



Title	Excessive Extramedullary Hematopoiesis in Cbfa1-Deficient Mice with a Congenital Lack of Bone Marrow
Author(s)	出口, 賢司
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41753
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	で 出 口 賢 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 6 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科社会系専攻
学 位 論 文 名	Excessive Extramedullary Hematopoiesis in Cbfa 1 -Deficient Mice with a Congenital Lack of Bone Marrow (先天的に骨髄を欠く Cbfa 1 遺伝子欠損マウスは肝・脾臓において過剰造血をきたす)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 崎 和 幸 (副査) 教 授 北 村 幸 彦 教 授 金 倉 譲

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

runtドメイン遺伝子ファミリーの1つであるCbfa1はその遺伝子欠損マウスの解析から骨形成および骨芽細胞分化に必須の遺伝子であることがわかった。そしてこの遺伝子欠損マウスは骨形成が障害されているのに伴い先天的に完全に骨髄が欠損していることも判明した。先天的に骨髄を欠損した場合、造血状態はどのように変化するのかを明らかにするためCbfa1 遺伝子欠損マウスの造血組織・造血能の解析をおこなった。

【方法および成績】

Cbfa1 遺伝子欠損マウスは出生直後に死亡するため胎生期の造血組織・造血能の解析をおこなった。

(1) まず初めに骨髄造血が関与する以前の成体型造血の発生初期における造血能を知るため胎生10.5日の卵黄嚢と胎生12.5日の肝臓に含まれる造血前駆細胞数を調べた。各々の組織に含まれる細胞を用い血清、サイトカイン (h-Epo、h-G-CSF、h-IL-6、m-GM-CSF、m-SCF、m-IL-3)、2 ME を含む半固形培地で Colony assay を実施したが、形成された colony 数、またその内容とも野生型とCbfa1 遺伝子欠損マウス間で有意な差は認められなかった。またCbfa1 遺伝子欠損マウスの胎生12.5日の肝臓も組織学的には特に異常を認めなかった。このことよりCbfa1 遺伝子は成体型造血の初期発生には関与していないものと考えられた。

(2) 次にマウスの正常発生では骨髄造血が始まるとされている胎生18.5日の造血組織・造血能の解析をおこなった。まず組織学的には野生型では骨髄腔が形成されてそのなかに血液細胞が認められた。この血液細胞を用い Colony assay を実施したところ colony 形成能を認め野生型では骨髄造血が始まっていることが確認された。しかしCbfa1 遺伝子欠損マウスは骨髄腔が全く形成されておらず血液細胞も認められなかった。

またCbfa1 遺伝子欠損マウスは骨格不全で腹腔容積も減少しているために肝臓が小さく細胞数で野生型の約 $\frac{1}{2}$ であった。しかし血管周囲により大きな造血巣を認め、肝スタンプ標本では顆粒球が増加していた。これは肝臓の細胞を用いたFlow-cytometric analysisでもMac-1、Gr-1陽性細胞の割合の増加として確認された。逆にCbfa1 遺伝子欠損マウスの脾臓は野生型にくらべ腫大し細胞数で約1.5倍以上であったが、脾細胞を用いたサイトスピン標本やFlow-cytometric analysisでは肝臓と同様、顆粒球の増加が確認された。

末梢血ではCbfa1 遺伝子欠損マウスは野生型にくらべ若干の貧血と10倍以上の有核細胞の増加を認めた。有核細胞の大半は有核赤血球であったが、野生型には見られない幼弱な赤芽球や骨髓球も出現していた。

そして胎生18.5日の肝臓・脾臓の造血能を知るため造血前駆細胞数を(1)と同様に Colony assay で調べた。その結果 Cbfa 1 遺伝子欠損マウスにおいて一定細胞数あたりの造血前駆細胞数は肝臓において 2 倍、脾臓において1.5倍と有意に増加していた。形成された colony の内容に両者で差はなく大半が myeloid 系の colony であった。

【総括】

Cbfa 1 遺伝子欠損マウスは成体型造血の発生初期にはその造血能に異常は認めないが、出生直前になり肝臓、脾臓において造血前駆細胞の増加、すなわち過剰髄外造血が起きていることが判明した。マウスの発生において肝臓から骨髄に造血の場が移るのは胎生17-18日とされている。またこの頃に脾臓でも造血が一部開始する。しかし Cbfa 1 遺伝子欠損マウスでは骨形成障害に伴い出生直前になっても骨髄腔が形成されず、造血前駆細胞の肝臓から骨髄への移行がおこなわれない。このため本来は肝臓から骨髄に移行するはずの造血前駆細胞が一部は肝臓に停滞し、一部は脾臓に移行し、そこで過剰造血を来しているものと考えられた。また骨髄では主に顆粒球造血が営まれておりこれを代償するため Cbfa 1 遺伝子欠損マウスは肝臓、脾臓で顆粒球の増加が起きているものと考えられた。

また Cbfa 1 遺伝子欠損マウスの末梢血の所見はヒトにおいて骨髄繊維症などで髄外造血をきたした時に認められる leukoerythroblastosis に酷似していることから肝・脾臓における過剰造血の結果と考えられた。

論文審査の結果の要旨

哺乳類では胎生後期に骨格が発達するのにともない血管が骨・軟骨内部に侵入し骨髄腔を形成する。そして肝臓から血行的に造血細胞がそこにたどりつき骨髄造血を営むとされている。したがって骨・軟骨の発達と造血能の構築は特に胎生期において極めて重要な関係にある。

本研究はこの重要性に注目し先天的に骨髄を欠損した場合どのように造血状態が変化するかを明らかにするため、骨形成障害にともない先天的に骨髄を欠いている Cbfa 1 遺伝子欠損マウスについて詳細に血液学的解析をおこなっている。本論文によれば Cbfa 1 遺伝子欠損マウスは成体型造血の発生初期（胎生10.5-12.5日）には異常を認めないが、出生直前の胎生18.5日になり肝臓、脾臓で造血前駆細胞の増加や顆粒球の増加、すなわち過剰髄外造血を認めた。マウスの発生において骨髄造血は胎生17-18日に始まりそこでは顆粒球造血が中心となるが Cbfa 1 遺伝子欠損マウスの場合、骨髄腔が形成されないため本来肝臓から骨髄に移行するはずの造血前駆細胞が肝臓に停滞し、また一部は脾臓に定着しそこで過剰髄外造血を起こしたものと考えられた。

哺乳類では骨格発生と造血発生は密接に関係しており、その関係を解明するにあたり本研究は極めて示唆に富む研究である。よって本論文は学位授与に値するものと考えられる。