

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 峯畑 健一

本論文は、AGM 領域の初代培養系を用いたマウス胎仔の造血発生におけるサイトカインの関与について述べられている。また、この初代培養系において、造血細胞の増幅に OncostatinM (OSM)が必須である。このサイトカインの *in vivo* における造血への関与を解明するために、遺伝子欠損マウスを用いて解析した。

まず始め(第3章)に、成体型造血の起源である AGM (aorta-gonad-mesonephros) 領域の初代培養系を用いて、造血発生における M-CSF の作用とそのメカニズムについて述べられている。M-CSF を欠いたマウス(*op/op* マウス)を用いて、AGM 領域の初代培養を行ったところ、未分化な血液細胞が多く含まれていた。付着細胞から産生される造血サイトカインの低下が認められる一方で、この培養系で存在する血液細胞と血管内皮細胞の共通前駆細胞であるヘマンジオブラストでの、Flk-1, VE-cad, ICAM-2 の発現が低下していた。VEGF の受容体である Flk-1 を阻害した場合、*op/op* マウスで見られた場合と同様に、未分化な血液細胞が増加していた。さらに、ヘマンジオブラストと考えられる細胞集団に M-CSF を作用させると、より成熟した血管内皮細胞へと分化することから、M-CSF は AGM 初代培養において、Flk-1 の発現を調節することによって、VEGF の作用を二次的に調節しており、血液細胞の増幅、正常な分化を支えていることが明らかとなった。

次に第4章では、先に述べた初代培養系において、造血細胞の増幅に必要な遺伝子である OSM の遺伝子欠損マウスの解析を行っている。この遺伝子欠損マウスは、培養系で得られた様な知見とは一致せず、生後も正常に発達することがわかった。しかしながら、このマウスの骨髄における造血は、正常個体に比べて、赤血球系の前駆細胞と巨核球系の細胞集団の低下が認められた。OSM の受容体である OSMR $\beta$ は、巨核球系の細胞に発現していることから、巨核球の発生に対しては、直接的に作用していることが考えられた。一方で、赤血球

系の細胞に対して、OSM は増殖やコロニー形成に作用しないことがわかった。このことから、赤血球系の細胞に対して、OSM は骨髄支持細胞を介して作用していることが予想された。実際、OSM は骨髄から得られた付着細胞に対して、増殖、あるいは増殖阻害作用があることが認められている。さらに、OSM 遺伝子欠損マウスの CFU-F が増加や脂肪を蓄積するような薬剤に対して感受性が上昇しているといった異常が認められている。

また、一方で第二の造血組織である脾臓においては、正常マウスよりもその造血は亢進しており、骨髄での造血低下によって二次的に髄外造血が亢進していることが示唆された。このような現象は、他の IL-6 サイトカインファミリーの遺伝子欠損マウスで認められている異常とは微妙に違っており、OSM の *in vivo* での造血作用が、他のファミリーのサイトカインと違うことを示唆している。

造血系に異常を持つ遺伝子欠損マウスや変異マウスを用いた解析は、その原因となる組織の同定や、分子メカニズムに関して未だ不明な点が多い。論文提出者は初代培養系を用い、成体型造血の起源である AGM 領域における造血機構に対する *in vitro* での M-CSF の作用機構について解明した。また、IL-6 サイトカインファミリーの一つである OSM の遺伝子欠損マウスを用いて、その造血に関する作用を *in vivo* で解明した。この様に、論文提出者が行った研究から得られた知見は、血液学の分野に大きく貢献するものと考えられる。

なお、本論文の第3章の内容は、向山洋介、関口貴志、原孝彦、宮島篤との共同研究として、*Blood* に発表したが、本研究においては論文提出者が主体となって実験および考察を行っている。同様に、第4章の内容は、竹内眞樹、関根圭輔、関口貴志、平林陽子、井上達、Peter J. Donovan、原孝彦、宮島篤との共同研究として、投稿準備をしているが、論文提出者が主体となって行った実験である。従って、論文提出者の寄与が十分であると判断し、博士（獣医学）の学位を授与できると認める。