

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究(B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20790668
研究課題名(和文) 転写因子 GATA-2 による造血微小環境の維持機構
研究課題名(英文) The maintenance mechanism of hematopoietic microenvironment by transcription factor GATA-2
研究代表者
沖津 庸子 (OKITSU YOKO)
東北大学・病院・医員
研究者番号：80451558

研究成果の概要(和文)：転写因子 GATA-2 は、造血幹細胞の維持・増殖に必須の転写因子である。今回、間葉系幹細胞における GATA-2 の機能を解析した結果、GATA-2 は間葉系幹細胞において活性化しており、GATA-2 の発現が間葉系幹細胞の未分化性の維持に機能していることが明らかとなった。造血微小環境は間葉系幹細胞が分化した細胞で形成されていることから、GATA-2 は、造血幹細胞だけでなく、造血微小環境の維持においても重要な転写因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： GATA-2 is a transcription factor indispensable for hematopoiesis by regulating the proliferation and maturation of hematopoietic stem cells (HSC). We analyzed the function of GATA-2 in mesenchymal stem cells (MSC), and revealed that GATA-2 is activated in MSC and regulates the proliferation and maturation of MSC. Because hematopoietic microenvironment is formed by cells derived from MSC, it is suggested that GATA-2 is essential for not only HSC but also hematopoietic microenvironment by maintaining immaturity of MSC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：GATA-2 / 間葉系幹細胞 / 造血微小環境 / 脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

正常造血の維持には、造血細胞だけでなく、その支持細胞からなる造血微小環境が必須

である。造血微小環境は、骨芽細胞や血管内皮細胞、脂肪細胞などのストローマ細胞で構成され、接着分子や液性因子などのシグナル

を介して造血細胞の分化増殖を制御しているが、それらは共通の前駆細胞である間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSC) が分化して形成される。しかし、MSC からストローマ細胞への分化制御機構についての詳細は明らかでない。転写因子 GATA-2 は、造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells: HSC) に発現し、その維持・増殖に必須の転写因子であるが、同時に脂肪前駆細胞においても未分化性の維持に重要であることから、MSC からストローマ細胞への分化に機能している可能性がある。

2. 研究の目的

MSC から脂肪細胞、骨芽細胞を中心とした各細胞系列への分化における GATA-2 の生理的役割、免疫抑制機能への関与、および MSC における GATA-2 の転写制御機構とその標的遺伝子を同定することにより、造血微小環境の維持機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) In vitro, in vivo における GATA-2 の発現異常による MSC の形質変化の解析

GATA-2 コンディショナルノックアウトマウスから GATA-2 欠損 MSC を作成、各細胞系列へ分化誘導し、GATA-2 発現の有無による分化能の違いを比較する。マウス骨髄 HSC をこれらの細胞と共培養し、造血支持能や T 細胞に対する活性化抑制作用を検討する。再生不良性貧血モデルマウスにこれらの細胞を輸注し、その血球の回復率、個体の生存率を解析、このモデルマウスの活性化した T リンパ球を GATA-2 欠損 MSC と共培養後、免疫抑制能を評価する。

(2) In vivo における MSC 形成における GATA-2 の重要性の検討

GATA-2 GFP マウス骨髄細胞の GFP 陽性細胞を各細胞系列へ分化誘導し、GATA-2 発現細胞が MSC であることを証明する。In vivo において、GATA-2 コンディショナルノックアウトマウスの GATA-2 欠損骨髄から MSC が誘導し得るかどうか検討する。

(3) GATA-2 遺伝子の転写制御機構、および MSC における GATA-2 の標的遺伝子の同定

胎生期マウスの造血巣で GATA-2 の発現に重要な、プロモーター上流約 3kbp の領域を中心に、MSC における GATA-2 の転写調節機構を解析する。GATA-2 コンディショナルノックアウトマウスから得られた GATA-2 陰性 MSC と GATA-2 陽性 MSC の遺伝子プロファイルを DNA マイクロアレイにて比較し、発現の異なる遺伝子を抽出する。抽出した遺伝子の転写調節領域の GATA 認識配列を確認する。同定した遺伝子の GATA-2 欠損 MSC への導入が、MSC の GATA-2 欠損による形質変化を補完し得るかどうか検討する。

