

【要約】

Setdb1 is required for hematopoietic stem and progenitor cells
and maintains their energy metabolism

(Setdb1 は造血幹前駆細胞の維持とエネルギー代謝に重要な役割を果たす)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：岩間厚志教授)

小出 周平

幹細胞の未分化性維持には分化遺伝子の発現抑制が重要であり、これまでポリコーム複合体による遺伝子発現抑制機構が精力的に研究されてきた。一方、ヒストンメチル化酵素 *Setdb1* も遺伝子発現抑制に寄与することが知られてきたが、ノックアウトマウスは胎生致死であることから、成体における機能解析は十分になされてこなかった。本研究は、*Setdb1* コンディショナルノックアウトマウスを解析することで、造血幹前駆細胞におけるその機能を理解することを目的とした。

致死量放射線照射したマウスに *Setdb1* の floxed allele を持つマウスの骨髄を移植することで、骨髄特異的に *Setdb1* を欠損するマウスを作成し、造血解析を行った。その結果、*Setdb1* 欠損造血幹前駆細胞は細胞周期の遅延を呈し、骨髄中から速やかに枯渇することが明らかとなった。また、*Setdb1* floxed allele マウスの骨髄球系前駆細胞に白血病誘導因子 *MLL-AF9* 遺伝子を強制発現させることで、癌細胞における *Setdb1* の機能を解析した。その結果、コントロール群と比べ *Setdb1* 欠損白血病化細胞は *in vitro* においては増殖能を失い、*in vivo* においては移植マウスの生存期間が優位に延長することが明らかとなった。

移植マウスから *Setdb1* 欠損骨髄球系前駆細胞を回収し、RNA-sequence 解析、並びに *Setdb1* が触媒するヒストン修飾である H3K9me3 の ChIP-sequence 解析を行い、*Setdb1* の標的遺伝子の同定を試みた。ES 細胞で報告されていた *Setdb1* の標的である内在性レトロウイルス遺伝子群における H3K9me3 の減少は軽微であり、それらの遺伝子発現の活性化も微弱であることから、成体における内在性レトロウイルスの発現抑制維持における *Setdb1* の役割は限定的であることが判明した。一方で、*Setdb1* 欠損により H3K9me3 量の減少が認められた遺伝子の多くは非造血系遺伝子であり、特に糖新生酵素 *Fbp2* の転写発現が著明に亢進していた。また、*Fbp2* の転

写領域部分において DNA のメチル化頻度も減少しており、ウェスタンブロッティング、FACS 解析から *Fbp2* はタンパク質レベルで発現していることが明らかとなった。

続いて、*Setdb1* 欠損骨髄球系前駆細胞を用いてメタボローム解析を行ったところ、*Fbp2* の基質である F-1,6-BP、並びに ATP 産生量が有意に減少していた。また、白血病化細胞に *Fbp2* を過剰発現させたところ、同様の結果が得られた。さらに、造血幹細胞に *Fbp2* を強制発現させたところ、*in vivo* 培養においては ATP 産生量と増殖能の低下が、*in vivo* においては骨髄再構築能の障害が認められた。*Setdb1* を強制発現させた白血病化細胞において *Setdb1* を欠損させたところ、部分的ながら細胞増殖能が回復し、*Fbp2* の発現抑制状態が維持され、ATP 産生量の減少も認められなかった。

以上より、*Setdb1* の造血幹前駆細胞における標的遺伝子は非造血系遺伝子が主であることが明らかとなった。なかでも、*Fbp2* を恒常的に抑制することで解糖系優位な状態を維持し、ATP 産生を維持しているものと考えられた。したがって、*Setdb1* は造血系細胞に不要または有害な遺伝子の発現抑制に寄与しているものと考えられる。