

2020 年 5 月 20 日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2019年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）
所属：京都大学医学研究科
職名：教授
氏名：竹内 理

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： 骨髄における細胞系譜バイアスを制御する新規転写後制御機構の解明
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 近藤 玄
3. 研究期間： 2019年4月1日～2020年3月31日

4. 研究経過及び研究成果：

本研究課題は、RNA 分解酵素である **Regnase-1(Reg1)**とそのファミリー分子である **Regnase-3(Reg3)**に着目し、骨髄造血におけるリンパ球-ミエロイド分化運命決定を制御する mRNA 安定性調節機構の解明を目的とした。これまでに、**Reg1** と **Reg3** の二重欠損マウスの表現型解析から、**Reg1** と **Reg3** がリンパ球分化に重要な役割を有していることがわかっていたが、その分子機構の詳細は明らかではなかった。申請者らは **Reg1** と **Reg3** が、リンパ球前駆細胞よりも上流の多能性分化細胞においてリンパ球とミエロイド分化の運命に深く関与することを見出した。具体的には、**Reg1** と **Reg3** の二重欠損マウスは周産期死亡に陥るため、近藤教授により体外受精を用いた胎仔肝細胞移植マウスを作製し解析を行った。特に、造血幹細胞に焦点をあて **single-cell RNA** シークエンス解析の結果により、**Reg1/Reg3** 二重欠損細胞では、野生型に比しリンパ球系細胞の減少とミエロイド系細胞の増加が認められ、これは1細胞遺伝子発現においても **Reg1/Reg3** 二重欠損細胞ではリンパ球系遺伝子の発現低下及びミエロイド系遺伝子の発現上昇として認められた。これらの解析により、**Reg1/Reg3** によって制御される遺伝子として **Nfkbiz** を同定した。これまでマクロファージでは、**Nfkbiz** は転写制御因子として **IL-6** の発現を正に制御するとされていたが、骨髄造血幹細胞におけるミエロイド分化における役割は明らかではなかった。そこで、**Reg1^{fl/fl}Reg3^{null}**マウスから樹立したリンパ球系前駆細胞株を樹立することにより、**Reg1/Reg3** によるリンパ球分化制御メカニ

ズムを解析した。この細胞株は **Reg3** 単独欠損ではリンパ球分化障害を認めないが、**Cre** タンパク質を発現誘導することにより **Reg1** を欠損させると、マウス表現型と同様、リンパ球分化障害が認められた。リンパ球系前駆細胞株において、**Reg1** と **Reg3** は *Nfkbiz* mRNA と結合することに加え、二重欠損細胞では *Nfkbiz* 発現が蛋白レベルでも著しく増加することが明らかとなった。さらに、*Nfkbiz* 強制発現系において、野生型の細胞株では **B** 細胞分化の障害に加え、**CD11b** 陽性のミエロイド系細胞の分化が認められた。このことから **Reg1/Reg3-Nfkbiz** 制御軸が骨髄造血幹細胞におけるリンパ球-ミエロイド分化の運命制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

以上、本共同研究により解析困難な致死性二重欠損マウスに対して、近藤教授による胚移植技術により飛躍的に解析速度が増し多くの研究成果が得られた。以上の研究成果は、現在論文化に向け投稿準備中である。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、特許取得等

発表論文リスト

なし

学会発表

17th International Congress of Immunology, 2019/10/19-23, Critical roles of endonucleases Regnase-1 and Regnase-3 in early lymphopoiesis, T. Uehata, *oral presentation*.

CiRA 2019 International Symposium 2019/11/27-29, Endonucleases Regnase-1 and Regnase-3 regulate transcriptome biases to ensure lymphopoiesis, T. Uehata, *poster presentation*.

第 42 回日本分子生物学会年会 2019/12/3-6、免疫細胞を制御する RNA 結合タンパク質の機能解析、植畑拓也、口頭発表