

「転写因子 C/EBP α と C/EBP β が制御する定常時と緊急時造血モード切り替え機構の解明」

東京薬科大学・生命科学部・生命医科学科・幹細胞制御学 助教

横田 明日美

要旨

C/EBP α は造血幹・前駆細胞 (HSPC) の細胞周期や下流への分化制御を介して定常時の好中球造血を担う一方、C/EBP β は炎症・感染などの造血ストレス下で HSPC において発現誘導され、緊急時のミエロイド分化と HSPC の増殖を制御する。本研究では、LPS 刺激後の初期・持続期・収束期における両者の発現動態と機能の詳細を解析した。炎症初期には HSPC で C/EBP β が迅速に誘導され、C/EBP α は一過性に抑制されるとともに、好中球分化亢進と HSPC 拡大が誘導された。C/EBP β 欠損ではこれらの反応が抑制され、通常抑制されるリンパ球系造血が維持されたことから、C/EBP β が緊急時のミエロイドバイアス誘導に重要であることが示された。さらに、緊急時の刺激依存的 C/EBP β の発現誘導には C/EBP β 遺伝子の遠位エンハンサーが必須であることを明らかにした。C/EBP α および C/EBP β はこれら異なるモードにおいて HSPC の増殖・分化を制御する中核因子であり、両者の発現制御および機能制御機構の解明によって、炎症病態や造血器腫瘍の新規治療アプローチへの展開を目指す。

背景・目的

C/EBP β は塩基性ロイシンジッパー型転写因子であり、他の転写因子や SWI/SNF 複合体、また p300 等と協調することでクロマチン状態の再構築にも関わり、細胞分化や代謝、また炎症応答関連遺伝子の発現を制御する。C/EBP β の発現は造血幹細胞から多能性前駆細胞、また顆粒球・マクロファージ前駆細胞 (Granulocyte-Macrophage Progenitor: GMP) を経て、単球前駆細胞 (Common Monocyte Progenitor: cMoP) およびその下流へ分化するにつれて発現が上昇する。一方、単球・樹状細胞前駆細胞 (Monocyte-Dendritic Cell Progenitor: MDP) を経て DC に分化する経路ではこのような発現誘導は認めない。この所見と一致して、C/EBP β 欠損マウスでは、定常時には好中球や DC 造血の障害は認めず、ほぼ単球造血に局限した著しい分化障害を認める¹。感染や 5-FU 投与、またサイトカイン刺激時等の造血ストレス下では、造血幹・前駆細胞 (Hematopoietic stem/progenitor cell: HSPC) レベルにおいて速やかに C/EBP β の発現が誘導され、HSPC の細胞周期回転とミエロイドへの分化を誘導し、このような緊急時の造血系の応答を制御することによって生体防御に寄与する^{2,3,4}。

一方、同じ C/EBP ファミリー分子である C/EBP α は、定常時の好中球造血のマスター制御因子であり、共通骨髄球系前駆細胞 (Common myeloid progenitor: CMP) から GMP への分化進行に必須である。C/EBP α 欠損マウスは胎生致死となるが、成体において *Mx1-Cre* 等で C/EBP α 欠損を誘導すると、GMP 以降への分化がブロックされ、成熟ミエロイド系細胞の著減とともに、CMP から上流の HSPC の蓄積が認められる^{5,6}。興味深いことに、GM-CSF および IL-3 による刺激によって C/EBP α 欠損胎子肝由来 HSPC から好中球が産生されるが、この際の好中球産生は C/EBP α 非依存性であり、C/EBP β によって

制御される分化経路であることが分かっている²。この経路は、HSPCの増殖とミエロイド分化を共に促進することから、緊急時の迅速かつ大量の顆粒球産生をもたらす、生体防御に寄与する³。また、BCR-ABL⁷やFLT3変異⁸によって誘導される造血器腫瘍においても、これら腫瘍原性シグナルによって過剰発現が誘導されるC/EBPβが、未分化白血病細胞の増殖とミエロイドへの分化の偏りをもたらす、病態形成に関与することを我々はこれまでに同定している。

