

Title	CD34 expression on long-term repopulating hematopoietic stem cells changes during developmental stages.
Sub Title	長期造血再構築能を持つ造血幹細胞におけるCD34抗原の発現の発達に伴う推移
Author	松岡, 佐保子(Matsuoka, Sahoko)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0011">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0011</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# CD34 expression on long-term repopulating hematopoietic stem cells changes during developmental stages.

(長期造血再構築能を持つ造血幹細胞におけるCD34抗原の発現の発達に伴う推移)

松 岡 佐 保 子

## 内容の要旨

CD34抗原は血液細胞、血管内皮細胞、胎生期の繊維芽細胞などに発現が認められる糖蛋白であるが、CD34抗原を発現する細胞が、*in vitro*の実験系において様々な血液細胞への分化能を持つことが認められたことから、CD34抗原は未分化な造血細胞が発現している最も重要なマーカーと考えられるようになり、実際に造血幹細胞移植や遺伝子治療などの臨床に用いられている。しかし、造血幹細胞がCD34抗原を発現しているか否かは未だ明らかになっていない。我々はマウスの造血幹細胞におけるCD34抗原発現の発達に伴う推移について、最近確立された競合的長期造血再構築能アッセイ法を用いて検討した。

新生仔期マウスの骨髓細胞の移植実験では、分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34抗原陽性細胞を移植したマウスにおいて、末梢血中に移植細胞由来の血液細胞が赤血球系、B細胞系、T細胞系全てで出現を認め、分化抗原陰性c-Kit抗原陽性分画細胞中では造血再構築能をもつ造血幹細胞はCD34抗原を発現していることが明らかとなった。肝臓および脾臓の細胞でも同様に造血幹細胞にはCD34抗原の発現が認められた。胎生期 (14, 16 and 18 dpc) のマウスの骨髓および、脾臓の細胞を用いた実験でも、分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34陽性細胞に造血再構築能が認められた。

しかしながら成獣マウスの骨髓細胞について検討したところ、1週齢のマウスでは新生仔マウス同様に造血幹細胞でCD34抗原の発現が認められたが、その発現は加齢に伴い減弱し、16週齢ではCD34抗原陰性の細胞を移植したマウスのみ造血再構築が認められた。さらに成獣マウスの分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34陰性造血幹細胞が、新生仔のCD34陽性造血幹細胞に由来しているか否かを明らかにするため、新生仔CD34骨髓造血幹細胞を移植したレシピエントマウスより移植後4週目と16週目にその骨髓細胞をソーティングしsecond transplantationを施行したところ、移植後4週目のマウスではCD34陽性細胞分画に造血幹細胞が認められていたが、移植後16週目のマウスではCD34陰性細胞分画に造血幹細胞が含まれており、新生仔マウスの分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34陽性造血幹細胞は成獣の分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34陰性造血幹細胞に由来することが明らかとなった。コロニーアッセイではマウスの週齢によらず造血前駆細胞は分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34<sup>+</sup>細胞分画に含まれていた。

以上の結果より、胎仔期および新生仔期から成獣の早期までマウスの造血幹細胞はCD34を発現しているが、以降加齢とともにその発現は次第に減弱していくことが認められた。この結果は、CD34-enriched細胞の移植や臍帯血移植など、用いられる細胞起源が多様化してきている造血幹細胞移植の臨床において、細胞起源によりその造血幹細胞の性状が異なることを示唆しており、非常に重要な意義があると考えられた。

## 論文審査の要旨

CD34抗原は未分化な造血細胞で発現している最も重要なマーカーとして、造血幹細胞移植や遺伝子治療などの臨床に用いられている。しかし、自己複製能と多分化能を有する造血幹細胞がCD34抗原を発現しているか否かは十分解明されていない。本研究ではマウス造血幹細胞におけるCD34抗原発現の発達に伴う推移を、競合的長期造血再構築能アッセイ法を用いて明らかにした。

新生仔期マウスの骨髓細胞の移植実験では、分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34抗原陽性細胞を移植したマウスにおいて、移植後3ヶ月目の末梢血中に移植した細胞由来の顆粒球系、B細胞系、T細胞系の細胞の出現を認め、造血再構築能をもつ造血幹細胞はCD34抗原を発現していることが明らかとなった。肝臓および脾臓の造血幹細胞でも同様にCD34抗原の発現が認められた。胎生期の肝臓でも、分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34抗原陽性細胞に造血再構築能が認められた。

しかしながら成獣マウスの骨髓細胞では、1-4週齢のマウスでは造血幹細胞でCD34抗原の発現が認められたが、その発現は加齢に伴い減弱し、10週齢以降ではCD34抗原陰性の細胞を移植したマウスのみ造血再構築が認められた。さらに新生仔期の骨髓CD34抗原陽性造血幹細胞を移植したレシピエントマウスより移植後4週目と16週目にそのドナー由来の骨髓細胞をソーティングして再移植した結果、移植後4週目のマウスではCD34抗原陽性細胞分画に造血幹細胞が認められていたが、移植後16週目のマウスではCD34抗原陰性細胞分画に造血幹細胞が含まれており、成獣マウスの分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34抗原陰性造血幹細胞は新生仔マウスのCD34抗原陽性造血幹細胞に由来することが明らかとなった。コロニーアッセイではマウスの週齢によらず造血前駆細胞は分化抗原陰性c-Kit抗原陽性CD34抗原陽性細胞分画に含まれていた。

以上の結果より、マウスの造血幹細胞は胎仔期から成獣の早期までCD34抗原を発現しているが、以降加齢とともにその発現は減弱していくことが認められた。

審査では造血再構築能の評価として赤血球系や血小板巨核球系の細胞を検討していない点や、移植する細胞をsingle cellにまで純化してより詳細に性状解析をすることが望ましいという指摘がなされた。また、本研究はマウスでの検討であるがヒトの造血幹細胞ではどうかという質問があり、これに対してヒトの造血細胞を免疫不全マウスなどに移植する研究で、やはりCD34抗原陰性の造血幹細胞を認めている報告があるが、その性状解析については未だ解明されていない点が多く引き続き研究していくことが重要であると解答した。本研究は造血幹細胞を経時的に詳細に解析することでその性状が変化することを極めて明確に示しており、造血幹細胞移植における幹細胞のソースが多様化している現状を考えると非常に重要な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫

発生・分化生物学 須田 年生・生理学 岡野 栄之

先端医科学 河上 裕 病理学 岡田 保典

学力確認担当者:

審査委員長: 須田 年生

試問日: 平成15年2月19日