

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 坂井 俊介
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1050 号
学位授与の日付 令和4年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Loss of Atg2b and Gskip impairs the maintenance of the hematopoietic stem cell pool size.
(Atg2b と Gskip 遺伝子欠損は、造血幹細胞のプールサイズの維持を損なう)

論文審査委員 主査 教授 神吉 智丈
副査 准教授 瀧澤 淳
副査 准教授 中津 史

博士論文の要旨

骨髄増殖性腫瘍 (MPN) は、造血幹細胞由来の細胞が1つ以上の造血系譜において単一的に増殖することを特徴とする血液がんに属する。MPNの主要な臨床病理学的実体は、慢性骨髄性白血病、真性多血症、本態性血小板血症、および原発性骨髄線維症であり、これらはすべて、通常、特定の体細胞変異によって引き起こされる。MPNを引き起こす突然変異は、シグナル伝達経路、オートファジー、細胞代謝などの様々な細胞メカニズムを阻害することにより、造血幹細胞を、正常な造血幹細胞よりも生存率の高いMPN幹細胞に変化させることが提唱されている。多くの場合、早期疾患の患者は臨床的には目立たず、数カ月から数年にわたって診断されないままであるが、その間に異常細胞が徐々に正常な血液細胞に取って代わり、時には真正の急性白血病細胞に似た悪性細胞に変化することもある。

ATG2B と GSKIP は染色体 14q32 に位置しており、MPN を発症した西インド諸島の4つの家系では ATG2B と GSKIP を含む領域に生殖細胞のタンデム重複が確認された。これらの家系の遺伝学的解析により、ATG2B と GSKIP の生殖細胞重複が家族性骨髄性悪性腫瘍のリスクをもたらすこと、造血幹細胞において ATG2B と GSKIP が過剰発現すると造血前駆細胞の分化が促進されることが明らかになった。一方、MPN を発症した北米の家族の家系を遺伝学的に解析した結果、14q32 染色体の重複に伴う骨髄系悪性腫瘍症候群の発症には、ATG2B および GSKIP 遺伝子の生殖細胞重複は必要ないことが示された。従って、ATG2B と GSKIP の造血や MPN の発症への関与については、議論の余地がある。

今回、複数の遺伝子改変マウスを作製し、Atg2b、Gskip 単一あるいは両遺伝子の欠損がマウスの造血幹細胞のプールサイズ維持にどのような影響を与えるのかを解析するとともに、CRISPR-Cas9 により ATG2B と GSKIP 欠損ヒト白血病細胞株を作製し、オートファジー活性や遺伝子発現を調べた。その結果、Atg2b と Gskip の両方を欠損したマウスでは造血機能が低下し、貧血を伴って胎児期に死亡することが明らかになった。ATG2B と GSKIP が重複している MPN 患者とは対照的に、ダブルノックアウトマウスの胎児の肝臓では、細胞死が増加して造血幹細胞、特に長期造血幹細胞の数が著しく減少していた。残った造血幹細胞は造血前駆細胞に分化する能力を持っていたが、その分化効率は極めて低かった。Atg2b または Gskip を単独でノックア

ウトしたマウスでは、造血系の異常は見られなかった。ATG2B と GSKIP を欠損させたヒト白血病細胞株ではオートファジー活性に影響を与えない一方で、酸化リン酸化に関与する酵素をコードする遺伝子の発現が増加していた。今回の実験では、Atg2b と Gskip の間に遺伝的相互作用があり、オートファジーの制御を伴わない、現在のところ不明なメカニズムによって、造血幹細胞と造血前駆細胞の両方の維持に ATG2B と GSKIP が相乗的に作用していることが示された。今回の観察結果は、家族性 MPN および AML の分子メカニズムを解明する上でのヒントになると思われる。

審査結果の要旨

骨髄増殖性腫瘍 (MPN) は、造血幹細胞由来の細胞が1つ以上の造血系譜において単一的に増殖することを特徴とする血液がんであり、多くの場合早期診断が困難な場合が多く、時に真正の急性白血病細胞に似た悪性細胞に変化する。染色体 14q32 の ATG2B と GSKIP は、MPN を発症した4家系で両遺伝子を含む領域に生殖細胞タンデム重複が確認されたが、それらの造血や MPN 発症への関与については不明である。申請者らは複数の遺伝子改変マウスを作製し、Atg2b、Gskip 単一あるいは両遺伝子欠損が造血幹細胞のプールサイズ維持にどのような影響を与えるのかを解析し、さらに、CRISPR-Cas9 により ATG2B と GSKIP 欠損ヒト白血病細胞株を作製し、オートファジー活性や遺伝子発現を検討した。その結果、Atg2b と Gskip の両欠損マウスで造血機能が低下し、貧血を伴って胎児期に死亡することが明らかになった。また両欠損マウスの胎児肝臓では、特に長期造血幹細胞数が著減し、残存造血幹細胞も分化効率が極めて低かった。両遺伝子を欠損させたヒト白血病細胞株ではオートファジー活性に影響を与えない一方で、酸化リン酸化に関与する酵素の遺伝子群の発現が亢進していた。Atg2b と Gskip の間に遺伝的相互作用があり、造血幹細胞と造血前駆細胞の両方の維持に相乗的に作用していることが示された。以上、家族性 MPN および AML の分子メカニズムを解明する上で重要なヒントをもたらした点に本研究の博士論文としての価値を認める。