4. 研究成果

GATA-2 遺伝子座に GFP 遺伝子をノックインしたマウス (GATA-2-GFP マウス) の骨髄由来 MSC を作成し、この細胞が GFP を発現していることを確認した (図 1)。この所見は GATA-2 の転写が実際に MSC において活性化していることを示している。さらに GATA-2 コンディショナルノックアウトマウスから MSC を作成 (図 2) 後、GATA-2 陰性 MSC と GATA-2 陽性 MSC の分化能を比較したところ、GATA-2 陰性 MSC では、早期に脂肪滴の形成を認め、脂肪細胞への分化が促進されることが明らかとなった (図 3, 4)。これらのことから、骨髄 MSC における GATA-2 の発現低下は、MSC の未分化維持能を低下させ、脂肪細胞の分化を促進し、結果として造血支持能の障害をもたらす可能性が示唆される。現在、この得られた GATA-2 陰性 MSC を用いて、GATA-2 のターゲット遺伝子となる候補遺伝子を同定すべく準備を進めている。



図 1 GATA-2GFP MSC



図 2 GATA-2 コンディショナルノックアウト MSC

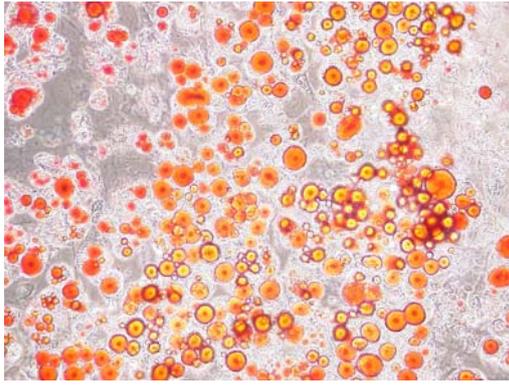


図3 GATA-2 陰性 MSC(oil red O 染色)

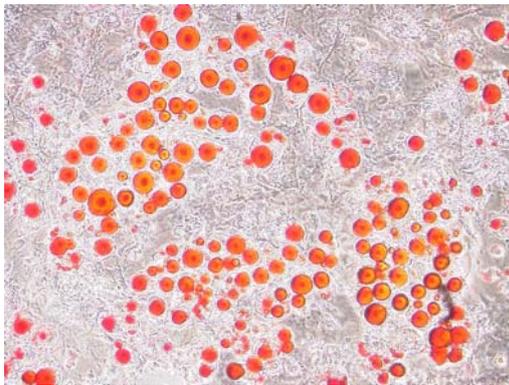


図4 GATA-2 陽性 MSC(oil red O 染色)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

1. Abe M, Yokoyama H, Tohmiya Y, Okitsu Y, Ohguchi H, Kohata K, Yamamoto J, Onishi Y, Ishizawa K, Kameoka J, Harigae H. Plasma cell leukemia maintaining complete remission by syngeneic stem cell transplantation combined with low-dose thalidomide maintenance therapy. Intern Med. 2009;48(20):1833-5. 査読有
2. Ichikawa S, Kohata K, Okitsu Y, Suzuki M, Nakajima S, Yamada MF, Onishi Y, Yamamoto J, Suzuki S, Ishizawa K, Kameoka J, Harigae H. Acquired hemophilia A with sigmoid colon cancer: successful treatment with rituximab followed by sigmoidectomy. Int J Hematol. 2009 Jul;90(1):33-6. 査読有
3. Yamada MF, Miyamura K, Fujiwara T, Kohata K, Okitsu Y, Ohguchi H, Yamamoto J, Yokoyama H, Tomiya Y, Ishizawa K, Kameoka J, Harigae H.

Myeloablative cord blood transplantation for adults with hematological malignancies using tacrolimus and short-term methotrexate for graft-versus-host disease prophylaxis: single-institution analysis.

Transplant Proc. Dec;40(10):3637-42. 2008 査読有

[学会発表] (計16件)

1. 三浦由希子、鎌田真弓、小林匡洋、中寫真治、市川聡、鈴木真紀子、井上あい、沖津庸子、大口裕人、福原規子、木幡桂、大西康、山本讓司、横山寿行、石澤賢一、亀岡淳一、一迫玲、張替秀郎

宮城県における悪性リンパ腫の臨床および病理学的特徴

第71回日本血液学会学術集会 2009/10/23 京都

2. 山本讓司、鎌田真弓、渡部龍、小林匡洋、市川聡、中寫真治、鈴木真紀子、井上あい、三浦由希子、沖津庸子、木幡桂、福原規子、大西康、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎

フルダラビン、メルファランを用いた造血器腫瘍に対する同腫造血幹細胞移植-当科における経験

第71回日本血液学会学術集会 2009/10/23 京都

3. 鎌田真弓、山本讓司、市川聡、中寫真治、鈴木真紀子、小林匡洋、沖津庸子、福原規子、木幡桂、大西康、石澤賢一、亀岡淳一、一迫玲、張替秀郎

Bortezomibが著効したIgM型多発性骨髄腫の1例

第71回日本血液学会学術集会 2009/10/23 京都

4. 木幡桂、三浦由希子、大口裕人、沖津庸子、福原規子、大西康、山本讓司、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎、横山寿行、一迫玲、安久美子、賀来満夫

