

氏名（本籍）	木田 潤一郎	（岡山県）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲第 669 号	
学位授与日付	平成 31 年 3 月 14 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
学位論文題目	An MDS-derived cell line and a series of its sublines serve as an in vitro model for the leukemic evolution of MDS	
審査委員	教授 和田 秀穂	教授 石原 克彦 教授 山口 佳之

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

骨髄異形成症候群（以下 MDS）患者骨髄から IL-3 を用いて樹立された MDS 細胞株は、5q-などの染色体異常、*TP53*、*CEBPA*、*NRAS* 変異など、MDS の特徴的な遺伝子異常を持ち、試験管内培養により分化能を失い芽球様の形態変化した亜株が得られている。中には IL-3 依存性を失った亜株も出現し、MDS から AML への転換の分子機構を試験管内で解析できる貴重な細胞株である。本論文は、それらの細胞亜株に加えて患者骨髄の培養開始初期試料（Pt-BM）も含めた計 10 種の細胞株の次世代シーケンス解析結果の一部をまとめたものである。まず、whole exome 解析により MDS-Gen 以降の細胞株に検出されるが Pt-BM に検出されない変異 *CEBPA* (Q311stop) と *NRAS* (G12A) について ultra-deep-target sequence を行ない、*CEBPA* (Q311stop) は Pt-BM の約 9% に存在し試験管内培養で優勢を占めたこと、そして *NRAS* (G12A) は Pt-BM では全く検出されず、試験管内培養開始後に新たに出現した変異であることが明らかにした。この結果から白血病化に関連する変異を持つクローンの増殖や新たな変異獲得クローンの出現を試験管内で解析できるという、この一連の MDS 細胞株の有用性が示された。

さらに、新たに発見された遺伝子 *HIST1H3C* の変異体 *H3-K27M* を有するクローンが亜株 MDS-L に混在し、MDS-L 由来の IL-3 依存性亜株（MDS-L-2007）中では優勢を占めるのに対して、IL-3 非依存性亜株（MDS-LGF）の中には存在しないことを見出した。Single cell sort により作製した *H3-K27* の野生型と変異型のクローンの比較により、*H3-K27M* の保有は癌抑制遺伝子である CDK inhibitor p16 の産生喪失とほぼ一致していること、また、両型のクローンの長期間共培養において、IL-3 の存在・非存在により、それぞれ変異型・野生型が優勢となることを証明した。この結果は、MDS における変異の獲得に IL-3 のような微小環境因子が影響することを示唆した。

以上のように、本論文は、MDS 細胞株の網羅的解析により、一連の細胞亜株の MDS 病態モデルとしての有用性を明らかにした独創的なものであり、臨床医学にも有用な知見を提供した。よって、学位論文に値すると評価した。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査会・最終試験では、申請者から、本研究の着想に至った経緯、研究方法、結果とその科学的解釈、ならびに今後の展望について、丁寧に準備されたスライドを用いて約 15 分間で説明がなされた。その後、発表内容に対して、審査委員長を含めた 3 名の審査委員から質疑応答が行われた。まず、発表に関しては、MDS の病態から始まり、*TP53* 変異の意義、MDS 骨髄由来細胞亜株作製の手法や MDS 骨髄由来細胞亜株の特徴について、論理的かつわかりやすく説明され、解析結果についても明解に提示された。また、発表の仕方についても非専門領域の聴講者にもわかりやすい口調で落ち着いた発表であり、申請者が本研究とその学問的背景について十分に理解していることがうかがわれた。

審査委員からは、MDS の病態と AML へ移行の臨床的意義、MDS 細胞の増殖における autocrine、paracrine と IL-3 の意義、cloning の手技と細胞培養法の実際、変異抗原を標的とした免疫療法の可能性、本研究の今後の発展性などについて質問がなされ、概ね適切な回答が得られた。今後の展望としては、AML の遺伝子変異と比較することで変異が蓄積し AML へ移行する過程がより明確になる点や、細胞株における染色体分析の必要性、さらには MDS の急性白血病化機構だけではなく造血不全の病態解明につなげる可能性について議論が及んだ。今回の学位論文は、膨大な解析結果の一部と推測され、今後、新たな知見が得られると期待される。

以上から、申請者によっておこなわれた今回の研究成果は、実施臨床における MDS 診療にも有用な知見を示した学位論文に相応しい優れた内容であり、また申請者自身の研究領域における知識量と今後の研究遂行能力についても十分と判断され、最終試験の結果として合格とした。