

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 正本 庸介

本研究は造血における脂肪細胞の役割を明らかにするために、脂肪細胞の分泌するタンパク質ホルモンである adiponectin に注目し、adiponectin ノックアウトマウス ( $adipo^{-/-}$ )の造血系における表現型を解析したものであり、以下のような結果を得ている。

1. *in vitro* では adiponectin 添加により造血幹細胞・前駆細胞の増殖が抑制されたが、造血細胞の adiponectin 受容体をノックダウンして致死量照射したマウスに移植すると造血再構築が遅延したことから、*in vivo* では adiponectin 受容体を介したシグナルが増殖を促進している可能性が示された。
2.  $adipo^{-/-}$ マウスは、血算、末梢血白血球分画、骨髄細胞分画、表面抗原発現パターンによる造血幹細胞分画の割合、*in vitro* でのコロニー形成能、競合的造血再構築アッセイによる造血幹細胞の頻度などにおいていずれも異常が見られず、adiponectin は定常造血において欠失可能と考えられた。
3.  $adipo^{-/-}$ マウスでは、細胞周期依存性代謝拮抗剤 5-FU 投与後の末梢血顆粒球、骨髄造血細胞数の回復が有意に遅延し、5-FU 投与後に細胞周期に入る造血幹細胞の減少と関連していた。細胞周期に入った造血幹細胞を枯渇させる目的で 5-FU の連続投与を行ったところ、 $adipo^{-/-}$ マウスでは生存期間が有意に延長し、 $adipo^{-/-}$ マウスでは 5-FU 投与後の造血幹細胞の細胞周期への誘導が起こりにくいことが示された。
4.  $adipo^{-/-}$ マウスでは G-CSF 投与モデルにおいて、骨髄造血細胞の増殖、骨髄球系コロニー形成細胞の増加、造血細胞の細胞周期への誘導などの反応がいずれも減弱した。 $adipo^{-/-}$ マウスの骨髄細胞を  $adipo^{+/+}$ マウス由来の造血細胞で置換したキメラマウス

を作製して G-CSF を投与した場合にも同様の表現型が再現され、G-CSF への反応性増強には血球由来ではなく骨髄環境中の adiponectin が重要であることが示唆された。

5.  $adipo^{-/-}$ マウスに G-CSF を投与すると、表面抗原発現パターン上も、in vitro でのコロニー形成試験や競合的造血再構築アッセイなどの機能的な評価系においても、末梢血に動員される造血幹細胞・前駆細胞が減少していた。未分化な細胞を多く含む LSK (Lineage-, c-kit+, Sca-1+) 分画や、造血幹細胞を濃縮する CD150+ CD48- LSK 分画において、 $adipo^{-/-}$ マウスでは G-CSF 投与後の細胞周期への誘導効果が減弱していたことに関連していると考えられた。

6. G-CSF シグナルの重要性が知られている *Listeria monocytogenes* 感染症モデルにおいて、 $adipo^{-/-}$ マウスでは、骨髄中の骨髄球系細胞の増殖、腹腔内への白血球の遊走、脾臓・肝臓での生菌数の抑制などの感染応答がいずれも有意に減弱しており、adiponectin は G-CSF 依存性の感染応答に必要であることが示唆された。

7. 骨髄造血細胞に in vitro で adiponectin を添加して G-CSF で刺激すると、G-CSF 依存性の Stat3 のリン酸化が亢進した。 $adipo^{-/-}$ マウスから採取した直後の造血細胞に in vitro で G-CSF の刺激を加えると、 $adipo^{+/+}$ マウスと比較して Stat3 のリン酸化が減弱していた。また in vivo で G-CSF または *L. monocytogenes* を投与した場合にも、 $adipo^{-/-}$ マウスの骨髄球系細胞では Stat3 のリン酸化が減弱していた。キメラマウスを用いた解析も合わせて、骨髄環境中の adiponectin が、G-CSF による効率的な Stat3 のリン酸化に必要であることが示された。

以上、本論文は adiponectin の造血における機能解析から、脂肪細胞由来の分泌因子である adiponectin が、造血細胞の増殖および末梢血中への動員に促進的に作用することを示した。本研究は骨髄における脂肪細胞の作用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。