

# 論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 郁

本論文は5つの章からなる。第一章での序章に続き、第二章では材料と方法、第三章では研究結果、第四章では考察、第五章では結論が記述されている。

成体造血は主に骨髄が担っている。骨髄環境の異常は、貧血や汎血球減少などの障害を引き起こすため、骨髄造血環境の維持は生体の恒常性維持のために不可欠である。オンコスタチン M (OSM) は、成体マウスでは骨髄や脾臓等の造血器官で強く発現している。申請者の所属研究室では、OSM 受容体欠損マウス (OSMR KO) では、野生型マウス (WT) と比べ、骨髄中の造血前駆細胞が少なく、末梢血中の赤血球数と血小板数が減少していることを報告している。更に、OSMR KO マウスに WT マウスの造血幹細胞を移植しても、その症状は改善されないことから、OSM は骨髄の造血環境の維持に寄与すると考えられてきた。しかしながら、OSM による骨髄造血環境の制御機構は不明であった。一方、造血系以外での OSM の作用として、細胞株を用いた *in vitro* における解析から、OSM が脂肪細胞への分化を強く抑制することも報告されている。以上の背景から、申請者は、OSM は、骨髄中で間葉系幹細胞 (MSC) に作用し、脂肪細胞分化を抑制することで、造血ニッチ細胞の一つとされている骨芽細胞への分化を促進し、造血環境の形成と維持に関わる可能性を考えた。

OSM KO マウスでは、骨髄構成細胞のターンオーバーに伴い脂肪細胞が増加することが考えられた。実際に、加齢マウスの骨髄を Oil red O で染色した結果、WT では脂肪細胞が認められない一方で、OSM KO マウスの骨髄では脂肪細胞が認められた。RT-PCR 法により成熟脂肪細胞分化マーカーである Adipsin 及び Perilipin の発現を検討すると、OSM KO マウスでは高発現していた。更に、加齢マウスの骨髄造血能について検討した結果、WT に比べて OSM KO マウスでは、赤血球数、白血球数、及び血小板数が有意に減少していた。

そこで、OSM の作用機序を明らかにするため、成体マウス骨髄から造血環境に寄与するとされる MSC を調製し、OSM の添加あるいは非添加の条件下で脂肪細胞へ誘導培養した。Oil red O 染色の結果、OSM 添加条件下では脂肪細胞が認められず、Adipsin と Perilipin の発現においても、OSM の添加により発現が強く抑制されていた。以上の結果より、OSM は骨髄 MSC の脂肪細胞分化を *in vitro* において強く抑制することが示された。

一方、骨芽細胞分化に及ぼす OSM 作用を明らかにするため、OSM の添加あるいは非添加の条件下で MSC の分化誘導培養を行った。骨芽細胞分化における初期分化マーカー

である Alkaline phosphatase, Osteopontin, および終末分化マーカーOsteocalcin の発現を検討した。OSM 添加条件下では、初期分化マーカーの発現が早期に誘導されるのみならず、高発現を維持した。その一方で、Osteocalcin の発現は誘導されなかった。以上の結果から、OSM は骨芽細胞への分化を促進する一方で、終末分化は抑制することが明らかとなった。そこで、OSM により誘導された未成熟骨芽細胞の造血支持能を、造血幹細胞との共培養により検討した。その結果、共培養後の造血幹細胞の割合が高く、その数も維持されることが示されたことから、OSM により誘導された未成熟骨芽細胞は、造血幹細胞の維持に寄与することが示唆された。

そこで、申請者は、OSM 投与が、骨髄傷害後の脂肪髄化及び末梢血の回復に治療効果を示す可能性を考えた。X 線照射による骨髄移植モデルにおいて OSM を頻回投与した結果、コントロール群では骨髄内に脂肪細胞の著しい蓄積が認められる一方で、OSM 投与群の骨髄では、脂肪細胞は極めて少ないことが示された。更に、OSM 投与群では、白血球数、血小板数、及び赤血球数が有意に高く、骨髄傷害からの造血能の回復が早いことが示唆された。以上の結果から、OSM 投与により、脂肪髄化の進行が抑制され、骨髄造血能の回復を早期に誘導できる可能性が示された。

本研究により、OSM は骨髄 MSC の脂肪細胞分化を強く抑制し、骨芽細胞分化を促進する一方で終末分化は抑制することが明らかとなった。OSM により誘導された未成熟骨芽細胞は高い造血支持能を有し、造血環境の維持に寄与することが示された。更に、OSM の投与は、骨髄傷害後の造血の回復へ治療効果を有する可能性が示された。

なお、本論文は、宮岡佑一郎、宮島篤、田中稔との共同研究であるが、申請者が主体となって実験および考察を行ったものであり、申請者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1 9 6 0 字