

京都大学	博士（医学）	氏名	大嶋 慎一郎
論文題目	Nardilysin determines hematopoietic stem cell fitness by regulating protein synthesis (ナルディライジンはタンパク質合成を制御することにより造血幹細胞の機能維持に関与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>Nardilysin (NRDC) は、ヘパリン結合性上皮成長因子様成長因子に対する受容体としての役割、細胞外シェディングを増強する機能、核内転写制御機能などを有する多機能タンパク質であり、様々な細胞や組織における生体恒常性維持に重要な役割を担っている。しかし、現時点で造血系における NRDC の役割は殆ど知られていない。</p> <p>造血幹細胞は、自己複製能と多分化能を有する細胞として定義される。生涯において健全な血球を供給するため、複数の自己防御機構を備えているが、特にタンパク質合成を低レベルに保つことは、造血幹細胞の機能維持に重要であることが知られている。しかし、造血幹細胞がどのようにタンパク恒常性を保持しているかは明らかでない。</p> <p>本研究では、NRDC の造血幹細胞における機能を評価する為、Vav1-Cre;NRDC<sup>fl/fl</sup> (NRDC-cKO; 造血細胞特異的NRDC コンディショナルノックアウト) マウスと NRDC<sup>fl/fl</sup> (NRDC-CTL; NRDC 非欠損コントロール) マウスを作製し比較解析を行うことで、NRDC の造血幹細胞における役割を明らかにした。</p> <p>まず、定常状態の造血においては、NRDC-cKO と NRDC-CTL で骨髄中の細胞数および造血幹・前駆細胞の頻度、末梢血血算において差を認めなかった。しかし、NRDC-cKO 造血幹細胞は <i>in vitro</i> 培養で優位に造血幹細胞増殖能が低く、骨髄球系への分化傾向を示した。また、競合的骨髄再構築移植アッセイでも、NRDC-cKO 造血幹細胞は移植後の骨髄再構築能が明らかに低下しており、<i>in vitro</i> 培養結果同様、骨髄球系への分化傾向を認めた。以上より、NRDC 欠損造血幹細胞は、増殖ストレス下で自己複製能を維持できずに骨髄球系へ分化することが示唆された。</p> <p>次に、分子メカニズムを解明する為、NRDC-cKO と NRDC-CTL それぞれの造血幹細胞集団をシングルセル RNA-sequence で解析した結果、NRDC-cKO 造血幹細胞では NRDC-CTL と比べて、Hspa8, Hsp90ab1, Hsf1 など熱ショック応答に関連する遺伝子を中心とした、タンパク質の安定性に関連する遺伝子セットが優位に増加していることが明らかとなった。実際に、培養下の NRDC-cKO 造血幹細胞ではタンパク質合成が優位に上昇しており、プロテアソーム活性は低い傾向にあることが実験によって示された。以上より、NRDC 欠損によってタンパク質レベルの制御ができなくなり、造血幹細胞の自己複製能低下が生じる可能性が示唆された。</p> <p>本研究により、NRDC が造血幹細胞におけるタンパク質合成を制御し、特にストレス状況下での機能維持に重要な役割を果たしていることが示された。本研究結果は、造血幹細胞における NRDC を介したタンパク質制御メカニズムとして重要な新規知見であり、今後のヒトの造血幹細胞移植医療における応用も十分に期待できる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ナルディライジン(NRDC)は、生体恒常性の維持に重要な役割を果たす多機能タンパク質であることが知られているが、造血システムにおけるその役割は知られていない。一方で、造血幹細胞の自己防御機構の一つとして、タンパク質合成を低レベルに制御することが重要であるが、詳細なメカニズムは明らかでない。本研究では、Vav1-Cre;NRDC<sup>fl/fl</sup> マウスと NRDC<sup>fl/fl</sup> マウスを使用し、NRDC の造血幹細胞における機能を評価した。結果として、NRDC 欠損造血幹細胞は *in vitro* での増殖能が低く、骨髄球系への分化傾向が見られた。骨髄再構築アッセイでも、NRDC 欠損造血幹細胞は移植後の骨髄再構築能が低下していた。従って、NRDC が増殖ストレス下で造血幹細胞機能維持に関与していることが示された。シングルセル RNA-seq 解析により、NRDC 欠損造血幹細胞では熱ショック応答に関連する遺伝子を中心としたタンパク質安定性に関連する遺伝子セットが優位に発現上昇していることが明らかとなり、実際に培養下の NRDC 欠損造血幹細胞ではタンパク質合成が上昇していることが示された。以上より、NRDC の造血幹細胞における新規メカニズムとして、ストレス状況下におけるタンパク質レベルの制御により造血幹細胞の自己複製能維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上の研究は、NRDC 分子機能の解明およびストレス状況下における造血幹細胞機能維持のメカニズム解明に貢献し、今後の造血幹細胞研究及び移植医療の発展に寄与する可能性がある。

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、令和 6 年 2 月 26 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降