



Title	Regulation of mast cell differentiation studied using the diffusion chamber technique
Author(s)	汝, 小美
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36868">https://hdl.handle.net/11094/36868</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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・(本籍)	る 汝	しょう 小	めい 美
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 9 1 1	号
学位授与の日付	平成元年12月13日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	Regulation of mast cell differentiation studied using the diffusion chamber technique (Diffusion chamber を用いたマスト細胞の分化統御に関する研究)		
論文審査委員	(主査)		
	教授	北村	幸彦
	(副査)		
	教授	松本 圭史	教授 藤田 尚男

### 論文内容の要旨

#### 〔目 的〕

T細胞由来の増殖因子である interleukin 3 (IL-3) の存在下でマウスの骨髓細胞を in vitro 培養すると、純粋なマスト細胞の集団が容易に得られる。この培養マスト細胞を NIH/3T3 線維芽細胞の上で共生培養した場合は、IL-3 を加えない培養液中でもマスト細胞は増殖し、長期間にわたって維持される。このマスト細胞の増殖反応は線維芽細胞との直接接触に依存していることが我々の研究で明らかになった。このようにマスト細胞の増殖には2つの異なる統御機構が存在するが、これらの in vitro で検出された2種類のマスト細胞増殖機構が in vivo においても基本的な役割を担っているかどうかを更に詳しく調べるためには、in vivo と in vitro の両方の条件にまたがる実験系が必要と考えられる。本研究の目的は in vivo でのマスト細胞分化の際の細胞間相互作用の解析をおこなうために diffusion chamber 法が有効であるかどうかを調べることである。

#### 〔方法および結果〕

1) Diffusion chamber 自身がマスト細胞の増殖に影響を与えないことを確認するために、+/+ マウスに由来する培養マスト細胞を diffusion chamber に入れてからペトリ皿の培養液中で2日間培養した。ペトリ皿の培養液に増殖因子を加えるか、内部に NIH/3T3 細胞あるいは IL-3 産生細胞を同時に入れた場合は、いずれも S 期細胞が検出されマスト細胞数の減少もなかった。一方、マスト細胞を入れた diffusion chamber を NIH/3T3 を培養しているペトリ皿内において、2種の細胞を隔てた場合はマスト細胞の増殖が起こらず、NIH/3T3 細胞との直接の接触がマスト細胞の増殖に必要であることが再確認された。

2) diffusion chamber 自身がマスト細胞の増殖に直接の影響を与えないことが確認されたため、マウスの腹腔内で同様の実験を行った。4種類の diffusion chamber を準備した。(1群) +/+ マウス由来のマスト細胞のみを入れる。(2群)  $W/W^v$  マウス由来のマスト細胞のみを入れる。(3群) +/+ マウス由来のマスト細胞と WEHI-3 細胞と一緒に入れる。(4群)  $W/W^v$  マウス由来のマスト細胞と WEHI-3 細胞と一緒に入れる。全ての diffusion chamber は、各々  $W/W^v$  マウスの腹腔中に挿入し、その後経時的に回収してマスト細胞の数を測定した。マスト細胞単独で入れた群(1群・2群)では、マスト細胞の遺伝子型にかかわらずマスト細胞の数は時間とともに減少していったのに対して、マスト細胞とともに WEHI-3 細胞を同時に入れた群(3群・4群)では、+/+、 $W/W^v$  のいずれのマスト細胞も数の増加が認められた。また、これら4つの群の diffusion chamber を +/+ マウスの腹腔中に入れた場合も同様の結果が得られた。

3) diffusion chamber の外部にあるマスト細胞が内部のマスト細胞の接触依存性増殖に及ぼす影響を調べるために、腹腔マスト細胞を欠く  $W/W^v$  マウスまたは多数の腹腔マスト細胞を持つ +/+ マウスの腹腔中に diffusion chamber を移植して比較した。マスト細胞のみを diffusion chamber に入れた群は宿主の遺伝子型にかかわらずマスト細胞の増殖は認められなかったのに対し、マスト細胞と NIH/3T3 細胞と一緒にした群では、宿主の遺伝子型にかかわらずマスト細胞数は増加し、マスト細胞増殖の程度は宿主の遺伝子型の影響をうけなかった。そこで、腹腔に diffusion chamber を挿入したことによって、宿主に用いた +/+ マウスの腹腔内マスト細胞が減少した可能性を検討した。培養液のみを入れた diffusion chamber を挿入して2日後の腹腔内マスト細胞の密度を測定したところ挿入前の10%に減少していた。このことから、マスト細胞自身による増殖抑制が今回の実験条件下では作用しなかった可能性が考えられた。

#### [総括]

Diffusion chamber に入れられたマスト細胞は IL-3 の供給があった場合は、腹腔内 (in vivo) 及び、ペトリ皿中 (in vitro) の両方の場合で増殖したが、マスト細胞単独の場合は維持されずに消滅したことから、腹腔内の IL-3 がマスト細胞の増殖・維持に十分なだけの濃度で存在していないことが示された。+/+ マウス由来の培養マスト細胞を直接  $W/W^v$  マウスの腹腔中に注射した場合は増殖するという事実を考慮すると、上述の実験結果は、+/+ マウスのマスト細胞が腹腔内に定着し増殖するにはマスト細胞と腹腔細胞の直接接触が必要であることを併せて示している。今回の実験は、マスト細胞の接触依存性増殖が in vitro のみに認められる特殊な現象ではなく、in vivo での生理的な性質を反映した現象であることを示したものと見える。今回の研究は、今まで用いられた in vivo 及び in vitro の実験系に加えて、diffusion chamber を用いた系がマスト細胞の増殖・分化を細胞間相互作用の観点から in vivo で研究するのに好適であることを示したといえよう。

## 論文の審査結果の要旨

Diffusion chamber に入れられたマスト細胞は IL-3 の供給があった場合は、腹腔内 (in vivo) 及び、ペトリ皿中 (in vitro) の両方の場合で増殖したが、マスト細胞単独の場合は維持されずに消滅したことから、腹腔内の IL-3 がマスト細胞の増殖・維持に十分なだけの濃度で存在していないことが示された。+/+マウス由来の培養マスト細胞を直接 W/W<sup>v</sup> マウスの腹腔中に注射した場合は増殖するという事実を考慮すると、上述の実験結果は、+/+マウスのマスト細胞が腹腔内に定着し増殖するにはマスト細胞と腹腔細胞の直接接触が必要であることを併せて示している。今回の実験は、マスト細胞の接触依存性増殖が in vitro のみに認められる特殊な現象ではなく、in vivo での生理的な性質を反映した現象であることを示したものだといえる。今回の研究は、今まで用いられた in vivo 及び in vitro の実験系に加えて、diffusion chamber を用いた系がマスト細胞の増殖・分化を細胞間相互作用の観点から in vivo で研究するのに好適であることを示したもので学位に値すると思う。