

Title	Hepatocyte growth factor plays roles in the induction and autocrine maintenance of bone marrow stromal cell IL-11, SDF-1 α , and stem cell factor
Author(s)	橋井, 佳子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47527
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

氏 名	橋 井 佳 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 6 5 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 9 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Hepatocyte growth factor plays roles in the induction and autocrine maintenance of bone marrow stromal cell IL-11, SDF-1 α , and stem cell factor (肝細胞増殖因子による造血の促進および造血環境維持のメカニズムの解明)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 大 藁 恵 一 (副査) 教 授 金 倉 譲 教 授 宮 坂 昌 之

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

幹細胞増殖因子（以下 HGF）は一般には間葉系細胞から産生され上皮細胞へ作用する。以前、われわれは、骨髄ストローマ細胞から常に HGF が産生されており、さらにストローマ細胞上には HGF のリガンドである c-MET が発現しており、これを介して HGF は間接的に造血を促進していることを見出した。今回、HGF による造血促進の機序を解明した。

〔 方法および結果 〕

骨髄ストローマ細胞からは恒常的に HGF が産生されているため抗ヒト HGF ウサギ中和抗体を用いた阻害実験を行った。コントロールは同じくウサギ IgG 抗体を用いた。ヒト正常ボランティアからインフォームドコンセントを得たうえで、骨髄を採取し単核球を分離した。単核球を 3～4 代培養、継代しストローマ細胞を得、これらのストローマ細胞に HGF 中和抗体を添加し以下の実験を行った。

1. ヒト正常ボランティアの骨髄から CD34 陽性細胞を分離し骨髄ストローマ細胞上で長期間共培養（LTC-IC）を行った。

結果：CD34 陽性細胞から形成される LTC-IC 数は HGF 中和抗体を添加したストローマ上で培養すると有意に減少した。さらに recombinantHGF (rHGF) を添加すると LTC-IC 数は回復した。

2. HGF の造血に関与する機序の解明

骨髄ストローマから造血に関わるさまざまなサイトカインが分泌されるが HGF との関係を明らかにするため、ストローマ細胞培養上清中の TNF- α 、IL-1 β 、IL-3、IL-11、GM-CSF、TPO、FL、SDF-1 α 、SCF の産生を測定した。

結果：TNF- α 、TPO、FL、IL-3 は上清中に検出されず IL-1 β 、GM-CSF は HGF 中和抗体によって変化がみられなかった。IL-11、SDF-1 α 、SDF-1 α は HGF 中和抗体によって骨髄ストローマ細胞からの産生が阻害された。この産生阻害は添加された HGF 中和抗体の濃度に依存し、骨髄ストローマ細胞中のこれらのサイトカインの mRNA 量も同様に減少していた。これに rHGF を添加するとサイトカインの産生は回復した。

3. HGF の骨髄ストローマ細胞の維持。

結果：骨髄ストローマ細胞の培養上清に HGF 中和抗体を添加し経時的に細胞数を検討したところ有意に増殖が阻害された。HGF 中和抗体によって細胞外マトリックスのうち collagen type IV と Fibronectin への接着が阻害された。Fibronectin への接着は HGF 中和抗体によって低下したが Fibronectin のリガンドである $\alpha 5 \beta 1$ -integrin に対する抗体で阻害された。

[総 括]

HGF は造血細胞の増殖維持を 2 つの方法で行っていると考えられる。ひとつは骨髄ストローマ細胞に働き造血細胞の増殖に必要な SCF、SDF-1 α 、IL-11 の mRNA の転写を促進し産生を促進する。二つ目は造血の場であるストローマ細胞の増殖維持に必要な細胞外マトリックスへの接着を制御である。以上のように HGF は造血環境の維持やサイトカインを介して造血幹細胞の増殖に重要な役割を果たしていると考えられた。

論文審査の結果の要旨

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor 以下 HGF) の造血系に対する働きは HGF が恒常的に骨髄ストローマ細胞から産生されており骨髄細胞のコロニー産生能を増強するといわれている。しかし CD34 陽性細胞上には HGF のリガンドである cmet が発現していないことからこの効果はストローマ細胞を介した非間接的な作用であると考えられる。今回この HGF のストローマ細胞を介した造血への影響をヒト骨髄ストローマ細胞と HGF 中和抗体を用いて検討した。まず HGF はヒト骨髄 CD34 陽性細胞のコロニー形成を促進する。この機序として HGF によって骨髄ストローマから造血に不可欠なサイトカインである IL-11、SDF-1 α 、SCF の産生が促進される。この効果はメッセージレベルでおこなわれていた。また HGF によって骨髄ストローマの細胞外マトリックスへの接着が $\alpha 5 \beta 1$ インテグリンを介して増強し、このことから HGF は骨髄ストローマの増殖と維持をおこなっていると考えられた。本論文は上記のように HGF が造血促進に関与し造血環境の維持をおこなう重要なサイトカンであることを明らかにした。

今後の造血因子として HGF の可能性をしめしたものであり学位を授与するに十分値すると判断する。