

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 國 里 篤 志

本研究は成体型造血幹細胞の増殖・分化において重要な役割を演じていると考えられる転写因子による制御機構を明らかにするため、マウス造血幹細胞にレトロウイルスにて転写因子本体、あるいはそのドミナントネガティブ体を導入し、造血能を評価することにより転写因子の機能を解明しようとしたものであり、下記の結果を得ている。

1. 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 をマウス造血幹細胞 Lineage 陰性、c-Kit 及び Sca-1 陽性、CD34 弱陽性～陰性画分内で強制発現させた。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、レシピエント骨髄内に生着した 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 の未熟性が維持されることが示唆された。

2. basic-helix-loop-helix (bHLH) 構造を持つ SCL の野生型である 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、マウス造血幹細胞にレトロウイルスを用いて強制発現させ、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なかった。しかし、WT-SCL 導入細胞は骨髄球系細胞に、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。

以上、本論文はマウス骨髄造血幹細胞の未熟性を維持する転写因子として HES-1 が、前駆細胞への分化を方向付ける転写因子として SCL が機能することを明らかにした。本研究

はこれまで不明であった、造血幹細胞の自己複製と分化の制御機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。