



Title	Infection of <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> Induces Normal Increase of Basophils in Mast Cell - Deficient Ws/Ws Rats With a Small Deletion at the Kinase Domain of c-kit
Author(s)	春日井, 務
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39302
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	かす が い つとむ 春 日 井 務
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 10 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	Infection of <u>Nippostrongylus brasiliensis</u> Induces Normal Increase of Basophils in Mast Cell-Deficient <u>Ws/Ws</u> Rats With a Small Deletion at the Kinase Domain of c-kit (<u>Nippostrongylus brasiliensis</u> の感染は c-kit 遺伝子における小欠失によりマスト細胞を欠損する <u>Ws/Ws</u> ラットにおいても正常の好塩基球の増加反応を起こす)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 北村 幸彦 (副査) 教授 西宗 義武 教授 青笹 克之

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

Ws/Ws ラットは我々の研究室で発見し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・チロシンキナーゼの一種である 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。血液幹細胞に由来し好塩基性の顆粒を有する細胞には好塩基球とマスト細胞が存在する。マウスの c-kit 遺伝子に 2 個の突然変異を持つ W/W' マウスはマスト細胞を欠損するが、末梢血中の好塩基球数は正常対照 (+/+) マウスと差がない。しかし、マウスは総血液量が少ないため好塩基球の研究には適さない。経時的な好塩基球数の算定には総血液量が多いラットがマウスよりはるかに適した実験動物と考えられる。本研究の目的は Ws/Ws ラットにおける Nippostrongylus brasiliensis (NB) 感染に伴う末梢血中の成熟好塩基球および骨髄中の幼若な好塩基球の反応を検討することにより、好塩基球の分化・増殖に c-kit レセプターを介したシグナル伝達がどのようにかかわっているのかを解析することである。

【方法ならびに成績】

正常 (+/+) ラット、Ws/Ws ラットおよびヌードラットに、T 細胞由来の IL-3 等のサイトカイン分泌を促すことが知られている NB 感染幼虫を 2,000 匹感染させ、以後経時に末梢血中の好塩基球数、末梢血中のヒスタミン含有量、骨髄中の幼若な好塩基球数を算定した。

- 1) NB 感染に伴い Ws/Ws ラットの末梢血中の好塩基球数は約 50 倍に増加した。この増加の程度は +/+ ラットと差はなかったが、胸腺を欠損しているため T 細胞の分化が障害されているヌードラットではこのような増加反応は起こらなかった。
- 2) 好塩基球の顆粒中にはヒスタミンが蓄えられている。そこで血中のヒスタミン含量を測定したところ、+/- ラット、Ws/Ws ラットとも NB 感染に伴いヒスタミン含量はそれぞれ 4.5, 7.5 倍と有意に増加したが、ヌードラットではこのような増加反応は起こらなかった。
- 3) 好塩基球の鑑別には電子顕微鏡による鑑別が最も確実である。NB 感染にともなって増加した末梢血中の好塩基球

は、電子顕微鏡像上、顆粒の形態及び大きさの点で他の多核白血球と明瞭に鑑別できた。

- 4) $+/+$ ラットおよびヌードラットの骨髓組織をアルシンブルー染色で染色すると、細胞質が密に染まる細胞と細胞質が疎に染まる細胞の2種類の細胞が存在したが、Ws/Ws ラットの骨髓には後者の細胞しか存在しなかった。ラットの結合組織型マスト細胞は Rat mast cell protease (RMCP) - I を有し、粘膜型マスト細胞は RMCP - II を有するが、好塩基球はその両者を有しない。 $+/+$ ラットの骨髓中の前者の細胞は RMCP - I⁺/II⁻ であり、Ws/Ws ラットの骨髓には RMCP 陽性細胞は存在しなかったため、前者の細胞は結合組織型マスト細胞であり、後者の細胞は幼若な好塩基球であると考えられた。そこで骨髓における幼若な好塩基球の全有核細胞に対する比率を算定した。 $+/+$ ラット、Ws/Ws ラットとも幼若な好塩基球は感染に伴って急激に増加し、感染後1週目に感染前の約10倍に増加したが、ヌードラットではこのような増加反応は起こらなかった。なお Ws/Ws ラットの骨髓においては NB 感染によっても結合組織型マスト細胞は出現せず、 $+/+$ ラットではその数に変化を認めなかった。
- 5) 骨髓で増加した幼若な好塩基球は電子顕微鏡像上、顆粒が peroxidase 陽性であり顆粒が peroxidase 陰性のマスト細胞と明瞭に鑑別できた。

【総括】

NB 感染に伴う末梢血中の好塩基球および骨髓中の幼若な好塩基球の増加反応は、Ws/Ws ラットと $+/+$ ラットの間で差を認めなかったが、T 細胞を欠損するヌードラットでは増加反応は起こらなかった。以上の結果より、好塩基球の分化・増殖には c-kit レセプターを介した増殖機構は必要ではないが、T 細胞依存性の増殖機構は必須であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

春日井務君は好塩基球の分化・増殖機構についての研究を、c-kit 遺伝子における小欠失によりマスト細胞を欠損する Ws/Ws ラットを用いて行った。その結果、1. 消化管寄生虫である Nippostrongylus brasiliensis (NB) の感染により Ws/Ws ラットおよび正常対照の $+/+$ ラットにおいては末梢血中の好塩基球数が約50倍増加するが T 細胞を欠損するヌードラットにおいては増加しないこと、2. NB 感染により Ws/Ws ラットおよび $+/+$ ラットにおいては血中のヒスタミン含量が有意に増加するがヌードラットにおいては増加しないこと、3. NB 感染により Ws/Ws ラットおよび $+/+$ ラットにおいては骨髓における幼若な好塩基球数が約10倍増加するがヌードラットにおいては増加しないことを示した。本研究により好塩基球の分化・増殖には c-kit レセプターを介した増殖機構は必要ではないが、T 細胞依存性の増殖機構は必須であることが明らかとなったので、これは学位論文に値すると考えられる。