

Title	B細胞初期分化を調節するストローマ細胞膜表面上分子 (P55) の同定
Author(s)	長澤, 丘司
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3065810
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	長 澤 丘 司
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 10639 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	B 細胞初期分化を調節するストローマ細胞膜表面上分子 (P55) の 同定
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

(目的)

B 細胞は骨髄において、骨髄幹細胞により、抗原に应答し得る成熟 B 細胞へと分化する。Whitlock, Witte による B 細胞の骨髄培養法の樹立以来、その分化過程には、B 細胞と骨髄のストローマ細胞との相互作用が重要であることが示されてきた。最近、ストローマ細胞が産生する IL7, SCF やストローマ細胞上の接着分子を介した相互作用が B 細胞初期分化に重要であることが示された。本研究では、B 細胞とストローマ細胞との相互作用の分化レベルでの解明を進める目的で、B 細胞初期分化に関与するストローマ細胞の膜表面上分子の同定を試みた。

(方法ならびに成績)

骨髄 B 細胞の増殖分化を支持することが知られているストローマ細胞株 ST 2 で免疫した SD ラットの脾細胞と骨髄腫細胞株 P3U1 とのハイブリドーマを作製した。ハイブリドーマの上清のうち、FACS 解析にて ST 2 と反応が見られた上清を、B 細胞の ST 2 細胞株依存性骨髄培養に加えた。加えた 30 上清のうち、ハイブリドーマ R 4 由来の上清は、この培養での B 細胞の増殖を抑制したため、上清中のモノクローナル抗体 (以下 R 4) を精製し、詳細な解析を行った。

ST 2 細胞のモノレイヤー上で、骨髄細胞を Whitlock-Witte の条件下で培養すると、B220 陽性 B 前駆細胞の増殖が観察される。この増殖は、R 4 の添加により、濃度依存的に抑制された。同時に観察されるマクロファージを主とした Mac 1 陽性の骨髄球系細胞の増殖は、R 4 によって抑制されなかった。一方、ST 2 と骨髄細胞を、Dexter の条件下で共培養すると、骨髄球系の細胞のみが増殖するが、R 4 はこの増殖を抑制しなかった。

遺伝的に M-CSF を欠損した OP/OP マウス由来の線維芽細胞と骨髄細胞を、IL 7 存在下で共培養すると B 前駆細胞が増殖してくる。R 4 はこの増殖をも抑制した。

R 4 は、プレ B 細胞株 Dw 8 の ST 2 及び OP/OP 線維芽細胞依存性の増殖を抑制したが、ストローマ細胞非依存性プレ B 細胞株 70Z/3 の増殖を抑制しなかった。以上より、R 4 は骨髄 B 細胞のストローマ細胞依存性増殖を特異的に抑制することが示された。

OP/OP 線維芽細胞、ミリポアフィルターで骨髄細胞との接触を阻害しても骨髄 B 細胞の増殖を支持した。R 4 は、この条件下でも B 細胞の増殖を抑制した。

OP/OP 線維芽細胞培養上清は、R 4 の存在、非存在下で Dw 8 の増殖を支持したが、R 4 と二日間培養した OP

／OP線維芽細胞上清は、これを支持しなかった。

これらの結果は、R4がB細胞とストローマ細胞との接触を阻害したり、B細胞に直接作用するのではなく、ストローマ細胞に働いて、B細胞増殖を支持する可溶性因子の産生を抑制するか、B細胞増殖を抑制する可溶性因子の産生を誘導する可能性を示している。R4はストローマ細胞ST2, OP／OP線維芽細胞の増殖、形態に影響を及ぼさなかった。

次にR4のin vivoでの作用を検討した。Balb／cマウスに、妊娠14日目から18日目まで毎日3mgのR4またはコントロール抗体を腹腔内注射したところ、R4を注射したマウスの子10匹中6匹の骨髄B細胞数が、コントロールの10～25％に減少していた。この6匹の胸線、脾臓の細胞分画には、コントロールとの差は見られなかったが、体重はコントロールの60～75％と少なかった。FACS解析ではR4抗原は、ストローマ細胞株、線維芽細胞株、B細胞株で発現が見られたが、T細胞株、正常骨髄細胞、脾細胞、胸線細胞では発現が見られなかった。R4が認識する抗原は、免疫沈降後のSDS-PAGE解析により、還元、非還元条件下共に、55KD付近に単一なバンドとして認められた。

(総括)

R4はストローマ細胞のB前駆細胞増殖支持能を選択的に抑制することが示された。

ストローマ細胞依存性のB細胞初期分化を抑制するサイトカイン、抗接着分子抗体が報告されているが、R4抗原(P55)は、分子量、発現細胞の分布より、これらのレセプターや接着分子とは区別される。P55は、B細胞初期分化の調節に関与する新しい分子である可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本研究は、B細胞とストローマ細胞の相互作用に関与する分子の同定を目的として、ストローマ細胞株ST2に対するモノクローナル抗体の作成と、その性状の解析を行なった。R4抗体は、ストローマ細胞と、一部のB前駆細胞上の55kDaの膜タンパクを認識し、in vitroおよびin vivoにおいてB細胞の初期分化を抑制することが明らかとなった。この研究によって、B細胞の初期分化に関与すると思われる55kDaの新たな膜タンパクが同定され、R4抗体は、B細胞の初期分化の機構を解析する上で、有用な材料となると思われる。以上の理由から、本研究は博士論文に値すると思われる。