

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17481

研究課題名(和文)肝細胞分化におけるヒストンメチル化酵素SETDB1の意義と再生医療への応用

研究課題名(英文)Significance of histone methyltransferase SETDB1 in hepatocyte differentiation and its application to regenerative medicine

研究代表者

金山 健剛(KANAYAMA, KENGO)

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20835102

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞、胆管細胞は、共通の幹細胞から内胚葉由来の肝幹・前駆細胞を経て最終分化するが、その分化の各段階においてエピジェネティックな遺伝子制御が重要であることが知られている。申請者は肝幹・前駆細胞が肝細胞、胆管細胞に分化する際に、ヒストンメチル化酵素である Setdb1が分化系統を決定する重要な働きを持ち、Setdb1をノックアウトしたマウス肝幹・前駆細胞が胆管細胞へ優先的に分化することを複数の方法で示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iPS細胞を用いた細胞治療に応用することで幹細胞を特定の系統に効率よく分化させることが可能になり、原発性硬化性胆管炎(PSC)や原発性胆汁性胆管炎(PBC)など根治的治療法が存在しない胆管変性疾患への新しい治療法に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that mouse liver stem/progenitor cells knocking out the Setdb1 gene preferentially differentiate into cholangiocytes in multiple ways, demonstrating that the Setdb1 gene plays an important role in the differentiation of liver stem/progenitor cells.

研究分野：消化器内科学

キーワード：幹細胞 胆管 再生医療

1. 研究開始当初の背景

肝細胞と胆管細胞は共通の肝幹・前駆細胞から分化するが、我々はヒストンメチル化酵素である *Setdb1* 遺伝子をノックアウトしたマウス肝幹・前駆細胞が胆管細胞へ優先的に分化する可能性があることを見出した。

2. 研究の目的

本研究は肝幹・前駆細胞の分化において *Setdb1* が分化系統を決定する重要な働きを持つことを証明し、最終的に胆管変性疾患に対する再生医療に応用することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) *Setdb1* 遺伝子コンディショナルノックアウトマウスの肝幹・前駆細胞を培養し、形態学的・免疫組織学的に胆管細胞に分化することを確認する。

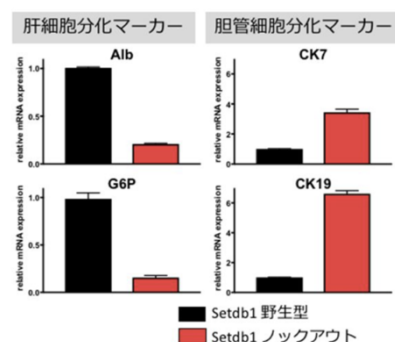
(2) *Setdb1* 標的遺伝子群を同定するために、*Setdb1* ノックアウト肝幹・前駆細胞において各遺伝子のエピジェネティック修飾の変化と、それに伴う遺伝子発現量の変化を調べるために、野生型と *Setdb1* をノックアウトした肝幹・前駆細胞のクロマチン免疫沈降(ChIP)シーケンス、RNA シーケンスを行う。

4. 研究成果

Setdb1 遺伝子をノックアウトしたマウス肝幹・前駆細胞が胆管細胞へ優先的に分化することを複数の方法で確認した。

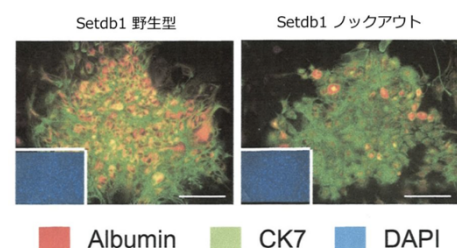
(1) リアルタイム PCR

Setdb1 ノックアウト肝幹・前駆細胞細胞では野生型に比べて、肝細胞分化マーカーであるアルブミン(Alb)、グルコース-6-ホスファターゼ(G6P)の遺伝子発現が低く、胆管細胞分化マーカーであるサイトケラチン(CK)7、CK19 の発現が低いことが示された。



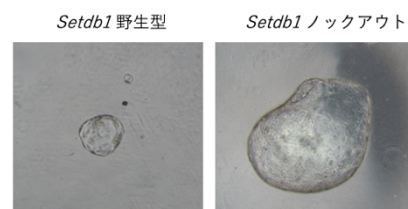
(2) 免疫染色

培養した *Setdb1* ノックアウト肝幹・前駆細胞細胞では野生型に比べて、肝細胞分化マーカーであるアルブミンの発現が低く、胆管分化マーカーである CK7 の発現が高いことが示された。



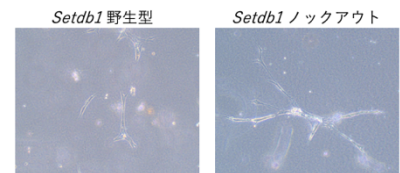
(3) Cyst 形成アッセイ

胆管細胞が cyst を形成するアッセイでは、*Setdb1* ノックアウト肝幹・前駆細胞細胞において大きな cyst の数は野生型肝幹・前駆細胞細胞より多かった。



(4) コラーゲンゲル培養

胆管細胞が分化しやすいコラーゲンゲルの培養でも cyst 形成アッセイと同様に、*Setdb1* ノックアウト肝幹・前駆細胞細胞において野生型 肝幹・前駆細胞細胞より分化が進んだ。



(5) その他

Setdb1 標的遺伝子群を同定するためのシーケンスは、実験系の事情から十分な細胞数が確保できず断念した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------