

## 造血早期運命決定の感染防御における意義の解明

熊本大学 国際先端医学研究機構 免疫ゲノム構造学研究室 特任准教授

黒滝 大翼

## 【研究の背景】

造血系は細かい亜集団を含めれば 20 種類以上の細胞種を恒常的に産生し、免疫応答、酸素供給、組織恒常性の維持など多彩な役割を担う。従来の仮説では、造血幹細胞 (HSC) が中間的な前駆細胞へと分化し、その分化能が段階的に失われて、最終的に成熟した血球細胞が産生されると考えられてきた (図 1 左、多段階分化モデル)。しかし近年、血球系細胞の分化能を生体内においてシングルセルレベルで解析する技術が登場し、HSC の一部や多分化能があるとされてきた上流の前駆細胞集団には限られた種類の細胞種のみを産生する亜集団が含まれることがわかってきた。これらの結果から血球細胞の運命決定は HSC に近い造血早期段階でも生じる可能性が考えられている (図 1 右、早期コミットメントモデル)。しかし、造血早期における系譜決定の分子メカニズムはほとんどわかっていない。

DC は自然免疫や獲得免疫の誘導に必須の骨髄由来細胞である。DC は cDC1、

cDC2、pDC の 3 つの亜集団に分けられる。特に cDC1 は CD8<sup>+</sup>T 細胞への抗原提示により細胞障害性 T 細胞の分化を誘導し、細胞内寄生病原体や腫瘍に対する獲得免疫の惹起に中心的役割を担う。DC 産生能を有する前駆細胞がこれまでに複数同定されており、多段階分化モデルでは HSC から LMPP (多能性前駆細胞)、GMP (顆粒球・単球前駆細胞)、MDP (単球・DC 前駆細胞)、CDP (DC 共通前駆細胞) などを介して DC が産生されると考えられてきた (図 2)。

本研究者は血球分化の分子機序を理解するために、これまで一貫して転写因子による単核貪食細胞 (単球・マクロファージ・DC) の分化における遺伝子発現制御について研究を進めてきた ([以下全て本研究者が筆頭著者の論文] *Blood* 2013; *Nat Commun* 2014; *Blood* 2015; *Cell Rep* 2018; *J Bone Miner Res* 2019; [総説] *Bone* 2020 など)。DC に系譜決定された骨髄多能性前駆細胞を同定し、早期運命決定の分子機序を理解するために、申請者はマウス多能性前駆細胞において scRNA-seq を行った。その結果、転写因子 *Irf8* を発現する LMPP 亜集団が存在することを見出した (前述の Kurotaki et al. *Blood* 2019)。さらに IRF8 タンパク質の発現を可視化できる IRF8-GFP キメラノックインマ

図1. 造血分化モデル

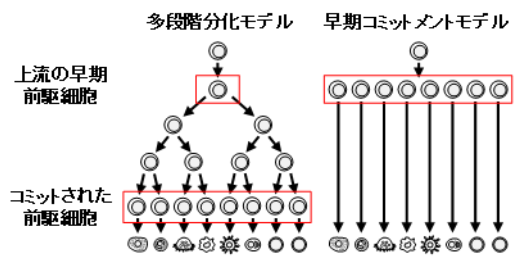


図2. 階層的分化モデルにおけるDC分化経路



ウスを解析し、IRF8 の発現は HSC や MPP（上流の前駆細胞集団）では一切認められず、LMPP の段階から弱く発現し始めることが明らかになった。興味深いことに、IRF8<sup>+</sup> LMPP は生体内において DC 特に cDC1 に優先的に分化し、単球や好中球の産生能が低いことがわかった。さらに IRF8<sup>+</sup> LMPP において ATAC-seq 解析を行い、IRF8 によるエピジェネティック制御が DC への造血早期運命決定に重要であることを示した。

しかし、このような分化上流における DC への系譜決定の免疫学的意義は全くわかっていない。また DC 系譜決定のカギとなる IRF8 の発現誘導の分子機序も不明である。本研究ではマウスへのサイトカイン投与や感染モデルを用いて DC 早期運命決定の生体防御における役割を理解し、IRF8 の発現制御の観点から血球分化の基本原理の解明を目指す。

### 【結果】

ある種の病原体感染時にはサイトカイン分泌が亢進し、DC の産生が増加することが知られている。申請者はマウスに様々なサイトカインを投与し、HSC や多能性前駆細胞における IRF8 の発現を検討した。その結果、あるサイトカインを投与したマウスでは DC の数が増加し、多能性前駆細胞のみならず HSC においても IRF8 発現が誘導された。この結果と一貫して、IRF8 の発現誘導は病原体感染においても認められた。さらに *Irf8* 遺伝子のエンハンサーを欠損するマウスを用いた検討からそのサイトカインによる IRF8 の発現誘導にはエンハンサーが関与しない可能性が示された。その一方で、本研究者はサイトカイン投与による IRF8 発現誘導に関与する遺伝子発現制御領域をこれらエンハンサーとは別に同定することに成功した。次にサイトカインを投与したマウスの HSC や多能性前駆細胞において ATAC-seq を行ったところ、サイトカインにより新たに形成された活性化遺伝子発現制御領域には特徴的な転写因子結合モチーフが存在していた。以上の結果から、病原体刺激により分泌されたサイトカインが HSC や多能性前駆細胞に作用することで、我々が同定した遺伝子発現制御領域の活性化により IRF8 の発現が誘導され、これらの細胞においてエピジェネティックな変化が生じる可能性が考えられる。

また DC 分化の過程における感染応答性遺伝子座のクロマチン高次構造解析を行い、その動態を明らかにすることに成功した（Kurotaki et al. 論文投稿中）。

### 【今後の予定】

ここまでの解析から病原体感染やサイトカイン投与により HSC や多能性前駆細胞において IRF8 の発現が誘導されることを明らかにした。今後は病原体感染後あるいはサイトカイン投与後のマウスから単離した HSC や多能性前駆細胞の DC への分化能を解析する。また IRF8 の発現誘導に関わる制御因子や遺伝子発現制御領域を同定し、それらを欠損させたマウスにおける DC 早期運命決定や細胞内寄生病原体への生体防御への影響を明らかにする。