

論文審査の結果の要旨

氏名 樋口 洋一

本論文は2章から構成される。第1章ではヒト線維芽細胞における臓器および解剖学的部位特異的な遺伝子発現の多様性について、第2章では腸管上皮細胞株に対して臓器特異的な消化管線維芽細胞が与える影響の違いについて述べられている。

第1章では、ヒトの全身13臓器18解剖学的部位から採取された初代培養線維芽細胞における遺伝子発現の網羅的解析が行われている。解析にあたり、年齢、性別や人種の異なるサンプルを供試することで、ヒト線維芽細胞における遺伝子発現には個体間差よりも大きい、臓器や解剖学的部位依存的な多様性が存在することを明らかとした。さらに、消化管を構成する線維芽細胞に着目し、消化管線維芽細胞における臓器や解剖学的部位に特徴的な遺伝子群を同定している。同定された遺伝子群の再現性について、*in vitro* および *in vivo* におけるリアルタイム PCR 解析や免疫蛍光染色法により確認し、高い再現性を得た。ヒト線維芽細胞を対象とした遺伝子発現解析において、臓器横断的で系統的な検討は本研究が初めての報告であり、得られたデータの信頼性と再現性の面で高く評価できる。また、消化管線維芽細胞における臓器依存的な *homeobox* 遺伝子の発現パターンが、マウスやニワトリの胚発生期の消化管における発現パターンと類似していたことから、ヒト成人の消化管線維芽細胞における臓器依存的な多様性は胚発生の過程で獲得され、消化管臓器の形成と関連していると考察している。

第2章では、第1章で得られた結果の内、消化管の線維芽細胞における臓器依存的な遺伝子発現が、消化管の上皮細胞における臓器依存的な性質と類似していた点に着目して研究が行われている。消化管を構成する臓器特異的な線維芽細胞の性質が、消化管上皮細胞における分化や増殖に影響すると仮説を立て、腸管上皮細胞の分化モデルである *Caco-2* 細胞と消化管の線維芽細胞を長期共培養可能な3次元培養系を作製した。作製した3次元培養系と古典的な *Caco-2* 細胞の分化実験系との関連性を慎重に検討した上で、3次元培養系を共培養実験に採用している。各臓器の消化管線維芽細胞と14日間共培養した *Caco-2* 細胞における腸分化、増殖や機能性について免疫組織化学的染色により評価した。その結果、十二指腸、回腸や大腸といった腸管臓器に由来する線維芽細胞と共培養した際に *Caco-2* 細胞における腸分化と増殖が亢進するのに対し、食道や胃といった非腸管臓器に由来する線維芽細胞との共培養では上記の変化は確認されなかった。さらに、腸管線維芽細胞のみが *Caco-2* 細胞の分化や増殖を亢進する分子機序を解明するため、第1章で得られた遺伝子発現データから機能分子の候補を探索し、*CXCL12/SDF1* を選出している。*Caco-2* 細胞に対する *CXCL12/SDF1* のリコンビナントタンパク質の添加試験や、*shRNA* による腸管線維芽細胞に対する *CXCL12/SDF1* のノックダウン実験により、*Caco-2* 細胞の分化

や増殖に対する CXCL12/SDF1 の機能性を確認している。これらの結果から、腸管線維芽細胞が特徴的に産生する CXCL12/SDF1 が腸管上皮細胞の分化や増殖を亢進することで、腸管臓器の恒常性維持に寄与していると結論付けている。

以上より、各臓器に存在する線維芽細胞はその臓器に固有の微小環境を構築し、上皮細胞などとの相互作用を介して組織恒常性の維持に寄与している可能性が示唆された。また総合考察では、臓器や解剖学的部位特異的な線維芽細胞と創傷治癒、胚発生、炎症やがんの進展との関連について論じており、本研究で解明された線維芽細胞における遺伝子発現データは間質細胞の関わるあらゆる生命現象の研究に大きく寄与するものと期待される。

なお、本論文第1章は、小嶋基寛・石井源一郎・青柳一彦・佐々木博己・落合淳志との共同研究であり、本論文第2章は、小嶋基寛・宮下智之・石井源一郎・落合淳志との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1610 字