

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	櫻 井 政 寿
主 論 文 題 名				
Impaired hematopoietic differentiation of <i>RUNX1</i> -mutated induced pluripotent stem cells derived from FPD/AML patients (家族性血小板異常症 (FPD/AML) 由来iPS細胞の血球分化異常)				
(内容の要旨)				
<p><i>RUNX1</i>遺伝子は造血発生や造血幹細胞機能・血球分化に必須の役割を果たしており、ノックアウトマウスは二次造血異常や、成体での巨核球・リンパ球分化異常などを示す。一方、ヒトでは<i>RUNX1</i>の変異が骨髄異形成症候群 (MDS) や急性骨髄性白血病 (AML) などの造血器腫瘍で高頻度に見られ、これらの発症に深く関与していることが知られている。しかしこれまで変異<i>RUNX1</i>の機能解析はほとんど<i>in vitro</i>ないしはマウスモデルで行われ、ヒト造血細胞での検証はほとんど行われてこなかった。</p> <p>家族性血小板異常症 (Familial platelet disorder/acute myeloid leukemia : FPD/AML) は <i>RUNX1</i>ヘテロ変異により生じる常染色体優性遺伝性疾患で、血小板減少と高率な白血病発症を特徴とする。今回、FPD/AML患者3家系の末梢血から人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPSCs) を樹立し、そこから誘導した血球前駆細胞を用いて<i>RUNX1</i>変異の機能解析を行った。3家系はそれぞれ異なる<i>RUNX1</i>点突然変異を持ち、2例はN末端、1例はC末端に変異を有していた。</p> <p>患者から樹立したFPD-iPSCと、同様の手法で健常人から樹立したWT-iPSCを用いて、AGM-S3細胞との共培養を用いた血球分化実験を行うと、FPD-iPSCはWT-iPSCと比較して、血球細胞 (CD34陽性細胞、CD45陽性細胞) への分化効率が有意に低下していた。またCD34陽性細胞のみをソーティングしコロニーアッセイを行ったところ、FPD-iPSCはWT-iPSCと比較してコロニー形成能が有意に低下していた。さらに、ソーティングしたCD34陽性細胞を用い、巨核球への分化誘導を行ったところ、FPD-iPSC 由来CD34陽性細胞の、巨核球系細胞 (CD41陽性細胞) への分化効率はWT-iPSCと比較し有意に低下していた。また、以上のFPD-iPSCの表現型は正常<i>RUNX1</i>の強制発現によりWT-iPSCと同レベルまで回復した。</p> <p>これらの結果は、3家系に共通しており、<i>RUNX1</i>遺伝子はヒトにおいても造血前駆細胞のemergence、および巨核球分化に深く関与していることが示唆された。</p> <p>さらに変異<i>RUNX1</i>が正常<i>RUNX1</i>に対してどのような働きを持つかを明らかにするため、WT-iPSCに変異<i>RUNX1</i>を強制発現させ血球分化および巨核球分化実験を行った。すると、変異<i>RUNX1</i>強制発現株においてもCD34陽性細胞およびCD41陽性細胞への分化効率は低下を認めなかった。</p> <p>以上より、変異<i>RUNX1</i>によって引き起こされる血球分化異常は正常<i>RUNX1</i>に対する dominant negative効果によるものではなく、半数体不全効果によるものであると考えられた。</p>				