以上から、定常時の一定数の顆粒球産生を制御するC/EBPαと、緊急時の好中球産生を制御するC/EBPβ、それぞれによって異なる造血のモードが制御されていると考えられる。しかしながら、これまで造血系における両者の急性炎症発動時と持続期、さらに収束時の発現パターンの変化や発現制御機構、また作用についての詳細は明らかになっていなかった。本研究目的は、これらの点について基礎研究の面から明らかにすることで、緊急造血が重要な役割を担う生体防御反応や炎症および造血器腫瘍の病態形成の詳細な理解に繋げると共に、生体防御反応の活性化や過剰な炎症また腫瘍細胞の増殖・分化バイアスを抑制し得る、新規治療アプローチ開発への展開に繋げることである。

方法

・細胞株

マウス HSPC 由来の c-Kit 陽性 EML 細胞株は、20% Horse serum 20% BHK-MKL 培養上清（サイトカイン Stem cell factor: SCF 添加の代替として）を添加した IMDM 培地（FUJIFILM Wako）にて培養した。細胞分化は ATRA（FUJIFILM Wako）にて前刺激を 3 日間行った後、GM-CSF（FUJIFILM Wako）にてさらに 3 日間刺激してミエロイドへの分化を誘導し、クロマチン免疫沈降の実験に用いた。

・クロマチン免疫沈降

ホルマリン固定した EML 細胞を溶解後、Bioruptor にてクロマチン断片化を行い、得られたクロマチンを抗 H3K27Ac（モノクローナル抗体研究所）抗体および isotype IgG（Santa Cruz Biotechnology）、また Dynabeads Protein G（ThermoFisher）によって免疫沈降し、脱クロスリンク後に DNA を精製し PowerUP SYBR Green Master Mix（ThermoFisher Scientific）を用いて定量 PCR を行った。

・マウス

全ての動物実験は東京薬科大学動物実験委員会の審査・承認を得て行った。WT C57BL/6J を用いた検討は全て日本クレアから購入したマウスを用いた。*ERT2-Cre/Cebpb^{lox/lox}* および *ERT2-Cre/Cebpa^{lox/lox}* マウスによる Tamoxifen 誘導性ノックアウト条件での実験は、致死量放射線照射した Ly5.1 レシピエントマウスに 2×10^6 個の骨髄細胞を移植し、移植 16 週間後以降に実験を行った。Tamoxifen 投与は、Corn oil に Tamoxifen（いずれも Sigma Aldrich）を溶解し、マウス体重あたり 50 mg/kg を 1 日おきに 2 回投与し、遺伝子欠損を誘導した。予備検討によって、急性期の反応を見る際には 2 回以上の投与で c-Kit⁺ HSPC 分画において Flox アリルの欠失を誘導できること、および mRNA 発現レベルが検出以下になることを確認した。*Vav1-iCre/Cebpb^{lox/lox}* マウスは、血液細胞特異的 *Cebpb* 遺伝子欠損条件での検討において用いた。また、新たに樹立した、*Cebpb* 遺伝子発現制御に関わる遠位 Enhancer の全長領域欠損マウスは、炎症刺激時の造血反応と *Cebpb* 発現制御への関与を検討するために用いた。LPS（Lipopolysaccharide: E. Coli 由来、Sigma Aldrich）刺激として、骨髄移植レシピエントマウスに対して 6 μg/匹、それ以外のマウスに対しては全て 20 μg/匹の用量で腹腔内投与を行った。

・フローサイトメトリー解析およびセルソーティング

フローサイトメトリーまたセルソーティングは FACS Aria III また FACSCelesta を用いて行った。用いた蛍光標識抗体は、Biolegend、BD、および ThermoFisher から購入したものをを用いた。骨髄、脾臓、末梢血から採取した血液細胞の染色は、全て 2%非働化 FBS 含有 D-PBS (-) を用いて行った。得られたデータは FlowJo ソフトウェア (BD) で解析を行った。

• RNA 抽出・定量 PCR

セルソートした細胞からの RNA 抽出および cDNA 合成は、RNeasy Micro Kit (QIAGEN) または RT-RamDA cDNA Synthesis Kit および GeneNext RamDA-seq Single Cell Kit (TOYOBO) を用いて行なった。定量 PCR は TaqMan Real Time PCR Assay および TaqMan Fast Advanced Mix、または PowerUP SYBR Green Master Mix (ThermoFisher Scientific) を用いて行った。RNA ライブラリ調整は Illumina Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina) を用いて行った。

