

平成 20 年 12 月 22 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790295

研究課題名（和文）マウス造血幹細胞を用いた肝細胞分化誘導法の確立

研究課題名（英文）Establishment of the methods for hepatocyte differentiation from mouse bone marrow stem cell.

研究代表者

永田 有希 (NAGATA YUKI)

岩手医科大学・医学部・ポストドクター

研究者番号：50405841

研究成果の概要：マウス骨髄幹細胞 SP 細胞と肝実質細胞とで特異的に発現している miRNA を明らかにし、幹細胞の維持と肝実質細胞の分化、発生あるいは機能維持に関与すると考えられる miRNA を同定した。

交付額

(金額単位：

円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,100,000	0	1,100,000
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年			
度			
総計	3,100,000	600,000	3,700,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：再生医療、発生、分化、遺伝子、発現制御、核酸

1. 研究開始当初の背景

日本では肝臓、肝硬変での死亡者が多にも関わらず、移植のための臓器提供が慢性的に不足している。また、移植後の免疫抑制剤の終生使用が患者に大きな負担を強いている。そのため、患者自身の体性幹細胞を用いた再生医療の開発が待たれている。

2. 研究の目的

体性幹細胞を用いた肝細胞への分化誘導に際し、その詳細な分子機構を知ることが重要である。本研究では、分化、発生に重要な機能を担っているmiRNAに着目し、miRNAが関与する分化機構の解明を目的としている。

3. 研究の方法

miRNA arrayとリアルタイムPCRを用いて、幹細胞特異的miRNAと肝実質細胞特異的miRNAを同定する。さらに、その標的遺伝子をデータベースで検索し、それぞれの細胞に重要であると考えられるものに対して真の標的であるか否かをルシフェラーゼレポーターアッセイおよびウエスタンブロットで確認していく。

4. 研究成果

マウス骨髄幹細胞 SP 細胞と肝実質細胞との間で異なる発現を示すmiRNAを解析したところ、肝実質細胞ではmiR-122と-146が同定された。これらは肝臓の分化、発生、機能維持等に関与していると考えられる。実際、miR-122に関してはすでに肝臓特異的であることとその機能が多数報告されている。MiR-146に関しては、今後の検討が必要である。

SP細胞特異的なものが多数得られた。そのうちmiR-451、-155、-223は血球マーカーとして知られているものであった。これらは幹細胞でも発現しているものなのか、それとも従来知られているように血球マーカーとして同定されたただけなのかを明らかにするため、我々はこれらのmiRNAの発現を、分化した骨髄細胞集団と幹細胞、前駆細胞(non-SP)および各々の分化細胞(miR-451:赤血球、miR-155:白血球、miR-223:顆粒球)との間で比較した。その結果、miR-451と-223に関しては、幹細胞でやや発現していたmiRNAが前駆細胞で一度減少し、分化に伴い再び上昇する傾向がみられた。MiR-155に関しては分化細胞集団との間で有意差が見られなかった。(下図)。

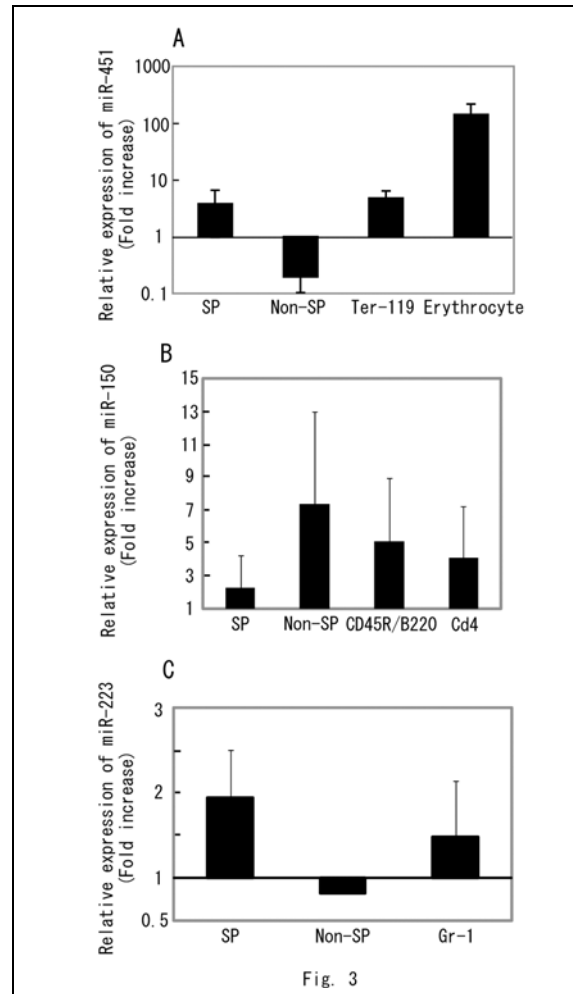


Fig. 3

これは、過去に mRNA で提唱された "biggining model" で説明できる (Enver et al. 1998)。幹細胞は将来の分化に備え、必要になる遺伝子を少量ずつ発現しているとする説であり、同じことが miRNA にも言える可能性が示唆された (下図)。

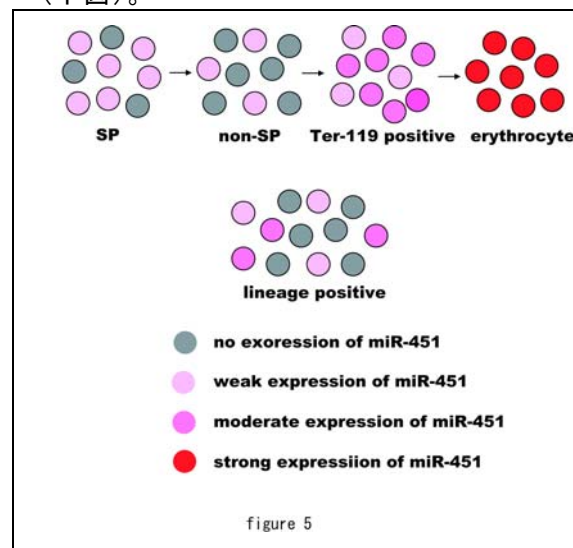


figure 5

分化骨髄細胞集団と比較して明らかにSPで強く発現していたのがmiR-207、-325、-127であった。これらの下流には細胞増殖に関与する遺伝子が含まれており、これらが体性幹細胞の特性である静止期維持に関与していると考えられる。以上のことから、体性幹細胞内でmiR-207、-325、-127を抑制し、且つmiR-122、-146を発現させることが効率のよい肝実質細胞への分化に有効であることが考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計1件)

研究者氏名、マウス造血幹細胞特異的なmiRNAの解析 日本分子生物学会BMB2007
2007年12月12日 横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永田 有希 (NAGATA YUKI)
岩手医科大学・医学部・ポストドクター
研究者番号：50405841

(2) 分担研究者

(3) 連携研究者