

Title	ヒトオリゴデンドログリオーマ細胞株におけるIL-2レセプターβ鎖の発現とその機能
Author(s)	岡本, 裕
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37117
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	おか 岡	もと 本	ゆたか 裕
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 1 1 4	号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	ヒトオリゴデンドログリオーマ細胞株における IL-2 レセプター β 鎖の発現とその機能		
論文審査委員	(主査) 教授	最上平太郎	
	(副査) 教授	谷口 維紹	教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

(目的)

免疫担当細胞間の情報伝達因子である種々のサイトカインが、脳内にも存在している事が見いだされ、ニューロンやグリアの分化増殖制御などに重要な働きを担っていることが、次第に明らかにされつつある。特に、脳内のミエリン産生細胞であるオリゴデンドロサイトの増殖分化に、IL-2 システムの関与を示唆する知見が最近少なからず報告され、注目をあびている。そこで今回、当教室で手術標本より樹立したGalC(+), MBP(+), GFAP(-)のヒトオリゴデンドログリオーマ細胞株(ONS-21)を用いてIL-2 システムの関与について解析した。

(方法ならびに成績)

HuIL-2R β 鎖に対するモノクローナル抗体(mAb), Mik- β 1(1:400 ascites) 染色によるFACS解析で、ONS-21細胞がIL-2R β 鎖を発現していることが認められ、さらにRNAブロット解析でもIL-2R β 鎖mRNAの発現が確認された。一方、IL-2R α 鎖に関しては、蛋白レベルでもmRNA レベルでもその発現は検出されなかった。また、 $[^{125}\text{I}]$ -IL-2 を用いた化学架橋実験で、ONS-21に発現しているIL-2Rを解析したところ、70-75KDの分子量を呈することが明かとなった。これらの結果は、このONS-21細胞上の β 鎖は、リンパ球系細胞上に発現しているIL-2R β 鎖と同じ性質を示し、生体内において、オリゴデンドロサイトがIL-2による制御をうけている事を強く示唆した。なお、GalC(-), MBP(-), GFAP(+)のアストロサイトーマ細胞株(ONS-84)は、FACS解析、RNAブロット解析においてIL-2R β 鎖の

発現は認められなかった。続いて、IL-2に対する応答を、 $[^3\text{H}]$ -Thymidine($[^3\text{H}]$ -TdR)の取り込みを指標として調べたが、100nMのrIL-2においても $[^3\text{H}]$ -TdRの取り込みの有意な変化は認められなかった。しかしながら、このONS-21細胞上の β 鎖の発現量は非常に低く、IL-2への応答能の欠如がこれに由来すると考え、IL-2R β 鎖cDNAを導入し発現量の増強を試みた。即ち、先ず限界希釈法を行い、ついでHuIL-2R β 鎖cDNAの発現ベクター、pdKCR β をネオマイシン耐性遺伝子、pSTneoBとともにリン酸カルシウム法にて遺伝子導入し、1mg/mlのG418を含む培地で選択を行い形質転換株C2-3、C2-6を得た。これら細胞株C2-3、C2-6の β 鎖の発現量を $[^{125}\text{I}]$ -IL-2結合試験によるScatchard plotを用いて解析した結果、1細胞当たり1300、1660分子と各々算出された。また解離定数は各々1.7nM、2.2nMと算出され中間親和性を示すことが明かとなった。一方親株は、IL-2結合試験で有意なIL-2結合能を示さず、IL-2R β の発現量は非常に低いと推定された。更に、この2株は10nM以上のIL-2に対し有意に $[^3\text{H}]$ -TdRの取り込みの増加が認められた。しかもこの $[^3\text{H}]$ -TdRの取り込みの増加は、抗Tac抗体では抑えられず、Mik- β 1抗体で特異的に抑えられることから、IL-2シグナルはこの中間親和性を示すIL-2R β 鎖を介して細胞内に伝達されると考えられた。なお、FACS解析でIL-2R β 鎖の発現が認められなかったネオマイシン耐性株はすべてIL-2に応答しなかった。

また、上記2株、C2-3、C2-6においてIL-2のインターナリゼーションが認められた。一方、IL-2の分化への作用について検討するために、ONS-21、C2-3、C2-6株を10nMのIL-2を含む培地で培養し、7日、28日目にGalC、MBP、GFAPの発現をFACS解析で調べてみたところ、有意な変化は認められなかった。

(総括)

ヒトオリゴデンドログリオーマ株(ONS-21)が、リンパ球系細胞と同様のIL-2R β 鎖を発現している事が示された。このONS-21株はIL-2に応答しないが、発現量を増加させる目的で、IL-2R β cDNAを導入して得た形質転換株C2-3、C2-6細胞は、10nM以上のIL-2に対し $[^3\text{H}]$ -TdRの取り込みの増加が認められ、IL-2に反応することが示唆された。

また、この $[^3\text{H}]$ -TdRの取り込みの増加はmAb、Mik- β 1で特異的に抑えられ、しかも終始IL-2R α 鎖の発現が認められない事からこのIL-2シグナルが、IL-2R α 鎖の関与なしに、IL-2R β 鎖を介して伝達されることが示された。

以上の結果は、IL-2システムがリンパ系だけでなく脳内においても機能していることを示唆するとともに、一方では、ファイブロblastにpdKCR β を導入してIL-2R β 鎖を強制発現させてもシグナルが伝達されないことを考慮すれば、脳内のオリゴデンドログリアとリンパ系細胞には、IL-2シグナル伝達に関して共通、あるいは類似したシグナル伝達機構が存在していることを示唆した。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒトオリゴデンドログリオーマ細胞に対するIL-2の関与を、主としてIL-2レセプターを中心に詳細に解析したものである。即ち、非リンパ球系細胞であるヒトオリゴデンドログリオーマ細胞が、リンパ球系細胞と同じ性状のIL-2レセプター β 鎖を発現している事を示した。

また、 β 鎖cDNAを遺伝子導入し、その発現量を増強させた形質転換株では、IL-2シグナルが伝達される事を初めて明かにした。しかもこのIL-2シグナルは、 α 鎖の関与なしに β 鎖のみを介して伝達される事が証明された。

以上、本研究は、非リンパ球系由来の腫瘍であるオリゴデンドログリオーマがIL-2シグナル伝達に関して、リンパ球系細胞と同一あるいは極めて類似したメカニズムを有する事を初めて明かにしたもので、医学博士に充分値するものと考えられる。