

審査の結果の要旨

氏名 細井 雅孝

本研究は成人の難治性血液疾患である骨髄線維症の疾患モデル構築を行うため、2次性骨髄線維症患者細胞を人工多能性幹細胞(iPS細胞)へとリプログラミングを行い再分化する系を確立したものであり、下記の結果を得ている。

1. JAK2V617F変異が陽性の2次性骨髄線維症患者細胞より初めてiPS細胞を樹立し、その未分化性・多分化能を確認した。具体的には2次性骨髄線維症患者末梢血にレトロウイルスによるKLF4、C-MYC、OCT4、SOX2の4因子を導入し、樹立期にバルプロ酸を加えることでiPS細胞を樹立した。形態学的な評価、未分化マーカーとなる転写因子(内因性KLF4、内因性c-MYC、内因性OCT4、内因性SOX2、NANOG)のmRNA発現評価、NANOGのゲノムプロモータ領域の脱メチル化、未分化マーカーとなる表面抗原(TRA-1-60、SSEA-4)の免疫染色での確認、NOD-SCIDマウスにおける奇形腫形成能の評価を行ったところ、樹立した骨髄線維症患者由来iPS細胞(MF-iPS細胞)は既報の疾患由来iPS細胞、正常細胞由来iPS細胞、ヒトES細胞と同等の未分化性を示した。

2. MF-iPS細胞におけるJAK2 V617F変異を確認したところ、約半数でJAK2 V617F変異をホモで保持していることが示された。

3. MF-iPS細胞がiPS-Sac法により血球に再分化可能であることを示された。iPS-Sac法による血球再分化時に、JAK2 V617F陽性クローンはJAK2正常型クローンに比べ有意に血球産生能が高いことが示された。またMF-iPS細胞に由来する血球前駆細胞は正常臍帯血由来iPS細胞と比してコロニー形成能が有意に劣ること、骨髄球系マーカーをより強く発現することを示した。MF-iPS細胞に由来する血球前駆細胞は臍帯血由来iPS細胞に由来する血球前駆細胞と比して赤芽球系への分化能に劣ることも示された。

以上、本論文は難治性血液疾患由来 iPS 細胞の初めて作成に成功し、血球への再分化により疾患 iPS 細胞を用いた疾患モデルの作成を行った。本研究はこれまで患者細胞の利用が困難であった難治性疾患において患者細胞による研究を可能とすることで、病態の解明や治療法の解明に貢献しうるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。