

Title	Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Contributes to the Development of Definitive Hematopoiesis in the Fetal Liver
Author(s)	上田, 智朗
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76253
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 上田 智朗			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	保 仙 通 毅
	副 査	大阪大学教授	長 澤 丘 司
	副 査	大阪大学教授	熊 御 淳

論文審査の結果の要旨

造血幹細胞表面抗原として多数の血管内皮関連分子が同定されてきたが、機能を有することが示されたものはごく一部で、特に造血発生における機能的意義はほとんどわかっていない。

ESAMは申請者らが同定し、継続的に研究を行ってきた新規造血幹細胞抗原だが、本研究ではESAM欠損マウス、条件付きESAM欠損マウスを用いて、造血発生におけるESAMの機能を解析した。まず、ESAM欠損胎仔が胎生後期に高率に死亡することをまず見出し、造血幹細胞に発現するESAMが成体型ヘモグロビン合成に寄与していることを明らかにした。さらに、血管内皮細胞のESAMも造血発生に重要であり、特に造血幹細胞の維持、分化誘導に関与していることが示唆された。これらは、造血発生においてESAMという造血幹細胞・血管内皮細胞抗原が機能的な役割を持つ分子であることを示した研究であり、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	上田 智朗
論文題名 Title	Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Contributes to the Development of Definitive Hematopoiesis in the Fetal Liver (Endothelial Cell-Selective Adhesion Moleculeは胎仔肝での2次造血発生に寄与する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 マウス造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells; HSC) は胎生10.5日目に背側大動脈内腔の血管内皮領域から発生し、血液循環によって胎仔肝へと移動し成体型造血 (2次造血) を行う。HSC表面マーカーとして多数の血管内皮関連分子が同定されてきたが、機能を有することが示されたものはごく一部で、特に造血発生における機能的意義はわかっていない。我々は血管内皮細胞関連抗原として同定されたendothelial cell-selective adhesion molecule (ESAM) がヒト・マウスのHSCに終生にわたり発現することを見出した。ESAMの発現強度はHSCの活性化状態を反映し、抗腫瘍剤5-FU投与後一過性に増強する。さらに抗腫瘍剤投与後の急性造血期において、ESAM欠損成獣マウスは遷延する骨髓抑制により高率に死亡する。このことからESAMは、HSCにおいて機能的にも重要な分子であることが示されたが、造血発生においてESAMがどのような役割を果たしているかは不明であった。そこで本研究では、造血発生におけるESAMの機能的意義を解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ESAMホモ欠損マウスがメンデル比の約半数しか出生しないことから、ESAM欠損により胎生期に致死的なイベントが発生していると推測し胎仔を解析したところ、ESAMホモ欠損胎仔が胎生15.5日以降に高率に死亡することが明らかとなった。胎生14.5日の胎仔肝では、ESAM欠損胎仔では血球系細胞数、とりわけHSC数が著明に減少しており、メチルセルロースアッセイを行うとESAM欠損胎仔肝由来のHSCは十分なコロニー形成能を有するものの、赤血球系コロニーであるBFU-E内での成体型グロビン遺伝子 (<i>Hba</i>, <i>Hbb-b1</i>)、ヘム合成に重要な<i>Alas2</i>遺伝子の発現が有意に低下していた。また、移植実験においても、ESAM欠損胎仔肝HSCは野生型と同等の生着能、HSC・骨髓系/リンパ系前駆細胞・赤血球再構築能を有するものの、ヘモグロビン合成能が低下していた。野生型、ESAM欠損胎仔肝それぞれから分取した胎生14.5日HSCにおける遺伝子発現をRNA-seqにより網羅的に比較したところ、ESAM欠損胎仔肝HSCでは複数の成体型グロビン遺伝子、<i>Alas2</i>の発現が著明に低下していた。また、クロスリンク法を行うと、HSC表面のESAMを介した細胞内シグナルによりヘモグロビン関連の遺伝子群が最も変動し、複数のグロビン遺伝子の発現が上昇していた。以上から造血幹細胞のESAMが成体型ヘモグロビン合成に寄与していることが示唆された。 次に、造血発生における血管内皮細胞のESAMの影響を明らかにするため、条件付きESAM欠損マウスを作製した。HSC特異的欠損モデルとして用いられるVav-Creトランスジェニックマウスと独自に作製したESAM^{fllox}マウスの交配により得られたVav-Cre・ESAM^{fllox/fllox}胎仔は、ESAMホモ欠損胎仔と比較して有意に死亡率が低かった。詳細に解析すると、Vav-Cre・ESAM^{fllox/fllox}胎仔肝臓では、HSCのみならず血管内皮細胞のESAMも部分的に欠損しており、血管内皮細胞のESAMの残存割合とHSC数に比例関係があることがわかった。また胎仔肝におけるHSC数はESAMホモ欠損マウスと比較しVav-Cre・ESAM^{fllox/fllox}マウスで有意に多かった。血管内皮細胞特異的にESAMを欠損させたマウスの胎仔肝臓から採取した胎仔肝実質/間質細胞を支持細胞として、野生型マウスの胎仔肝臓から採取したHSCとの器官培養を行なったところ、野生型の血管内皮細胞を支持細胞として用いた場合と比較して、産生される造血幹・前駆細胞数とCD45陽性血液細胞数が有意に減少した。以上から血管内皮細胞のESAMも造血発生に重要であり、造血幹細胞の維持と分化の誘導に寄与していることが示唆された。 〔総括(Conclusion)〕 ESAMは胎生期造血において機能を有する稀有なHSC表面抗原であり、造血幹細胞・血管内皮細胞それぞれのESAMが造血発生に寄与していることが示された。	