

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 加藤 章一郎

2 論文題目

骨髄線維症における線維化誘導機序と治療標的の研究

3 目的

網羅的遺伝子発現解析を通じて SLAMF7 と CHI3L1 が fibrocyte に高発現していることが明らかになった。本研究ではこれらの遺伝子が骨髄線維症の発症および進行に関わる機序を明らかにし、新たな検査手法や治療標的を確立することを目的とした。

4 対象並びに方法

- (1) 2017年から2018年に当院で骨髄増殖性腫瘍 (MPN) と診断された58名の患者の末梢血を用いてフローサイトメトリー法により単核球中における SLAMF7^{high} CD16⁻ 単球の割合を計測した。また、全患者の JAK2V617F、CALR、MPL の変異の有無について検索し、JAK2V617F 変異を伴う患者については JAK2 allele burden も計測した。SLAMF7^{high} CD16⁻ 単球と SLAMF7^{low} CD16⁻ 単球を sorting し、JAK2 allele burden の計測と培養アッセイを行った。
- (2) 2017年から2018年に当院で MPN と診断され血清の確保が可能であった52名の患者の血清を用いて ELISA 法による CHI3L1 の計測を行い、骨髄の線維化との関連を後方視的解析に解析した。Romplostim (Rom) 投与によるマウス骨髄線維症モデルを用いて、ELISA 法による血清中 Chi3l1 と RT-PCR 法による脾、骨髄組織内の *Chi3l1* の定量的な評価を行った。さらに、野生型マウスと Chi3l1 ノックアウトマウスにおける骨髄線維化を比較し、同時に骨髄中における mRNA の評価を実施した。最後に、CHI3L1 がヒト fibroblast 細胞株 (HS-5) に及ぼす影響につき非接触系共培養実験によって評価した。

5 成績

- (1) 単球中の SLAMF7^{high} CD16⁻ 単球の割合が骨髄線維化を伴う患者で上昇し、かつ JAK2V617F の存在と強い相関を認めたことから、単球分画の解析が骨髄線維化のスクリーニングに応用可能であることを示した。また、JAK2V617F 陽性患者における上述の分画の allele burden が SLAMF7^{low} CD16⁻ 単球の allele burden に比して高値であり、fibrocyte へ分化する割合も高かった。

(2) ロジスティック回帰モデルによる多変量解析の結果、MPN 患者における脾腫の存在と血清 CHI3L1 値の上昇は骨髄線維化の程度を予測する独立した関連因子であった。Rom を用いた骨髄線維症モデルマウスにおいて、RT-PCR 法で骨髄の *Chi3l1* mRNA の上昇を確認し、その現象は clodronate liposome の投与により改善した。野生型マウスと *Chi3l1* ノックアウトマウスに Rom を用いて骨髄線維化の誘導を行ったところ、ノックアウトマウス群では有意に線維化の程度が軽減しており、骨髄組織の細胞外基質 (ECM) である *Col3a1* と *Acta2* の mRNA 発現も有意に低下していた。また、fibrocyte と HS-5 の非接触系共培養実験では、fibrocyte から分泌された CHI3L1 の濃度依存性に HS-5 株からの *COL1A1*、*COL3A1* の発現が亢進していた。

6 考 察

本研究の成果により、SLAMF7 と CHI3L1 の関与する新たな骨髄線維化誘導機序が明らかになった。SLAMF7 を標的とする Elotuzumab は多発性骨髄腫の治療薬として既に市販され、骨髄線維化を誘導したヒトキメラ化マウスに対し一定の線維化抑制効果も得られたことから、骨髄線維症患者に対する臨床試験の実現につながると考えられた。また、骨髄線維症における CHI3L1 の関与を基礎的な観点から証明した報告は本研究が初めてであり、バイオマーカーや治療標的としての臨床応用に向けた今後の知見蓄積が必要と考えられた。

7 結 論

fibrocyte における SLAMF7 と CHI3L1 が骨髄線維症の発症及び進行に際して重要な役割を担っていることを明らかにした。新たな診断マーカーや治療標的としての発展が期待される。