

審査の結果の要旨

氏名 越智 清純

本研究はヒト多能性幹細胞を用いた赤芽球分化モデルの構築として、ヒト多能性幹細胞由来赤芽球におけるグロビン蛋白発現機序の解析ならびにヒト多能性幹細胞におけるグロビン蛋白発現機序の解析を行い、下記の結果を得ている。

1. ヒト胚生幹細胞及びヒト人工多能性幹細胞から分化誘導された赤芽球に対し、最適化された細胞内染色法と各 β 様グロビン蛋白(ϵ -, γ -, β -グロビン)に対する多重染色を組み合わせ、フローサイトメーターで解析することで単一細胞におけるグロビン蛋白発現機序を解析できる新しい方法を開発した。
2. ヒト胚生幹細胞/人工多能性幹細胞由来赤芽球とヒト臍帯血 CD34 陽性細胞由来赤芽球のグロビン遺伝子発現及びグロビン蛋白発現を比較することで、ヒト胚生幹細胞/人工多能性幹細胞由来赤芽球における不完全なグロビンスイッチングの原因が、BCL11A 遺伝子の isoform variant である BCL11A-L (Longer form) 遺伝子の発現低下にあることを明らかにした。
3. ヒト胚生幹細胞/人工多能性幹細胞に対し、ドキシサイクリン誘導レンチウイルスベクターシステムを用いて BCL11A-L 遺伝子を赤芽球分化の初期から強制発現させることで、 γ -グロビン遺伝子ならびに蛋白発現を抑制させ、ヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞赤芽球に近いグロビン蛋白発現を持つ赤芽球の産生に成功した。
4. ヒト胚性幹細胞由来血液前駆細胞へ c-MYC 遺伝子と BCL-XL 遺伝子をドキシサイクリン誘導レンチウイルスベクターシステムを用いて導入することで、赤芽球としての表現型を維持しながら 6 ヶ月以上に渡り増殖する能力を持つ不死化赤芽球の樹立に成功した。
5. 樹立されたヒト不死化赤芽球株は、クローン毎に異なる分化段階で自己複製を示し、赤芽球分化に関与する遺伝子 (KLF1, GATA1) やヘモグロビン合成に関する

る遺伝子 (ALAS2, TFRC) はそれぞれの分化段階に応じた発現傾向を認めた。樹立に用いた c-MYC 遺伝子と BCL-XL 遺伝子の発現量がクローン毎に異なっていることから、これらの外来性遺伝子の発現量が株毎の表現型を規定してことが示唆された。

6. 不死化赤芽球株は従来の赤芽球株には認められない成人型グロビンの発現や脱核能を有していることから、赤芽球分化研究、分化・成熟に関わる遺伝子・薬剤スクリーニング等への応用の可能性を示し、新しい赤芽球分化モデルの構築を行った。

以上、本論文はヒト多能性幹細胞における不完全なグロビンスイッチングの原因が BCL11A-L 遺伝子の発現低下にあることを明らかにし、さらに強制発現によってヒト臍帯血 CD34 陽性細胞由来赤芽球に近いグロビン発現を持つ赤芽球の産生に成功した。また、c-MYC 及び BCL-XL 遺伝子をヒト胚生幹細胞由来血液前駆細胞へ導入することで不死化赤芽球を樹立し、これらの株を用いた赤芽球分化モデルの構築という新しい研究ツールの提供及び概念を提唱した。これらの成果は赤芽球分化研究ならびにこれらの細胞を用いたドナーに依存しない次世代の輸血療法の実現に向けて重要な成果となると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。