

京都大学	博士 (医科学)	氏名	松尾詩織
論文題目	<b>Pluripotent stem cell model of early hematopoiesis in Down syndrome reveals quantitative effects of short-form GATA1 protein on lineage specification</b> (多能性幹細胞を用いたダウン症候群の早期造血系譜における短型 GATA1 タンパクの量的効果の解析)		
(論文内容の要旨) <p><b>【背景】</b> 一過性骨髄異常増殖症 (Transient abnormal myelopoiesis: TAM) は、ダウン症候群の一部において新生児期に合併する造血異常疾患であり、末梢血中の白血球数の増加及び白血病様芽球の出現を主徴とする。TAM の臨床スペクトラムは、白血球や芽球の増加が軽度で自然寛解する軽症例から、芽球浸潤による肝障害により致死的となる症例まで多様である。また、約 20% の自然寛解例は、後に急性巨核芽球性白血病 (Down syndrome associated acute megakaryoblastic leukemia: DS-AMKL) を発症する。TAM および DS-AMKL の芽球は、造血系転写因子である <i>GATA1</i> 遺伝子に変異を持つ。このため、芽球では全長の <i>GATA1</i> タンパクが発現せず、短型の <i>GATA1</i> タンパク (<i>GATA1s</i>) のみが発現する。TAM の重症度を決定する因子には不明な点が多いが、遺伝子型から予測される <i>GATA1s</i> タンパクの発現量と TAM 期の白血球数及び芽球数には正の相関がある一方、DS-AMKL へ進行するリスクは逆に <i>GATA1s</i> 低発現予測グループで高いとされている (Kanazaki et al. Blood, 2010)。しかし、実際に <i>GATA1s</i> の発現量を変化させ、造血異常との関連を詳細に調べた報告はない。</p> <p><b>【目的】</b> 本研究では、多能性幹細胞モデルを用い、<i>GATA1s</i> の発現量の違いが造血前駆細胞の分化指向性に与える影響を明らかにすることを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b> 21 番染色体のトリソミーと <i>GATA1</i> 変異をもつヒト多能性幹細胞に Doxycycline 存在下に <i>GATA1s</i> を発現させるカセットを導入し、<i>In vitro</i> 血球分化の各段階で <i>GATA1s</i> を発現させた。TAM の芽球が骨髄球系細胞に由来すること、DS-AMKL が巨核芽球性白血病であることに着目し、骨髄球系および巨核球系への分化に対して <i>GATA1s</i> の量的増加が及ぼす影響を評価した。</p> <p><b>【結果】</b> 血球分化の早期、後期いずれにおいても <i>GATA1s</i> の高発現は骨髄球系前駆細胞の有意な増加をもたらした。<i>GATA1s</i> 強制発現による骨髄球系への効果は、野生型 <i>GATA1</i> を持つ多能性幹細胞においても同様に認められた。巨核球系細胞への影響について見ると、早期の <i>GATA1s</i> 高発現は巨核球系前駆細胞数を有意に減少させた。一方、血球分化後期に <i>GATA1s</i> を高発現させると、幼若な巨核球系細胞の維持を増強させることがわかった。骨髄球系とは異なり、巨核球系分化後期でのこの <i>GATA1s</i> の量的効果は、野生型 <i>GATA1</i> を持つ細胞では観察されなかった。</p> <p><b>【考察】</b> これらの結果は、<i>GATA1s</i> の発現量増加が TAM の重症化の主徴である骨髄球系芽球への分化とその生存に対して正に作用するが、DS-AMKL リスクとなり得る巨核球系への早期運命決定に対しては負に作用するという、逆の効果を持つことを明らかにした。これらの結果は、<i>GATA1</i> 変異が TAM と DS-AMKL の決定的な病因であるにもかかわらず、両者の重症化及び発症リスクに対して <i>GATA1s</i> 発現量が逆の相関を示すという仮説を支持し得るものである。一方、巨核球系分化後期における結果は、全長の <i>GATA1</i> が欠損している状況では骨髄球系と同様に巨核球系でも <i>GATA1s</i> が未熟細胞段階での維持に関与していることを示唆している。今後、血球分化早期および後期における <i>GATA1s</i> の機能を詳らかにすることで、TAM における骨髄球の異常増殖と DS-AMKL への進行に関わる分子生物学的機構が解明されることが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨) <p>一過性骨髄異常増殖症 (Transient abnormal myelopoiesis: TAM) は、ダウン症候群の一部において新生児期に合併する末梢血中の白血球の増加及び芽球の出現を主徴とする造血異常疾患である。一部は後に急性巨核芽球性白血病 (DS-AMKL) を発症する。TAM の芽球では造血系転写因子 <i>GATA1</i> 遺伝子の変異により短型の <i>GATA1</i> タンパク (<i>GATA1s</i>) のみが発現する。TAM の臨床スペクトラムは多様であり、遺伝子型から予測される <i>GATA1s</i> の発現量と TAM 期の白血球数及び芽球数には正の相関がある一方、DS-AMKL へ進行するリスクは <i>GATA1s</i> 低発現予測グループで高いとされている。しかし、実際に <i>GATA1s</i> の発現量を変化させ、造血異常との関連を詳細に調べた報告はない。</p> <p>21 番染色体のトリソミーと <i>GATA1</i> 変異をもつヒト多能性幹細胞を用いて <i>In vitro</i> 血球分化の各段階で Doxycycline 誘導性に <i>GATA1s</i> を発現させ、骨髄球系および巨核球系への分化に対して <i>GATA1s</i> の量的増加が及ぼす影響を評価した。その結果、<i>GATA1s</i> の高発現は骨髄球系前駆細胞の残存に有意な増加をもたらした。巨核球系細胞への影響について見ると、早期の <i>GATA1s</i> 高発現は巨核球系前駆細胞数を有意に減少させた。一方、血球分化後期に <i>GATA1s</i> を高発現させると、幼若な巨核球系細胞の維持を増強させることがわかった。</p> <p>以上の研究は TAM における <i>GATA1s</i> の発現レベルによる分化への影響および TAM でみられる多様な臨床スペクトラムと <i>GATA1s</i> の発現レベルとの関連の解明に貢献し、TAM における骨髄球の異常増殖と DS-AMKL への進行に対する分子生物学的機構の解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 ( 医科学 ) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 7 月 8 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。</p>
--