

## 論文審査の結果の要旨

氏名 石原純

本論文は 8 章からなり、第 1 章は Abstract、第 2 章は Introduction、第 3 章は Materials and Methods、第 4 章は Results、第 5 章は Discussion、第 6 章は References、第 7 章は Figures and legends、第 8 章は Acknowledgements について述べられている。

造血幹細胞は血球系の幹細胞であり、生体内ではニッチという場所でその機能が制御されていると考えられている。Nov/CCN3 は CCN ファミリーに属する Matricellular protein である。近年、造血幹細胞における Nov の発現は、造血幹細胞機能に関与することが報告されている (Gupta et al., *Science*, 2007)。また、Nov のタンパク質の培地添加は、ヒト造血幹細胞の未分化性の長期維持に寄与することが報告された。しかしながら、その機序は不明であった。Nov は液性因子であり、integrin  $\alpha\beta 3$  と結合することが知られている (Lin et al., *J Bio Chem.*, 2003)。造血幹細胞上の integrin  $\alpha\beta 3$  は造血幹細胞の機能維持に寄与することも示されていたため (Umemoto et al., *Blood*, 2012)、論文提出者は Nov は integrin  $\alpha\beta 3$  を介して造血幹細胞の長期骨髄再建能を制御するという仮説を立て、研究を遂行し、下記の結果を得た。

1. マウス造血幹細胞上の integrin  $\alpha\beta 3$  と rmNov との結合には、integrin  $\alpha\beta 3$  の活性化が必要であることを見出した。Thrombopoietin (TPO) によって活性化された造血幹細胞上の integrin  $\alpha\beta 3$  に、Nov が結合することを示した。

2. TPO 存在下で、造血幹細胞の骨髄再建能に対する recombinant mouse Nov (rmNov) の影響を移植実験で検討した結果、rmNov 添加により骨髄再建能は上昇していた。また、造

血幹細胞1個当りの骨髄再建能が上昇したことも示唆した。この rmNov 添加の影響は integrin  $\beta 3$  の outside-in signaling の阻害により消失した。従って、これらの結果から、Nov は TPO 存在下で integrin  $\alpha\beta 3$  との結合を介して integrin  $\beta 3$  outside-in signaling を誘導し、骨髄再建能を上昇させるという分子機序が考えられた。

3. TPO が造血幹細胞における Nov の発現レベルを維持することを示した。一方で、IFN $\gamma$  は STAT1 の活性化を介して Nov の発現を負に制御することも示唆した。これらの結果は、造血幹細胞における Nov の発現は同時に存在するサイトカインに強く依存するということを示唆している。

4. 造血幹細胞を TPO と IFN $\gamma$  の共存在下において rmNov で処理した後、移植実験に用いて骨髄再建能を検討した。その結果 IFN $\gamma$  存在下における rmNov 処理は、骨髄再建能を負に制御した。rmNov の添加は、培養後の造血幹細胞数を約3倍低下させていることも示した。また、この rmNov の負の効果は integrin  $\beta 3$  のノックアウトマウスから得た造血幹細胞では消失していた。これらの結果は TPO と IFN $\gamma$  の共存在下では、Nov と integrin  $\alpha\beta 3$  の結合が、上記2. の場合とは逆に骨髄再建能の抑制に働くことを示している。

以上より本論文は、初めて Nov がマウス造血幹細胞の骨髄再建能を制御する機序を示した。これは、造血幹細胞ニッチにおいて、Nov が骨髄再建能を制御するメカニズムの解明に大きく貢献すると考えられる。また、Nov/integrin  $\alpha\beta 3$  が長期骨髄再建能に与える影響は同時に存在するサイトカインに強く依存していた。これらは、造血幹細胞の効果的な体外増幅法の開発に向けて重要な知見であると考えられる。従って、博士(生命科学)の学位を授与できるものと認める。

以上 1182 字