

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 成

本研究は、クローン性造血で高頻度に認められる *ASXL1* 遺伝子の変異が心血管疾患に寄与する機序を明らかにするため、変異型 *ASXL1* コンディショナルノックイン (*ASXL1*-MT cKI) マウスを用いた系にて、この問題に炎症という観点からアプローチし、下記の結果を得ている。

1. *Vav*-cre: *ASXL1*-MT cKI マウスでは、高脂肪食 (High Fat Diet; HFD) 投与によって炎症性単球 (Inflammatory Monocytes) が著明に増加していた。競合的移植実験より、*ASXL1*-MT cKI マウス由来造血は短期間では野生型細胞に造血再構築能で劣るものの、骨髄球系分画においては緩徐な増加を来し、高脂肪食によって全ての白血球分画におけるクローンの拡大が促進された。特に炎症性単球分画における増加が顕著であったことから、動脈硬化との関連が示唆された。
2. *Vav*-cre: *ASXL1*-MT cKI マウス由来骨髄を移植した *Ldlr* ノックアウトマウス (*Ldlr*^{-/-}) では、野生型マウス由来骨髄を移植した群と比較して有意に大動脈及び大動脈弁の動脈硬化病変が増大していた。骨髄球系細胞特異的に発現する *LysM*-cre: *ASXL1*-MT cKI マウスでは白血球分画において野生型との変化を認めなかったものの、*Ldlr*^{-/-}への移植では大動脈弁の動脈硬化病変が増大していた。この結果から、*ASXL1* 変異由来造血では炎症性単球の数的増加以外に、動脈硬化病変形成に寄与する単球・マクロファージの機能異常を来している可能性が示唆された。
3. 動脈硬化病変では炎症性単球から分化したマクロファージが炎症性から組織修復性へと分化し、プラークの安定化に寄与することが知られている。*ASXL1*-MT を発現するマクロファージでは、TNF- α や IL-1 β などの炎症性サイトカイン産生が亢進していた。また Toll-like receptor (TLR)-NF- κ B 炎症性シグナル伝達経路の指標となる TRAF6 のポリユビキチン化も亢進していた。TLR 及び NF- κ B-GFP レポーターを発現する Ba/F3 細胞 (Ba κ B cell) を用いたレポーターアッセイでは、*ASXL1*-WT を発現させると NF- κ B 発現は抑制され、*ASXL1*-MT を発現させると NF- κ B 発現が促進された。したがって、*ASXL1*-WT は TLR-NF- κ B 炎症性シグナル伝達経路に対して抑制的に働き、*ASXL1*-MT は促進的に働くと考えられた。

4. 炎症性単球の増加やマクロファージの炎症性表現型への偏倚の原因を追求するため、5-Ethynyl-2'-deoxyuridine(EdU)による単球のラベリングを行い継時的に採血して解析を行ったところ、ASXL1-MT cKI マウスでも常在性単球は野生型マウスと同様に分化していた。しかしラベルされた炎症性単球の減少が遅延していることや、表面マーカーで単球分化の指標となる CX3CR1 発現が低下していることなどから、部分的に分化の抑制が起こることで単球機能に異常を来している可能性が示唆された。炎症性単球から常在性単球への分化並びに常在性単球の維持に重要な遺伝子である Nr4a1 の発現を定量 PCR で比較したところ、ASXL1-MT cKI マウスの単球では各分化段階において低下しており、その機能異常に寄与していると考えられた。

以上、本論文は ASXL1-MT cKI マウスを用いた解析により、ASXL1 変異由来クローン性造血が高脂肪食によってクローン拡大を促進され、動脈硬化を促進することを明らかにした。本研究の結果は、ASXL1 変異を有するクローン性造血と心血管疾患との関連の解明、ならびにその予防や治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられる。よって本論文は博士(医学)の学位請求論文として合格と認められる。