京都大学	博士 (医学)	氏 名	吉岡 聡
論文題目	CCAAT/Enhancer-Binding Protein β Expressed by Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Regulates Early B-Cell Lymphopoiesis (骨髄間葉系ストローマ細胞に発現する転写因子 C/EBP β は初期 B 細胞造血を制御する)		
(論文内容の要旨) 初期 B 細胞造血は骨髄における造血細胞と骨髄微小環境の相互作用により制御されている。造血細胞においては E2A、early B cell factor などの転写因子が B 細胞分化を制御している。一方、骨髄間葉系ストローマ細胞 (bone marrow mesenchymal stromal cells: BMMSCs)は骨髄微小環境を構成し接着分子や液性因子の発現を介して B 細胞造血を支持しているが、これらを制御する転写因子についてはあまり知られていない。今回、顆粒球造血や脂肪細胞分化の制御に関与する転写因子 CCAAT/enhancer-binding protein β (C/EBP β) に着目し、BMMSCs が発現する C/EBP β の初期 B 細胞造血における関与を検討した。 C/EBP β ノックアウトマウスの骨髄 B 細胞サブセットをフローサイトメトリーを用いて解析した結果、野生型マウスと比較して前駆性 B 細胞分画が有意に減少していた。一方、野生型マウス及び C/EBP β ノックアウトマウス由来骨髄細胞を致死的放射線照射した野生型マウスに移植したところ、骨髄における B 細胞の再構築は同等であった。従って、C/EBP β ノックアウトマウスにおける前駆性 B 細胞の減少が造血細胞の異常に起因しないことが示された。そこで、C/EBP β ノックアウトマウス由来 BMMSCs を野生型マウス由来 c-Kit ⁺ Sca-1 ⁺ Lineage ⁻ 造血幹細胞 (KSL 細胞) と interleukin-7, Flt3-ligand, stem cell factor 存在下で共培養し、KSL 細胞の B 細胞への分化を解析した。その結果、野生型マウス由来 BMMSCs との共培養に比して前駆性 B 細胞への分化が有意に抑制されていた。これらの結果は、C/EBP β ノックアウトマウスにおける B 細胞造血の異常が骨髄微小環境を構成する BMMSCs の異常に起因することを示していた。次に B 細胞造血に関わる液性因子の C/EBP β 欠損 BMMSCs における発現を解析したところ、CXCL12/stromal cell-derived factor-1(SDF-1)の発現が有意に低下していた。リコンビナント CXCL12/SDF-1 の共培養上清への添加は KSL 細胞から B 細胞への分化抑制を十分に救援することができなかったが、KSL 細胞から分化した B 細胞数と共培養上清中の CXCL12/SDF-1 濃度との間に有意に正の相関が認められた。よって、C/EBP β 欠損 BMMSCs からの CXCL12/SDF-1 産生減少が、KSL 細胞からの B 細胞分化抑制に関与していると考えられた。 C/EBP β 欠損 BMMSCs に機能異常があることは、野生型 BMMSCs と比して骨分化、脂肪分化が抑制されていることから支持された。 最後に、BMMSCs に発現する C/EBP β が前駆 B 細胞性白血病 (急性リンパ性白血病: B-ALL) 細胞の増殖と生存を支持するかを検討した。マウス B-ALL 細胞株 BaF3/Bcr-Abl ^{p190} と C/EBP β 欠損 BMMSCs を共培養したところ、野生型 BMMSCs との共培養と比べて、BaF3/Bcr-Abl ^{p190} 細胞の増加を抑制していた。BaF3/Bcr-Abl ^{p185} 細胞の細胞周期には明らかな差は認められず、C/EBP β 欠損 BMMSCs との共培養では有意にアポトーシスが認められた。 以上のことから、転写因子 C/EBP β は骨髄微小環境を構成する BMMSCs の機能を制御し、初期 B 細胞造血に関与していることが明らかになった。また、B-ALL の病態に寄与する可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

B 細胞造血は骨髄微小環境の支持を必要とし、近年その構成細胞や関連分子群が明らかにされてきたが、これらを制御するメカニズムについては不明なことが多い。申請者は、骨髄微小環境を構成する骨髄間葉系ストローマ細胞 (BMMSCs) における転写因子 C/EBP β の発現と B 細胞造血への関与を検討した。

C/EBP β -KO マウスでは骨髄 B 前駆細胞が減少していることが報告されており、申請者は、BMMSCs で C/EBP β が発現していること、C/EBP β -KO マウスの骨髄細胞を野生型マウスに骨髄移植すると正常に B 細胞造血を再構築すること、C/EBP β -KO マウス BMMSCs の造血幹細胞との共培養による B 前駆細胞の産生は野生型 BMMSCs より低いことを示した。さらに C/EBP β -KO マウスの BMMSCs では B 細胞造血に必須である CXCL12 と Flt3 リガンドの発現が低下し、分化能が障害されていることを示した。以上より、BMMSCs の機能異常が C/EBP β -KO マウスの B 細胞造血異常に寄与することが示唆された。また B 細胞性白血病細胞株の増殖が C/EBP β -KO マウス由来 BMMSCs との共培養で抑制された。

申請者の研究は、骨髄微小環境で発現する転写因子 C/EBP β が初期 B 細胞造血を制御することを明らかにし、B 細胞造血や白血病の病態の解明に寄与するところが大きい。

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 25 年 12 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、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