

氏 名	田 中 洋 介
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3204 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Forced expression of Nanog in hematopoietic stem cells results in a $\gamma\delta$ T-cell disorder (Nanog を造血幹細胞に強制発現させることにより $\gamma\delta$ T 細胞のリンパ増殖性悪性腫瘍が起こる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 坂 口 志 文 教 授 山 中 伸 弥

論 文 内 容 の 要 旨

Nanog は ES 細胞と内部細胞塊の両者の分化多能性維持に必須の遺伝子である。ES 細胞と内部細胞塊において Nanog は LIF/Stat3 シグナルとは独立に多能性維持に関わっている。Nanog を欠損した ES 細胞では分化多能性が失われ、栄養外胚葉へと分化する。また、nanog 欠損マウスは胎生致死であるが、受精 3.5 日においてブラストシストが存在し、その内部細胞塊を *in vitro* で培養すると未分化細胞集団の増殖はみられず、すべて壁側内胚葉様の細胞に分化してしまう。このように、ES 細胞における Nanog の報告はいくつかあるが、生体における報告はない。しかしながら、Nanog の分化多能性維持という機能を考えると、組織幹細胞レベルでも何らかの機能を担っている可能性が示唆される。そこで、組織幹細胞における分化多能性維持機構への関与を検討するために、組織幹細胞の中でも最も研究の進んでいる造血幹細胞に注目し、造血系における Nanog の役割を検討した。まず、定量 RT-PCR 法により、Nanog のマウス造血組織における発現を確認したところ、一部のマウス骨髓細胞において微量ながらその発現が確認できた。そこで、造血幹細胞が濃縮されている c-Kit 陽性 Sca-1 陽性 Lineage 陰性 (KSL) 細胞集団に Nanog をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入し、Nanog を過剰発現させることにより、造血幹細胞の分化多能性維持、分化に対する影響を骨髓再構築アッセイにより評価した。Nanog 過剰発現 KSL 細胞を致死量放射線照射 (9.5Gy) したマウスに尾静注により移植した。2 ヶ月後に移植マウスを解析したところ、骨髓において Nanog の造血幹細胞に対する自己複製能の維持・増幅への貢献は認められなかった。しかしながら、他のリンパ器官を解析したところ、胸腺において Nanog 過剰発現細胞が認められ、胸腺 T 細胞の 90%以上が $\gamma\delta$ TCR を発現する Nanog 過剰発現細胞 (以下、NanogT 細胞) によって占められていた。胸腺は通常の 10 分の 1 ぐらいまで萎縮し、全胸腺細胞数も激減していた。また、ホストの正常胸腺 T 細胞の分化阻害、並びに胸腺皮質細胞の減少が認められた。一方、骨髓、脾臓、末梢血やリンパ節などには顕著な変化は見られなかった。また、萎縮した胸腺より回収した NanogT 細胞を正常マウスに尾静脈より移植すると、選択的に胸腺にホーミングし再び胸腺萎縮・ホストの正常胸腺 T 細胞の分化阻害・胸腺皮質細胞の減少を引き起こした。このことから、NanogT 細胞の胸腺皮質の占有・破壊により正常胸腺 T 細胞の分化が阻害され、結果として胸腺萎縮に至ったものと考えられる。さらに、すべての移植マウスにおいて NanogT 細胞は胸腺萎縮を引き起こした後、最終的に約 1 年でリンパ球増殖性の悪性腫瘍を引き起こすに至った。悪性化した NanogT 細胞は脾臓、リンパ節や骨髓に浸潤し、各リンパ組織において増殖し、最終的にマウスを死に至らしめた。このことから、Nanog は $\gamma\delta$ T 細胞悪性腫瘍の癌遺伝子の 1 つである可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Nanog は ES 細胞の分化多能性維持に必須の遺伝子である。Nanog の分化多能性維持という機能を考えると、組織幹細胞レベルでも何らかの機能を担っている可能性が示唆される。そこで、造血系における Nanog の役割を検討した。造血幹細胞を含む KSL (cKit+, Sca-1+, Lineage-) 細胞分画に Nanog をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入し、Nanog を

過剰発現させることにより、造血幹細胞の分化多能性維持、分化に対する影響を骨髓再構築アッセイにより評価した。移植後 2 ヶ月で解析したところ、骨髓において **Nanog** の KSL 細胞に対する自己複製能の維持・増幅への貢献は認められなかったが、他のリンパ器官を解析したところ、胸腺にのみ **Nanog** 過剰発現細胞が認められ、胸腺 T 細胞の 90%以上が **Nanog** 過剰発現細胞（以下、**NanogT** 細胞）によって占められていた。胸腺は通常の 10 分の 1 ぐらいまで萎縮し、全胸腺細胞数も激減していた。また、ホストの正常胸腺 T 細胞の分化阻害、並びに胸腺皮質細胞の減少が認められた。**NanogT** 細胞を正常マウスに尾静脈より移植すると、選択的に胸腺にホーミングし再び同様のフェノタイプを示した。さらに、すべての移植マウスにおいて **NanogT** 細胞は胸腺萎縮を引き起こした後、最終的に約 1 年でリンパ球増殖性の悪性腫瘍を引き起すに至った。このことから、**Nanog** は癌遺伝子の 1 つである可能性が示唆された。

以上の研究は **Nanog** が癌遺伝子として働きうることを初めて示唆したものであり、今後の **Nanog** の生理学的な役割についての理解に寄与することが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 1 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。