• ATAC-seq/ChIP-seq/motif 検出

Control および *Cebpb* cKO マウスから LPS 刺激後骨髄細胞を回収し、FACS Aria III で sort した LMPP 集団について、核抽出後に transposase 反応を行った後、DNA を抽出してライブラリ調製を行い、Illumina NovaSeq6000 にてシーケンスを行った。また、公開データセットは、解析処理済みデータまたは raw data をダウンロードし、トリミング・PCR 重複除去後に Bowtie2 でマッピング、および HOMER でピーク検出を実施した。C/EBPβ の発現を制御する新規に同定した enhancer 領域の motif 解析は MEME tool の fimo を用いた。

• 統計解析

GraphPad Prism ソフトウェアを用いて、Student's t test 両側検定を行った。有意差認定の基準は $p < 0.05$ とした。

結果

【炎症初期から収束の過程における HSPC 集団の反応と C/EBPα および C/EBPβ の発現変化】

炎症誘導後、初期から持続・収束期におけるマウス骨髄中 HSPC 集団の反応と、その下流のミエロイド造血を評価するために、WT マウスに LPS 20 μg を腹腔内に単回投与し、経時的に評価した。末梢血の白血球中の好中球の割合は、1 時間後に最低値となり、その後増加を続けて 1 日後にピークとなり、3 日後には定常時と同等に戻っていた (図 1A)。一方、骨髄中の好中球の割合は 1 時間後には減少を始めて 1 日後に最低となり、その後増加を続けて 5~7 日後にピークとなった後、減少に転じた (図 1B)。HSC の割合と数は、1 日後に減少

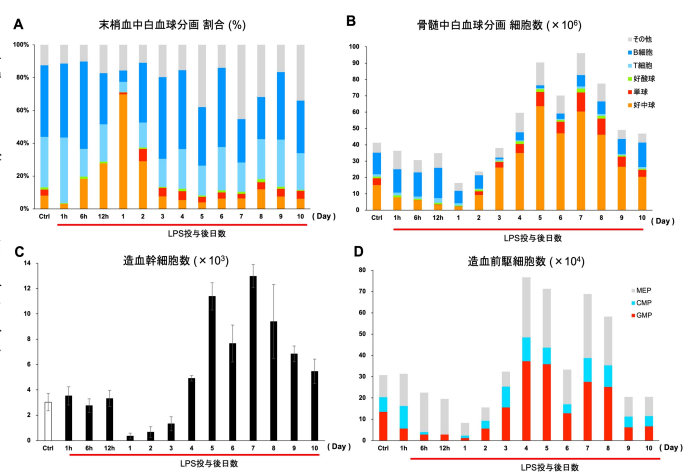


図 1: LPS 刺激時における経時的造血変化

(A) 末梢血中白血球分画の割合、(B) 骨髄中白血球分画の絶対数、(C) 造血幹細胞絶対数 (D) 造血前駆細胞分画の絶対数 全て n=3~5

し、その後急激に増加を始めて 5~7 日後にピークとなり、以降定常時のレベルへ減少する挙動を示した (図 1C)。興味深いことに、CMP と GMP の減少は、1 時間後から認められ、1 日後に最低値となって以降は増加を続け、5~7 日後にピークとなって減少に転じていた (図 1D)。よって、炎症・感染が誘導された後、末梢への供給によって減少した好中

球を補充するため、骨髄では緊急時の好中球造血が発動するが、その初動として、CMP や GMP といった前駆細胞がまず応答した後、より上流の HSPC 分画の増殖と分化が進行し、造血系の再生が起こると考えられる。

この時、HSPC 分画の C/EBPβ および C/EBPα の経時的発現パターンについて、刺激後 2, 4, 7, 10, 14 日の時点で qPCR によって検討した (図 2)。C/EBPβ は LPS 刺激による炎症刺激初期に発現上昇し、一方で C/EBPα の発現は C/EBPβ の発現上昇の時期とオーバーラップしつつも、遅れて起こる可能性が考えられた。C/EBPβ の発現レベルは普段発現の低い HSPC 分画で炎症刺激早期に誘導され、この発現誘導が緊急造血時に重要であることが考えられたため、初期の 12 時間後の発現レベルの変化を調べたところ、C/EBPβ の発現上昇が認められたのに対し、C/EBPα は発現低下を示した。

以上から、C/EBPβ の発現誘導と C/EBPα の発現抑制が炎症初期の反応であり、その後、C/EBPβ の発現上昇は HSPC の増加が見られるフェーズと一致して起こっており、C/EBPα は炎症初期時には抑制される一方、好中球造血の亢進時期と一致して炎症反応後期には発現が上昇するパターンをとることが明らかとなった。

