

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 谷本 治子

〔題名〕

Improvement of liver fibrosis by infusion of cultured cells derived from human bone marrow

(ヒト骨髄由来培養細胞投与療法による肝線維化の改善)

〔要旨〕

我々は、ヒト非代償性肝硬変症に対する「自己骨髄細胞投与 (ABM/) 療法」を開発し、その有効性及び安全性を明らかにした。今回、適応拡大を目指してヒト骨髄細胞を培養し、肝線維化改善効果のある細胞分画の増幅を試みた。

ヒト骨髄単核球細胞を10%FBS含有DMEM培地で培養し、培地交換のみ行った細胞 (P0) と2回継代した細胞 (P2) を回収し、細胞表面マーカー (FACS解析)、遺伝子発現 (DNA-Chip解析) を評価した。更にNOD-SCIDマウス CCl_4 肝硬変モデルを作成し、P2細胞 5×10^5 個を尾静脈投与した。細胞投与4週後の肝線維化をSirius-red染色で、matrix metalloproteinase (MMP) -9およびalpha smooth muscle actin (α SMA)、tumor necrosis factor alpha ($TNF\alpha$)、transforming growth factor beta ($TGF\beta$)発現を、Real time PCRや免疫染色で評価した。

P2細胞のFACS解析では94%前後が間葉系幹細胞 (MSC) であり、骨髄細胞 3.8×10^8 個から、22日間の培養で 2.8×10^8 個のMSCの増幅が可能であった。P2細胞のDNA-Chip解析では、P0細胞に多く含まれたマクロファージの遺伝子発現が減少した。SCIDマウス CCl_4 肝硬変モデルにP2細胞 5.0×10^5 個を尾静脈投与すると4週後の肝線維化は有意に改善され、MMP-9の発現増強および α SMA、 $TNF\alpha$ 、 $TGF\beta$ の発現低下を確認した。

培養ヒト骨髄由来細胞 (P2) の肝線維化を改善し、P2細胞中の94%前後のMSCが、MMP-9発現を増強し、 $TNF\alpha$ や $TGF\beta$ を介して肝星細胞活性を低下させることに由来すると考えられた。P2細胞中のMSCは、臨床応用に十分な増殖能を有し、骨髄由来培養細胞投与療法は実現可能であると考えた。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1351 号	氏 名	谷本 治子
論文審査担当者	主査教授	周 玉翔	
	副査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	柳 功	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Improvement of liver fibrosis by infusion of cultured cells derived from human bone marrow (ヒト骨髄由来培養細胞投与療法による肝線維化の改善)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Improvement of liver fibrosis by infusion of cultured cells derived from human bone marrow (ヒト骨髄由来培養細胞投与療法による肝線維化の改善) 掲載雑誌名 Cell and Tissue Research 第 354 巻 第 3 号 P. 717 ~ 728 (2013年 12月 掲載)			
(論文審査の要旨) 我々は、ヒト非代償性肝硬変症に対する「自己骨髄細胞投与 (ABMI) 療法」を開発し、その有効性および安全性を明らかにした。今回、適応拡大を目指してヒト骨髄細胞を培養し、肝線維化改善効果のある細胞分画の増幅を試みた。 ヒト骨髄単核球細胞を 10%FBS 含有 DMEM 培地で培養し、培地交換のみ行った細胞 (P0) と 2 回継代した細胞 (P2) を回収し、細胞表面マーカー (FACS 解析)、遺伝子発現 (DNA-Chip 解析) を評価した。更に NOD-SCID マウス CCl ₄ 肝硬変モデルを作成し、P2 細胞 5×10 ⁵ 個を尾静脈投与した。細胞投与 4 週後の肝線維化を Sirius-red 染色で、matrix metalloproteinase (MMP)-9 および alpha smooth muscle actin (αSMA)、tumor necrosis factor alpha (TNFα)、transforming growth factor beta (TGFβ) 発現を、Real time PCR や免疫染色で評価した。 P2 細胞の FACS 解析では 94%前後が間葉系幹細胞 (MSC) であり、骨髄細胞 3.8×10 ⁸ 個から、22 日間の培養で 2.8×10 ⁸ 個の MSC の増幅が可能であった。P2 細胞の DNA-Chip 解析では、P0 細胞に多く含まれたマクロファージの遺伝子発現が減少した。SCID マウス CCl ₄ 肝硬変モデルに P2 細胞 5.0×10 ⁵ 個を尾静脈投与すると 4 週後の肝線維化は有意に改善され、MMP-9 の発現増強および αSMA、TNFα、TGFβ の発現低下を確認した。 培養ヒト骨髄由来細胞 (P2) の肝線維化を改善し、P2 細胞中の 94%前後の MSC が、MMP-9 発現を増強し、TNFα や TGFβ を介して肝星細胞活性を低下させることに由来すると考えられた。P2 細胞中の MSC は、臨床応用に十分な増殖能を有し、骨髄由来培養細胞投与療法は実現可能であると考えた。 本研究は、我々が始めた非代償性肝硬変症に対する ABMI 療法の適応拡大を目指した、自己骨髄由来培養細胞投与療法が実現可能であることを示し、またその肝線維化改善効果のメカニズムの一部を明らかにした論文である。よって、学位論文として価値あるものであると認められた。			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			