

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 新井 郷子

未成熟な造血幹細胞が各段階の血球前駆細胞を経て、様々な系統の成熟血球細胞へと分化する過程は血球分化・造血とよばれ、胎生期では肝臓で、成体では骨髄で行われる。T細胞だけが前駆細胞の段階で胸腺に移行し、そこで成熟T細胞に分化する。本論文は、血球分化を制御する様々な因子のうち、血球前駆細胞における遺伝子発現の制御と、T細胞にのみ存在するセレクションと呼ばれる分化機構に注目し、それぞれについて解析を行ったものである。

緒言において、本研究の背景と意義について概説した後、第一章では、血球前駆細胞の分化を制御する新しい Polycomb group 遺伝子 *MBT-1* の機能解析を行った。まず第一節で、血球前駆細胞の分化を制御する遺伝子を単離することを目的とし、マイクロアレイ解析によって白血病細胞株において分化を誘導した際に一過性に発現が上がる遺伝子を探索し、その中から急性白血病で頻繁に欠失・変異のみられる染色体遺伝子座に位置する遺伝子として *MBT-1* を同定した。第二節では、*MBT-1* の生理機能を解析するために *MBT-1* ノックアウト (*MBT-1*^{-/-}) マウスを作製した。*MBT-1*^{-/-}マウスの造血系では、ミエロイド系前駆細胞や、造血幹細胞の分化が特異的に障害されていたため、肝臓で造血が始まる時期である胎生期 12 日目では、最も未熟な幹細胞の分化障害の影響でその下流の前駆細胞の数が激減していた。しかし各前駆細胞における分化障害のために、次第に前駆細胞が蓄積し、胎生後期には未熟な前駆細胞の蓄積およびミエロイド系・赤血球系成熟血球細胞の減少が観察された。特に、成熟赤血球の分化障害のために、*MBT-1*^{-/-}マウスは胎生後期に貧血のために致死となった。また、*in vitro* 培養下においても、*MBT-1*^{-/-}細胞の分化障害が観察されたことから、この分化障害が造血の外部環境の障害ではなく細胞自身の障害であることが示された。さらに、各血球前駆細胞における BrdU の取り込み率が、*MBT-1*^{-/-}細胞で低下しなかったことや、細胞の蓄積が見られることから、*MBT-1* の欠損は細胞の増殖には影響を与えず、分化のみに障害をもたらしていると考えられた。第三節では、*MBT-1* が血球前駆細胞の分化を制御するメカニズムを探索するために、*MBT-1*^{-/-}と *MBT-1*^{+/+}マウスの胎生期肝臓細胞をマイクロアレイ解析で比較したところ、*MBT-1*^{-/-}細胞においてサイクリン依存キナーゼ阻害因子である p57^{KIP2} の発現が減少していた。そのことから、*MBT-1* は、血球前駆細胞一過的に発現することにより、p57^{KIP2} の発現を上昇させて細胞周期を一時的に停止させることで、分化を誘導している可能性が考えられた。第 4 節では、*MBT-1* の機能から推測される、*MBT-1* における異常と急性白血病の関連性について考察している。血球前駆細胞の様々な分化段階で分化を特異的に制御する分子は今までに報告がなく、本研究において新しい血球分化の制御機構が示された。

第二章では、T細胞にのみ存在するセレクションと呼ばれる分化機構に関し、pre-TCR からのシグナルによってポジティブセレクションが起こるかどうかにについて様々なトランス

ジェニックマウスを用いて解析した。胸腺における T 細胞の分化の過程には 2 つチェックポイントが存在し、1 つ目の β -セレクションでは、機能的な TCR β 鎖を発現した胸腺細胞は TCR β 鎖と pT α 鎖から成る pre-TCR を形成することで、そこからのシグナルにより増殖が可能になる。2 つ目のポジティブセレクションでは適切な TCR $\alpha\beta$ を発現した胸腺細胞のみ選択されて生き残り、成熟することができる。pre-TCR と TCR $\alpha\beta$ は構造的に類似しており、多くの共通したシグナル伝達が行われていることから、機能的に共有している部分があるという推測はなされていたが、その証明は困難であった。本章では、TCR $\alpha\beta$ の非存在下で胸腺細胞に pre-TCR を高発現させたトランスジェニックマウス (pT α -TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウス) や pre-TCR からのシグナルを増強させたマウス (Egr-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウス) など、様々なマウスを作製し、pre-TCR からのシグナルで、CD8⁺T 細胞のポジティブセレクションが誘導できることを示し、pre-TCR と TCR $\alpha\beta$ は部分的に同じ機能を共有していることを証明した。また、この結果から、TCR からのシグナルの強さが CD4/CD8 分化経路の決定に関与していることが示唆された。

以上、本論文は、血球分化の制御機構について新しい知見を得たもので、白血病の発症機構の解明等に役立つと考えられ、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。