

論文内容要旨

論文題目

A possible role of an RNA-binding protein, Musashi-1, in liver stem/progenitor cell differentiation

(RNA 結合蛋白 Musashi-1 の肝幹細胞の分化過程における役割)

責任講座： 消化器病態制御内科学 講座

氏名： 服部 悦子

【内容要旨】

(背景) Musashi-1(Msi-1)は細胞の分化過程における非対称性分裂および未成熟性の保持に関与している RNA 結合蛋白である。Msi-1 を介した、notch signal が神経幹細胞の分化に関与していることが知られている。Msi-1 の肝幹細胞の分化における役割については不明である。(目的)肝幹細胞の分化過程における Msi-1 を介したシグナル伝達について *in vitro* において検討すること。動物モデルを作成し、肝幹細胞における Msi-1 の発現について *in vivo* で検討すること。(方法)肝幹細胞株として正常 SD ラット肝上皮細胞に由来する hepatic stem-like(HSL) cell を用いて、epidermal growth factor(EGF)10ng/ml 添加後 24 時間培養にて HSL を albumin 産生細胞へと分化させ、HSL の分化前後における Msi-1 の発現について、RT-PCR 法、定量 PCR 法および蛍光免疫染色法にて検討した。さらに Notch signal 関連遺伝子である Notch receptor1~4(Notch1~4), HES1 遺伝子の発現について RT-PCR 法にて検討した。また、*in vivo* での検討として 2-acetylaminofluoren(2-AAF) 5mg/day を 5 日間経口投与後、2/3 部分肝切除を行う modified Solt-Farber model ラットにより肝幹細胞と考えられる CD34 陽性 hepatic oval cell 肝に発現させ、oval cell における Msi-1 の発現について免疫組織染色法にて検討した。(結果) RT-PCR 法を用いた検討で、Msi-1, Notch1, HES1 遺伝子は、分化前 HSL cell には発現していたが、EGF 添加後分化 HSL cell においては発現が減弱していた。定量 PCR 法における検討で *Msi1*-mRNA は HSL cell 分化前に比し分化後において発現量が低下していた。蛍光免疫染色法での検討では、Msi-1 蛋白は分化前の HSL cell において陽性であったが、分化後には陰性であった。Msi-1 蛋白の発現についての検討では、CD34 陽性 oval cell に Msi-1 が共陽性である細胞が観察された。また、*in vitro* , *in vivo* いずれの検討においても成熟肝細胞に Msi-1, Notch-1, HES-1 の発現は見られなかった。(結論)Msi-1 が発現する HSL cell において、Notch1-HES1 シグナルの活性化が認められた。また、Msi-1 は oval cell に発現していた。HSL cell が albumin 産生細胞へ分化する細胞に分化する際に、このシグナルは減弱することより、肝幹細胞の分化に Msi-1 を介した Notch signal の関与が示唆される。


平成 17 年 / 月 27 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名: 服部 悦子

論文題目: A possible role of an RNA-binding protein, Musashi1, in liver stem/progenitor cell differentiation

審査委員: 主審査委員 近藤 憲夫 

副審査委員 貞弘 光章  貞弘 光章

副審査委員 藤井 順逸  藤井 順逸

審査終了日: 平成 17 年 / 月 13 日

【 論文審査結果要旨 】

Musashi-1 (Msi-1)は細胞の分化過程における非対称性分裂および未成熟生の保持に関与している RNA 結合蛋白であり、Msi-1 を介して notch signal が神経幹細胞の分化に関係していることが知られている。しかし、Msi-1 の肝幹細胞の分化における役割については不明である。本論文の目的は in vitro、および動物モデルを作成し、肝幹細胞における Msi-1 の発現について in vivo で検討することである。方法として、ラット肝由来の hepatic stem-like (HSL) cell を用い、epidermal growth factor の添加により albumin の産生を指標として Msi-1 の動向をみた。in vivo においては激しく肝障害を起こして Msi-1 の発現をみた。結論として、Msi-1 が発現している in vitro の HSL cell が albumin 産生細胞へ分化する際に、これが減弱するという現象から、肝幹細胞の分化に Msi-1 を介した Notch signal の関与が示唆される。in vivo においても oval cell において Msi-1 の発現をみた。

以上の論文内容において文章の不備が少々あり、図の不備もあり、特に二重染色部のデータ追加すべき点があった。しかし、それらを訂正すれば、全体として、データは十分に博士に価するものと審査員一同合意した。