

氏名	Muhammad Shahid Javed
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 4494 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医歯薬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 an Immortalized Porcine Liver Cell Line JSNK-1 With Retroviral Transduction of SV40T (SV40T レトロウイルストラ NSD クションによる豚不死化 肝臓細胞 JSNK-1 の確立)
論文審査委員	教授 加藤 宣之 教授 岡田 裕之 准教授 萩野 哲也

#### 学位論文内容の要旨

Maintenance of freshly isolated porcine liver cells in vitro is limited for a short period of time. Therefore, establishment of easy-handling cell lines is extremely important for in vitro study for liver cells and their possible utilization for cell differentiation and growth of stem cells. Porcine liver cells were transduced with a retroviral vector SSR#69 expressing SV40T, one of SSR#69-immortalized porcine liver cell lines, JSNK-1, was established and characterized. Morphology of JSNK-1 cells was spindle-shaped. When the cells become confluent, JSNK-1 cells revealed hills-and-valleys pattern. In the presence of vitamin A, JSNK-1 cells showed big droplets inside the cytoplasm, which were positive with PAS staining. JSNK-1 cells showed the gene expression of collagen type1 $\alpha$ 1, collagen type1 $\alpha$ 2, FLT-1,  $\beta$ -actin and SV40T. Immunostaining study revealed that JSNK-1 cells produced collagen, Vimentin and  $\alpha$  smooth muscle actin. JSNK-1 cells possessed the characteristics of the liver stellate cells. JSNK-1 cells produced hepatocyte growth factor (HGF) in the time-dependent manner. When co-cultured with iPS cells towards the hepatic differentiation, JSNK-1 cells facilitated their hepatic differentiation in terms of albumin production. In conclusions, JSNK-1 cells would be valuable in the study of liver stellate cell pathophysiology and contribute to the optimization of hepatic differentiation of iPS cells.

#### 論文審査結果の要旨

本研究では、SV40 ラージ T 抗原を発現するレトロウイルスベクターを豚肝細胞に導入して不死化肝細胞株 JSNK-1 を樹立し、細胞の性状解析を行った。JSNK-1 細胞は、細胞の形態解析、コラーゲンなどの遺伝子発現解析およびビメンチンなどの免疫染色解析から、肝星細胞の特徴を有していることが分かった。JSNK-1 細胞は肝細胞増殖因子 HGF を產生し、共培養により iPS 細胞を肝細胞へ分化させることや SCID マウスに移植しても腫瘍を形成しないことを示した。

本研究は、豚肝臓から初めて不死化肝細胞株を樹立し、その性状解析の結果、今後の研究に有用であることを示した点におい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。