

Title	Systematic Cellular Disease Models Reveal Synergistic Interaction of Trisomy 21 and GATA1 Mutations in Hematopoietic Abnormalities
Author(s)	坂野, 公彦
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59557
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 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	坂野 公彦
論文題名 Title	Systematic Cellular Disease Models Reveal Synergistic Interaction of Trisomy 21 and GATA1 Mutations in Hematopoietic Abnormalities (系統的な疾患モデル細胞をもちいた、21トリソミーとGATA1変異が造血異常においてもたらす相乗的作用の解明)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>ダウン症候群は21番染色体が3本あることによって引き起こされる、最も高頻度な染色体異常である。多くの合併症を有するなかで、とくに白血病のリスクが高いことが知られており、ダウン症候群新生児の約10%が一過性骨髄増殖症(TMD; transient myeloproliferative disorder)と呼ばれる類白血病状態を呈し、その3-4割がダウン症関連骨髄性白血病(ML-DS; myeloid leukemia of Down syndrome)へと進展する。最近、疾患集団の全ゲノム解析により、X染色体上の転写因子GATA1の短縮型変異と21トリソミーの両者が存在することがTMDの病態形成に必要な十分であることが報告された。一方で21番染色体上のどの領域やどの遺伝子が病態発症と関わるのか、またGATA1変異とどのような相互作用をするのかについては、染色体数や各遺伝子の状態を正確に表す実験モデル系がなかったため、研究が進んでいなかった。</p> <p>そこでわれわれは、21トリソミーとGATA1遺伝子変異の両者の役割を正確に解析するために、21番染色体が2本(ダイソミー)および3本(トリソミー)のヒトiPS細胞の各々において、GATA1遺伝子正常、短縮型変異、欠失の3種類のヒト人工多能性細胞(iPS細胞)を作製し血球分化を行い、表現型を比較することに取り組んだ。さらに、21番染色体上で推定されていたTMD責任領域や、その領域内の単一もしくは複数の遺伝子を1コピーのみ欠いた21トリソミーiPS細胞も同様に作製することで、21番染色体やその責任領域・遺伝子が果たす役割は何か、GATA1短縮型変異とどのようなメカニズムで協調的に病態形成に関わっているかを明らかにすることを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>血球からのiPS細胞誘導技術の確立により、健常児由来のみならず、ダウン症候群患児由来の体細胞(GATA1遺伝子正常)から、そしてTMD発症中のダウン症候群患児由来の芽球(GATA1短縮型変異)から、それぞれiPS細胞を作製することが可能となった。またゲノム編集技術(TALEN, CRISPR/Cas9)をヒトiPS細胞において取り入れることで、GATA1遺伝子欠失や、21番染色体の4Mb領域欠失(部分21トリソミー)を行い、系統的な疾患細胞モデルの作製を行った。</p> <p>(1)21トリソミー(4-Mb責任領域の3コピー)は血液前駆細胞を増加させる。 まず、GATA1正常の3種類(21ダイソミー・21トリソミー・部分21トリソミー)のiPS細胞から血球分化して得られるCD43⁺細胞(血液前駆細胞に相当)は、21トリソミーで有意に増加し、4-Mb責任領域の欠失(部分21トリソミー)でその効果がキャンセルされることがわかった。</p> <p>(2)GATA1短縮型変異は異常巨核球分化(CD34⁺CD41⁺細胞)を引き起こす。 次にGATA1正常、短縮型、欠失の3者を比較すると、CD34⁺CD41⁺という未熟な巨核球の細胞表面マーカーを発現する細胞が、GATA1短縮型iPS細胞から有意に産生され、中でも21トリソミーGATA1短縮型で最も多く産生された。</p> <p>(3)各血球分化細胞群の遺伝子発現量解析の結果から、21トリソミー(4-Mb責任領域の3コピー)はGATA1短縮型の発現を増加させること、またレンチウイルスを用いた過剰発現実験にてGATA1短縮型の発現上昇により異常巨核球CD34⁺CD41⁺細胞が増加することがわかった。</p> <p>(4)以上に加え、より詳細に1つの21番染色体のみ責任遺伝子を単独もしくは複数欠失させたiPS細胞からの血球分化解析結果に基づき、血液前駆細胞増加の責任候補遺伝子としてRUNX1、GATA1短縮型の発現量増加の責任候補遺伝子としてERG, ETS2, RUNX1の3遺伝子を同定した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>TMDの病態発症メカニズムにおいて、21番染色体上の4Mb責任領域(特にRUNX1)が3コピーあることが血液前駆細胞数の増加につながり、GATA1短縮型変異があることが異常巨核球の産生を引き起こし、さらに4Mb責任領域(特にERG, ETS2, RUNX1)が3コピーあることがGATA1短縮型の発現増加を引き起こすことがわかった。これらの現象が相乗的に働くことにより、TMDの病態が生じていると考えられた。以上の結果は、遺伝子異常+染色体変化に伴って生じるすべての腫瘍発生の病態解析に通じるものと考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 坂野 公彦	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 木 薮 恵一
	副 査 大阪大学教授 金 倉 謙
	副 査 大阪大学教授 伊 野 徹
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>申請者は、ダウン症候群新生児で生じる一過性骨髄増殖症 (TMD; transient myeloproliferative disorder) について、ヒトiPS細胞およびゲノム編集という2つの技術を組み合わせることで病態解明に取り組んだ。X染色体上の転写因子GATA1の短縮型変異と21トリソミーの両者が関わるという従来¹の知見をさらに深め、21番染色体におけるダウン症造血異常責任領域 (約4Mb) の同定、造血責任領域が3コピーあることによって引き起こされるGATA1短縮型の発現量増加、それによって生じる巨核球系異常分化などを明らかにした。さらに造血異常責任領域をさらに絞込み、RUNX1, ERG, ETS2の遺伝子を造血異常責任遺伝子として同定した。これらの成果はTMDのみならず他の腫瘍や白血病の発症メカニズムの病態解析にも応用できるものであり、学位の授与に値すると考えられる。</p>	