

# 主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	佐 藤 幸 男
主 論 文 題 名				
Notch2 Signaling Regulates the Proliferation of Murine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells via c-Myc Expression (マウス骨髄由来間葉系幹細胞の増殖はNotch2シグナル伝達がc-Mycを介して制御している)				
(内容の要旨)				
<p>骨髄由来間葉系幹細胞は自己複製能と多分化能を有し、また抗炎症作用を有するとして再生医療における大変魅力的な医療材料となることが期待されている。これまでに骨髄内の低酸素環境が幹細胞性の維持に関与していることが示唆されているが、その詳細な機構は未だ明らかで無い。そこで、マウス骨髄由来間葉系幹細胞を用いて幹細胞性の維持に関わるシグナル経路を明らかにすることを試みた。</p> <p>実験動物としてC57BL6J野生型雌マウス(6-8週)を用いた。まず、同マウスの腹腔内に細胞内低酸素を検出するHypoxyprobeを投与した後、骨髄細胞の酸素環境を解析した。フローサイトメーターによる解析の結果、大部分の間葉系幹細胞は低酸素環境下に存することが確認された。次に、単離した間葉系幹細胞を大気下環境(21%酸素濃度)および低酸素環境(1%酸素濃度)で培養し、細胞増殖能および脂肪・骨分化能を比較した。その結果、低酸素下培養の方が細胞増殖能、脂肪分化能および骨分化能がより長期に渡り維持されることが示された。</p> <p>組織幹細胞の未分化維持にはNotchシグナル伝達に関与が報告されているため、間葉系幹細胞を用いて以下の実験を行った。Notch経路の阻害薬であるγセクレターゼ阻害剤を培地に添加して細胞増殖能を比較したところ、阻害剤を培地に添加した場合には低酸素下培養においても間葉系幹細胞の増殖能が濃度依存性に低下した。間葉系幹細胞におけるNotch1-4 receptorの発現量についてリアルタイムPCR法(Real-time polymerase chain reaction: RT-PCR)および免疫染色にて解析したところ、Notch2 receptorが高発現していることが示された。また、間葉系幹細胞のNotch2 発現をshRNAによりノックダウンしたところ、低酸素下培養においても細胞増殖が抑制された。その際、低酸素誘導因子(Hypoxia Inducible Factor: HIF) -1α、HIF-2α、癌遺伝子のc-Mycが抑制されることがRT-PCRにより示された。さらに、Notch2 ノックダウン条件下でc-Mycを強制発現させると細胞増殖能は回復した。以上の実験結果により、間葉系幹細胞の低酸素下における細胞増殖にはNotch-c-Myc経路に関与していることが示唆された。</p> <p>本研究結果はNotchシグナル伝達経路の間葉系幹細胞の幹細胞性維持への関与を裏付けるものと考えられた。また、ヒトではNotch2遺伝子異常を有するHajdu-Cheney症候群と、NotchのリガンドであるJagged1 (JAG1) 遺伝子異常を有するAlagille症候群が知られている。これらはいずれも骨形成異常を示し、ヒトにおいてもNotch2シグナル伝達経路が骨形成に関与している可能性がある。今回の研究でNotch2-c-Myc経路以外のシグナル伝達の関与も考えられるが、同シグナル伝達がマウス骨髄由来間葉系幹細胞の幹細胞性維持を一部担っていることが示唆された。</p>				