OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Defective long-term repopulating ability in hematopoietic stem cells lacking the Polycomb-group gene rae28
Author(s)	金, 智裕
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45518
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏名	金（キム）　智裕（テユ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第　19313　号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Defective long-term repopulating ability in hematopoietic stem cells lacking the *Polycomb*-group gene rae28 **（ポリコーム遺伝子群 *rae28* 遺伝子欠損造血幹細胞は、長期骨髄再構築能に異常をきたす）**
論文審査委員	（主査） 教授　大薗　恵一 （副査） 教授　金倉　譲　教授　宮坂　昌之

論文内容の要旨

［目的］

ポリコーム遺伝子群（PcG）は複合体を形成しクロマチンの高次構造を通じて、遺伝子の発現の維持に関係している。本研究ではPcG 1のうちの1つである *rae28* 遺伝子（*rae28*）欠損マウスを作成し、その造血幹細胞（HSC）の異常を長期にわたり定性的・定量的に評価検討した。

［方法］

rae28欠損（*rae28*−/−）マウスは週産期致死であるため、造血幹細胞は *rae28* 欠損マウスの胎仔肝（FL）を用いた。致死的に放射線照射したマウスに正常骨髄と共にGFP陽性のtest細胞を移植、3ケ月後の末梢血をFACSで解析し、競合状態で骨髄を再構築する単位（competitive repopulation unit：CRU）を限界希釈法にて算出した。

致死的に放射線照射したマウスにserial transplantを行い、6ケ月後の末梢血・骨髄をFACS、CFU-C assay、2回移植を用いて定性的な造血幹細胞の異常を検討した。

CRU 2個を移植し競合状態での造血幹細胞の再構築能を長期（12ケ月）にわたり解析し、mean activity of stem cell（MAS）を算出し、定量的な造血幹細胞の異常を評価した。

［結果］

rae28 欠損（*rae28*−/−）FLにおけるCRUの頻度は、*rae28*+/+（1/2万個）の1/20でり末梢血を支持できる細胞の減少を認めた。（造血幹細胞とは3ケ月以上白血球各分画を1％以上支持できるCRUと定義した。）

CRU 20個分のFLを用いserial transplantを受けたマウスの6ケ月後の末梢血は、*rae28*−/−FL移植マウスおいて白血球数（$p<0.001$）、B細胞（$p<0.001$）、T細胞（$p<0.085$）、好中球（G）＋単球（M）（$p<0.021$）有意に減少していた。このマウスの骨髄ではHSCを多く含むLin(−)c-kit(+)Sca-1(high+)の分画は野生型移植マウスに比べ有意に減少していた。（$p<0.03$）。骨髄におけるCFU-C assayにおいても、コロニー数の減少（$p<0.017$）、CFU-Mixの減少（$p<0.003$）を認めた。

再構築された骨髄細胞を同数（2×10^5 個）を移植し２回移植を行った。*rae28*+/+移植マウスは３ケ月後に 90% に再構築を認めたが、*rae28*−/−移植マウスは３ケ月後の末梢血支持を認めるマウスを認めなかった。

CRU２個を移植し競合状態での造血幹細胞の再構築能を長期（12 ケ月）にわたり解析したが、*rae28*+/+移植マウスの末梢血に比べ、*rae28*−/−移植マウスでは 12 ケ月のうちに徐々に各分画共に減少し、末梢血を再構成する能力の減少を認めた。mean activity of stem cell（MAS）も時間と共に減少し、12 ケ月では正常の約 1/8 にまで減少していた。

［総括］

PcG の一つ *rae28* はその造血幹細胞において、造血幹細胞の頻度・数の異常、末梢血・骨髄を再構築する能力の異常、正常骨髄との比較による再構築能の低下を認め、造血幹細胞の自己複製や分化・増殖に関係している重要な遺伝子である。

論文審査の結果の要旨

rae28 はポリコーム複合たんぱく質Ｉの１つであるが、これらはクロマチンの高次構造と関連し遺伝子の発現の維持に関与していることが知られている。本研究では competitive repopulation assay と限界希釈法を用い、rae28 欠損造血幹細胞の再構築能を評価している。rae28−/−造血幹細胞によって再構築された末梢血は、白血球数、B 細胞、T 細胞、単球、好中球のすべてが有意に減少し、骨髄では造血幹細胞を多く含む Lin(−)c-kit(+)Sca-1(high+) の分画の有意な減少を認める。CFU-C においてもコロニー数、コロニーの細胞数、CFU-Mix に有意な減少を認める。定量的な評価でも末梢血再構築能は時間とともに減少し、12 ケ月後には正常の 1/8 まで減少している。

本論文は rae28 欠損造血幹細胞の長期わたる末梢血・骨髄再構築能の異常を定性的かつ定量的に評価しており学位に値すると考える。