

審査の結果の要旨

氏名 林 康貴

本研究は *Abcg2* 強制発現による骨髄異形成症候群 (MDS) モデルマウスを用い、MDS/AML 細胞が骨髄微小環境に与える影響と、影響を受けた微小環境の病態への寄与について解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. *Abcg2* 強制発現による MDS/AML モデルマウス骨髄細胞のフローサイトメトリー及びコロニー形成アッセイの結果から、遺伝子異常のない正常造血細胞において、造血の抑制が確認された。MDS/AML 細胞と正常造血幹/前駆細胞との共培養による解析から、正常造血の抑制は、周辺環境を介した間接的な影響であると考えられた。
2. MDS/AML マウス骨髄病理標本の解析、マイクロ CT 解析の結果から、MDS/AML マウスにおいて骨量の減少が見られた。カルセイン二重標識、TRAP 染色の結果から MDS/AML 細胞による骨量の減少は骨形成の抑制が主たる原因となっていることが分かった。
3. 骨形成抑制の原因として、MDS/AML マウス由来骨髄間質細胞 (MSC) のシングルセル qRT-PCR、骨髄の蛍光免疫染色の結果から、MSC の骨芽細胞への分化障害が考えられた。また MSC より分泌され、骨芽細胞分化を促進することが知られる *Bmp4* の遺伝子発現の低下が確認された。
4. 骨芽細胞分化の障害を起こしたと考えられる MDS/AML マウス由来 MSC において、造血支持能の低下が見られた。In vitro において MSC の骨芽細胞誘導培地、BMP4 により骨芽細胞への分化を誘導することで、MDS/AML 由来 MSC の造血支持能の回復が見られた。また in vivo において、MDS/AML 細胞除去後の MDS/AML マウスに造骨促進作用をもつ PTH (1-34) を投与することにより、生存期間の延長が確認された。
5. MDS/AML モデルマウスにおいて見られた骨量の減少は、東京大学医科学研究所附属病院における MDS 患者 CT 検査データを用いた解析においても同様の傾向が観察された。また MDS 患者由来 MSC の RNA シークエンスのパブリックデータベースから、BMP4 の発現低下が見られることが分かった。
6. 細胞外小胞 (EV) のマーカー遺伝子と GFP の融合タンパクを発現させた MDS/AML 細胞を用いた解析から、EV が MSC の造血支持能に影響を及ぼしていることと考えられた。MDS/AML 細胞由来の EV を MSC に作用させることにより、MSC の造血支持能の低下が見られたことから、MDS/AML マウスにおいて正常造血が抑制

される原因として、EV がその一端を担っていることが示唆された。

以上の結果より、本論文では MDS、MDS/AML において正常造血が抑制されている原因が、MSC の骨芽細胞への分化障害による造骨抑制である可能性が示唆された。また、MSC に異常を引き起こす原因として MDS/AML 細胞より放出される EV の関与が示唆された。本研究は MDS、MDS/AML における骨髓微小環境の変化とその原因の解明、骨髓微小環境を標的とした治療法の開発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。