

氏名(本籍)	もり た よう へい (東京都)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第2313号		
学位授与年月日	平成19年7月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Non-side-population hematopoietic stem cells in mouse bone marrow</b> (マウス骨髄における SP 以外に存在する造血幹細胞)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	大根田 修
副査	筑波大学教授	医学博士	加藤 光保
副査	筑波大学准教授	医学博士	小島 寛
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	渋谷 和子
副査	筑波大学講師	博士(理学)	小林 麻己人

### 論文の内容の要旨

(目的) Side population (SP) 細胞は, Hoechst 33342 でマウス骨髄細胞の染色を行った際に Bcrp1 を介して Hoechst を排出し, FACS 上で Hoechst 蛍光の低輝度を示す細胞である。この SP 細胞は, 高頻度で造血幹細胞を含んでおり, また異種を含めた様々な組織においても幹細胞を同定することが可能である。以上の事実は, 造血幹細胞の能力と SP フェノタイプの間には何らかの関係が残存していることを示唆するものであるが, その関係についてほとんど分かっていない。また, SP 細胞以外にも造血幹細胞が存在しているのかについて不明である。本研究は, 上記2点について明らかにすることを目的として実験を行った。

(対象と方法) C57BL/6 マウスから骨髄細胞を採取し, 造血幹細胞が最も濃縮されている分画である CD34<sup>+</sup>KSL 細胞の Hoechst 染色の FACS 解析を行った。Hoechst 染色によって現れる CD34<sup>+</sup>KSL 細胞の亜分画をソーティングし, 移植による造血幹細胞活性の測定を行った。また, 細胞周期, Bcrp1 の発現などについても詳しく比較を行った。

(結果) FACS 解析の結果, CD34<sup>+</sup>KSL 細胞には SP 細胞 (SP-CD34<sup>+</sup>KSL) と SP 以外の細胞である Main population (MP) 細胞 (MP-CD34<sup>+</sup>KSL) がほぼ同じ割合で存在していた。両細胞の解析を行ったところ, 造血幹細胞活性, 細胞周期, Bcrp1 の発現はほぼ同等であった。また, 移植後の骨髄細胞の SP 解析を行ったところ SP 由来の細胞だけでなく MP 由来の細胞からも SP 細胞と MP 細胞が検出された。

(考察) FACS 解析と移植の結果から, 造血幹細胞は SP 細胞と MP 細胞にほぼ同等に含まれていると考えられた。また, MP 由来の細胞からも SP 細胞が検出されたことから, SP 細胞と MP 細胞は相互に入れ替わっていると考えられる。SP-CD34<sup>+</sup>KSL 細胞と MP-CD34<sup>+</sup>KSL の間で Bcrp1 の発現レベルにほとんど差がないことから, Hoechst 排出は機能的なレベルで制御している因子が存在していると思われる。また, 細胞周期においても両細胞は同じ状態であることから, これらに含まれている造血幹細胞はほとんど同じものであると考えられた。

(結論) SP 細胞は常に全ての造血幹細胞を示しているわけではなく, SP 以外にも造血幹細胞は存在している。

また、SP と MP に造血幹細胞が同等に含まれており、それらに違いが見られないことから SP フェノタイプと造血幹細胞の能力は直接関係していないことが示唆された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、移植による造血幹細胞活性をもとに解析を行った結果、造血幹細胞は SP 分画と MP 分画に同等に含まれ、細胞周期解析および Bcrp1 発現において、両者間で相違点が認められないことを明らかにした。また、MP 由来の細胞から SP 細胞が検出可能であることを見出しており、SP 細胞に対する固定概念を変える報告を行った点において、十分評価に値する内容である。

今後の研究の進展に際して、SP 細胞と MP 細胞の性質をより明らかにするとともに、細胞治療への臨床応用が期待される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。