

学生優秀発表賞受賞者：藤井 樹 演題番号 学 17

## ヒト皮膚線維芽細胞由来細胞塊スフィアにおける 幹細胞マーカー遺伝子の発現解析及びその分化能の確認

藤 井 樹\*

### I. 研究の概要

#### 【背景・目的】

幹細胞とは、自己複製能と様々な細胞へと分化できる能力をもつ細胞と定義されている。その中でも *POU5F1* (*OCT3/4*) や *NANOG*、*SOX2*、*NODAL* などの多能性幹細胞マーカー遺伝子を発現するものは、内胚葉・中胚葉・外胚葉へ分化する能力をもち、胚性幹細胞 (ES 細胞) や iPS 細胞などが知られている。いずれの幹細胞においても細胞塊を形成する。本研究では、健常ヒト皮膚線維芽細胞 (Human Dermal Fibroblast: HDF) を用いて作成した細胞塊「スフィア」における細胞学的特性を解析した。

#### 【対象・方法】

D-MEM 培地にて培養した HDF を用いて、細胞塊スフィアを作成し、そのスフィアにおける幹細胞マーカー遺伝子の発現を RT-PCR 法にて解析した。さらに、スフィアから 3 胚葉への分化能を評価する *in vitro* アッセイキットを用いて、スフィアを刺激培養した。

#### 【結 果】

形成されたスフィアにおいて、*POU5F1*、*NANOG*、*SOX2*、*NODAL* をはじめとする各幹細胞マーカー遺伝子が発現していた。さらに、3 胚葉のうち中胚葉刺激培地におけるスフィアでは、

接着性の単一細胞が出現した。

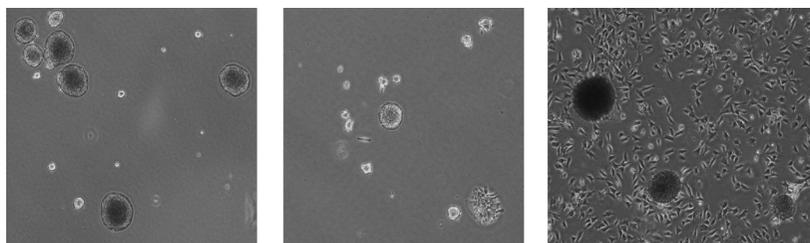
*NANOG* 遺伝子は 12 番染色体に座位しており、4 つのエキソン、mRNA は 5182 塩基、タンパク質は 305 アミノ酸残基からなる。この *NANOG* タンパク質のドメイン構造ではエキソン 2 と 3 をまたいで HOX ドメインが構成されている。HOX ドメインの生理的活性は分化能に関する遺伝子群の転写を制御していること。つまり、*NANOG* 遺伝子が発現していたことにより、Fibroblast からスフィアに形質転換できたことが示唆された。なぜなら、DNA 結合ドメインを持つ *NANOG* が転写因子として働いているからである。

#### 【考 察】

健常皮膚線維芽細胞から形質転換したスフィアにおいて、多能性幹細胞マーカーの遺伝子群が発現していたことと、3 胚葉への分化能アッセイ (Differentiation 試験) のうち中胚葉刺激培地では、さらなる形質転換が確認されたことより、分化能を保有するスフィアである可能性が示唆された (図)。

#### 【結 語】

ヒト皮膚線維芽細胞からスフィア (NSC: Natural Stem Cell と命名) への形質転換に加え、多能性幹細胞マーカー遺伝子群が発現していた。また、NSC から単一細胞への再形質転換が観察できたことより、今後は 3 胚葉マーカー遺伝子群



内胚葉

外胚葉

中胚葉

図1 Differentiation 試験

の発現解析を行い、さらなる細胞特性を解明していく。

## II. 受賞の感想

この度は日本臨床検査学教育学会学術大会にて優秀発表賞を受賞することができ大変うれしく思います。私は、遺伝子・染色体・ゲノムの分野に対して強い興味をもっており、日々熱心に勉強をしてきました。

自分にとって初めての学会発表であったので緊張と不安がありましたが、これまでの成果や研究指導をしてくださった山口先生、また同じ研究室の生徒達のおかげでこの賞を受賞することができました。

私の好きな言葉に「雲外蒼天」という言葉があります。この言葉は努力して克服すれば快い青空が望める事という意味です。私は高校時にサッカーで全国大会に行った経験があるので努力することの大切さを知っています。この言葉のように遺伝子の学問でも同じように努力をして快い青空が望めるようにしていきたいです。

## III. 将来への抱負

昨今、感染症や癌さらに白血病における遺伝学的変異や先天的な疾患の早期発見に関する分子生物学的技術の発展により、遺伝子検査が日常検査として行われるようになってきています。現在では遺伝子検査が最先端であるが、これからはゲノムに関する検査の知識や技術が臨床検査技師にも必要になることと考えられています。それに拍車をかけるのが平成30年12月1日より施行された検体検査の精度の確保についての改正省令です。今まで、2次分類でしかなかった遺伝子検査が新分類では遺伝子関連検査・染色体検査として1次分類となったことです。

そのため私は大学院に進学し、染色体・遺伝子・ゲノム分野での知識や能力・技術を習得し、将来は日本の医療界に貢献できるような人材になりたいと考えています。