩状パターン（種類の異なる細胞が交互に並ぶ配置）形成に関わることが知られています。門脈にそって胆管上皮細胞が限局するという解剖学的特徴は、Notch シグナル伝達経路の関与する臓器発生では異例です（図1）。

本研究グループでは、これまでに、Notch シグナル伝達経路の数理解析を行い、Notch シグナルが広く伝播する条件として、リガンドと受容体の産生速度が速いこと、また Notch シグナルが限局する条件としてリガンドまたは受容体の産生速度が遅いことを提唱しました（BMC Research Notes, 2021）。しかし、その分子機構は不明でした。そこで本研究では、ヒト胎児肝臓の公開データ（single-cell ATAC-sequencing）<sup>注2</sup>）を解析し、リガンドと受容体を発現する潜在能力を個々の細胞ごとに調査しました。

## 研究内容と成果

本研究で解析したヒト胎児肝臓の公開データに含まれていた主要な細胞は、門脈細胞、肝細胞と胆管上皮細胞の共通前駆細胞（肝芽細胞）、主に赤血球となる造血細胞の3種類がありました（図2）。実際、マウス 12.5 日胚の肝臓でも、多くの造血細胞を背景に、門脈細胞と肝芽細胞が存在していました。

本研究チームは、これらの細胞の特性（リガンドまたは受容体を発現する潜在能力）が Notch シグナルの組織内空間伝播に与える影響を検討しました。例えば、主要なリガンドである JAG1 の発現制御領域の DNA は、門脈細胞では開いていましたが、肝芽細胞や造血細胞では閉じていました。このことは、JAG1 を発現して Notch シグナルの送り手となる能力を持つ細胞は門脈の細胞に限られることを意味します。同様に、主要な受容体である NOTCH1 や NOTCH2 の発現制御領域の DNA は、肝芽細胞では開いていましたが、門脈細胞や造血細胞では閉じていました。すなわち、Notch シグナルの受け手となる能力を持つ細胞は肝芽細胞に限られるということです。またこれらより、造血細胞はどちらの能力も持っていないことが明らかになりました。

以上より、Notch シグナルの送り手となり得ない造血細胞（や肝芽細胞）が Notch シグナルの組織内空間伝播の解剖学的障壁となることで、胆管上皮細胞は唯一の Notch シグナルの送り手である門脈に沿って、肝細胞は門脈から離れて位置するという組織構築が実現することが分かりました。

これにより、本研究は、Notch シグナル伝達経路の関与する臓器発生では異例である、門脈の細胞が胆管上皮細胞を誘導<sup>注3</sup>）するという数理予測結果を分子生物学的に裏付けました。

## 今後の展開

正しい組織構築を持つ人工臓器の開発は、移植医療の発展のためには必須です。肝臓で胆管がつけられる分子機構を解明したことは、人工臓器の開発に貢献すると期待されます。今後、Notch シグナルの肝臓内での分布様式を遺伝子組換えマウスを用いて実証することを計画しています。

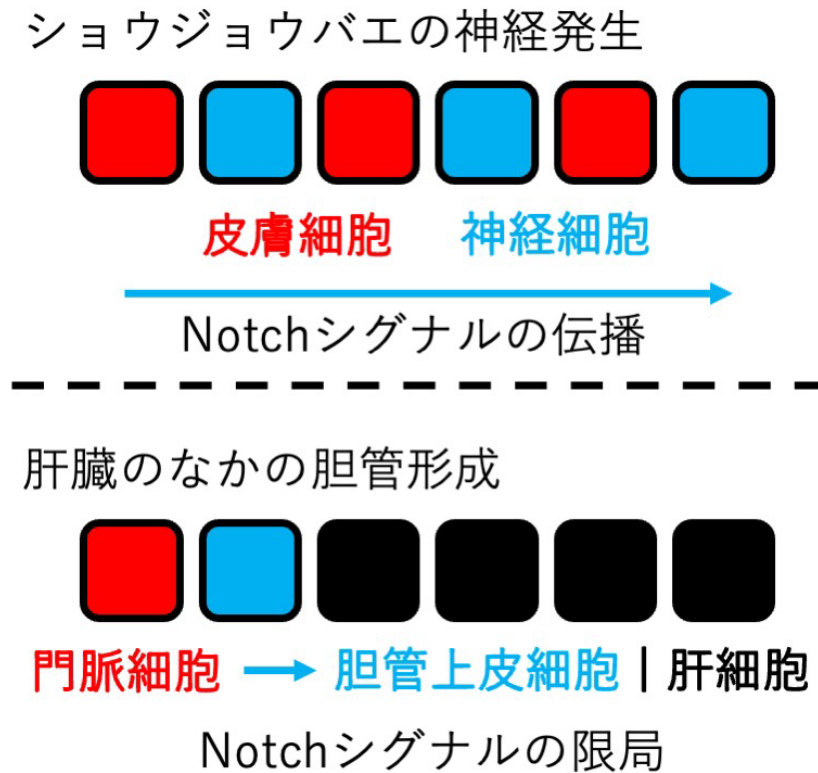


図1 Notchシグナル伝達経路の関与する臓器発生

(上段) ショウジョウバエの神経発生 (Notchシグナル伝達経路の関与する古典的臓器発生) では、シグナルが空間内に伝播し、Notchシグナルを受けた細胞 (青で示した神経細胞) と送った細胞 (赤で示した皮膚細胞) が交互に並ぶごま塩状パターンを形成する。

