

氏 名	大 村 浩 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2171 号
学位授与の日付	平成 12 年 1 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 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Emergence of T, B, and Myeloid Lineage-Committed as well as Multipotent Hemopoietic Progenitors in the Aorta-Gonad-Mesonephros Region of Day 10 Fetuses of the Mouse (マウス 10 日目胎仔の Aorta-Gonad-Mesonephros 領域における多能前駆細胞 および T, B, ミエロイド系列決定済み前駆細胞の出現)

論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博	教 授 西 川 伸 一	教 授 中 尾 一 和
--------	--------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

近年, マウス胎仔期において血液幹細胞は大動脈周囲の中胚葉組織である aorta-gonad-mesonephros (AGM) 領域で発生することが明らかにされた。本研究では AGM 領域に出現する前駆細胞の分化能を明らかにする目的で実験を行った。

予備実験において, T, B リンパ球をつくりうる前駆細胞は胎生 9.5 日 (9.5 dpc) から 10.0 dpc の間に AGM 領域において最初に出現することを明らかにした。次いで 10.0 dpc AGM 領域中の前駆細胞をより詳細に調べるために, 我々が新しく開発した multilineage progenitor (MLP) assay によって個々の前駆細胞の分化能を解析した。MLP assay とは個々の前駆細胞のミエロイド, T および B 細胞系列への分化能を解析できる方法で, 具体的には胎仔胸腺培養にミエロイド細胞と B 細胞の分化・増殖に必要なサイトカインを加えて培養する方法である。増殖した細胞はいろいろの抗体で染色して FACS で解析する。

胎仔 1 匹分に相当する数 (586 個) の 10.0 dpc 胎仔の AGM 前駆細胞 (TER 119⁻ c-kit⁺ CD 45⁺ 細胞) を MLP assay を用いて解析した。その結果, AGM 領域には多能前駆細胞 (p-Multi) だけでなく, ミエロイド, T, B 細胞系列に commit している細胞 (それぞれ p-M, p-T, p-B) や, commitment の途中段階にある bipotent 前駆細胞が見つかった。bipotent 前駆細胞にはミエロイドと T 細胞のみ, もしくはミエロイドと B 細胞のみを産生する前駆細胞が検出されたものの, T 細胞と B 細胞のみを産生する前駆細胞すなわち common lymphoid progenitor は検出されなかった。各系列に commit した前駆細胞の存在は, 前駆細胞の RT-PCR により GATA-3, mb-1, c-fms というそれぞれ T, B, ミエロイド細胞に特異的とされる遺伝子の発現からも支持する結果が得られた。しかしながら 10.0 dpc AGM 領域では前駆細胞の数は非常に少なく, p-Multi は 1 胎仔中に 8 個しか検出されなかった。すなわち造血が始まって間もない時期であることを示している。

一方, p-T にはよく増殖し成熟 T 細胞を産生するタイプ (p-T₂) とあまり増殖せず未熟な段階にとどまるタイプ (p-T₁) が検出された。また p-Multi にも T 細胞を速く作るタイプ (p-Multi₁) と遅く作るタイプ (p-Multi₂) の 2 種類が見つかった。p-Multi₂ は FL や骨髄に存在する幹細胞に相当すると考えられ, p-Multi₁ は様々な系列にすみやかに commit し, 早く成熟血球をつくる AGM 領域特有の p-Multi と考えられた。このような p-Multi₂ の存在は, 18 dpc には胸腺中に成熟 T 細胞が出現するという事実を説明するものである。

本研究によって, 従来は血液幹細胞の発生の場として注目されてきた AGM 領域が幹細胞の発生だけでなく, 各系列への commitment を伴う造血の場であることが明らかとなった。とくに T 細胞系列に決定した前駆細胞がつくり始められていることは, 一日後すなわち 11 dpc に発生してくる胸腺に対して最初に p-T を送り込むために不可欠なものであることが

示唆された。

論文審査の結果の要旨

マウス胎仔期において血液幹細胞が最初に出現するとされる aorta-gonad-mesonephros (AGM) 領域における、前駆細胞の分化能を明らかにする目的で実験を行った。

申請者らが新しく開発したミエロイド、T および B 細胞系列への分化能を同時に解析できる multilineage progenitor (MLP) assay によって個々の AGM 前駆細胞の分化能を解析した。その結果、AGM 領域には多能前駆細胞 (p-Multi) だけでなく、ミエロイド、T、B 細胞系列に commit している細胞（それぞれ p-M, p-T, p-B）や、commitment の途中段階にあると思われる bipotent 前駆細胞が見つかった。各系列に commit した前駆細胞の存在は、前駆細胞の RT-PCR により GATA-3, mb-1, c-fms というそれぞれ T, B, ミエロイド細胞に特異的とされる遺伝子の発現からも支持する結果が得られた。また p-T, p-Multi に AGM 領域に特有のタイプが見つかった。

本研究によって、従来は血液幹細胞の発生場として注目されてきた AGM 領域が幹細胞の発生だけでなく、各系列への commitment を伴う造血の場であることが明らかとなった。特に 10 dpc で p-T がつくり始められていることは、一日後すなわち 11 dcp に発生してくる胸腺に、最初に移住する T 前駆細胞が AGM 領域でつくられることを示唆する。

以上の研究は胎仔期造血および胸腺の発生過程の解明に貢献し、免疫担当細胞の発生・分化の研究に寄与するところが多い。

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 11 年 12 月 6 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。