

京都大学	博士（医学）	氏名	伊藤 健
論文題目	<b>Bone marrow endothelial cells induce immature and mature B cell egress in response to erythropoietin</b> (骨髄血管内皮細胞はエリスロポエチンに応答して B 細胞を骨髄から放出する)		
(論文内容の要旨) 骨髄は成人の主たる造血臓器であり、造血幹細胞から B 細胞、好中球、赤血球、血小板など様々な系統の血球が持続的に一定の割合で産生されている。この恒常性造血には、骨髄血管内皮細胞や間葉系支持細胞など、造血にかかわるサイトカインや接着分子を発現する骨髄の支持細胞（ストロマ細胞）を中心とする骨髄微小環境の働きが必須である。他方、貧血や感染症などの緊急時には、赤血球や好中球など必要とされる系統の血球産生が選択的に速やかに亢進する。しかし、この緊急時造血（emergency hematopoiesis）における骨髄微小環境の役割については、不明な点が多い。本研究で申請者は、マウスモデルを用いて急性貧血時の応答における骨髄ストロマ細胞の機能について解析を行った。 脱血または薬剤により急性貧血を誘導し、血球系の変化を詳細に解析した結果、貧血誘導後早期（4日以内）に骨髄中では、赤芽球の増加に加え、B 前駆細胞および成熟 B 細胞の著明な減少が起こることが明らかになった。これら B リンパ球系列の細胞は同時期に、脾臓および末梢血において有意に増加していることから、貧血に伴い骨髄中から末梢血中に放出される可能性が強く示唆された。貧血時には、赤血球造血を亢進させるエリスロポエチン（Epo）が腎臓で速やかに産生される。そこで健常マウスに Epo を投与したところ、24時間以内に貧血モデルマウスと同様、骨髄内における B 前駆細胞（特に未熟 B 細胞）および成熟 B 細胞の減少、およびそれらの末梢血中での増加が確認された。以上の結果から、貧血に伴う Epo の上昇に応答して、骨髄中の未熟 B 細胞、成熟 B 細胞は速やかに末梢血に放出されることが明らかになった。次に、Epo による B 細胞動態変化のメカニズムを明らかにする目的で、骨髄中の様々な血球およびストロマ細胞分画の Epo 受容体（EpoR）の発現量を qPCR 法にて比較検討した。血球分画では既知の通り赤芽球が EpoR を高発現していたが、B 細胞自体にはその発現を認めなかった。他方、ストロマ細胞分画では、血管内皮細胞が他のストロマ細胞分画に比し極めて高い EpoR の発現を示し、その発現量は他のストロマ細胞分画や他の諸臓器の血管内皮細胞と比較して極めて高値であった。この特性は骨髄の血管内皮細胞に特異的であることが示された。さらに、 <i>in vitro</i> において骨髄血管内皮細胞を Epo で刺激すると、EpoR の下流の主要なシグナル伝達分子である STAT5 のリン酸化が認められたことから、骨髄血管内皮細胞は、機能的 EpoR を発現していることが明らかとなった。定常状態で骨髄中の未熟 B 細胞および成熟 B 細胞は、ケモカイン CXCL12 や接着分子 VCAM1 の作用によって骨髄類洞血管周囲と血管内腔に保持されている。しかし、骨髄血管内皮細胞における <i>Cxcl12</i> の mRNA 量および細胞表面の VCAM1 の発現は、Epo 投与後早期に有意に低下することが明らかになった。他方で、赤芽球の分化を促進する <i>Il6</i> の発現量は著明に増加した。この結果は、Epo による血管内皮細胞の機能変化が、未熟 B 細胞、成熟 B 細胞の骨髄からの放出に寄与し、また赤芽球の分化を促進していることを強く示唆するものである。 以上本研究によって、骨髄微小環境の構成因子である血管内皮細胞が Epo を介して速やかに貧血を感知し、赤血球造血を亢進するとともに、B 細胞系列の動態をも制御することで emergency hematopoiesis を制御することが明らかになった。			

(論文審査の結果の要旨)

骨髄は、定常状態において様々な系統の血球を持続的に産生し、その造血機能には骨髄微小環境が重要な働きを示す。一方、貧血や感染症などの緊急時には、必要な系統の血球が選択的に産生されるが、緊急時の造血における骨髄微小環境の役割については不明な点が多い。

本研究で申請者は、失血あるいは薬剤性溶血による急性貧血に伴って、赤芽球系の造血亢進に加え、骨髄中の B リンパ球系細胞が速やかに末梢血中に放出されることをマウスモデルによって明らかにした。同等の応答は、エリスロポエチン (Epo) 投与によっても誘導された。Epo 受容体は B リンパ球系細胞には発現しないが、骨髄微小環境における血管内皮細胞に強く発現しており、Epo の投与によりケモカイン *Cxcl12* の遺伝子発現および接着分子 VCAM1 の細胞表面発現が、血管内皮細胞において有意に抑制されることが示された。さらに、赤芽球分化を促進する *Il6* の遺伝子発現も著明な増加を示すことが明らかにされた。これらの結果は、急性貧血時において骨髄血管内皮細胞が Epo 受容体を介して速やかに貧血を感知し、赤血球造血亢進に寄与するのみならず、B リンパ球系細胞の末梢への放出を促進することにより、緊急の造血動態の制御に重要な機能を果たしていることを示唆するものである。

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 30年 3月 2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