

脱ユビキチン化酵素 USP10 による Hematopoietic stem cell の恒常性維持に与える影響

川村 宏樹^{1),2)}、樋口 雅也^{2),3)}、藤井 雅寛²⁾

- 1) 新潟医療福祉大学・臨床技術学科
- 2) 新潟大学大学院・医歯学総合研究科・ウイルス学分野
- 3) 金沢医科大学・医学部・微生物学講座

【背景・目的】造血幹細胞 (Hematopoietic stem cell ; HSC) は、骨髄と胎児の肝臓のニッチに局在している細胞で、自己複製機能を持ち、多種の血液系細胞に分化することが知られている。USP10 (Ubiquitin specific protease 10) は、脱ユビキチン化酵素の一種である。これまでに我々は USP10 が酸化ストレスによる Reactive Oxygen Species (ROS) 産生を抑制し、細胞の恒常性維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。今回、我々は USP10 が HSC 維持に重要である知見を得たので報告する。

【方法】USP10 の機能解析をおこなうために、次の様な検討をおこなった。

- ① USP10 ノックアウト (KO) 作製
- ② 病態発症の経過観察
- ③ フローサイトメーターを用いた白血球分画の解析
- ④ マウス胎児肝細胞培養によるアポトーシスの検討
- ⑤ マウス胎児肝細胞移植による幹細胞分化能の検討

【結果・考察】新規に USP10-KO マウスを作製し、継続的観察と各臓器における白血球の解析をおこなった。全ての USP10-KO マウスは骨髄不全を発症し、重度の貧血のため1年以内に死亡した。8W と 16W の USP10-KO マウスは WT マウスに比べ、骨髄、脾臓および胸腺の白血球数が減少していた。減少した白血球分画は、骨髄では B 細胞、マクロファージ、好中球であり、脾臓では B 細胞、T 細胞およびマクロファージであった。

8W の USP10-KO の骨髄では、LK (Lin⁻c-Kit⁺)、LSK (Lin⁻Sca-1⁺c-Kit⁺) 細胞と LT-HSCs (LSK CD150⁺CD48⁻) を含む未熟な造血細胞が著しく減少していた。HSCs の減少は E14.5 の胎児肝で既に始まっていた。胎児肝の HSC 減少は、ROS の産生量に依存しない LT-HSCs のアポトーシスに起因していた。

USP10-KO マウスの HSC 減少が HSC 自体の異常なのか、ニッチ側の問題なのかを検討するために、胎児肝細胞の移植実験をおこなった。USP10-KO マウスの胎児肝細胞を移植した WT マウスは白血球の構築が出来なかった。一方、WT マウスの骨髄細胞を移植した USP10-KO マウスは白血球の構築が出来た。これらのことから、USP10-

KO マウスの HSC には HSC 機能の欠如があることが示唆された。

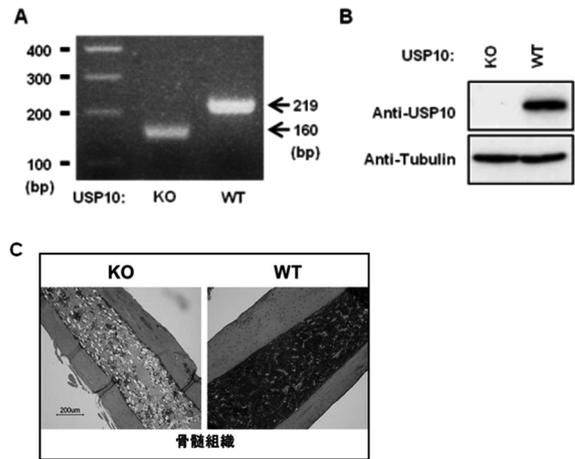


図 1. USP10 ノックアウトマウスにおけ造血不全
 USP10- KO マウスから分離した繊維芽細胞を用いた USP10 mRNA 発現確認 (A)。exon 3 を欠如するよう作製したの、野生型 (WT) に比べ短い mRNA は確認できるが、USP10 蛋白は合成されていない (B)。WT の骨髄組織では正常髄が観察され造血が認められるが、USP10 KO マウスでは脂肪細胞が主体となり造血像がほとんど認められない。

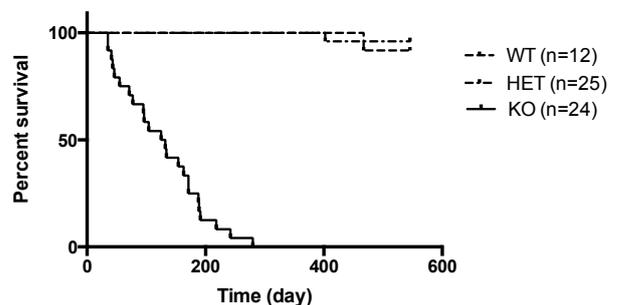


図 2. USP10 ノックアウトマウスの生存率
 USP10- KO マウスはほぼ正常に生まれますが、離乳後から死に始め、1年以内にすべてのマウスが死亡した。

【結論】USP10 は HSC のアポトーシスを抑制することによって、HSC の維持ならびに胎児および成人の血液系細胞の分化・維持に重要であると考えられる。

【謝辞】本研究は、新潟医療福祉大学研究奨励金の援助によりおこなった。