



Title	Variable SATB1 Levels Regulate Hematopoietic Stem Cell Heterogeneity with Distinct Lineage Fate
Author(s)	土居, 由貴子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73474
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、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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 土居 由貴子		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 金 倉 譲
	副 査	大阪大学教授 長 澤 正 司
	副 査	大阪大学教授 下 村 伸 一郎

論文審査の結果の要旨

造血幹細胞は、全系統の血液細胞に分化する能力と自己複製能力を有し、生涯の造血を支える細胞である。最近の研究で、造血幹細胞集団は、機能的に不均一な細胞から構成されることが明らかにされつつある。申請者は、造血幹細胞が核クロマチン構造調節蛋白SATB1(Special AT-rich sequence Binding protein 1)の発現強度により、生理的特質の異なる集団に細分化できること、SATB1がリンパ球系分化能力の偏位の指標となること、SATB1発現量は自己複製過程において変容することを明らかにした。本研究成果により、近年力学分野において提唱されている、幹細胞が自己複製能力と多能性を保持するために、遺伝子発現量が継時的に変化するという「ゆらぎ概念」を、実際の生命現象を通して観察することに成功した。その独創性から今後の医学研究の発展に寄与すると考えられるため、博士(医学)の学位授与に値する。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	土居 由貴子
論文題名 Title	Variable SATB1 Levels Regulate Hematopoietic Stem Cell Heterogeneity with Distinct Lineage Fate (核クロマチン構造調節蛋白Special AT-rich sequence binding protein 1 (SATB1)の発現量変動は、造血幹細胞の運命決定における揺らぎと不均一性を調節する)

論文内容の要旨

〔目的(Purpose)〕

造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cells: HSCs) は、全系統の血液細胞に分化する能力と自己複製能力を有し、生涯の造血を支える細胞である。機能的に均一な細胞集団という概念に基づき、表面抗原の発現を指標に、高純度で分離する技術が確立されてきた。しかしながら最近の研究で、高度に純化した造血幹細胞集団も、機能的に不均一な細胞から構成されていることが明らかにされつつある。その中にリンパ球を産生する能力が高い造血幹細胞 (lymphoid lineage-biased HSCs) の存在も示唆されているが、それらの分子細胞学的な特徴については極めて情報が限られている。リンパ球系に偏位した造血幹細胞の同定は、リンパ球系への初期分化を誘導する分子機構を正確に知る上で重要であり、老化や疾患によって衰える造血幹細胞の機能を回復させる手法に直結する。本研究では、造血幹細胞からリンパ球分化の初期段階を制御する分子機構を明らかにすることを目的に、全ゲノムの遺伝子発現を網羅的に制御するクロマチン構造調節蛋白Special AT-rich sequence binding protein 1 (SATB1) の機能に焦点を当てて解析を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

マウス骨髄中の造血幹細胞は、Lineage⁻Scal⁺cKit⁺ 分画に濃縮されるが、我々の初期研究は、その分画から早期リンパ球前駆細胞を分離することに成功した (Immunity 2003)。継続研究で、早期リンパ球前駆細胞への分化過程で SATB1 の発現量が増加し、細胞に高いリンパ球産生能力を付与することを見出した (Immunity 2013)。そこで今回の研究では、より未分化な造血幹細胞集団において、SATB1 がどのような機能的意義を持つのかを検討した。まず、血液細胞特異的 SATB1 欠損マウス; SATB1-conditional knock out (cKO) マウスを作製し解析した。WT と cKO マウスからの HSCs を採取し、致死量の放射線照射を行ったマウスに移植し4ヶ月後に解析すると、cKO-HSCs 移植群のドナー細胞キメラリズムは、WT-HSCs 移植群に比べ有意に低かった。また、WT-, cKO-HSCs をBリンパ球誘導条件下で培養すると、cKO-HSCs からのBリンパ球産生は有意に少なかった。次に生理的な条件での SATB1 発現を観察するため、SATB1 遺伝子座の片方に赤色蛍光蛋白 tdTomato の遺伝子を導入したレポーターマウスを作製した。このマウスの骨髄を解析した結果、HSCs において SATB1-tdTomato の発現が検出でき、発現強度に基づいて SATB1⁻, SATB1⁺ HSCs の2つに分画化できた。培養実験で、SATB1⁺ HSCs は SATB1⁻ HSCs に比べ骨髄球・赤血球系コロニー形成が有意に少なく、またBリンパ球誘導条件では、SATB1⁺ HSCs からのBリンパ球産生は、SATB1⁻ HSCs に比べ有意に増加した。次に HSCs の長期造血再構築能力を評価するため、継代的移植実験を行った。SATB1⁻, SATB1⁺ HSCs を放射線照射マウスに移植し4ヶ月後に解析し (一次移植)、レシピエント骨髄細胞を別のマウスに移植し4ヶ月後に解析した (二次移植)。一次移植後、SATB1⁺ HSCs 移植群では有意に共通リンパ球前駆細胞の再構築能が高く、一次・二次移植とも両群で HSC 分画が再構築され、両群の HSC は長期自己複製能力を有しながらリンパ球分化能力は異なる HSC であることが示唆された。HSCs を SATB1 の発現強度毎に5群に細分し、各々10個の HSCs を採取して放射線照射マウスに移植し4ヶ月後に解析すると、SATB1 発現の高い HSCs の方がリンパ球系を効率よく再構築した。最後に上記の5群から HSCs を採取して、単一細胞レベルでの移植実験を行ったところ、1個の HSC から多様な SATB1 の発現強度を呈する HSC 分画が再構築された。個々の HSC の遺伝子発現量を蛍光強度として数値化し、HSCs の Lymphoid-biased marker とされる CD86、Myeloid-biased marker とされる CD41、SATB1-tdTomato を3軸に取った三次元展開を行うと、SATB1 の発現が高くなるに従い HSC 集団が myeloid-biased から lymphoid-biased に偏ることが判明した。

〔総括(Conclusion)〕

造血幹細胞は SATB1 の発現強度により生理的特質の異なる集団に細分化できること、SATB1 はリンパ球系偏位の指標となること、造血幹細胞の SATB1 発現量は自己複製過程において変容することが判明した。SATB1 の発現を指標に、lymphoid lineage-biased HSCs を生理的条件下で分離することに成功した。また、本研究結果は、近年力学分野において提唱されている、幹細胞が自己複製能と多能性を保持するために、遺伝子発現量が継時的に変化するという「ゆらぎ概念」 (Science, 2012) を、実際の生命現象を通して観察することに成功したと考えられる。