FISH法によるIgH転座解析を用いた濾胞性リンパ腫骨髄浸潤の検出

第71回日本血液学会学術集会 2009/10/23 京都

5. 鈴木真紀子、市川聡、中寫真治、大口裕人、沖津庸子、木幡桂、福原規子、大西康、山本讓司、横山寿行、石澤賢一、亀岡淳一、関正則、遠宮靖雄、張替秀郎

Ph染色体異常を有するB細胞性白血病の病態解析

第71回日本血液学会学術集会 2009/10/23 京都

6. 中寫真治、市川聡、鈴木真紀子、沖津庸子、木幡桂、福原規子、大西康、山本讓司、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎、一迫玲

診断に難渋し、bortezomib が奏効した形質細胞性白血病の一例

第 107 回日本血液学会東北地方会
2009/2/22 仙台

7. 市川 聡、木幡 桂、沖津庸子、大西 康、山本讓司、山田実名美、鈴木宗三、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎

S 状結腸癌に合併した後天性血友病の 1 例

第 187 回日本内科学会東北地方会例会
2009/2/21 仙台

8. 鈴木真紀子、大西康、市川聡、中寫真治、高橋太郎、沖津庸子、木幡桂、山本讓司、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎

Reduced-intensity Conditioning を用いて拒絶方向 HLA 血清学的二座不一致ドナーから末梢血幹細胞移植を施行した骨髓異形成症候群の一例

第 31 回日本造血幹細胞移植学会総会
2009/2/5 札幌

9. 市川聡、中寫真治、鈴木真紀子、高橋太郎、井上あい、沖津庸子、木幡桂、藤原亨、福原規子、大西康、山本讓司、山田実名美、石澤賢一、佐々木治、遠宮靖雄、原崎頼子、奥田光崇、亀岡淳一、張替秀郎

東北大学グループで施行した寛解期 Philadelphia 染色体陽性急性リンパ性白血病に対する同種臍帯血移植成績—非血縁者間同種骨髓移植との比較

第 31 回日本造血幹細胞移植学会総会
2009/2/5 札幌

10. 大西康、鈴木真紀子、市川聡、中寫真治、高橋太郎、沖津庸子、木幡桂、山本讓司、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎

自家末梢血幹細胞移植後再燃ホジキンリンパ腫 に対して Reduced intensity Conditioning を用いて非血縁者間臍帯血移植を施行した一例

第 31 回日本造血幹細胞移植学会総会
2009/2/5 札幌

11. 中寫真治、市川聡、鈴木真紀子、高橋太郎、沖津庸子、大西康、山本讓司、藤原実名美、石澤賢一、高川真徳、亀岡淳一、張替秀郎

APL 治療後に発症した monosomy 7 を有する治療関連 MDS の 2 例

第 70 回日本血液学会総会 2008/10/10 京都

12. 高橋太郎、沖津庸子、大西康、鈴木真紀子、山本讓司、山田実名美、馬淵洋、松崎有未、亀岡淳一、張替秀郎

同種末梢血幹細胞移植施行 7 年後にドナー由来の再生不良性貧血を発症した 1 例

第 70 回日本血液学会総会 2008/10/10 京都

13. 市川聡、中寫真治、鈴木真紀子、高橋太郎、沖津庸子、木幡桂、大西康、山本讓司、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎、一迫玲

腎移植後に発症したリンパ増殖性疾患

(PTLD) の 3 例

第 106 回日本血液学会東北地方会
2008/9/20 秋田

14. 白井剛志、高橋令子、高澤徳彦、石井智徳、平林泰彦、中寫真治、沖津庸子、木幡 桂、張替秀郎

2 例の汎血球減少を呈したサイトメガロウイルス感染症

第 186 回日本内科学会東北地方会 2008/9/20 秋田

15. 山本讓司、市川聡、白井剛志、中寫真治、鈴木真紀子、高橋太郎、田島結実、井上あい、三浦由紀子、沖津庸子、木幡桂、藤原亨、福原規子、大西康、山田実名美、石澤賢一、亀岡淳一、張替秀郎

東北大学病院における慢性期 CML に対する imatinib の治療成績

第 15 回日本遺伝子診療学会大会
2008/8/1 仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沖津 庸子 (OKITSU YOKO)

東北大学・病院・医員

研究者番号：80451558

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：