

審査の結果の要旨

氏名 市川 幹

本研究はほ乳類の造血において重要な役割を演じていると考えられる転写因子 AML1 の成体造血における機能を明らかにするため、近年申請者の所属教室で開発された Cre-loxP 系を用いた AML1 コンディショナルノックアウトマウスを用いて誘導的 AML1 欠損マウスを作成し、成体型造血における AML1 の機能を明らかにしようとしたものであり、次の結果を得ている。

1. 成体マウスにおいて AML1 遺伝子を誘導的に欠損させたところ、遺伝子欠損誘導の直後から末梢血での血小板数は正常の 1/3 から 1/5 に低下し、6 週間以上に渡って血小板減少が持続した。
2. 上記マウスにおいて骨髓像を観察したところ、血小板前駆細胞である成熟型巨核球は著明に減少していた。ところが巨核球特異的なアセチルコリンエステラーゼ染色にて骨髓細胞を観察したところ、小型で未熟な巨核球はむしろ増加しており、骨髓の巨核球の成熟に障害があることが示された。透過型電子顕微鏡像では、骨髓の巨核球は正常対照と比較してその細胞質の成熟、特に血小板分離膜の形成に障害が見られ、AML1 欠損による血小板減少の原因が骨髓巨核球自体の成熟障害に起因する可能性が示唆された。それらの傍証として、AML1 欠損マウスの血清トロンボポイエチン濃度に明らかな低下が認められないこと、骨髓細胞中に実際に巨核球コロニー形成能をもつ AML1 欠損細胞が増加し、またそのコロニー形成細胞が *ex vivo* においても未熟な形

態を示すことが示された。

3. 巨核球の成熟障害について、申請者はフローサイトメトリーを用いて巨核球特異的な生物現象である多倍体化について評価した。AML1 欠損骨髄においては多倍体化が障害されており、AML1 欠損による巨核球の成熟障害が別の角度から示された。
4. 申請者はこれらの結果から骨髄細胞における巨核球の分化・成熟にかかわる遺伝子の発現を RT-PCR 法にて評価し AML1 の標的となる遺伝子を同定しようとしたが、これまでに知られている因子で明らかに発現に変化があるという知見は得られず、新たな機序の発見の必要性を示した。

以上、本論文は成体マウスにおいて誘導的に AML1 遺伝子を欠損させることによって、巨核球の成熟に AML1 が必須であることを示した。これまでに AML1 遺伝子の異常により血小板数に異常が見られるヒトの疾患が知られるなど、AML1 の成体型造血における機能の解明が重要であると考えられるにもかかわらず、この遺伝子については細胞株を用いた以外の解析がほぼ皆無であった。本研究はより生理的な系において AML1 の成体型造血における機能を解析し、その一端として巨核球の成熟障害を証明したものであり、この系が今後の成体型造血における転写因子の機能解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。