

京都大学	博士（医学）	氏名	内山 達樹
論文題目	The role of growth differentiation factor 15 in the pathogenesis of primary myelofibrosis (原発性骨髄線維症の病態における Growth differentiation factor 15 の役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>成長分化因子 15 (GDF15; growth differentiation factor 15) は TGF-<math>\beta</math> スーパーファミリーに属する多彩な生物学的特性を示すサイトカインで、さまざまな悪性腫瘍の患者において血中濃度が上昇していることが知られている。しかしながら、その受容体はいまだ同定されておらず、シグナル経路や機能についても不明な点が多い。</p> <p>血液腫瘍における GDF15 の役割を明らかにするために、さまざまな血液疾患患者 128 例の血清 GDF15 濃度を ELISA 法により測定した。その結果、測定したすべての血液疾患において、血清 GDF15 濃度が健常者 (505 pg/mL) と比較して有意に上昇しており、とくに原発性骨髄線維症 (PMF) 患者で極めて高値であった (5425 pg/mL)。PMF 患者の骨髄組織標本を用いて GDF15 の発現を免疫組織染色で評価したところ、巨核球に一致して高発現が見られた。巨核球の GDF15 発現は本態性血小板増多症や骨髄に病変を認めない他の疾患においても組織学的に認められた。また、赤白血病細胞株 (HEL) を Diosgenin あるいは phorbol-13 myristate-12 acetate 刺激によって巨核球系へ分化させたところ、GDF15 の mRNA や蛋白の産生亢進が定量的 RT-PCR 法と ELISA 法で認められた。</p> <p>次に、GDF15 のヒト由来骨髄間葉系ストローマ細胞 (hBM-MSC) が持つ CD34 陽性造血前駆細胞 (CD34+ HPC) の増殖支持能への影響を検討した。hBM-MSC と CD34+ HPC の共培養系において、GDF15 存在下で培養した hBM-MSC は、GDF15 非存在下で培養した hBM-MSC と比べて CD34+ HPC の増殖を有意に促進した。</p> <p>PMF の特徴である線維化に対する GDF15 の影響を、ヒト皮膚由来線維芽細胞 (NHDF) を用いて検討した。GDF15 は TGF-<math>\beta</math> と同様に NHDF の増殖を促し、その効果は GDF15 の中和抗体で抑制された。GDF15 は NHDF の ERK1/2 の一過性のリン酸化を誘導した。しかしながら、GDF15 には、TGF-<math>\beta</math> にみられるような細胞外基質 (コラーゲンなど) を増加させる方向への、遺伝子発現変化をもたらす作用は認めなかった。</p> <p>さらに、PMF の別の特徴である骨硬化への GDF15 の影響について検討した。GDF15 で持続的に刺激した hBM-MSC は Alizarin red S で染色される石灰化物沈着が有意に増加していた。また、immunoblot 法で骨分化マーカーである Runx2 および Osterix の蛋白発現が増加していた。GDF15 が hBM-MSC の骨</p>			

形成能を増強することを in vivo で確認するため、GDF15 存在下で培養した hBM-MSC とハイドロキシアパタイトを混和して免疫不全マウス (NOD/SCID) の皮下に移植した。その結果、GDF15 非添加 hBM-MSC を移植した場合に比べて有意に多くの骨の形成がみられた。

以上の結果から、①PMF 患者では血清中の GDF15 が著明に増加していること、②骨髄巨核球が GDF15 の産生細胞の一つであること、および、③GDF15 は hBM-MSC に作用して骨芽細胞への分化、および造血前駆細胞の増殖支持能力の増強をもたらすことが示された。つまり、PMF の病態形成に GDF15 が影響を与えている可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

GDF15 は、さまざまな悪性腫瘍で血中濃度が上昇することが知られているサイトカインであるが、生体内機能、受容体、シグナル経路など不明な点が多い。申請者は、ELISA 法によりさまざまな血液腫瘍患者の血清 GDF15 値を測定し、これらのうち特に原発性骨髄線維症 (PMF) で極めて高値となることを示した。また、PMF 患者の骨髄組織標本の免疫組織染色で巨核球が GDF15 を高発現していること、および、赤白血病細胞株を巨核球系へ分化させると GDF15 の mRNA 発現とタンパク産生が亢進することを示した。

PMF は、脾腫、末梢血中への芽球や赤芽球の出現、骨髄の線維化と骨硬化を特徴とする骨髄増殖性腫瘍で、腫瘍化した巨核球が産生するサイトカインによる間質の変化が主病態と考えられているが、申請者は、GDF15 が①共培養系で骨髄間質ストローマ細胞 (BM-MSC) の造血前駆細胞 (HPC) 増殖支持能を増強させること、②培養系で BM-MSC の骨芽細胞分化を誘導すること、③NOD/SCID マウスを用いた異種移植片モデルにおいて BM-MSC の骨形成を促すことを示した。

以上の研究は、PMF 患者で血清 GDF15 が著増し、骨髄巨核球が産生細胞の 1 つであること、および GDF15 が BM-MSC の HPC 増殖支持能と骨芽細胞分化を増強することを明らかにし、GDF15 の生体内機能や PMF の病態の解明に貢献するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 1 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降