

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：34513

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461412

研究課題名(和文)造血幹細胞の骨髄球系分化におけるSATB1-MS4A3系の役割

研究課題名(英文)The role of SATB1-MS4A3 in the differentiation of hematopoietic stem cells

研究代表者

佐藤 友亮 (SATO, YUSUKE)

神戸松蔭女子学院大学・人間科学部・准教授

研究者番号：20506307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：SATB1の造血幹細胞における機能を解析するため、SATB1コンディショナルノックアウトマウスの解析を行った。その結果、SATB1の欠失は造血幹細胞の数を減少させること、そして、SATB1の造血幹細胞における欠失は、骨髄再構築能を低下させることが分かった。また、SATB1レポーターマウスの解析によって、造血幹細胞におけるSATB1の発現がリンパ球系への初期分化に寄与していることが明らかになった。SATB1の下流分子であるMS4A3のヒト白血病細胞における発現解析を行った。急性骨髄性白血病では、MS4A3の発現が上昇している場合があり、分子標的としてMS4A3を利用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： We generated hematological-lineage restricted SATB1 conditional knock out (cKO) mice. Analyzing the adult bone marrow (BM) in these mice, we observed a significant decrease in the number of HSCs as compared to those in their wild type (WT) littermates. SATB1 cKO mice-derived HSCs showed lower BM reconstitution ability than WT HSCs. Next, we generated SATB1 reporter mice, and examined the early differentiation of HSCs. We found that the HSC fraction of adult BM consists of SATB1⁻ and SATB1⁺ cells. In transplantation experiments, the SATB1⁺ HSCs produced more lymphocytic cells and fewer myeloid cells in the recipients.

The membrane protein MS4A3 is negatively regulated by SATB1, and we found that MS4A3 expression was observed in primary acute myeloid leukemia cases. In addition, a MS4A3 antibody induced complement-dependent cell death in several human AML lines. These results suggest that MS4A3 may serve as a putative therapeutic target to treat myeloid malignancies.

研究分野：血液内科学

キーワード：造血幹細胞 SATB1 MS4A3

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、造血幹細胞(HSC)におけるエピジェネティック制御に着目し、クロマチン制御分子 SATB1 が HSC からのリンパ球初期分化に重要な役割を担っていることを明らかにした (Sato et al. *Immunity*, 2013)。本研究により、SATB1 はリンパ球系への分化に伴って発現が上昇し、骨髄球系への分化に伴って発現が低下すること。加齢マウスの HSC では SATB1 の発現が低下していること、などが分かった。これらの研究結果によって、HSC では、SATB1 の発現が低下することでリンパ球への分化の可能性が消失し、骨髄球系への分化が進行することが明らかとなった。しかし、HSC の分化過程をコントロールしている細胞内機序は未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、SATB1 とその下流分子 MS4A3 の機能に注目し、HSC の骨髄球系分化における細胞内機序を解明することを目指した。また、ヒト白血病の発症機序における MS4A3 の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

以下の点において、研究を実施した。

SATB1 コンディショナルノックアウトマウスを用いた、造血幹細胞における SATB1 の機能解析。

SATB1 レポーターマウスを用いた、造血幹細胞の分化過程の解明。

ヒト造血細胞および、白血病細胞における MS4A3 の発現解析。

接着分子 ESAM に注目した、ヒト造血幹細胞の機能解析。

4. 研究成果

造血系において、SATB1 を欠失したマウスを作成した (Tie2-Cre SATB1-flox cKO マウス)。その結果、SATB1 の欠失は造血幹

細胞の数を減少させること、そして、骨髄移植実験の結果、SATB1 の造血幹細胞における欠失は、骨髄再構築能を低下させることが分かった。

造血幹細胞における SATB1 発現の意義を解析するため、SATB1 レポーターマウスを用いた解析を行った。その結果、造血幹細胞では SATB1 を発現している分画と発現していない分画の二つがあり、両者ともに高い造血幹細胞活性を持っているものの、SATB1 陽性造血幹細胞分画で、高いリンパ球分化能があることが明らかになった。造血幹細胞における SATB1 の発現は、造血幹細胞のリンパ球系分化へのシフトを反映していると考えられる。また、SATB1 陽性および陰性造血幹細胞の移植マウスにおける挙動の解析によって、造血幹細胞における SATB1 の発現は、変動している可能性が示唆された。

SATB1 の下流分子である MS4A3 のヒト白血病細胞における発現について解析を行った。MS4A3 の発現は SATB1 に抑制的に制御されている。ヒト造血幹細胞において MS4A3 は発現していないが、骨髄球系への分化とともに MS4A3 発現が上昇する。また、巨核球-赤芽球系前駆細胞では、MS4A3 発現は上昇を認めない。ヒト造血前駆細胞の CD34⁺CD38⁺CD33⁺分画は MS4A3 陽性であり、この分画からは、赤芽球系コロニーの形成能力が著しく低下している。急性骨髄性白血病細胞では MS4A3 の発現が上昇しているが、一部の症例において、抗 MS4A3 抗体による殺細胞効果が認められた。

ESAM(endothelial cell-selective adhesion molecule)がマウス造血幹細胞の機能的マーカーとして利用できることが分かっていることから、ヒト造血幹細胞における ESAM 発現を解析した。その結果、ESAM の発現をもとに、ヒト造血幹

細胞を単離できることが分かった。ESAM 高発現造血幹細胞 (CD34⁺CD38⁻) は、多血球系統への分化能と、免疫不全マウスにおける長期骨髄再構築能を有していた。さらに、臍帯血細胞を用いた解析により、極端に ESAM 発現が高い細胞は、血管内皮系細胞であることが示唆された。

