

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目

HES-1 及び SCL により造血幹細胞の自己複製、分化が制御される

氏名 國里 篤 志

造血幹細胞 (HSC) は多分化能と自己複製能を併せ持つ細胞として定義される。長期に渡り生体内で血液細胞を生成する能力を長期造血再構築能と呼び、多分化能と自己複製能を併せ持つ HSC であればこの長期造血再構築能を備える。HSC の分化と複製を制御する分子機構に対する研究は非常に盛んに行われている。

細胞分化関連受容体 Notch の下流に位置する helix-loop-helix 型転写因子 HES-1 は、種々の細胞で分化抑制シグナルを担う分子であることが示されてきた。しかし、HSC における分化抑制作用の有無は不明であったため、今回、マウス造血幹細胞 Lineage 陰性、c-Kit 及び Sca-1 陽性、CD34 弱陽性～陰性画分に対し、レトロウイルスを用いて HES-1 を導入した。同画分の体外増幅の可能性と、移植後マウス体内における形質を解析したところ、HES-1 導入細胞では表面抗原発現パターンから未熟画分の維持が示唆され、レシピエント体内の血液を構築するいわゆる長期再構築能も HES-1 導入細胞が、コントロール導入細胞に比べ高いことが示された。また、レシピエント骨髓内に生着した HES-1 導入細胞が、未分化な表面抗原発現パターンを示す画分や side population と呼ばれる未熟な画分に多く含まれることが示された。これらの結果より、HES-1 の恒常的な発現により、HSC の未熟性が維持することが示唆された。

一方、多くの研究に基き、HSC は数回分裂後、ある分化系譜にコミットした前駆細胞に分化することが示唆されてきた。その初期の前駆細胞が common myeloid progenitor (CMP) と common lymphoid progenitor (CLP) とされている。様々な系譜の血液細胞への分化を制御する分子について多くの報告があるが、HSC から CMP, CLP への分化を制御する分子についてはこれまで報告が無い。

basic-helix-loop-helix (bHLH) 構造を持つ SCL は胎生期造血細胞の発生に必須な転写因子であることが明らかにされている。成体造血においては、赤血球系の成熟に重要な役割を果たすことが示唆されているが、HSC での作用は明らかにされていない。本研究では、マウス HSC に野生型 SCL である WT-SCL と bHLH 領域を欠損したドミナントネガティブ SCL (DN-SCL) を強制発現させ、移植実験により造血再構築を検証したところ、HSC の長期再構築能には何ら影響が無かった。しかし、WT-SCL 導入細胞は骨髓球系細胞に、DN-SCL 導入細胞はリンパ球系細胞に、いずれも短期的ながら、あらゆる造血組織で優位

な偏りを持って再構築していることが判明した。また、骨髄中の IL-7R α 陽性細胞（リンパ球前駆細胞）の割合は、WT-SCL 導入群では極めて少なく、逆に DN-SCL 導入群では極めて多かった。さらに MLP（myeloid/lymphoid progenitor） assay で、WT-SCL 導入 HSC からは骨髄球系細胞だけを生ずる前駆細胞（p-M）の存在が多く観察され、T cell だけを誘導する前駆細胞（p-T）は全く観察されなかった。逆に DN-SCL 導入群では p-T が多く、p-M は少なかった。これらの結果から、SCL の高発現は HSC から CMP への分化を優位にし、SCL の機能抑制は HSC から CLP への分化を優位にすることが示された。SCL が HSC からの前駆細胞分化に関与すると結論づけられた。