

論文内容要旨

論文題目

骨髄細胞と肝幹細胞の分化および増殖における相互作用の検討

責任分野： 消化器病態制御内科学 分野

氏名： 芳賀 弘明

【内容要旨】 (1,200 字以内)

目的：肝再生療法として骨髄細胞移植の有用性が示唆されているが、肝内での移植骨髄細胞と肝幹細胞間の相互作用は不明である。本研究の目的は骨髄細胞と肝幹細胞の共培養システムを確立し、骨髄細胞と肝幹細胞間の相互作用について検討することである。

方法：骨髄細胞はSDラットの大腿骨より採取したものを、肝幹細胞は肝上皮幹細胞株であるHepatic stem-like cells(HSLCs)を使用した。(1) Pore size 0.4 μ mの半透膜で分離された培養皿を用い、骨髄細胞とHSLCsの共培養を行った。各々の細胞における増殖能は、WST-1 assayにて測定し、肝特異遺伝子をReverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)にて検討した。(2)骨髄細胞のHSLCs共培養下での遺伝子発現動態を、非共培養の骨髄細胞を対照として、DNAマイクロアレイで解析した。(3)(2)の骨髄細胞の変動する遺伝子の一つであったFibroblast growth factor 2 (FGF2)をHSLCsに添加し、肝特異的遺伝子の発現や増殖能を検討した。

結果：(1) AlbuminとTryptophan-2,3-dioxygenaseのmRNA発現は骨髄細胞共培養下のHSLCsに認められた。骨髄細胞共培養下のHSLCsは非共培養に比し有意な増殖能を示した。また、AlbuminとAlpha-fetoproteinのmRNA発現はHSLCs共培養下の骨髄細胞に認められた。HSLCs共培養下の骨髄細胞は非共培養に比し有意な増殖能を示した。(2)DNAマイクロアレイにてHSLCs共培養下の骨髄細胞では、非共培養の骨髄細胞に比しFGF2が7.50倍の遺伝子発現増加を示した。(3)HSLCsをFGF2(0、10、20ng/ml)で培養したところ、増殖能には有意差は認められなかったが、FGF2濃度10、20ng/mlではAlbuminおよびTyrosine aminotransferaseのmRNA発現が認められた。

結論：骨髄細胞とHSLCsとの共培養において各々の細胞が肝特異的遺伝子を発現する細胞へと分化および増殖することが示され、骨髄細胞とHSLCsの相互作用の存在が考えられた。また、骨髄細胞からHSLCsへの作用因子の一つと考えられたFGF2は、HSLCsを肝様細胞へ分化誘導することが明らかとなった。

平成 19 年 1 月 29 日

山形大学大学院医学研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 芳賀 弘明

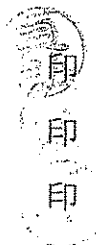
論文題目： 骨髄細胞と肝幹細胞の分科および増殖における相互作用の検討

審査委員： 主審査委員

眞弘 光章
山崎 健太郎
一瀬 白希

副審査委員

副審査委員



審査終了日： 平成 18 年 1 月 22 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

肝再生療法として骨髄細胞の有用性が示唆されているが、その肝内での移植骨髄細胞と肝幹細胞間の相互作用は不明である。今回、申請者は骨髄細胞と肝幹細胞の共培養系システムを確立し、それらの相互作用を分化および増殖の観点から検討した。実験方法としては、骨髄細胞はSDラット大腿骨より採取、肝幹細胞は肝上皮幹細胞株のHepatic stem-like cellを使用し、pore size 0.4 μ mの半透膜で分離された培養皿を使用し、両者の共培養を行い、増殖能をWST-1 assayで、肝特異遺伝子発現をPT-PCR法を用いて測定し、評価を行った。

その結果、骨髄細胞共培養下の肝幹細胞からAlbumin, Tryptophan- α ,3-deoxygenaseのmRNA発現が見られ、更に、Hepatic stem-like cellも非共培養下に比べて有意の増殖を示した。逆に、Hepatic stem-like cell共培養下の骨髄細胞では、非共培養下の骨髄細胞に比べて7.5倍のfibroblast growth factor 2遺伝子発現増加を認めた。また、Fibroblast growth factor 2はHepatic stem-like cellに有意な増殖を導き、Albumin, tyrosine aminotransferaseのmRNA発現を促した。

以上より、骨髄細胞とHepatic stem-like cellの共培養において各々の細胞が肝特異遺伝子を発現する細胞へと分化することが示され、それぞれの相互作用が示された。また、骨髄細胞からHepatic stem-like cellへの作用因子の一つとしてFibroblast growth factor 2が重要な役割を示していることが示唆された。

本研究により肝再生療法として骨髄細胞移植の有用性のメカニズムの一端が共培養という実験手法により示され、臨床応用への端緒が切られたと考えられ、有意義な実験研究と考えられた。実験方法と結論から導かれる考察も熟慮されており、以上より審査委員会は、本研究が医学博士（博士課程）に値するものと判断した。