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7件)

Sudo T, Yokota T, Okuzaki D, Ueda T, Ichii M, Ishibashi T, Isono T, Habuchi Y, Oritani K, Kanakura Y. Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Expression in Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Is Essential for Erythropoiesis Recovery after Bone Marrow Injury. PLoS One. 11:e0154189, 2016. (査読あり)

Ishibashi T, Yokota T, Tanaka H, Ichii M, Sudo T, Satoh Y, Doi Y, Ueda T, Tanimura A, Hamanaka Y, Ezoe S, Shibayama H, Oritani K, Kanakura Y. ESAM is a novel human hematopoietic stem cell marker associated with a subset of human leukemias. Exp. Hematol. 44:269-281, 2016. (査読あり)

Fujita N, Ichii M, Maeda T, Saitoh N, Yokota T, Yamawaki K, Kakitani M, Tomizuka K, Oritani K, Kanakura Y. Identification of osteoblast stimulating factor 5 as a negative regulator in the B-lymphopoietic niche. Exp. Hematol. 43:963-973, 2015. (査読あり)

Yokota T, Oritani K, Sudo T, Ishibashi T, Doi Y, Habuchi Y, Ichii M, Fukushima

K, Okuzaki D, Tomizuka K, Yamawaki K, Kakitani M, Shimono A, Morii E, Kincade PW, Kanakura Y. Estrogen-inducible sFRP5 inhibits early B-lymphopoiesis in vivo, but not during pregnancy. Eur J Immunol. 45:1390-1401, 2015. (査読あり)

Fujita N, Oritani K, Ichii M, Yokota T, Saitoh N, Okuzaki D, Sekine Y, Kon S, Muromoto R, Saitoh K, Yoshimura A, Matsuda T, Kanakura Y.

Signal-transducing adaptor protein-2 regulates macrophage migration into inflammatory sites during dextran sodium sulfate induced colitis. Eur J Immunol. 44:1791-1801, 2014. (査読あり)

Rai S, Tanaka H, Suzuki M, Ogoh H, Taniguchi Y, Morita Y, Shimada T, Tanimura A, Matsui K, Yokota T, Oritani K, Tanabe K, Watanabe T, Kanakura Y, Matsumura I. Clathrin assembly protein CALM plays a critical role in KIT signaling by regulating its cellular transport from early to late endosomes in hematopoietic cells. PLoS One. 9:e109441, 2014. (査読あり)

Tanimura A, Shibayama H, Hamanaka Y, Fujita N, Ishibashi T, Sudo T, Yokota T, Ezoe S, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kanakura Y. The anti-apoptotic gene Anamorsin is essential for both autonomous and extrinsic regulation of murine fetal liver hematopoiesis. Exp Hematol. 42:410-422, 2014. (査読あり)

[学会発表](計5件)

Doi Y, Yokota T, Satoh Y, Ueda T, Shingai Y, Ichii M, Tanimura A, Ezoe S,

Shibayama H, Oritani K,
Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. SATB1
Expression Helps in Identification of
the Lymphoid-Lineage-Biased Trajectory
of Functionally Fluctuating
Hematopoietic Stem Cells. The American
Society of Hematology 58th Annual
Meeting. 2016.12.04. サンディエゴ
土居由貴子, 横田貴史, 石橋知彦, 佐藤友
亮, 一井倫子, 谷村朗, 江副幸子, 柴山浩
彦, 織谷健司, 金倉謙. SATB1 expression
marks lymphoid-lineage-biased
hematopoietic stem cells in mouse bone
marrow. 第78回日本血液学会学術集会.
2016年10月14日. 横浜
Doi Y, Yokota T, Ishibashi T, Satoh Y,
Ichii M, Tanimura A, Ezoe S, Shibayama
H, Oritani K, Kanakura Y. SATB1
Expression Marks
Lymphoid-Lineage-Based Hematopoietic
Stem Cells in Mouse Bone Marrow. The
American Society of Hematology 57th
Annual Meeting. 2015.12.06. オーラン
ド
Ishibashi T, Yokota T, Tanaka H, Ichii
M, Sudo T, Satoh Y, Doi Y, Tanimura A,
Hamanaka Y, Ezoe S, Shibayama H, Oritani
K, Kanakura Y. ESAM Is a Novel Human
Hematopoietic Stem Cell Marker
Associated with a Subset of Human
Leukemias. The American Society of
Hematology 57th Annual Meeting.
2015.12.05. オーランド
Ishibashi T, Yokota T, Satoh Y, Sudo T,
Doi Y, Fujita N, Nagate Y, Hamanaka Y,
Matsui K, Tanimura A, Ichii M, Saito N,
Ezoe S, Shibayama H, Oritani K, Kanakura
Y. MS4A3 Marks Early Myeloid
Differentiation in Human Hematopoiesis.
The American Society of Hematology

56th Annual Meeting. 2014.12.06. サン
フランシスコ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 友亮 (SATOH YUSUKE)
神戸松蔭女子学院大学・人間科学部・准教
授
研究者番号 : 20506307

(2) 研究分担者

石橋 知彦 (ISHIBASHI TOMOHIKO)
国立研究開発法人国立循環器病センタ
ー・研究所・研究員
研究者番号 : 30722285

横田 貴史 (YOKOTA TAKAFUMI)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号 : 60403200

織谷 健司 (ORITANI KENJI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号 : 70324762

(3) 連携研究者

田中 宏和 (TANAKA HIROKAZU)
近畿大学・医学部・講師
研究者番号 : 40360846