

氏名	野 口 洋 文
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 2297号
学位授与の日付	平成14年3月25日
学位授与の要件	医学研究科外科系外科学(一)専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	CONTROLLED EXPANSION OF HUMAN ENDOTHELIAL CELL POPULATIONS BY CRE/LOXP-BASED REVERSIBLE IMMORTALIZATION (Cre/loxPに基づく可逆性不死化システムによるヒト内皮細胞の増 殖制御)
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 許 南浩 教授 梶谷 文彦

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

高分化ヒト内皮細胞を培養増殖させる技術は、遺伝子治療の応用やさまざまな生物学的研究において大変有意義である。今回我々は Cre/loxP 部位特異的組換えによってあらかじめ除去できるように仕組まれた癌遺伝子を導入することによって、*in vitro* での内皮細胞の可逆的増幅を試みた。ヒト臍帯静脈内皮細胞およびヒト肝類洞内皮細胞は、SV40T 遺伝子、セクションマーカーおよび 1 対の loxP 組換え配列をもつレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入された。遺伝子導入された内皮細胞（それぞれ HNNT-1, HNNT-2）は正常の内皮細胞の形態を維持し、細胞寿命の延長を来した。HNNT-1 および HNNT-2 は腫瘍原性を認めなかった。いずれのクローンも内皮細胞のマーカーを発現し、acetylated LDL の取り込みを維持していた。また、Cre 発現アデノウイルスベクターとネオマイシン選択により、SV40T 遺伝子が除去され、復帰細胞は正常内皮細胞の分化表現形を維持していた。この研究では可逆性不死化システムの有効性を実証し、基礎研究および細胞療法・遺伝子治療に対するさまざまな題材となる初代ヒト内皮細胞の寿命延長をもたらした。

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は遺伝子治療の応用や細胞療法への発展を展望して、高分化ヒト内皮細胞を培養増殖させる方法を検討したものである。本研究者は Cre/loxP 部位特異的組み換えによってあらかじめ除去できるように設計された癌遺伝子を導入することにより、*In vitro* での内皮細胞の可逆的増殖を達成する系を検討した。ヒト臍帯静脈内皮細胞及び肝類洞内皮細胞に SV40 T 遺伝子、選択マーカー、loxP 組み換え配列を含むレトロウイルスベクターを感染させて導入した内皮細胞クローンは、正常内皮細胞の表現型を保持しており、細胞寿命の有意な延長を認めたが、完全な不死化には至らなかった。これはテロメラーゼの発現が促進されなかったためであることも示された。また、これらの細胞から Cre 組み換え酵素発現アデノウイルスベクターとネオマイシン選択により SV40T 遺伝子が除去された細胞クローンは、正常内皮細胞の分化表現型を維持していたが、速やかに細胞老化に至ることが判明した。

以上のように、本研究は可逆的細胞不死化システムの実現に向けた基礎的な検討から、完全な不死化には至らなかったものの、その系の有効性を十分に示唆する結果を得たものであり、将来の組織再生医学や細胞治療の分野の発展に貢献しうる意義ある研究成果と認めた。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。