



| | |
|--------------|---|
| 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 | |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|------------|------------------------------------|
| 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細胞は骨髓において、骨髓幹細胞により、抗原に応答し得る成熟B細胞へと分化する。Whitlock, WitteによるB細胞の骨髓培養法の樹立以来、その分化過程には、B細胞と骨髓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)

骨髓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ST2で免疫したSDラットの脾細胞と骨髓腫細胞株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ST2と反応が見られた上清を、B細胞のST2細胞株依存性骨髓培養に加えた。加えた30上清のうち、ハイブリドーマR4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R4)を精製し、詳細な解析を行った。

ST2細胞のモノレーヤー上で、骨髓細胞を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、R4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中心としたMac1陽性の骨髓球系細胞の増殖は、R4によって抑制されなかった。一方、ST2と骨髓細胞を、Dexterの条件下で共培養すると、骨髓球系の細胞のみが増殖するが、R4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髓細胞を、IL7存在下で共培養するとB前駆細胞が増殖してくる。R4はこの増殖をも抑制した。

R4は、プレB細胞株Dw8のST2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、R4は骨髓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髓細胞との接触を阻害しても骨髓B細胞の増殖を支持した。R4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、R4の存在、非存在下でDw8の増殖を支持したが、R4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、R 4 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。R 4 はストローマ細胞 ST 2, 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 R 4 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 3 mg の R 4 またはコントロール抗体を腹腔内注射したところ、R 4 を注射したマウスの子 10 匹中 6 匹の骨髓 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つたが、体重はコントロールの 60~75 % と少なかつた。FACS 解析では R 4 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、正常骨髓細胞、脾細胞、胸線細胞では発現が見られなかつた。R 4 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)

R 4 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、R 4 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 ST 2 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つた。R 4 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つた。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、R 4 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考えられる。