

Title	Absence of Immature Mast Cells in the Skin of Ws/Ws Rats with a Small Deletion at Tyrosine Kinase Domain of the c-kit Gene
Author(s)	尾上, 均
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38265
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	尾 上 均
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 5 1 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 2 月 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Absence of Immature Mast Cells in the Skin of <i>Ws/Ws</i> Rats with a Small Deletion at Tyrosine Kinase Domain of the <i>c-kit</i> Gene (<i>Ws/Ws</i> ラットの皮膚における幼若マスト細胞の欠損)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 北 村 幸 彦 (副査) 教 授 西 宗 義 武 教 授 平 野 俊 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

Ws/Ws ラットは我々の研究室でマスト細胞が欠損することを見つけた世界で最初の遺伝的マスト細胞欠損ラットである。*Ws* 遺伝子はレセプター・タイロシンカイネースの一種である *c-kit* レセプターをコードしており、*Ws/Ws* ラットでは *c-kit* 遺伝子に12塩基の欠失がある。このラットの組織をトルイジンブルー、アルシアンブルーなどの色素で染色してもマスト細胞は見つからない。しかし上記の色素が結合するのはプロテオグリカンであり、プロテオグリカンを十分に含んでいなくてもマスト細胞へと分化を方向づけられた細胞は *Ws/Ws* ラットの組織にも存在する可能性は残されている。本研究ではプロテオグリカン以外で、マスト細胞の分化にともなって発現する物質を調べる事により *Ws/Ws* ラットの組織に幼若なマスト細胞が存在するかどうか調べた。

【方法並びに成績】

1. マスト細胞は成熟するにともなって細胞質中の顆粒にヒスタミンを蓄える。そこで *Ws/Ws* および正常対照 (+/+) ラットの皮膚のホモジネートから HPLC を用いてヒスタミンを精製し、オルトフタルアルデヒド蛍光発色させ、その蛍光強度を測定してヒスタミン含量を決定した。*Ws/Ws* ラットの皮膚のヒスタミン含量は +/+ ラットの皮膚のヒスタミン含量の約0.3%であった。
2. マスト細胞はその分化・増殖に *c-kit* レセプターを介した刺激が必須であり、分化にともなってその細胞表面に高親和性 I g E レセプター (FcεRI) を発現する。そこで *Ws/Ws* ラットの皮膚から RNA を抽出し、FcεRI および *c-kit* の mRNA から逆転写酵素を用いて cDNA を合成した後 PCR により増幅した。増幅した cDNA を FcεRI および *c-kit* のプローブを用いて Southern ハイブリダイゼーション法により検出し、*Ws/Ws* と +/+ ラットでの FcεRI および *c-kit* の mPNA の発現量を比較した。*Ws/Ws* ラットの皮膚は FcεRI および *c-kit* の mRNA を +/+ ラットの皮膚の1%以下しか発現していなかった。
3. in situ ハイブリダイゼーション法により皮膚で FcεRI および *c-kit* の mRNA を発現する細胞を調べた。+/+ ラットの皮膚には FcεRI と *c-kit* の mRNA を発現する細胞が認められ、そのほとんどがアルシアンブルーで染色した連続

切片上でマスト細胞と一致した。これに対して *Ws/Ws* ラットの皮膚では $Fc\epsilon RI$ または *c-kit* の mRNA を発現する細胞は全く検出されなかった。

【総括】

Ws/Ws ラットの皮膚のヒスタミン含量は+/+ラットの約0.3%であった。これは *Ws/Ws* ラットの皮膚のアルシアンブルー陽性細胞数が+/+ラットの0.3%である事と一致した。この事から皮膚のヒスタミンはアルシアンブルー陽性の成熟マスト細胞にのみ含まれていると考えられ、*Ws/Ws* ラットの皮膚のアルシアンブルー陰性細胞の中にヒスタミンを含む幼若マスト細胞が存在する可能性は少ないと考えられた。さらに *Ws/Ws* ラットの皮膚は $Fc\epsilon RI$ および *c-kit* の mRNA をほとんど発現しておらず、またこれらの mRNA を発現する細胞は検出されなかった。この事から *Ws/Ws* ラットの皮膚のアルシアンブルー陰性細胞の中に高親和性 IgE レセプターあるいは *c-kit* レセプターを発現する幼若マスト細胞が存在する可能性も少ないと考えられた。以上の結果から *Ws/Ws* ラットは成熟したマスト細胞に加えマスト細胞へと分化を方向づけられた幼若な細胞も欠損すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

Ws/Ws ラットは、*c-kit* 癌原遺伝子に突然変異を持つため、組織にはプロテオグリカンを十分に含みアルシアンブルーで染色される成熟したマスト細胞を欠損する。尾上均君はプロテオグリカン以外の物質で、成熟マスト細胞の顆粒に含まれる代表的な物質としてヒスタミン、少なくとも成熟マスト細胞に発現する遺伝子として *c-kit*、そしてマスト細胞の顆粒が形成される前の幼若な段階から発現する遺伝子として高親和性 IgE レセプター ($Fc\epsilon RI$) の mRNA の発現を調べ、*Ws/Ws* ラットのマスト細胞欠損の詳しい性格づけを行なった。この実験で *Ws/Ws* ラットの皮膚は正常+/+ラットの皮膚に対して約0.3%のヒスタミンを含み、 $Fc\epsilon RI$ および *c-kit* の mRNA の発現量は1%以下であるという結果を得た。また *in situ* ハイブリダイゼーション法により+/+ラットの皮膚で $Fc\epsilon RI$ あるいは *c-kit* を発現する細胞がほとんど成熟マスト細胞であるが、*Ws/Ws* ラットの皮膚にはこれらの遺伝子を発現する細胞が存在しないことも確認した。以上の結果と *Ws/Ws* ラットの皮膚がアルシアンブルー陽性の成熟マスト細胞を+/+ラットの約0.3%含むという事実から考え併せて、*Ws/Ws* ラットの皮膚には成熟したマスト細胞に加えて、幼若なマスト細胞も欠損すると結論した。この研究は *Ws/Ws* ラットがマスト細胞の特性を備えた細胞を完全に欠損する動物であることを示し、この突然変異体の実験動物としての有用性を高めた研究として、学位に値すると考えられる。