

Title	Induction and expression of anti-angiogenic vasohibins in the hematopoietic stem/progenitor cell population
Author(s)	内藤, 尚道
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49958
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	ないとう ひさみち 内藤 尚道
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22741 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Induction and expression of anti-angiogenic vasohibins in the hematopoietic stem/progenitor cell population (造血幹・前駆細胞における血管新生抑制因子 Vasohibin の発現パターンと制御機構)
論文審査委員	(主査) 教授 高倉 伸幸 (副査) 教授 岡田 雅人 教授 望月 直樹

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

血液細胞と血管内皮細胞は共通の起源である Hemangioblast から発生・分化し、多くの共通した分子制御機構を持つことが知られている。近年血管内皮細胞で生理的に産生され血管内皮細胞に対して作用する血管新生阻害因子として Vasohibin が同定された。血液細胞において造血を促進する因子は多数同定されその機能が解明されているが、造血を抑制する因子は十分明らかとなっていない。本研究は血管内皮細胞においては血管新生抑制因子である Vasohibin の血球細胞における発現様式の解明および制御解析を目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

血球細胞における Vasohibin 1 の発現を、フローサイトメトリー・定量的 PCR を用いて野生型マウスで解析した。血球細胞において Vasohibin 1 は c-kit⁺Sca-1⁺Lin⁻ の造血幹細胞分画 (KSL) に特異的に発現を認め、分化した細胞分画 (Lin⁺) や前駆細胞分画 (Lin⁻) では発現を認めないことが明らかとなった。さらに hoechst dye を排出する機能を用いた造血幹細胞同定方法である Hoechst 解析においても Side Population (SP) 細胞で Vasohibin 1 が特異的に発現していることを示した。

次に血球細胞における Vasohibin 1 の誘導機構をマウスの下肢虚血モデルを用いて解析を行った。血管内皮細胞では従来の報告どおりに、下肢虚血刺激により Vasohibin 1 の発現が上昇したが、血球細胞では Vasohibin 1 の発現は誘導されず血管内皮細胞と血球細胞では Vasohibin 1 の発現制御機構が異なることを示唆した。そこで 5-Fluorouracil (5-FU) を用いて骨髄破壊を行い骨髄の再建過程における Vasohibin 1 の発現解析を行った。5-FU 投与後 7 日目では、Vasohibin 1 の発現レベルは KSL で変化を認めず、Lin⁻ 細胞分画で顕著な上昇を認めた。また、白血病細胞株で vasohibin 1 の発現をみると、急性白血病細胞株の一部で Vasohibin 1 が発現していることがわかった。そこで Vasohibin 1 を RNAi 法でノックダウンし機能解析をおこなった。Vasohibin 1 をノックダウンされた細胞株ではコントロール群と比較して増殖が亢

進していることが明らかとなった。これらのことから、vasohibin 1 は血球前駆細胞が分化・増殖しているときに発現が誘導され、前駆細胞の増殖抑制因子として働いていることが示唆された。

〔 総 括 〕

血管新生抑制因子として同定された Vasohibin 1 は血球細胞では幹細胞で発現し、骨髄破壊後の回復期では前駆細胞で誘導されることを示した。骨髄破壊後では前駆細胞が多数の血球細胞に分化・増殖することにより、血球細胞数が充足されると考えられているが、その血球細胞数を制御する機構は解明されておらず、Vasohibin 1 が血管内皮細胞と同様に、造血幹・前駆細胞において増殖を抑制することにより血球細胞のプールサイズを制御している可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

血管内皮細胞と血球細胞は多くの共通点を持つことが知られている。本研究では血管内皮細胞に作用する血管新生抑制因子 Vasohibin 1 の血球細胞における発現様式と制御機構について解明した。フローサイトメトリー、定量的 PCR による解析で血球細胞において Vasohibin 1 は造血幹細胞に特異的に発現していることを示した。また血管内皮細胞では Vasohibin 1 は虚血刺激で誘導されるが、血球細胞では誘導されず、骨髄破壊後の骨髄再建過程で造血前駆細胞に発現が誘導されることを示した。さらに、Vasohibin 1 を発現する白血病細胞をモデルとして、RNAi 法を用いて Vasohibin 1 の発現を抑制すると、細胞の増殖の亢進が認められた。これらのことは、血球細胞において Vasohibin 1 が血管内皮細胞と同様に増殖の抑制因子として作用していることを示唆する結果であった。血球細胞の増殖過程の分子機構は解明が進んでいるが、増殖を止めるための抑制機構に関しては解明されていない。本研究はその増殖抑制機構の一端を解明するものであり、学位の授与に値すると考えられる。