

審査の結果の要旨

氏名 福島 剛

本研究は定常状態では大部分が G0 期である造血幹細胞が造血維持のため細胞周期へ進行する際の調節機序を解明するため、新規 G0 マーカーである mVenus-p27K-をノックインしたマウスを作成し、造血幹細胞の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 新規 G0 マーカーが G0 をマークしているかを評価するため、mVenus-p27K-と既存の細胞周期マーカーの比較を行った。G0 マーカー陽性細胞の大部分が Ki67-であり、mVenus-p27K-は血球系細胞においても G0 期をマークすることが確認された。また G0 マーカーは Ki67-でマークされる G0 期を G0 マーカーの蛍光強度により更に分離することが可能であることを示した。
2. 造血幹細胞の G0 マーカーの蛍光強度ごとの細胞周期の評価では、In vitro の培養では造血幹細胞の G0 マーカー陽性細胞内で G0 マーカーの蛍光強度の異なる細胞間で分裂時間に差はみられなかったが、BrdU label retaining assay では G0 マーカーの蛍光強度の高い細胞は BrdU 陽性細胞の残存が多く、in vivo では造血幹細胞分画内では G0 マーカーの蛍光強度が高い細胞は分裂頻度が低いことを示した。
3. 造血幹細胞の G0 マーカーの蛍光強度ごとの骨髄再構築能の評価では、G0 マーカーの発現の高い細胞で骨髄再構築能が高く、G0 マーカーの発現の低い細胞、陰性の細胞では骨髄再構築能が低かった。G0 期の造血幹細胞の中でも既に、G0 マーカーの蛍光強度の低い細胞では骨髄再構築能が低下するというを示した。
4. G0 マーカーの調節機構の解析では、CDK4/6 inhibitor は培養による G0 マーカー発現減少を完全に抑制した。また G0 マーカーの発現が低い造血幹細胞への CDK4/6 inhibitor treat は G0 マーカーの発現を増加させた。造血幹細胞では G0 マーカー-High から G0 マーカー-Low/Negative への移行には CDK4/6 活性が必須であり、G0 マーカー-Low では低い G0 マーカーの蛍光強度の維持には CDK4/6 の活性が必須であることが示された。
5. 造血幹細胞は細胞質内カルシウム濃度が高く、造血幹細胞分画内では G0 マーカーの蛍光強度が高い細胞で細胞質内カルシウム濃度が高いことが示された。また G0 マーカーの蛍光強度が高い造血幹細胞を細胞質内カルシウム濃度で分離すると、細胞質内カルシウムの高い分画では in vitro での分裂までの時間が長く、移植では骨髄再構築能が高い傾向があり、造血幹細胞では細胞質内カルシウム濃度が休止期の制御、幹細胞機能に関与する可能性が示唆された。

以上、本論文は新規 G0 マーカーである mVenus-p27K-をノックインしたマウスを用いた造血幹細胞解析から、造血幹細胞では細胞質内カルシウム濃度が休止期の制御、幹細胞機能に
関与する可能性を示唆した。本研究は造血幹細胞の細胞周期の制御の解明に重要な貢献
をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる