

# 論文審査の結果の要旨

氏名 頼 貞儀

本論文には、造血幹細胞の骨髄再構築過程において CXCR4 が演じる役割を解明すべく、純化したマウス造血幹/前駆細胞を被験材料とし、gain-of-function および loss-of-function スタディを合せて行った研究成果がまとめられている。Chapter ごとに整理されており、研究結果は Chapter 3 をさらに細分化する形で記述される。

Chapter 1 (Introduction) では造血幹細胞の基本特性、ヒトでの移植源としての有用性が述べられ、移植後に骨髄に移動し、その後自己複製と分化のバランスの下に分裂しつつ骨髄を再構築し、末梢に血球細胞を放出するに至る、造血再構築の多段階プロセスについて説明される。次に CXCR4 の説明がなされ、造血システムにおけるこのレセプターの役割についての既報に基づく解説と、多くの知見がある中で今、本研究を行う意義について述べられる。

Chapter 2 (Materials and Methods) では、研究材料、研究技術と各種評価系について詳細に説明される。特に本論文における独自性を担保する、高力価ウイルスベクターを用いた遺伝子導入システムと、stepwise な gain-of-function スタディを可能にする Cxcr4 の C 末欠損変異体 ( $\Delta$ C-Cxcr4) について詳しく説明される。

Chapter 3 (Results) では、最初に gain-of-function スタディに用いた遺伝子導入システムの有用性、妥当性について、純化した造血幹細胞と造血細胞株を用いて検証している。野生型 Cxcr4、 $\Delta$ C-Cxcr4 の過剰発現が確認され、それに伴う SDF-1 への反応性増強が migration アッセイ、フィーダー細胞の colonization 能等により示される。特に  $\Delta$ C-Cxcr4 については、WHIM 患者でみられる CXCR4 の C 末欠損を模倣して作製されたが、それにより予測される特性 (シグナル増強に結びつくリガンド刺激下における脱感作抵抗性) の保持が証明されている。

続いて、この stepwise gain-of-function システムを用いて造血幹細胞における Cxcr4 シグナルの増強が、造血再構築過程の生体内挙動に与える影響について分析している。結果、移植後 4~24 時間に骨髄にホーミングする能力、その後 1 週程骨髄内で分裂し前駆細胞を増やす early repopulation 能には変化無く、続く 2~3 週の短期造血再構築が Cxcr4 シグナル増強により促進することが示される。この再構築促進は長期レシピエントの骨髄内でも明らかであったが、論文提出者は多染色フローサイトメトリー法を用いて、この増強が最も未分化な造血幹細胞分画においても起きる可能性を述べている。しかしながら骨髄での再構築増強とは逆に、Cxcr4 シグナル増強マウスの末梢血では移植細胞に由来する成熟細胞が減る現象も示される。

これらの結果は、引き続きコンディショナル KO マウスを用いた loss-of-function スタディにより検証される。すなわち、骨髄再構築過程における造血幹細胞中の Cxcr4 シグナルの重要性は、骨髄ホーミングから 1 週の early repopulation までは示されず、移植後 2~3 週の短期再構築期において明らかであった結果が示される。

Results には Cxcr4 シグナル増強による再構築促進のメカニズムについての検討結果が含まれる。注目すべきは、SDF-1 刺激によるシグナル解析の結果であり、フローサイトメトリー法によって、Erk のリン酸化が $\Delta$ C-Cxcr4 発現細胞において増強されまた遷延することが示される。

Chapter 4 (Discussion) では、本論文における知見が過去の報告と比較して述べられる。特に「造血幹細胞の骨髄ホーミングには CXCR4 シグナルが必須」とのコンセンサスがある中で、それを一部否定する結論を導き出した点について、既報の研究と本研究とを詳細に分析比較することで、必ずしも矛盾が無いことを説明している。最後に骨髄再構築の過程ごとにおける Cxcr4 の重要性をまとめ、造血幹細胞移植を改良するためのシグナルへの介入は時期特異的に行うべきとの警鐘が述べられている。

Chapter 5 (Conclusion) では本論文の内容が簡潔にまとめられ、その上で、本成果に続くさらなる発展研究の必要性と研究成果の臨床への還元における有用性について記述されている。

以上は、本学博士論文として十分な内容であり、論文提出者は研究の立案および実施、結果の分析、論理展開等、研究活動を継続するに十分な能力を修得したものと考えられるため、博士（生命科学）の学位を授与することを認める。

以上 1950 字