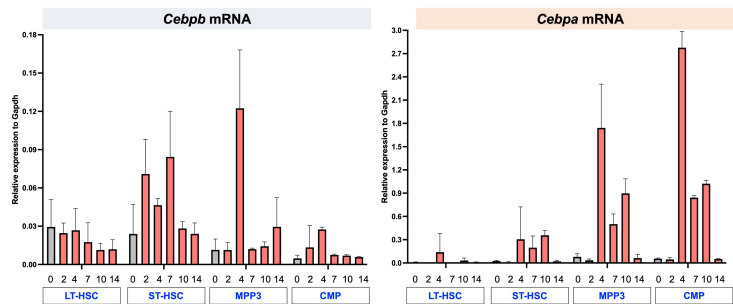


図 2: LPS 刺激時における HSPC 分画における C/EBPβ (左) および C/EBPα (右) の発現レベルの変化

【緊急造血時の C/EBPβ 欠損は、その後の緊急時ミエロイド造血を HSPC のレベルで抑制し、リンパ球系造血を維持する】

上記の検討結果から、C/EBPβ の炎症反応初期における役割を明らかにするため、*Vav1-iCre/Cebpb^{flx/flx}* マウスおよび *ERT2-Cre/Cebpb^{flx/flx}* マウスを用いた検討を行った。まず、*Vav1-iCre/Cebpb^{flx/flx}* システムにおいて、LPS 刺激 2 日後のタイムポイントでの解析を行った。申請者の研究室で以前樹立した、好中球分化経路を c-Kit と Ly6G の発現レベルに基づいて評価する方法³で比較すると、C/EBPβ 欠損によって、c-Kit^{lo} Ly6G^{lo} の分画 2 の減少が抑制され、その後さらに分化が進んだ c-Kit^{lo} Ly6G^{int}、c-Kit^{lo} Ly6G^{hi} の分画 3, 4, 5 の増加が抑制されており、炎症初期時の

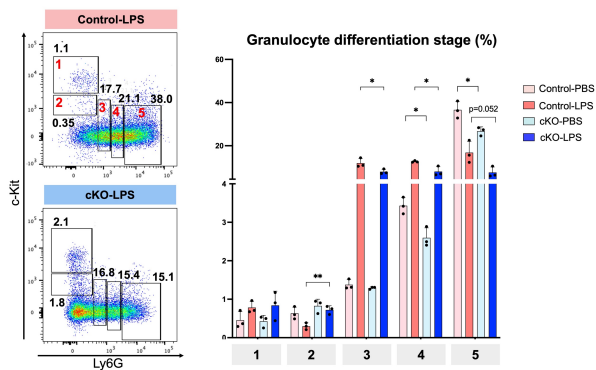


図 3: LPS 刺激 2 日後における Control および *Cebpb* cKO マウスの骨髄における好中球分化の変化

左パネルは FACS 代表例 (図内の数字は 1~5 のゲート内の集団の%) 右パネルは各群 n=3 のグラフ (* p<0.05, ** p<0.01)

HSPC の下流ミエロイド系統への分化促進と好中球産生に C/EBPβ が重要であることが明らかとなった (図 3)。また、HSPC 集団については、LT-HSC 分画の減少が認められ、その下流の ST-HSC の減少、LMPP 分画の増加抑制が認められ、これら上流の HSPC 集団が炎症刺激に反応して拡大する初期反応においても C/EBPβ が重要であることが示唆された。成熟白血球分画の比較では、炎症刺激群においてリンパ球造血の抑制が認められるが、C/EBPβ 欠損によってリンパ球系統、特に B 細胞の減少反応が抑制されており、炎症初期における造血系全体としてのミエロイドバイアスを C/EBPβ が制御していることが示唆された。

