

## 新しい血液細胞分化モデルを決定づける新規分子の同定と急性骨髄性白血病の治療法開発

齋藤史路

金沢医科大学 医学部 免疫学講座

### 【研究の背景】

造血幹細胞は自己増殖能と多分化能を兼ね備え、全ての血液細胞を作り出し、一生に渡って造血を維持している<sup>1)</sup>。この造血幹細胞から各前駆細胞を経由して成熟細胞へと分化する過程を説明したモデルには様々なものが提案されている<sup>2)</sup>。また、血液分化過程における最初の分岐点はどこなのか、どの系列細胞がはじめに外れるのか、未だに不明で議論されている。現在広く受け入れられている血液細胞分化モデルは二分岐階層性モデルであるが<sup>3)</sup>、最近の研究結果からこのモデルが正しくない可能性が示唆され、正しいモデルを提唱する必要性が生じている。

### 【目 的】

我々はヒト単球前駆細胞を同定する過程で、血液細胞分化経路における最初の分岐点を決定する可能性がある新規分子マーカーX を同定した。この分子 X は多能性前駆細胞から発現しはじめ、同前駆細胞が陽性と陰性に分かれることを見出している。そこで本研究では X 陽性と X 陰性の多能性前駆細胞の分化能と細胞分化系譜決定転写因子の発現を検討する。さらに X の発現特性を活かした細胞運命追跡システムを樹立し、真の血液細胞分化経路の解明を目指す。

### 【方 法】

1. X 陽性あるいは X 陰性の多能性前駆細胞を純化し、*in vitro* 及び *in vivo* における各系列細胞への分化能を検討する。
2. X 陽性あるいは X 陰性の多能性前駆細胞を純化し、RNA を抽出して逆転写反応を行い、cDNA を合成後、分化系譜決定転写因子の発現を定量的 PCR 方法によって検討する。
3. 表面マーカーX の発現特性を活かして、X 遺伝子の 3' 領域に PA-cre を導入した遺伝子改変マウスを作製し、Rosa26-lsl-EYFP マウスと掛け合わせて X<sup>+</sup>多能性前駆細胞由来の細胞が EYFP 陽性となる細胞運命追跡実験システムを樹立し解析を行う。

### 【結 果】

X<sup>+</sup>多能性前駆細胞は骨髄球系細胞とリンパ球系細胞には分化したが、赤血球系細胞には全く分化しなかった。また純化した X<sup>+</sup>多能性前駆細胞をマウスに移植し、*in vivo* における各系列細胞への分化能を検討したところ、*in vitro* と同様に X<sup>+</sup>多能性前駆細胞は骨髄球系細胞とリンパ球系細胞には分化したが、赤血球系細胞にはほとんど分化しなかった。一方で、X<sup>+</sup>多能性前駆細胞は *in vitro* 及び *in vivo* において明らかな赤血球系細胞への分化能を示した。

Xcre/Rosa26-lsl-EYFP レポーターマウス由来の脾臓細胞と骨髄細胞中の EYFP 陽性率を解析したところ、単球、顆粒球、樹状細胞及び B 細胞の 97% 以上が EYFP 陽性細胞になり、NK 細胞と T 細胞の 50% 以上が EYFP 陽性となった。一方で、赤血球及び血小板は完全に EYFP 陰性であった。また、造血幹細胞は EYFP 陰性であり、多能性前駆細胞のうち、35% が EYFP 陽性であった。

## 【考 察】

本研究結果から、新たに 3 つの重要なことが明らかになった。1 つ目は定常状態では X<sup>+</sup>多能性前駆細胞が骨髄球系細胞/リンパ球系細胞の主な分化起源であること。2 つ目は X<sup>+</sup>多能性前駆細胞には赤血球系細胞分化能がほとんどないこと。3 つ目は定常状態において造血幹細胞は骨髄球系細胞/リンパ球系細胞分化にほとんど寄与しないことが明らかとなった。これらの結果から、新規細胞表面マーカー X が血液細胞経路における最初の分岐点を決定するマーカーであることが強く示唆された。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究結果によって多能性前駆細胞が定常状態の血液細胞の主な分化起源であること、さらに X 分子によって最初の分岐点が決定される正しい血液細胞分化経路が明らかになった。また X は急性骨髄性白血病がん幹細胞にも発現していることを確認している。この成果は造血幹細胞移植への応用、更に正常造血が破綻して発症する急性骨髄性白血病<sup>4)</sup>などの疾患発症機序の解明に大いに役立つことが期待される。

## 【参考・引用文献】

1. Seita, J., & Weissman I.L. Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2, 640-653 (2010).
2. Graf, T., & Enver, T. Forcing cells to change lineages. *Nature* 462, 587-594 (2009).
3. Akashi, K. Traver, D., Miyamoto, T. & Weissman, I.L. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404, 193-197 (2000).
4. Larsen, H.Ø., Roug, A.S., Just, T., Brown, G.D. & Hokland, P. Expression of the hMICL in acute myeloid leukemia—a highly reliable disease marker at diagnosis and during follow-up. *Cytometry B Clin Cytom* 82, 3-8 (2012).