

Title	細胞外マトリックス(ラミニンとフィブロネクチン)により惹起されるヒト腫瘍化形質細胞株の遊走とインターロイキン6による遊走抑制
Author(s)	柴山, 浩彦
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40293">https://hdl.handle.net/11094/40293</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	しば やま ひろ ひこ 柴 山 浩 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 6 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 9 月 19 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	細胞外マトリックス(ラミニンとフィブロネクチン)により惹起されるヒト腫瘍化形質細胞株の遊走とインターロイキン 6 による遊走抑制
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高井新一郎 (副査) 教 授 岸本 忠三 教 授 宮坂 昌之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

形質細胞の腫瘍である多発性骨髄腫では、骨髄腫細胞 (MC) が骨髄に親和性を示し、骨髄中に固着し多くは流血中に出現しない。多発性骨髄腫に特徴的なこの病態は、従来より MC の骨髄微小環境への親和性により説明されてきた。特に、細胞外マトリックス (ECM) への接着やそのレセプター (インテグリン) の発現を検討した研究は多数あるが、ECM により惹起される遊走についての解析はなされておらず、また、MC の細胞運動についての報告はほとんどみられない。そこでヒト腫瘍化形質細胞 (MPC) 株を用い、ECM (ラミニン (LN) とフィブロネクチン (FN)) への遊走について検討した。また、骨髄微小環境中の MC の遊走特性を検討する目的で、骨髄ストローマ細胞 (BMSC) の MC の遊走能への影響をみた。

### 【方法ならびに成績】

FR4ds, OPM-1ds の 2 種類の MPC 株を用い、LN, FN への遊走能を Boyden 法変法のケモタキシス測定法にて調べた。その結果、両細胞株とも LN, FN へ遊走を示した。低濃度 LN への遊走は、FR4ds より OPM-1ds の方が強かった。逆に低濃度 FN への遊走は、FR4ds の方が強かった。チェッカーボード解析により、LN, FN により惹起される細胞運動がケモタキシスであることを確認した。両細胞株のインテグリンの発現を調べ、それに対する単クローン抗体を用い阻害実験をおこなうことにより、遊走における各インテグリンの機能を検討した。インテグリン発現は FR4ds 細胞は VLA-3<sup>-</sup>, 4<sup>+</sup>, 5<sup>+</sup>, 6<sup>+</sup> であり、OPM-1ds 細胞は VLA-3<sup>+</sup>, 4<sup>+</sup>, 5<sup>-</sup>, 6<sup>+</sup> であった。阻害実験の結果、FN への遊走は VLA-4<sup>+</sup>5<sup>-</sup> の細胞では VLA-4 依存性に遊走がおり、VLA-4<sup>+</sup>5<sup>+</sup> の細胞では VLA-4 を介した作用が中心で、単独では機能しない VLA-5 が VLA-4 の補助的作用を示すことがわかった。このことは VLA-5 が認識する FN の細胞接着部分のアミノ酸配列と同じ人工ペプチド (GRGDSP) を用いても、抗  $\alpha 5$  インテグリン抗体を用いたときと同じ結果が得られ、確認された。また LN への遊走は、VLA-3<sup>-</sup>6<sup>+</sup> の細胞では VLA-6 依存性に遊走がおり、VLA-3<sup>+</sup>6<sup>+</sup> の細胞では VLA-3, 6 の両方が機能しているが、VLA-3 の方が優位であることがわかった。

次に、骨髄中での MPC の遊走特性を検討するため、BMSC 株の培養上清と MPC 株を 2 日間共培養した後で、MPC

株のFN, LNへの遊走をみた。その結果, MPC株のLN, FNに対する遊走は共に20~30%に抑制された。さらに, MPC株(U266/B1, ARH-77, RPMI8226)を増やし同様の検討をおこなったところ, FNへ遊走を示したU266/B1, ARH-77細胞においてもBMSC株培養上清により共に抑制され, LNへ遊走を示したU266/B1細胞においても同様に抑制がみられた。抗IL-6抗体あるいは抗IL-6レセプター抗体を同時添加し共培養をおこなうと, 遊走抑制活性が解除され, リコンビナントIL-6にも遊走抑制活性を認めたことから, BMSC株培養上清中の遊走抑制因子がIL-6であることがあきらかとなった。実験で用いた5細胞株にはいずれもIL-6レセプター, gp130の発現を認めるがIL-6による増殖はみられず, IL-6の産生も認めなかった。IL-6刺激により細胞表面のインテグリン発現には変化はみられなかった。また, 抗gp130抗体によりIL-6の遊走抑制活性は阻害されるため, IL-6による遊走抑制活性のシグナルはgp130を介していることがわかった。

#### 【総括】

形質細胞の細胞運動についての検討は, 今まで報告がなく本研究がはじめてであり, この細胞のケモタキシスが, ECMのLN, FNにより惹起されることをあきらかにした。MCは, 一般にVLA-4, 6陽性であり, VLA-3, 5の発現は, 一部の細胞のみ陽性であることが知られている。MCの生体内分布は, 少なくとも, FN, LNの濃度, 細胞のインテグリン発現パターンという2つの因子の影響を受けていると考えられる。

さらに, LN, FNにより惹起される遊走は, IL-6によって抑制されるということをあきらかにした。骨髄腫においては, MCがBMSCから分泌されるIL-6により遊走能抑制を受け, 骨髄中にとどまっている可能性が示唆された。IL-6のMC遊走抑制は, IL-6の新しく見いだされた作用であり, 本研究の成績はMCの骨髄への選択的定着という病態を説明できる新しい機序を示したものである。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, 多発性骨髄腫における骨髄親和性病態を考える上で, 接着分子を介した骨髄腫細胞の細胞運動(遊走能)と, 骨髄中での骨髄腫細胞の遊走特性を検討したものである。ヒト腫瘍化形質細胞株は, 細胞外マトリックス蛋白であるフィブロネクチン, ラミニンによって遊走能が惹起され, その遊走は, 細胞膜上のインテグリン分子(VLA)を介していることが示された。次に, 骨髄ストローマ細胞が腫瘍化形質細胞株の遊走にどのような影響を与えるかが検討され, 骨髄ストローマ細胞株の培養上清によって, 腫瘍化形質細胞株の遊走能が抑制されることが示され, さらに, その培養上清中の遊走抑制活性をもつ液性因子は, IL-6であることが明らかとなった。以上の成績から, 多発性骨髄腫においては, 骨髄腫細胞が骨髄ストローマ細胞から分泌されるIL-6により遊走能抑制を受け, 骨髄中にとどまっている可能性が示唆され, また, IL-6の新しい作用が示された。以上より, 本研究の成績は, 骨髄腫細胞の遊走能とその骨髄における特性を明らかにしたもので, 骨髄腫の骨髄親和性病態を説明する新しい仮説であり学位に値する研究であると考えられる。