

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 小林 央

本研究は感染における造血幹・前駆細胞 (HSPC) レベルでの応答を解明するために、細菌由来分子 cyclic-di-GMP (c-di-GMP) をマウスに対して投与する系を主に用いて造血幹・前駆細胞の動態およびその維持環境である造血ニッチの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウスを用いて盲腸結紮穿孔モデルで再現した腹腔内細菌感染症において、HSPC は全身感染症に対して応答し、細胞増殖を誘導して骨髄の $CD150^+ CD41/CD48^+ \text{Lineage}^- \text{Lin}^- \text{Sca-1}^+ \text{c-Kit}^+$ (LSK)の表面抗原パターンを有する多能性幹細胞 (MPP) 分画を増加させる一方、代償的に $CD150^+ CD41^- CD48^- \text{LSK}^-$ 細胞 (造血幹細胞、HSC) は減少させた。感染における HSC の数的な減少の報告はこれまで存在しない。
2. 細菌の構成要素の1つである c-di-GMP をマウスに直接投与し解析を行い、c-di-GMP は分化した血球細胞を減少させ、MPP 分画の代償的な増加を促す一方で HSC 分画については減少させることを示した。
3. c-di-GMP が HSC の機能に与える影響について競合的骨髄再構築能を用いて解析して c-di-GMP によって HSC の骨髄再構築能が低下していることを示した。それは HSC の細胞周期の亢進を伴っており、それにより HSPC 全体の細胞数の増加に寄与していることを明らかにした。
4. c-di-GMP 投与後の HSPC の遊走能の評価を行い、脾臓および末梢血において機能的な MPP 分画

の増加が FACS 解析、脾細胞の移植実験より確認した。

5. STING 欠損マウス、Irf3 欠損マウス、Irf3/Irf7 欠損マウスを用いて上記の実験を繰り返し、c-di-GMP の HSPC への効果は STING に依存的ではあるが、Irf3 欠損マウスおよび Irf3/Irf7 欠損マウスを用いた実験から、STING の下流は部分的に Irf3/Irf7 に依存しているものの、HSC の減少および脾臓への遊走について特にこれらの分子が無関係であることを示し、これまで知られていた経路以外の活性化が c-di-GMP の HSPC への効果につながっていることを示唆した。
6. c-di-GMP/STING シグナリングが造血幹細胞に細胞自律的に影響するのか非細胞自律的に影響するのか STING 欠損マウス由来骨髓細胞で骨髓細胞を置き換えたマウス (STING KO キメラマウス) を用いて解析し、骨髓の MPP 分画の増加について非造血細胞自律的な STING シグナルが必要な一方、HSC の減少と HSPC の脾臓への遊走には造血細胞自律的な STING が必要であることを示した。
7. 造血細胞非自律的な HSPC の活性化経路を調べる目的で骨髓微小環境の解析を行い、c-di-GMP により骨髓中の PDGFR α ⁺ CD51⁺ 間葉系幹細胞 (MSC)、血管内皮細胞を始めとする各種ニッチ細胞が著減すること、さらに、KitL, CXCL12, アンジオポエチン 1 (Angpt1) および VCAM-1 といった各種 HSC 支持因子の発現が、MSC および血管内皮細胞において減少することを明らかにし、機能的にも骨髓ニッチは HSC 非支持的になり HSPC の遊走および HSC の分化を促していることを示した。
8. c-di-GMP 投与後全身性に G-CSF の血清濃度が上昇しており、全身性のサイトカインも c-di-GMP の HSPC への効果に影響を与えていることを示唆した。

以上、本論文はマウス造血幹・前駆細胞において、細菌由来分子である cyclic-di-GMP の作用を詳細に検討した研究である。これまで未知に等しかった、造血幹・前駆細胞に対する cyclic-di-GMP の影響を造血細胞自身およびその微小環境における影響も含めて包括的に調べることで cyclic-di-GMP の効果のみならず感染応答全般に対する造血幹・前駆細胞の応答にも示唆を与える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。