

Title	Necessity of Extracellular Domain of W(c-kit) Receptors for Attachment of Murine Cultured Mast Cells to Fibroblasts
Author(s)	足立, 史朗
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38133">https://hdl.handle.net/11094/38133</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	あ だ ち し ろ う 足 立 史 朗
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 6 3 1 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	Necessity of Extracellular Domain of <u>W(c-kit)</u> Receptors for Attachment of Murine Cultured Mast Cells to Fibroblasts (培養マスト細胞と線維芽細胞との接着に於ける <u>W</u> レセプターの 細胞外ドメインの必要性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 北 村 幸 彦 (副査) 教 授 木 谷 照 夫 教 授 西 宗 義 武

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

マスト細胞の増殖支持にはT細胞依存性の機構と線維芽細胞依存性の機構がある。線維芽細胞依存性の機構は W 遺伝子座にコードされたレセプターと Sl 遺伝子座にコードされたりガンドを介して行われる。W レセプターは膜貫通型の蛋白でその細胞内ドメインにはチロシンキナーゼ活性を持っており、また Sl リガンドも膜貫通型の蛋白である。線維芽細胞と培養マスト細胞の共生培養を行うとき多くの線維芽細胞株では、マスト細胞と線維芽細胞の接着がマスト細胞を維持するために必要な条件である。この際マスト細胞表面に発現されている W レセプターと線維芽細胞表面に発現されている Sl リガンドがマスト細胞と線維芽細胞の接着に関与しているのかどうか検討した。

#### (方法並びに結果)

1. 正常 (+/+ ) マウス由来培養マスト細胞 (CMC) と +/+ マウス由来線維芽細胞 (+/+ / 3T3) を共生培養し、一定時間の後に接着していない CMC を洗い流す。そして +/+ / 3T3 と +/+ / 3T3 に接着している CMC を回収し、1個の +/+ / 3T3 に接着している CMC の数を算出し接着の指標とした。その結果、共生培養開始後3時間迄は経時的に接着が増し3時間以降は一定になった。また電子顕微鏡により +/+ / 3T3 上に位置する CMC や +/+ / 3T3 の下に潜り込もうとしている CMC、そして完全に潜り込んでしまった CMC の像が観察された。
2. 両細胞の接着に W レセプターがどのように関与しているのかを知るために W 遺伝子座に W<sup>v</sup>、W 突然変異を持つ W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup>、W/W<sup>v</sup>、W/W マウス由来 CMC を用いて接着実験を行なった。W<sup>v</sup> 突然変異はチロシンキナーゼ部位の点突然変異であり、W 突然変異は膜貫通部の欠損によってその細胞外ドメインを細胞表面に全く発現していないものである。W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup>、W/W<sup>v</sup> CMC は +/+ CMC と同程度の接着を示したのに対し W/W CMC は殆ど接着しなかった。このことから W レセプターの細胞外ドメインを発現するものが接着し、細胞外ドメインを発現しないものは接着できないのではないかと推測された。そこで W レセプターの細胞外ドメインを特異的に認識する ACK 2 モノクローナル抗体を用いて接着の阻害実験を行なった。+/+ CMC の接着は ACK 2 抗体の濃度に依存して阻害され最終的には W/W CMC の接着と同程度にまで阻害された。
3. しかし W<sup>v</sup> 突然変異ではキナーゼ活性が低下しているが明らかに認められることから、接着には単に W レセプターの細胞外ドメインが発現していればよいのではなく、W レセプターのキナーゼ活性を介して接着が誘導されて

いる可能性も考えられた。そこで細胞外ドメインを正常に発現しているがキナーゼ活性を完全に欠損する W<sup>42</sup> 突然変異をもつ W/W<sup>42</sup> CMC を用いて接着実験を行なったところ W/W<sup>42</sup> CMC は +/+ CMC と同程度の接着を示した。つまり CMC の +/+ / 3 T 3 に対する接着には W レセプターが膜表面に正常に発現されていることが必要であってそのキナーゼ活性は関与しないことがわかった。

4. 一方、線維芽細胞側では W レセプターのリガンドである Sl 因子の細胞膜表面での発現が接着に必要であることが推測された。そこで Sl 因子のコード領域を欠損するために Sl 因子が全く合成されない Sl/Sl マウス由来の Sl/Sl / 3 T 3 を用いて +/+ CMC との接着を調べたところ、 +/+ CMC は Sl/Sl / 3 T 3 には接着しなかった。

(総括)

マスト細胞と線維芽細胞はマスト細胞膜表面に発現された W レセプターとそのリガンドとして線維芽細胞表面に発現された Sl 因子を介して接着する。しかし接着には W レセプターのチロシンキナーゼ活性は関与せず、その細胞外ドメインが正常に発現されていることが必要であることがわかった。

### 論文審査の結果の要旨

線維芽細胞表面に発現する Sl 因子はマスト細胞の増殖を支持する重要な増殖因子の1つであり、Sl 因子のレセプターはマウスの W 遺伝子座によってコードされている c-kit タンパク質で、こちらはマスト細胞表面に発現しています。足立君は W 遺伝子座と Sl 遺伝子座の突然変異マウスから由来した細胞株を用いて、マスト細胞と線維芽細胞との接着に於ける Sl 因子と c-kit レセプターの役割を調べ、Sl 因子と c-kit レセプターが増殖因子とそのレセプターとして働く以外にも、この2種の細胞の場合には両者間の接着にも重要な役割を果たしていることを明らかにした。Sl 因子と W レセプターの新しい役割を明らかにした点で学位に値すると思います。