LPS 刺激によって C/EBPβ の発現上昇が起こるタイムポイントにおいて C/EBPβ を欠損させる *ERT2*

Cre/Cebpb^{lox/lox} マウスを用いた検討では、LPS 刺激 2 日後から欠損を誘導し、好中球造血亢進反応が収束へ向かう刺激 7 日後に解析を行った。Tamoxifen の影響を背景として考慮すべきではあるが、LPS 刺激群において C/EBPβ 欠損によって HSC 以降の LMPP、MPP3、MPP2 は全て増加している一方、GMP は減少していた。また、好中球分化経路については、この時点では LPS 刺激による増加は分画 5 の成熟好中球のみで認められ、好中球造血亢進反応は収束し、骨髄内の好中球プールがほぼ完全に回復したことを示す。この時、C/EBPβ 欠損によって分画 4 が減少しており、初期から認められる好中球分化反応の抑制がまだ遷延していることが明らかとなった。この時、C/EBPβ の発現は CMP においてのみ上昇していたが、上流の HSC、LMPP、MPP3 では変化しないまたは低下していた。C/EBPα の発現レベルも CMP においてのみ LPS 刺激によって上昇していたが、C/EBPβ 欠損によって LMPP および MPP3 における発現上昇が認められた。

以上から、LPS 刺激によって誘導される緊急造血の初期において、C/EBPβ は好中球分化亢進と HSPC 分画の増加を誘導し、ミエロイドバイアスを誘導する重要な転写因子であることが明らかとなった。炎症初期においては C/EBPα は発現が抑制され、C/EBPβ を中心としたミエロイド造血に偏るが、収束に入る後期においては C/EBPα による通常的好中球造血制御が回復するとともに、下流のミエロイドへの分化の方向付けが既になされた CMP や GMP では両者が協調して作用する状態が一定期間持続している可能性が示唆された。

【定常時のミエロイド分化時に活性化される C/EBPβ の遠位エンハンサーは、*in vitro* の GM-CSF 刺激および *in vivo* の LPS 刺激によって誘導される緊急造血時にも重要である】

これまでの検討、および申請者らの過去の報告から、定常時のミエロイド造血と、炎症・サイトカイン刺激による緊急造血時では、C/EBPβ の発現上昇が誘導される細胞集団は大きく異なる。C/EBPβ の発現が通常低レベルで維持されている HSPC 分画で一過性に発現誘導され、一方で C/EBPα の発現が抑制されるメカニズムと、この機構が緊急造血時において好中球造血（定常時では C/EBPα によって制御される）の亢進と単球造血（定常時では C/EBPβ によって制御される）の抑制に寄与するのかどうかについて検証するため、まず C/EBPβ の発現制御機構について検証を行った。申請者らが同定した、定常時のミエロイド分化における C/EBPβ の発現上昇に必須の遠位エンハンサーが、サイトカイン刺激によっても活性化され得るかを検討するため、SCF 依存性に未分化状態を維持し得るマウス HSPC 由来 EML 細胞株を GM-CSF によって刺激し、H3K27Ac 修飾によって活性変化を評価したところ、C/EBPβ の発現誘導と共にこの遠位エンハンサー領域において H3K27Ac 集積の上昇が認められた。

サイトカイン刺激時の C/EBPβ 発現制御にもこの領域が重要である可能性が考えられたため、新たに作製した遠位エンハンサーのホモ欠失マウスについて、LPS 刺激によって HSPC のレベルで C/EBPβ の発現上昇が認められるか、また緊急造血時の反応について検証した。LPS 刺激 12 時間後の炎症反応初期の好中球分化経路は、分画 1 の c-kit^{hi} HSPC 分画の増加が認められる一方、未熟好中球を示す分画 3 および 4 の抑制傾向が認められた。さら

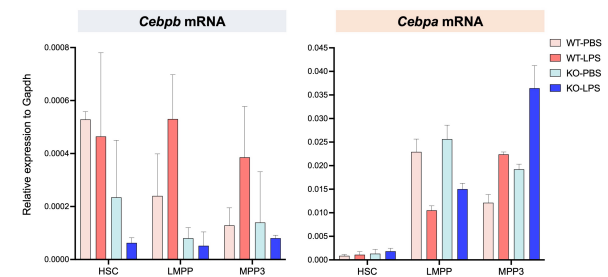


図 4: C/EBPβ 遠位エンハンサーホモ欠失マウスにおける LPS 誘導性 C/EBPβ 発現誘導の消失
LPS 刺激 12 時間後の各 HSPC 分画における C/EBPβ および C/EBPα の発現変化。エンハンサー欠失マウスは KO と表示

に、HSPC 分画における C/EBPβ および C/EBPα の発現を調べたところ、LPS 刺激による C/EBPβ の発現上昇は著明に抑制されており、この遠位エンハンサーは *in vivo* での炎症刺激誘導性の HSPC 分画に