(下段) 肝臓のなかの胆管形成では、門脈 (赤) の隣にのみ Notchシグナルを受けた胆管上皮細胞 (青) が位置する。門脈から離れた場所には Notchシグナルを受けなかった肝細胞 (黒) が位置する。

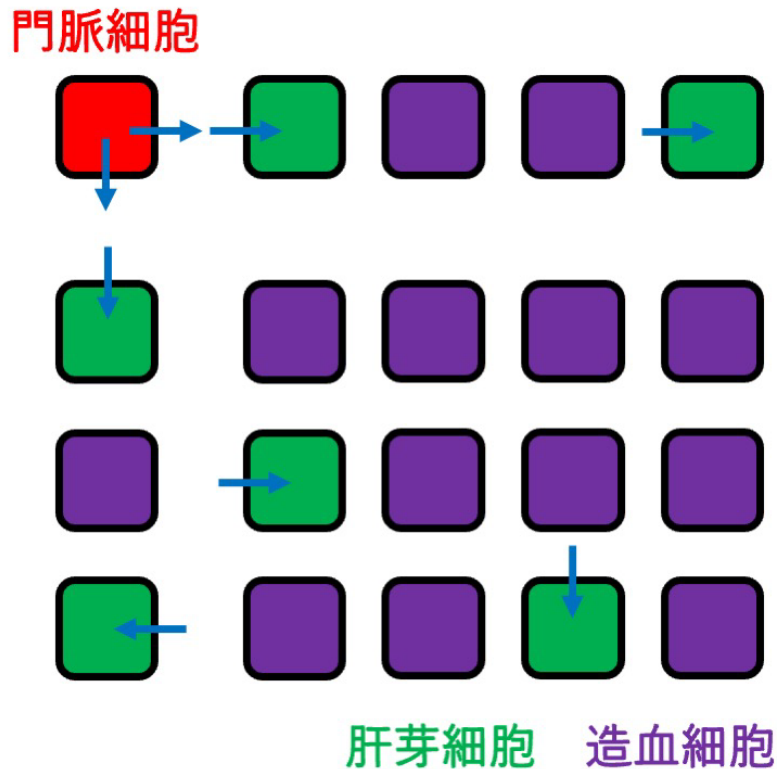


図2 本研究の結果の要約

門脈細胞（赤）には Notch シグナルを送る潜在能力がある（矢印が出ている）。肝芽細胞（緑）には Notch シグナルを受け取る潜在能力がある（矢印が入っている）。造血細胞にはどちらの潜在能力もない（矢印の出入りが無い）。そのため、門脈に接する肝芽細胞はシグナルを受け取ることができるが、門脈から離れた肝芽細胞は、造血細胞が障壁となって、シグナルを受け取ることができない。門脈に接して限局的に起こる胆管上皮細胞分化には、肝芽細胞（受け手にしかなれない）や造血細胞（送り手にも受け手にもなれない）という解剖学的障壁が背景にあると考えられる。

#### 用語解説

##### 注1) Notch シグナル伝達経路

細胞表面に発現する分子のうち鍵と鍵穴のように対応して結合するものを、一般にそれぞれリガンド、受容体という。Notch シグナル伝達経路は、リガンド（JAG1 など）と受容体（NOTCH2 など）からなる細胞間シグナル伝達経路の一つ。隣接する細胞それぞれの膜上にあるリガンドと受容体が結合すると、受容体の一部が切り離されて核に移行し、受容体発現細胞において Notch シグナルが伝えられる。

##### 注2) single-cell ATAC-sequencing

遺伝子やその発現調整領域の DNA の開き具合を単一細胞レベルで網羅的に解析する技術。遺伝子やその発現調整領域の DNA が開いていると当該遺伝子の転写が活性化され得る。反対に、遺伝子やその発現調整領域の DNA が閉じていると当該遺伝子の転写は活性化されない。この技術により、ある細胞がある遺伝子を発現する潜在能力を推定することができる。

##### 注3) 誘導

隣接する、相異なる細胞間でのやり取りにより、未分化な細胞の分化方向性が決定される現象。

### 研究資金

本研究は、文部科学省科学研究費補助事業（23K14429、22K20734）、横山臨床薬理研究助成基金（YRY-2207）の支援によって実施されました。

### 掲載論文

【題名】 Chromatin accessibility analysis suggested vascular induction of the biliary epithelium via the Notch signaling pathway in the human liver.

（クロマチンアクセシビリティ解析により、ヒト肝臓において Notch シグナル経路を介して血管が胆管上皮を誘導すると示唆された）

【著者名】 M. Yoshihara, T. Nakayama, and S. Takahashi

【掲載誌】 *BMC Research Notes*

【掲載日】 2023年12月21日

【DOI】 10.1186/s13104-023-06674-8

### 問い合わせ先

【研究に関すること】

高橋 智（たかはし さとる）

筑波大学 医学医療系 教授

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000001614>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: [kohositu@un.tsukuba.ac.jp](mailto:kohositu@un.tsukuba.ac.jp)