

氏名	丸 山 昌 伸
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 号
学位授与の日付	平成16年3月25日
学位授与の要件	医歯学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	ESTABLISHMENT OF A HIGHLY DIFFERENTIATED IMMORTALIZED HUMAN CHOLANGIOCYTE CELL LINE WITH SV40T AND hTERT (SV40TとhTERT導入による高度に分化した不死化ヒト胆管細胞の樹立)
論文審査委員	教授 山田 雅夫 教授 加藤 宣之 教授 許 南浩

#### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

hTERT遺伝子を導入することで、ヒト肝臓細胞の不死化を行い、ヒト胆管細胞株の作成を試みた。ヒト肝臓細胞にplasmid SV 3neo(SV40Tag)を形質導入にて延命したヒト肝臓細胞OUMS21に、hTERTとGFP遺伝子を発現するレトロウイルスベクターを感染させた後、FACSにてGFP陽性細胞を回収し、limiting dilutionにてcloningを行いhTERT導入株MMNK-1を樹立した。樹立細胞の遺伝子発現を検討し、さらにマトリゲルにて組織構築能を評価した。テロメラーゼ活性は、親細胞で陰性に対しMMNK-1では陽性でありMMNK-1はPDL200以上増殖した。MMNK-1細胞は、胆管細胞マーカーCK7,CK19を発現していた。またマトリゲル上で胆管構造の形成をみとめた。樹立された細胞株は胆管上皮の形質を高度に保持しており、SV40TとhTERT導入による不死化技術は今後細胞医療への応用が期待される。

#### 論 文 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、SV40T 遺伝子と hTERT 遺伝子を導入してヒト胆管細胞株を樹立することを目的として行われた。ヒト肝臓細胞にSV40Tを導入したOUMS21細胞株に、レトロウイルスベクターを用いて、hTERT 遺伝子とGFP遺伝子を導入後、GFP陽性細胞を分離してクローニングし、本研究者がMMNK-1とよぶ細胞株を樹立した。本細胞株は、胆管細胞マーカーであるサイトケラチン7, サイトケラチン19を発現し、マトリゲル上で胆管構造の形成をみとめた。以上より、本細胞株は、高度に分化した不死化ヒト胆管細胞といえ、肝臓の移植・再生の研究上重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

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。