

Title	ESAM is a novel human hematopoietic stem cell marker associated with a subset of human leukemias
Author(s)	石橋, 知彦
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55739
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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 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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	石橋 知彦
論文題名 Title	ESAM is a novel human hematopoietic stem cell marker associated with a subset of human leukemias (血管内皮抗原ESAMはヒト造血幹細胞マーカーであり、白血病診断にも有用である)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 信頼性の高い造血幹細胞 (HSC) マーカーは、HSC研究の進展、移植医療や再生医療など臨床応用の発展に不可欠である。ヒトHSCの研究はマウスと比較して遅れているが、その要因のひとつにマウスとヒトではHSCマーカーが異なり、マウスの知見をそのままヒトに当てはめられないことが挙げられる。これまでに、血管内皮抗原であるendothelial cell-selective adhesion molecule (ESAM)はマウスHSCマーカーとして有用であること、ESAMノックアウトマウスを用いた研究によりHSCの機能にも重要な分子であることが報告されている。本研究は、ヒトHSCおよび白血病細胞におけるESAM発現とその意義を明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ヒト骨髓、G-CSF投与後の末梢血幹細胞採取液から単核球を分離し、表面抗原をフローサイトメトリー (FCM) にて解析した結果、CD34⁺CD38⁻分画はESAMを高発現していた。CD90、CD45RAを用いて同分画を細分化して検討した結果、最も未分化なCD90⁺CD45RA⁻CD34⁺CD38⁻分画でESAM発現が最も高かった。次にESAM発現強度と造血幹・前駆細胞機能との関連を検討するため、CD34⁺CD38⁻分画をESAM発現強度を指標としてセルソーターで分取し解析した。メチルセルロースアッセイでは、未分化多能性幹・前駆細胞のコロニーであるCFU-MixはESAM^{high}細胞からのみ形成された。MS5ストローマ細胞との共培養においても、未分化な造血幹・前駆細胞はESAM^{high}分画に濃縮されていることが示された。次に臍帯血を用いてFCM解析を行った結果、臍帯血CD34⁺CD38⁻分画中には、骨髓や末梢血には認められなかったESAMを非常に高発現する細胞 (ESAM^{Bright}細胞) を認めた。ESAM^{high}細胞とESAM^{Bright}細胞の機能をコロニーアッセイ、MS5との共培養で検討した結果、未分化な造血幹・前駆細胞はESAM^{Bright}分画ではなくESAM^{high}分画に濃縮されていた。さらに、免疫不全マウスへの移植実験により、臍帯血CD34⁺CD38⁻分画のESAM^{Low}、ESAM^{high}、ESAM^{Bright}細胞の長期造血再構築能を比較検討した。一次移植から3ヶ月後のマウス骨髓を解析した結果、ESAM^{high}細胞を移植したマウスでのみヒトCD45陽性細胞を認め、骨髓球系・Bリンパ球系・Tリンパ球系の3系統のヒト血球が産生されていた。ESAM^{Low}、ESAM^{Bright}細胞を移植したマウスではヒトCD45陽性細胞は認めなかった。ESAM^{high}細胞を移植したマウス骨髓を免疫不全マウスへ二次移植後4ヶ月の骨髓解析でもヒトCD45陽性細胞を認めたことから、長期造血再構築能を有する細胞はESAM^{high}分画にのみ存在することが明らかとなった。また、表面抗原・遺伝子発現・ストローマ細胞との共培養実験を検討した結果、ESAM^{Bright}細胞は血球系の細胞ではなく血管内皮系に関連した細胞であることが示唆された。続いて、白血病細胞におけるESAM発現を検討した。ヒト白血病細胞株をFCMで解析した結果、赤血球・巨核球系の白血病細胞株でESAM発現を認めた。患者検体の検討では、15例の急性骨髄性白血病中10例でESAM発現を認めたが、急性リンパ性白血病では3例全例で発現を認めず、ESAMは白血病の系統診断にも有用である可能性が示唆された。元来ESAM陰性であるヒト白血病細胞株KG1aを免疫不全マウスへ移植後、生着したKG1a細胞 (rKG1a細胞) には高いESAM発現を認めた。rKG1a細胞のESAM⁻分画、ESAM⁺分画をそれぞれ免疫不全マウスへ移植し3ヶ月後の骨髓を解析した結果、ESAM⁺分画を移植したマウスにのみヒトCD45陽性細胞を認めた。このことから、白血病細胞のESAM発現は骨髓との親和性に関連していることが示唆された。 〔総括(Conclusion)〕 骨髓、G-CSF投与後の末梢血、臍帯血という現在利用されているすべてのヒトHSCソースにおいて、CD34⁺CD38⁻分画はESAMを高発現していた。より未分化な造血・幹前駆細胞はESAM高発現分画に濃縮されており、ESAM^{high}CD34⁺CD38⁻細胞は免疫不全マウスにおいて長期の造血再構築能を示した。ESAMは急性骨髄性白血病症例でも発現を認め、急性骨髄性白血病細胞株のESAM発現は生体への生着能と関連していることが示唆された。以上より、ESAMはヒトHSCマーカーであり、白血病診断にも有用であると考えられる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 石橋 知彦		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	金 倉 護
	副 査 大阪大学教授	森 井 真一
	副 査 大阪大学教授	石 井 優

論文審査の結果の要旨

造血幹細胞は血液疾患の移植治療で広く用いられており、近年では再生医療での応用も期待されている。研究の発展には、ヒト造血幹細胞の表面抗原を明らかにすることが重要である。

ヒト造血幹細胞はCD34⁺CD38⁻分画に濃縮されることが知られているが、本研究は同分画をESAM発現強度を指標として細分画し、各分画の機能を解析した。この結果、全ての造血幹細胞ソースにおいて、多能性前駆細胞はESAM高発現分画に濃縮され、ESAM高発現細胞は長期造血再構築能を有することを示した。これは、血管内皮抗原ESAMがヒト造血幹細胞マーカーとして有用であることを初めて明らかにしたものである。また、ESAMは急性骨髄性白血病細胞でも発現しており、ESAM発現強度は白血病細胞の骨髄への生着能と関連することも示した。ESAMが白血病の研究および診断にも有用であることを明らかにし、治療への応用の可能性も示すものであり、本研究は学位に値すると考える。