における C/EBP β 発現誘導にも必須であることが明らかとなった (図 4)。この遠位エンハンサー領域全長 80 kb をさらに細分画化し、公開データセット 6, 9, 10, 11, 12 の ChIP-seq および ATAC-seq を解析し、ピーク情報をもとに motif 解析を行ったところ、ETS および C/EBP family の motif が濃縮される領域と、STAT や AP-1 family の motif が濃縮される領域が存在すること、さらに上記の C/EBP family motif が濃縮される領域に一致して、GMP 分画で C/EBP α が結合していることを認めた。現在この 2 箇所の細分画化領域について、定常時と緊急造血時の 2 つの異なるモードにおいて、使い分けがなされているかどうか、また C/EBP α が C/EBP β の発現制御にこれら 2 つのモードでどのように関与するのかについて、検証を行っているところである。

考察

本研究では、HSPC の増殖およびミエロイド分化において重要である転写因子 C/EBP β と C/EBP α の LPS 刺激後初期と持続期および収束期の役割について検証を行い、本助成期間においては主に C/EBP β の役割に焦点を置いた。定常時の造血においては、C/EBP β 欠損マウスでは単球以外の造血障害はほぼ認めず、好中球数にも異常を認めない。また、C/EBP β の発現は、GMP 以降の cMoP および単球の段階で急激に上昇し、C/EBP β 欠損マウスでは cMoP 以降の細胞数の著減が認められるが、それより上流では変化しない。一方、C/EBP α の発現はより上流の CMP で上昇し、以降の GMP および好中球前駆細胞への分化進行に必須である。これらを総合すると、C/EBP β 欠損においても、より上流の前駆細胞における C/EBP α の発現上昇によって、好中球造血は障害を受けないと考えられる。一方、緊急造血時では、さらに上流の HSPC 分画において C/EBP β の発現上昇が誘導され、C/EBP α の発現は抑制されるが、C/EBP β 欠損によって好中球分化亢進の抑制とリンパ球系統造血の維持を認めた。以前の我々の報告である Candida 感染症モデルのような、C/EBP β 欠損による著しい緊急時好中球造血の抑制は認めないが、これは感染持続の有無や、C/EBP β の誘導や C/EBP α の抑制の強度・持続期間の差による可能性が考えられる。C/EBP β は定常時の単球造血に必須の転写因子であるが、炎症初期には HSPC の下流への分化、特に好中球分化へとシフトする反応において重要である点は注目される。さらに、本研究で明らかとなった点として、LPS 刺激による炎症初期には LMPP や MPP3 において C/EBP β の発現が上昇すること、また LMPP の骨髄中の割合は一旦減少した後に増加するが、この反応は C/EBP β 欠損によって抑制されることが挙げられる。LMPP は緊急造血時には定常時と異なり、リンパ球系統への分化アウトプットが抑制され、ミエロイドへの分化アウトプットに偏ることが知られており、緊急時のミエロイド造血亢進における C/EBP β の作用点の一つである可能性が示唆された。現在、引き続き炎症刺激下の HSPC 分画の拡大とミエロイド分化について、C/EBP β 欠損の影響を明らかにするため ATAC-seq および RNA-seq データについて解析を行っている。また、Tamoxifen 誘導性に C/EBP α を欠損するシステムにおいても、ストレス刺激下の HSPC 分画での C/EBP β 発現や炎症応答の維持・収束期にどのような変化が認められるかを検証する計画である。

最後に、緊急造血時における、C/EBP β の発現誘導について、これまでサイトカイン刺激時の STAT や CREB 等によるプロモーターを介した制御が報告されていたが、*in vivo* での意義が十分に実証された例は限られていた。本研究の結果、定常時のみならず緊急造血時の C/EBP β 発現誘導においても、C/EBP β 遺伝子 3'側遠位エンハンサーが重要であることが明らかとなった。また、このエンハンサー内には C/EBP α や ETS family による結合領域、STAT や AP-1 family による結合領域が見出されたことから、C/EBP α による定常時の好中球造血と C/EBP β による緊急造血時の切り替えにおいて、エンハンサーお

