

審査の結果の要旨

氏名 太田春彦

本研究では、成体肝臓の再生機構を理解する上でも重要と考えられているマウス胎生中期の肝幹／前駆細胞の表現型を明らかにし、細胞表面抗原に対する抗体と蛍光励起細胞分離法 (fluorescence-activated cell sorting; FACS) を用いて肝幹／前駆細胞を既存の方法より高度に純化することを試み、下記の結果を得ている。

1. マウス E13.5 胎仔肝細胞浮遊液を、既知の肝幹／前駆細胞マーカー Dlk に対する抗体とさまざまな抗体を組み合わせて染色し解析したところ、 $Dlk^+CD45^-Ter119^-$ の肝幹／前駆細胞画分で特に高い CD13 の発現がみられた。この画分を Dlk と CD13 の発現の程度によりさらに細分してコロニーアッセイを行ったところ、 $CD13^+CD45^-Ter119^-$ 画分からは大きなコロニー (H-CFU-C コロニー) が Dlk の発現の程度に関わらずより多く形成され、CD13 は Dlk と比較して肝幹／前駆細胞を濃縮するのにより有用なマーカー分子であることが示された。
2. $CD13^+CD45^-Ter119^-$ を新たな肝幹／前駆細胞の指標として他の表面抗原の発現の有無を網羅的に検討したところ、肝幹／前駆細胞画分において CD9、CD26、CD29、CD54、CD73、CD98、CD106、CD133、CD147、Liv2 のほぼ均一な発現を認め、また CD81 と CD121a について不均一な発現を認めた。これらのうち、CD9、CD73、CD106、CD133 は非血液細胞について CD13 と同様の発現パターンを示し、肝幹／前駆細胞の純化に使用可能なマーカーであると考えられた。
3. $CD13^+CD45^-Ter119^-$ 細胞における肝細胞マーカー Alb、未熟肝細胞マーカー AFP、胆管上皮細胞マーカー CK19 の発現を、in-droplet 免疫染色法によって検討したところ、 $Alb^+AFP^+CK19^-$ であった。過去の報告とあわせると、 $CD13^+CD45^-Ter119^-$ 細胞を分取した時点では未熟な肝細胞寄りの性質を持っており、培養すると胆管上皮細胞寄りの性質を持つ細胞が増えてくるものと考えられた。
4. レトロリン投与と 70% 部分肝切除により人工的に肝障害を起こしたヌードマウスに、EGFP-Tg マウス胎仔 $CD13^+CD45^-Ter119^-$ 細胞画分 1×10^5 個を経脾的に移植し、3 週後に開腹したところ、レシピエント肝臓はドナー由来細胞で高率に置換されていた。このことから、 $CD13^+CD45^-Ter119^-$ 細胞画分が *in vivo* で肝臓組織の再生に寄与することが示された。

以上、本論文は FACS を用いてマウス胎仔肝幹／前駆細胞を純化する試みから、胎仔肝幹／前駆細胞において発現のみられる表面抗原マーカー分子群を明らかにし、その分子のひとつ CD13 を発現する画分が *in vivo* で肝臓組織の再生に寄与することを示した。本研究は肝臓の発生および再生機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。