A transmembrane glycoprotein, gp38, is a novel marker for immature hepatic progenitor cells in fetal mouse livers (Abstract_要旨)

AUTHOR(S):
Konishi, Sayuri

CITATION:
Konishi, Sayuri. A transmembrane glycoprotein, gp38, is a novel marker for immature hepatic progenitor cells in fetal mouse livers. 京都大学, 2011, 博士(医学)

ISSUE DATE:
2011-07-25

URL:
http://hdl.handle.net/2433/147338

RIGHT:
A transmembrane glycoprotein, gp38, is a novel marker for immature hepatic progenitor cells in fetal mouse livers

論文題目

A transmembrane glycoprotein, gp38, is a novel marker for immature hepatic progenitor cells in fetal mouse livers

背景・目的

肝疾患領域の再生医療実現に向け注目される肝幹細胞候補はいくつか報告があるものの、その単離法は未確立である。先行研究にて肝幹細胞を肝幹細胞と仮定しての肝幹細胞検出を濃縮・分離する方法を確立したが、中にはさまざまな分化段階の細胞が含まれている。肝幹細胞候補と成熟肝細胞株との間でDNA subtractionを行い同定した肝幹細胞表面抗原候補うち、glycoprotein 38: gp38を用いて肝幹細胞候補の単離および特性解析を行った。

方法

胎生13.5日C57BL/6Jマウス胎仔肝臓細胞をflow cytometerを用いてgp38陽性細胞（CD49f+ CD45- Thy1- gp38+）とgp38陰性細胞（CD49f+ CD45- Thy1- gp38-）に分画した。分離した各細胞集団に対して、アルファフェトプロテイン（AFP）、アルブミン（Alb）、サイトケラチン19（CK19）に対する免疫染色および各種マーカー遺伝子に対するRT-PCRを行い発現遺伝子解析を行うと共に、免疫染色により蛋白発現を同定した。

Brd-U取り込み試験により各細胞集団の増殖活性を定性的に解析した。さらにマイクロアイレットによる各細胞分画における発現遺伝子の網羅的解析を行ったうえで、Wnt3A刺激下および非刺激下における各細胞分画の発現遺伝子変化を定量的RT-PCRにより解析すると共に、MTT assayにより増殖活性の定量解析を行った。

結果

gp38陽性細胞は胎生13.5日マウス肝前駆細胞集団中1.75%を占める希少な細胞集団であり、AlbとCK19発現を認めず、AlbおよびCK19の発現を認めなかった。一方、gp38陰性細胞はgp38陽性細胞と比べて有意に高いBrd-Uの取り込みを認めた。また、gp38陽性細胞にはWntシグナル関連遺伝子群が高発現しており、gp38陽性細胞に対してWnt3Aが増殖刺激活性を有する一方、分化傾向には影響を与えないことを確認した。従って、マウス胎仔肝細胞集団中のgp38陽性細胞は未分化の肝前駆細胞であると考えられ、Wntシグナルにより分化させることなく増殖させる可能性が高いと考えられた。本研究は将来gp38発現を指標に肝細胞に存在する肝幹細胞を単離・増殖させることを可能にする一方、ES細胞やiPS細胞由来の肝細胞を分化誘導する際の重要な知見となり、肝臓領域の幹細胞生物学の発展に寄与するものと考えられる。従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

考察と結論

マウスでは、胎生8.5日頃に側腹前腸内胚葉の一部がliver budを形成し、その構成細胞によって肝細胞を形成する。肝細胞の発生には、AlbおよびCK19の発現が肝細胞と仮定しての肝幹細胞検出を濃縮・分離する方法を確立したが、その後、Wntシグナル関連遺伝子Wnt3Aの発現を確認した。一方、分画した各細胞集団に対して、アルファフェトプロテイン（AFP）、アルブミン（Alb）、サイトケラチン19（CK19）に対する免疫染色および各種マーカー遺伝子に対するRT-PCRを行い発現遺伝子解析を行った。