

Title	Maintenance of the Hematopoietic Stem Cell Pool by CXCL12-CXCR4 Chemokine Signaling in Bone Marrow Stromal Cell Niches
Author(s)	杉山, 立樹
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47382">https://hdl.handle.net/11094/47382</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	すぎやまたつき 杉山立樹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20954 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Maintenance of the Hematopoietic Stem Cell Pool by CXCL12-CXCR4 Chemokine Signaling in Bone Marrow Stromal Cell Niches (ケモカイン CXCL12 は、骨髄間質細胞ニッチにおいて造血幹細胞の維持に必須の役割を果たす)
論文審査委員	(主査) 教授 和田 芳直  (副査) 教授 仲野 徹 教授 金倉 譲

### 論文内容の要旨

#### 〔 目 的 〕

造血幹細胞は成体において骨髄内のニッチと呼ばれる特殊な微小環境で、ニッチが産生する分子により一定数維持されると考えられているが、造血幹細胞ニッチの実体や維持の分子機構は十分明らかでない。近年、造血幹細胞ニッチの候補として骨辺縁の骨芽細胞と血管内皮細胞が報告されている。またごく最近、主として肝臓で産生されることが示されている Thrombopoietin が造血幹細胞の維持に必須であることが示された。一方、ケモカイン CXCL12 およびその生理的受容体 CXCR4 は、B 細胞の産生・造血幹細胞の胎児骨髄への生着に必須であることが知られている。しかしながら、CXCR4 遺伝子欠損マウスは胎生致死であり成体造血幹細胞における役割は十分明らかではない。今回我々は、この CXCL12-CXCR4 シグナルに注目し、マウス成体骨髄の造血幹細胞維持における役割を解明することを目的とした。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

時間特異的 CXCR4 欠損マウスを用い、CXCR4 が成体骨髄における造血幹細胞集団の維持に必須であることを、フローサイトメトリー・遺伝子発現解析・コロニーアッセイ・骨髄移植によって明らかにした。時間特異的 CXCR4 欠損マウス由来骨髄細胞を正常骨髄細胞と競合的骨髄移植した後に CXCR4 遺伝子を欠損させると CXCR4 を欠損した造血幹細胞のみが減少することから、造血幹細胞集団の維持には造血幹細胞自身の CXCR4 が作用していることを明らかにした。

次に、CXCL12 遺伝子座に GFP 蛍光蛋白をノックインしたマウス (CXCL12/GFP ノックインマウス) を用いた解析で、骨髄内で CXCL12 を高発現する細胞は骨髄腔内に分散する細網細胞 (CXCL12 高発現細網細胞; CAR 細胞) であり、その一部は骨辺縁近傍にも分布し、骨髄血管洞の血管内皮は CAR 細胞の一部に取り巻かれていることを示した。CAR 細胞は、従来造血幹細胞ニッチの候補として報告されている骨辺縁の骨芽細胞や血管内皮細胞とは異なる細胞であった。さらに、CXCL12/GFP ノックインマウス骨髄を造血幹細胞の表面マーカーに対する抗体で免疫染色を行うことにより、造血幹細胞の大部分は骨辺縁および血管内皮細胞周囲いずれにおいても CAR 細胞に接着してい

ることを見出した。

[ 総 括 ]

CXCL12-CXCR4 シグナルに注目し、主として時間特異的 CXCR4 欠損マウスを用いた研究で、このサイトカインシステムが成体骨髄における造血幹細胞集団の維持に必須であることを明らかにした。さらに、造血幹細胞の大部分は骨辺縁および血管内皮細胞周囲いずれにおいても骨髄間質細胞のうち CAR 細胞に接着していることを見出し、CAR 細胞が造血幹細胞ニッチの主要な構成成分のひとつであることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

造血幹細胞は成体において骨髄内のニッチと呼ばれる特殊な微小環境で、ニッチが産生する分子により一定数維持されると考えられているが、造血幹細胞ニッチの実体や維持の分子機構は十分明らかでない。近年、造血幹細胞ニッチの候補として骨辺縁の骨芽細胞と血管内皮細胞が報告されている。またごく最近、主として肝臓で産生されることが知られている Thrombopoietin が造血幹細胞の維持に必須であることが示された。一方、ケモカイン CXCL12 およびその生理的受容体 CXCR4 は、B 細胞の産生・造血幹細胞の胎児骨髄への生着に必須であることが知られている。しかしながら、CXCR4 遺伝子欠損マウスは胎生致死であり成体造血幹細胞における役割は十分明らかではない。発表者らは、この CXCL12-CXCR4 シグナルに注目し、マウス成体骨髄の造血幹細胞維持における役割を解明することを目的とした。

まず、時間特異的 CXCR4 欠損マウスを用い、CXCR4 が成体骨髄における造血幹細胞集団の維持に必須であることを、フローサイトメトリー・遺伝子発現解析・コロニーアッセイ・骨髄移植によって明らかにした。時間特異的 CXCR4 欠損マウス由来骨髄細胞を正常骨髄細胞と競合的骨髄移植した後に CXCR4 遺伝子を欠損させると CXCR4 を欠損した造血幹細胞のみが減少することから、造血幹細胞集団の維持には造血幹細胞自身の CXCR4 が作用していることを明らかにした。

次に、CXCL12 遺伝子座に GFP 蛍光蛋白をノックインしたマウス (CXCL12/GFP ノックインマウス) を用いた解析で、骨髄内で CXCL12 を高発現する細胞は骨髄腔内に分散する細網細胞 (CXCL12 高発現細網細胞 ; CAR 細胞) であり、その一部は骨辺縁近傍にも分布し、骨髄血管洞の血管内皮は CAR 細胞の一部に取り巻かれていることを示した。CAR 細胞は、従来造血幹細胞ニッチの候補として報告されている骨辺縁の骨芽細胞や血管内皮細胞とは異なる細胞であった。さらに、CXCL12/GFP ノックインマウス骨髄を造血幹細胞の表面マーカーに対する抗体で免疫染色を行うことにより、造血幹細胞の大部分は骨辺縁および血管内皮細胞周囲いずれにおいても CAR 細胞に接着していることを見出した。

本研究は、CXCL12-CXCR4 シグナルに注目し、主として時間特異的 CXCR4 欠損マウスを用いた研究で、このサイトカインシステムが成体骨髄における造血幹細胞集団の維持に必須であることを明らかにした。これは、成体骨髄における造血幹細胞集団の維持の分子機構に関する先駆的業績である。さらに、造血幹細胞の大部分は骨辺縁および血管内皮細胞周囲いずれにおいても骨髄間質細胞のうち CAR 細胞に接着していることを見出し、CAR 細胞が造血幹細胞ニッチの主要な構成成分のひとつであることを示唆したが、これは骨髄における造血幹細胞ニッチの本態に迫る大変重要な知見である。

よって、本研究は学位の授与に値すると考えられる。