The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Basic fibroblast growth factor promotes the trans-differentiation of mouse bone marrow cells into hepatic lineage cells via multiple liver-enriched transcription factors
Author(s)	佐治, 雪子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45451
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【40】

氏　　名	佐　治　雪　子（さじ　ゆきこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９２７３　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	Basic fibroblast growth factor promotes the trans-differentiation of mouse bone marrow cells into hepatic lineage cells via multiple liver-enriched transcription factors **（塩基性線維芽細胞増殖因子は肝臓に高発現の転写因子を介してマウス骨髄細胞の肝細胞系細胞への分化を促進する）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　下村伊一郎 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　林　　紀夫

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　的〕

近年の研究では、in vivo において骨髄移植後にドナー由来骨髄細胞が肝細胞に分化することが示されるなど、骨髄細胞の中に肝細胞への分化能を有する細胞が存在することが示唆されている。自己の骨髄細胞を肝細胞・肝前駆細胞に分化・増殖させた後に移植出来れば、種々の末期肝疾患および重症肝不全に対する新しい再生療法に成りうると考えられる。しかし、未だ骨髄細胞から肝細胞・肝前駆細胞への有効な分化誘導法や移植方法は確立されていない。今回、in vitro における骨髄細胞から肝細胞系細胞への分化誘導法の確立、及び分化に関わる因子の解明を目的とし各種培養条件の検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

1）骨髄細胞は６～10 週の雄 C57BL6Jmouse 大腿骨より採取した。骨髄細胞から肝細胞系細胞への分化能を検討するために、コラーゲン三次元培養を用い EGF、HGF、HB-EGF、OSM、BMP-4、bFGF、FGF-4 の増殖因子をそれぞれ添加してマウス骨髄細胞を 12 日間培養した。培養細胞の RNA を抽出し、肝細胞系マーカーである albumin の遺伝子発現を定量的 RT-PCR を用いて検討した。HGF、OSM、bFGF、FGF-4 添加により albumin の遺伝子発現は上昇を認め、なかでも bFGF が最も高い誘導効果を示した。また、胆管細胞系マーカーである CK19 の遺伝子発現に関しても bFGF が最も高い誘導効果を示した。

2）FGF family の中で、肝発生に関わるとされる aFGF、bFGF、FGF-4、FGF-8b をそれぞれ添加し、マウス骨髄細胞を培養し、同様に albumin の遺伝子発現を定量的 RT-PCR で検討した。aFGF、bFGF、FGF-4、FGF-8b 添加により albumin の遺伝子発現は上昇をみとめ、なかでも bFGF が最も高い誘導効果を示した。

3）骨髄細胞中の増殖因子レセプターの遺伝子発現を RT-PCR を用いて検討したところ、FGF レセプター、HGF レセプター、OSM レセプターの発現を認めた。

4）マウス骨髄細胞を bFGF を添加して培養し、肝細胞系細胞への分化を検討するため、肝細胞系マーカーとして AFP、albumin、CK18、α1-antitrypsin、G6Pase、TAT の遺伝子発現を経時的に検討した。albumin、CK18、α

1-antitrypsin、G6Pase 遺伝子発現は培養するにつれ増強した。さらに、albumin、CK18 の蛋白発現を検討した。免疫染色法による検討では、bFGF を添加して 6 日間培養した骨髄細胞において albumin、CK18 とも陽性の細胞を認めた。また、ELISA にて培養上清への albumin 分泌を測定したところ、培養 9 日まで増加をみとめた。

5）これらの分化に関わる因子を調べるため、肝発生の早期に重要な役割をはたす転写因子である HNF1α、HNF3α、HNF3β、HNF4α，GATA4、GATA6、C/EBPα、C/EBPβの遺伝子発現を検討した。骨髄細胞を bFGF 添加して培養したところ、HNF1α、HNF3α、HNF3β、HNF4α，GATA4 の発現誘導を認めた。

〔総括〕

骨髄細胞をコラーゲン三次元培養法にて培養することにより、骨髄細胞が増殖因子に反応して肝臓特異的マーカーを発現するようになることを示した。特に、bFGF の刺激により、骨髄細胞は肝細胞特異マーカーや胆管系特異マーカーの発現が見られ、bFGF が骨髄細胞から肝細胞系細胞へ分化させる作用をもつことが示された。また、この形質転換は HNF や GATA などの転写因子の誘導に関連して認められた。

論文審査の結果の要旨

近年、骨髄細胞の中に肝細胞への分化能を有する細胞が存在することが示唆されており、骨髄細胞が、種々の末期肝疾患および重症肝不全に対する新しい再生療法の材料に成りうると期待されている。本論文では、骨髄細胞をコラーゲン三次元培養法にて培養することにより、骨髄細胞が増殖因子に反応して肝臓特異的マーカーを発現するようになることを示した。特に、bFGF が骨髄細胞から肝細胞系細胞へ分化させる作用を持ち、また、この形質転換が HNF や GATA 等の肝臓に高い発現を示す転写因子の誘導に関連して認められることを明らかにした、世界で最初の論文であり、その意義は高い。よって本論文は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。