

孫 宇奇 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

The acidic domain of Hmga2 and the domain's linker region are critical for driving self-renewal of hematopoietic stem cell

(Hmga2の酸性ドメインとそのリンカー領域は造血幹細胞の自己複製を促進する)

High mobility group AT-hook 2 (HMGA2)は、AT-hookドメインを介したDNA結合によってクロマチンを制御し、胎児造血や白血病の増殖にかかわる分子である。HMGAタンパク質は、N末端側のAT-hookドメインを介してDNAのAT-rich minor grooveに結合し、転写・DNA複製や損傷修復に関与する。また、HMGAタンパク質のC末端側には酸性ドメインがあり、転写活性化能の制御に関与することが示唆されている。Hmga2はリンカーヒストンH1と競合的にクロマチンを活性化し、標的遺伝子の転写を活性化する。また、胎児造血幹細胞(HSC)においては、Lin28b-Let-7経路による制御を受け発現量が増加しているが、細胞の分化とともにPolycomb repressive complex 2によって発現抑制される。発表者らの研究室ではこれまでに、Hmga2の過剰発現が*Tet2*欠損と協調的にHSCおよび造血前駆細胞の自己複製能を亢進させ、骨髄性造血器腫瘍に至ることを示している。しかしながら、Hmga2がHSCの自己複製能を促進する機序についてはまだ不明の部分が多く、今回の研究ではHmga2の標的となる遺伝子の検討や、Hmga2が機能するために重要なドメインの解析が行われた。

まず、Rosa26領域にHmga2遺伝子(cDNAのうち3' UTRを欠失させ安定化したもの)を挿入したマウスを作成した。本マウスを*Runx1*エンハンサー(eR1)-CreERT2トランスジェニックマウス、もしくはRosa26-CreERT2ノックインマウスと交配し、タモキシフェン誘導性にHmga2が発現されるシステムを構築した。eR-CreERT2マウスにおいてタモキシフェンを投与した場合には、造血幹・前駆細胞でHmga2の発現が誘導されることが確認された。

次に、Hmga2ノックインマウス由来の骨髄細胞を放射線照射後のレシピエントマウスに移植し、移植後に、タモキシフェンによりHmga2の発現を誘導する実験を行った。その結果、移植を受けたマウスにおいて骨髄細胞数や造血幹・前駆細胞数は対照群と変化なかったが、造血幹・前駆細胞画分におけるGFP陽性のHmga2過剰発現細胞の比率が高く、Hmga2が造血の促進に寄与することが示唆された。ただし、肝臓や脾臓の変化は軽微であり、造血器腫瘍の発症は観察されなかった。また、Hmga2を過剰発現させたHSCを二次移植したところ、これらが競合的な増殖能を獲得することが示され、さらにRNAシーケンスによってその機序が解析された。Hmga2ノックインHSCで発現増加した遺伝子には、*Igf2bp2*が含まれていた。また、GSEA解析によって*Igf2bp2*標的遺伝子群の発現が増加することも確認されたが、MYCの増加は認められなかった。

最後に、Hmga2のAT-hookやC末端領域を含む様々な部分欠失変異体をHSCに導入し、コロニー形成能や*Igf2bp2*の発現変化を観察した。その結果、リンカー領域とC末端の酸性ドメインがHmga2の機能に重要であることが示唆される結果が得られた。

審査では、Hmga2ノックインによりHSCの数と機能のどちらが変化したのか、Hmga2の発現誘導がlineage outputに及ぼす影響、成体HSCや白血病細胞のHmga2の制御様式、酸性ドメインの機能上の役割、欠失変異体を作成した論理的根拠などについて質疑がなされ、申請者からは概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、HMGA2の重要な機能ドメインを特定し、HMGA2による造血器腫瘍の発症機序の一端を解明したという点で、学位授与に値すると評価された。今後さらに、HMGA2によるHSCの活性促進・腫瘍化の詳細な機序を明らかにすることに期待したい。

審査委員長 臨床病態解析学担当教授

松井 啓隆