

Title	Hematopoietic and Non-hematopoietic Potentials of Hoechstlow/Side Population Cells Isolated from Adult Rat Kidney
Author(s)	岩谷, 博次
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45219
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	岩谷博次
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18439 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Hematopoietic and Non-hematopoietic Potentials of Hoechst ^{low} /Side Population Cells Isolated from Adult Rat Kidney (成熟ラット腎臓より単離した、ヘキスト染色抵抗性のサイドポピュレーション細胞のもつ造血系及び非造血系細胞への分化能)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 北村 幸彦 教授 金倉 譲

論文内容の要旨

【目的】

マウスの造血幹細胞は Rhodamin や Hoechst といった色素に染まりにくいという性質を持つことが知られていた。DNA 結合色素である Hoechst 33342 で染色した場合、青色蛍光の弱い領域であった。しかし赤色蛍光でも FACS 展開すれば、弱い蛍光を発しており、なかでも Hoechst Red-Hoechst Blue のグラフ上で特に染色性の少ない領域の細胞が突出していた。これが side population ; SP であり、マウスの骨髄において造血幹細胞が高度に濃縮されていること、また様々な分化能を有する事も報告されている (Goodell, M. A. et al, *J. Exp. Med*, 1996)。また SP 細胞は臓器、種を越えて広範に存在する事も報告されている (Goodell, M. A. et al, *Nat. Med*, 1997)。本研究では、腎臓に SP 細胞が存在するか否か、また存在するとすれば多分化能を持つか否かを検討した。

【方法】

Sprague-Dawley ラットの腎臓を充分灌流した後、コラゲナーゼで消化して Hoechst 33342 染色を行い、FACS にて Hoechst Red-Hoechst Blue のグラフ上で解析し、腎臓に SP 細胞が存在することを確認した。

次に、EGFP トランスジェニックラット由来の骨髄を野生型ラットに移植し、骨髄移植モデルラットを作成した。このレシピエントの腎臓における SP 細胞を解析し、骨髄由来細胞が腎 SP 細胞に含まれているかを検討した。

次に、EGFP トランスジェニックラットの腎臓より SP 細胞をソートし、野生型ラットに経静脈的に移植した。このレシピエントの腎臓、肝臓、骨格筋を免疫組織化学法にて解析した。腎臓に関しては、SP 移植ラットにメサンギウム細胞傷害モデルとして Thy1 腎炎や、尿細管傷害モデルとして gentamicin 腎症の誘発も行い組織を解析した。骨髄に関しては、FACS にて解析を行った。

また、我々が確立した、骨髄細胞をメサンギウム細胞に *in vitro* で分化誘導させる系 (Suzuki A, Iwatani H, Ito T, et al, *Kidney Int*, 2004) を応用して腎 SP 細胞を培養し、免疫細胞化学法にて解析した。

【成績】

1. 成熟ラット腎臓には SP 細胞が存在する。
2. EGFP トランスジェニックラット由来の骨髄を移植した野生型ラットの腎臓における SP 細胞には、骨髄由来の

EGFP 陽性細胞が含まれていた。

3. EGFP トランスジェニックラット由来の腎 SP 細胞を移植したラットでは、腎臓構成細胞に cytoplasmic pattern の EGFP 陽性細胞を検出しえなかったが、肝臓、骨格筋、骨髄には EGFP 陽性の細胞を認めた。

4. 腎 SP 細胞を *in vitro* の系で培養しても、ラットメサンギウム細胞のマーカーである Thy1、Desmin の発現は認められなかった。

【総括】

成熟ラット腎臓には SP 細胞が存在し、その中には骨髄由来のものが存在する。今回の我々の検討では、腎 SP 細胞から腎臓構成細胞への分化は検出しえなかったが、肝臓、骨格筋、骨髄造血系への分化を認めた。

論文審査の結果の要旨

マウス骨髄では side population (SP) 細胞は造血幹細胞を含み、多分化能を有すると報告されている。この SP 細胞はマウス以外にも様々な種において、また骨髄以外にも様々な臓器において存在が報告されており、組織幹細胞としての期待が高まりつつある。その上、抗体を用いない為、組織幹細胞のマーカーが同定されていない臓器においても応用可能であり、多くの期待が寄せられてきた。しかし、SP 細胞の描出、回収には高度に熟練した技術が必要とする。本研究では、Sprague-Dawley ラットの腎臓を充分灌流した後、コラゲナーゼで消化して Hoechst 33342 染色を行い、FACS にて Hoechst Red-Hoechst Blue のグラフ上で解析し、腎臓に SP 細胞が存在することを確認した。次に、EGFP トランスジェニックラットと骨髄移植モデルを用いて、腎 SP 細胞には骨髄由来のものが存在することを示した。また、EGFP トランスジェニックラットより腎 SP 細胞を回収し、野生型ラットに経静脈的に投与するという細胞移植モデルを用いて、腎 SP 細胞の分化能を検討した。その結果、成熟ラット由来の腎 SP 細胞は、Thy1 腎炎や gentamicin 腎症などの腎傷害の有無にかかわらず、メサンギウム細胞や尿管上皮細胞といった腎構成細胞への分化能は持ち得なかったが、肝、骨格筋、骨髄造血系への分化能を持つことが示された。腎 SP 細胞から腎構成細胞の一つであるメサンギウム細胞への分化能に関しては、*in vitro* においても検討したが、そのような分化能は確認されなかった。本研究は、腎 SP 細胞の由来や分化能を検討した初めての研究であり、博士 (医学) の学位授与に値する。