よびプロモーターの使い分けがなされるのか、また C/EBP α と C/EBP β の相互の発現制御についてさらに詳細を明らかにしていく予定である。

本研究において詳細な機序の同定など今後検討すべき課題は残るものの、緊急造血時の初期また持続・収束期における C/EBP α と C/EBP β の発現制御機構や機能の一端について、HSPC と下流のミエロイド造血の詳細な解析によって示したという点で意義が高く、一定の新規性を有する知見が含まれている。今後も継続して、本研究の課題に取り組むと共に、基礎研究の面から造血制御の詳細を解明し、過剰な炎症性病態のより効果的な抑制や、C/EBP α 変異や C/EBP β の過剰発現が報告されている造血器腫瘍の新規治療アプローチへの発展を目指す。

共同研究者

平位 秀世: 東京薬科大学・生命科学部・生命医科学科・幹細胞制御学

引用論文

- [1] Tamura A, Hirai H, Yokota A, et al. C/EBP β is required for survival of Ly6C⁻ monocytes. *Blood*. 2017. 130(16):1809–1818.
- [2] Hirai H, Zhang P, Dayaram T, et al. C/EBP β is required for 'emergency' granulopoiesis. *Nat Immunol*. 2006. 7(7):732–739.
- [3] Satake S, Hirai H, Hayashi Y, et al. C/EBP β is involved in the amplification of early granulocyte precursors during candidemia-induced “emergency” granulopoiesis. *J Immunol*. 2012. 189(9):4546–4555.
- [4] Sato A, Kamio N, Yokota A, et al. C/EBP β isoforms sequentially regulate regenerating mouse hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood Adv*. 2020. 4(14):3343–3356.
- [5] Zhang P, Iwama A, Datta MW, et al. Enhancement of hematopoietic stem cell repopulating capacity and self-renewal in the absence of the transcription factor C/EBP α . *Immunity*. 2004. 21(6):853–863.
- [6] Hasemann MS, Lauridsen FKB, Waage J, et al. C/EBP α is required for long-term self-renewal and lineage priming of hematopoietic stem cells and for the maintenance of epigenetic configurations in multipotent progenitors. *PLoS Genet*. 2014. 10(1):e1004079.
- [7] Yokota A, Hirai H, Sato R, et al. C/EBP β is a critical mediator of IFN- α -induced exhaustion of chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood Adv*. 2019. 3(3):476–488.
- [8] Haas SC, Huber R, Gutsch R, et al. ITD⁻ and FL-induced FLT3 signal transduction leads to increased C/EBP β -LIP expression and LIP/LAP ratio by different signaling modules. *Br J Haematol*. 2010. 148(5):777–790.
- [9] Lara-Astiaso D, Weiner A, Lorenzo-Vivas E, et al. Chromatin state dynamics during blood formation. *Science*. 2014. 345(6199):943–949.
- [10] Murakami K, Sasaki H, Nishiyama A, et al. A RUNX–CBF β -driven enhancer directs the Irf8 dose-dependent lineage choice between DCs and monocytes. *Nat Immunol*. 2021. 22(3):301–311.
- [11] Itokawa N, Nakamura-Ishizu A, Ito K, et al. Genetic traits inscribed in chromatin accessibility

in aged hematopoietic stem cells. *Nat Commun.* 2022. 13:30440.

[12] Ikeda N, Kubota H, Suzuki R, et al. The early neutrophil-committed progenitors aberrantly differentiate into immunoregulatory monocytes during emergency myelopoiesis. *Cell Rep.* 2023. 42(3):112165.

助成研究に関連した発表論文

※ 全て共著者として、緊急造血時の HSPC の分化制御、好中球造血における C/EBP β の機能について検証する部分について担当。

1. Goel P, Aryal S, Franceski MA, Kuznetsova V, Costa A, Luca F, Connelly AN, Phillips DW, Ennis CC, Curtiss BM, Karfa S, Crown BL, Larson CR, Carminita E, Camacho V, Welsch D, Cheng C, Yokota A, Cobo I, Hirai H, Lu R, Bhatia R, Datta PK, Ferrell PB, Welner RS. Acute myeloid leukemia microenvironment impairs neutrophil maturation and function through NF κ B signaling. *Blood*, 146(14); 1707-1721, 2025.
2. Vanickova K, Milosevic M, Bas IR, Burocziova M, Yokota A, Danek P, Grusanovic S, Chilinski M, Plewczynski D, Rohlena J, Hirai H, Rohlenova K, Jorda MA. Hematopoietic stem cells undergo a lymphoid to myeloid switch in early stages of emergency granulopoiesis. *EMBO J*, 42(23): e113527, 2023.