

クロマチン制御分子 SATB1 による造血幹細胞の分化調節機構の解明

横田貴史

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

【研究の背景】

Special AT-rich sequence binding protein 1(SATB1)は、ゲノム全体の構造を調節するエピジェネティックな機構を介して、多くの遺伝子の発現を調節する機能を持つ蛋白である。当初この蛋白は、免疫グロブリン重鎖遺伝子のエンハンサー近傍に存在する AT-rich 配列に結合する蛋白として同定された(Dickinson et al. Cell. 1992)。組織では胸腺において高発現しており、T リンパ球の分化に必須であることが明らかにされている(Alvarez et al. Genes Dev. 2000)。

申請者らは、独自に開発した細胞分離方法(Yokota et al. Immunity. 2003)を用いて解析を行い、骨髓中の造血幹細胞や未分化リンパ球前駆細胞においても SATB1 が発現していることを見出した。SATB1 の発現量はリンパ球系への初期分化に伴って増加し、機能的にもリンパ球系への運命決定に強く関与していた。さらに老化による造血幹細胞の機能低下に SATB1 の発現量の低下が関与しており、外来的な SATB1 の発現誘導によって造血幹細胞のリンパ球産生能力を增幅できることを見出した(Satoh & Yokota et al. Immunity. 2013)。しかしながら、造血幹細胞・早期リンパ球前駆細胞において、SATB1 がどのようにしてその機能を発揮しているのか、詳細な分子メカニズムは不明である。

【目的】

造血幹細胞の自己複製能力・分化能力の維持において、クロマチン構造の調節を介して遺伝子発現を包括的に制御する蛋白 SATB1 の機能と動態を解析し、その異常と造血幹細胞の機能劣化との関連を解明する。

【方 法】

(1) 条件付き SATB1 欠損マウスの作製と解析

SATB1-floxed マウスと造血幹細胞において活性化しているプロモーター下で Cre recombinase を発現するマウス(Tie2-Cre または Vav-Cre トランスジェニックマウス)を交配し、造血細胞特異的な SATB1 欠損状態を誘導して、造血・免疫機構における表現型を解析する。それらのマウス骨髓から造血幹細胞を分離し、in vitro で増殖・分化能力を解析する。

(2) SATB1 発現レベルをモニターできるレポーターマウスの作製と解析

生体において SATB1 の発現を蛍光色素 tomato でモニタリングできるマウスを作製する。造血幹細胞や未分化造血前駆細胞の集団を SATB1 の発現量で細分化し、増殖・分化能力を比較する。造血幹細胞集団が SATB1 陽性と陰性に分離できた場合、それぞれの発現遺伝子のプロファイリングを mRNA-sequence 法を用いて行う。

【結 果】

SATB1-floxed マウスと Tie2-Cre マウスを交配し、血管内皮・血球細胞に特異的な SATB1 マウスを作製して解析を行ったところ、野生型マウスと比較して成獣の骨髓中の造血幹細胞の数が減少しており、致死量の放射線を照射したマウスへの移植実験において、造血回復能力が低下していた。また、SATB1 欠損造血幹細胞は、培養系においてリンパ球への分化能力が著しく減少していた。

SATB1-tomato レポーターマウスを作製し、成獣骨髄を解析した。その結果、従来の表面マーカーを用いて分離した造血幹細胞集団を、tomato の発現強度を指標にして SATB1-tomato 陰性と陽性の 2 分画に細分化できた。それぞれの分画を高純度で分離して比較解析を行ったところ、SATB1-tomato 陽性の造血幹細胞分画は、陰性の分画と比較して機能的にリンパ球系に大きく bias していた。さらに RNA-seq にて解析を行った結果、SATB1-tomato 陽性の造血幹細胞分画は、遺伝子発現においてもリンパ球系の性質を強く有することが示された。その一方、造血再構築能力に関しては、SATB1-tomato 陽性・陰性どちらの造血幹細胞分画も、二次移植後のレシピエントの造血を同等に回復させることができた。さらに互いの分画も再構築したことから、SATB1-tomato 陽性・陰性いずれの分画も長期造血再構築能力を持つ造血幹細胞を含むことが示された。

これらの研究データーは、2016 年 12 月の米国血液学会で口演発表した(Doi Y et al. 2016)。

【考 察】

今回の研究において、私達は造血幹細胞の機能における SATB1 の重要性を明らかにした。さらに SATB1 の発現量を指標に、高度に純化された造血幹細胞分画をさらに細分化し、真性の“lymphoid-biased hematopoietic stem cells”を分離することに成功した。それらの性質を検討した結果から、高度に純化された造血幹細胞分画において、細胞内部に SATB1 の発現に基づいた機能的なゆらぎが存在し、それらが造血幹細胞集団の不均一性の基盤となるとともに、状況に応じた造血機能の柔軟性の基礎を構築していると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今回の研究成果は、獲得免疫系の中心を担うリンパ球の産生能力が高い造血幹細胞の分離方法を提示するとともに、リンパ球性悪性腫瘍の発生基盤に関して、新たな観点からの情報を提示している。さらに今後、加齢・妊娠や疾病に伴う造血幹細胞のリンパ球産生能力の低下に関して、その制御方法の開発につながる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. Dickinson LA, Joh T, Kohwi Y, Kohwi-Shigematsu T. A tissue-specific MAR/SAR DNA-binding protein with unusual binding site recognition. *Cell.* 70:631-645 (1992).
2. Alvarez JD, Yasui DH, Niida H, Joh T, Loh DY, Kohwi-Shigematsu T. The MAR-binding protein SATB1 orchestrates temporal and spatial expression of multiple genes during T-cell development. *Genes Dev.* 14:521-535 (2000).
3. Yokota T, Kouro T, Hirose J, Garrett KP, Gregory SC, Igarashi H, Sakaguchi N, Owen JT, Kincade PW. Unique properties of fetal lymphoid progenitors identified according to RAG1 gene expression. *Immunity.* 19:365-375 (2003).
4. Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. *Immunity.* 38:1105-1115 (2013).
5. Doi Y, Yokota T, Satoh Y, Ueda T, Shingai Y, Ichii M, Tanimura A, Ezoe S, Shibayama H, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. SATB1 expression helps in identification of the lymphoid-lineage-biased trajectory of functionally fluctuating hematopoietic stem cells. The 58th Annual Meeting, American Society of Hematology, abstract #424 (2016).