

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                  |     |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 博士（医 学）                                                                                                                          | 氏 名 | 久 保 田 寧 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Necdin restricts proliferation of hematopoietic stem cells during hematopoietic regeneration<br>(Necdin は造血再生時における造血幹細胞の増殖を制限する) |     |         |
| (論文内容の要旨)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                  |     |         |
| <p>造血幹細胞は、種々の血液細胞に分化する能力（多分化能）とともに、自分自身を複製できる能力（自己複製能）を兼ね備えている細胞と定義される。造血幹細胞が造血系の恒常性を一生涯にわたるよう長期に維持するには、自己複製と細胞周期の静止状態（quiescence）が厳密に制御されることが重要である。そのためには、幹細胞周囲の特殊な微小環境（niche）との相互作用や幹細胞自身の内在性の遺伝子プログラムが重要な役割を果たすと考えられている。また、造血幹細胞の増殖は正または負の細胞周期制御により厳密にコントロールされているが、その正確な機構はいまだ充分には解明されていない。</p> <p>本研究は上述した造血幹細胞の制御を規定している新規分子を見出すことを目的として行った。まず、造血幹細胞の自己複製能や静止状態を司る遺伝子は骨髓細胞の中でも幹細胞に特異的に高発現している、との仮説を立て、DNA アレイと定量的 PCR を組み合わせた遺伝子発現プロファイリングを行った。その結果、分化した血液細胞と比較して造血幹細胞に特異的に高発現している 32 個の遺伝子群を同定した。これらのうち、細胞周期進行の抑制への関与が報告されている 3 つの核内因子（Klf9, <i>necdin</i>, Nupr1）に着目し、それぞれの遺伝子欠損マウスを用いて造血幹細胞における機能的役割の解析を行った。</p> <p>Klf9 および Nupr1 欠損マウスでは in vitro, in vivo でのアッセイで特に造血系の異常は認めなかった。<i>Necdin</i> 欠損マウスも定常状態における造血幹細胞の数、細胞周期、アポトーシスには異常は認めなかった。しかし、致死量の放射線照射（9.5Gy）をしたマウスに対して骨髓再構築アッセイを行ったところ、レシピエントの末梢血キメリズム解析において移植後早期の短期間のみで、野生型細胞移植群と比較し <i>necdin</i> 欠失細胞移植群の方が有意に高い競合率を示した。抗がん剤 5-FU を用いて骨髓抑制状態を誘導した際にも、<i>necdin</i> 欠損マウス内の造血系の回復が野生型と比較して促進されることがわかった。5-FU 投与後の <i>necdin</i> 欠損造血幹細胞の動態について幹細胞数と BrdU 取り込みを詳しく解析したところ、骨髓造血回復期の幹細胞は絶対数・増殖割合ともに増加していることが判明した。すなわち、<i>necdin</i> を欠失した場合、定常時の造血幹細胞の機能に影響はないが、骨髓抑制時においては造血幹細胞の増殖促進に起因する造血回復の増強が得られることが明らかとなった。</p> <p>造血幹細胞移植は既に白血病を始めとする造血系腫瘍ならびに自己免疫疾患等に広く臨床応用されている代表的な再生医療であるが、移植後早期の造血回復の遅延による感染症等の合併症はいまだに移植療法の予後を左右する因子のひとつである。したがって、移植に用いる造血幹細胞での <i>necdin</i> の発現抑制を通して移植後の造血回復を促進させることは、移植をより確実・安全に成功させる戦略の一つとなりうることを示された。</p> |                                                                                                                                  |     |         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>造血幹細胞の体外増幅は未だ困難であるが、その一因には、造血幹細胞の維持・自己複製の機構を十分に理解できていないことが挙げられる。</p> <p>本学位授与申請者は、DNA アレイと定量的 PCR を組み合わせて抽出された造血幹細胞に特異的な遺伝子プロファイルを元に、造血幹細胞の維持・増殖に関わる分子の同定を行った。それらの候補のうち、細胞周期進行の抑制に関わるとされる 3 つの遺伝子について、それぞれの遺伝子欠損マウスを用いて造血幹細胞における機能解析を行った。その結果、ニューロンで細胞周期制御と生存に関わることが知られている <i>necdin</i> が、致死量放射線照射や抗がん剤投与に伴って起こる骨髓抑制から造血能が回復する過程において、造血幹細胞の増殖を制限する働きを担っていることを明らかにした。一方、定常状態においては、<i>necdin</i> の欠損は、造血幹細胞に対し量的にも質的にも影響を与えなかった。</p> <p>この <i>necdin</i> 欠損マウスの解析結果から、造血幹細胞移植を行う際、ドナー幹細胞の <i>necdin</i> の発現を抑制することで移植後の造血回復を促進できる可能性が示唆された。造血幹細胞移植後の造血回復の遅延は、感染症等のリスクを高め、予後を左右する因子の一つである。したがって、<i>necdin</i> の機能抑制は移植をより安全・確実に成功させるための新たな手段となりうる。</p> <p>以上の結果は、造血幹細胞の維持・増殖機構の解明に貢献し、骨髓移植の安全性向上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。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 2 月 1 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> |  |  |  |
| 要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |  |  |