

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 岡村 敏志

本研究は造血幹細胞の制御因子の一つとして Wnt5a がどのような役割を担っているかを明らかにするため、マウス造血幹細胞および遺伝子改変マウス由来の骨髄細胞を用いた競合的骨髄再構築アッセイにて、Wnt5a による造血幹細胞の制御機構の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス造血幹細胞を高度に含む分画である、CD150 陽性、CD34 陰性、c-Kit 陽性、Sca-1 陽性分化マーカー陰性 (CD150⁺CD34⁻KSL) 細胞を Wnt5a 存在下で培養した後、フローサイトメーターによる解析を行った結果、Wnt5a は造血幹細胞の細胞分裂を抑制することが示された。そして Wnt5a 存在下、非存在下で培養した細胞に対する競合的骨髄再構築アッセイの結果、Wnt5a の添加により CD150⁺CD34⁻KSL 細胞の長期骨髄再構築能を亢進することが示された。
2. マウス成体骨髄細胞を CD45 および TER119 を用いて CD45 and/or TER119 陽性細胞と CD45、TER119 両陰性細胞に分け、Wnt5a の発現を RT-PCR によって解析した結果、CD45、TER119 量陰性の非血球系細胞で強く Wnt5a の発現が確認された。そして、成体骨髄切片の免疫染色による解析の結果、Sca-1 陽性の血管内皮細胞と Leptin 受容体陽性の血管周辺のスโตรーマ細胞で Wnt5a の発現が確認された。これらの結果から、Wnt5a は過去に報告のあった骨芽細胞だけでなく、血管内皮細胞と血管周辺のスโตรーマ細胞でも発現することが示された。
3. Wnt5a 欠損マウス胎仔肝臓中の造血幹細胞を用いた競合的骨髄再構築アッセイの結果から、Wnt5a の欠損は造血幹細胞の発生に必須でないことが示された。また、Wnt5a 欠損造血幹細胞および Wnt5a コンディショナル欠損造血幹細胞が野生型レシピエント中で対照群と比較して同等の造血を示したことから、血球細胞における Wnt5a の欠損は骨髄中の造血幹細胞の維持に必須でないことも示された。
4. 骨芽細胞系譜で特異的に loxP-flanked gene を欠損させる Osterix-Cre マウス、血管周辺のスโตรーマ細胞特異的に loxP-flanked gene を欠損させる Leptin-receptor-Cre マウスそれぞれを Wnt5a^{fllox/fllox} マウスとかけ合わせ、解析した結果、骨芽細胞系譜由来の Wnt5a と血管周辺のスโตรーマ細胞由来の Wnt5a は骨髄における造血幹細胞の維持に

必須でないことが示された。

5. 血管内皮細胞と一部の血球で特異的に loxP-flanked gene を欠損させる Tie2-Cre マウスを Wnt5a^{flx/flx} マウスとかけ合わせ、解析した結果、Tie2-Cre 陽性細胞由来の Wnt5a は骨髄における造血幹細胞の維持に重要であることが示された。Tie2-Cre 陽性細胞には血管内皮細胞と一部の血球細胞が含まれるが、Wnt5a 欠損造血幹細胞が対照群と同等の骨髄再構築能を示したことから、血球由来の Wnt5a でなく血管内皮細胞由来の Wnt5a が造血幹細胞の維持に重要であると考えられた。

以上、本論文はマウス成体骨髄において、野生型および遺伝子改変マウス造血幹細胞の解析から、Tie2-Cre 陽性細胞由来の Wnt5a が骨髄中の造血幹細胞の維持に重要であることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、骨髄における Wnt5a による造血幹細胞制御の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。