



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Myeloma Cells Express Fas Antigen/AP0-1 (CD95) but Only Some Are Sensitive to Anti-Fas Antibody Resulting in Apoptosis                          |
| Author(s)    | 嶋, 良仁                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学, 1996, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40296">https://hdl.handle.net/11094/40296</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">大阪大学の博士論文について</a>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           | 嶋 良 仁                                                                                                                                                                                        |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                    |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 2 7 0 1 号                                                                                                                                                                                |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 8 年 9 月 30 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     | Myeloma Cells Express Fas Antigen/APO-1(CD95) but Only Some Are Sensitive to Anti-Fas Antibody Resulting in Apoptosis<br>(骨髄腫細胞は Fas 抗原/APO-1(CD95) を発現しているが、抗 Fas 抗体でアポトーシスが誘導されるのはその一部である) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 岸 本 忠 三<br>(副査)<br>教 授 辻 本 賀 英 教 授 長 田 重 一                                                                                                                                       |

## 論 文 内 容 の 要 旨

『目 的』 多発性骨髄腫は形質細胞の悪性増殖性疾患であるが、この病態形成にいかなる増殖因子が関っているかを  
知るために、種々のサイトカインレセプターの発現を骨髄腫細胞株と患者から得た新鮮な骨髄腫細胞について検討し  
た。特に Fas 抗原 (APO-1, CD95) は、これを介したシグナルによりアポトーシスが誘導されることが知られている  
が、骨髄腫細胞の様に分裂速度の遅い腫瘍においてはアポトーシスの回避が重要な意味を持つと考えられる。そこで、  
骨髄腫細胞での Fas 抗原の発現とそれを介したアポトーシスの成否、ならびにアポトーシス阻害因子として知られる  
Bcl-2 の発現について検討した。

『方法ならびに成績』 5 種類の骨髄腫細胞株 (RPMI8226, ARH77, KMM-1, U266, および Hs) と 8 例の患者より  
得た新鮮骨髄腫細胞を対象とした。8 例のうち 1 例は一旦 severe combined immunodeficiency (SCID) mouse に移  
植し、成長した腫瘍を摘出してこの検討に供した。これらに対し、interleukin-1 (IL-1) receptor (R) type I および  
type II, IL-2R $\alpha$  および  $\beta$ , IL-4R, IL-6R, gp130, IL-7R, IL-8R, granulocyte macrophage colony-stimulating factor  
R (GM-CSFR), c-kit, membrane bound stem cell factor (MBSCF), tumor necrosis factor R (TNFR) type I お  
よび type II, Fas 抗原, そして interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ R) の発現を FACS で検討した。この結果, IL-1R type II,  
IL-2R $\alpha$ , IL-4R, IL-8R, TNFR type I はいずれの細胞にも検出されず, IL-1R type I, IL-2R $\beta$ , IL-7R, GM-CSFR,  
c-kit, MBSCF, TNFR type II は一部の例に認められただけであった。gp130, IFN- $\gamma$ R は全例に, IL-6R は13例中  
11例に, Fas 抗原は13例中12例に認められた。骨髄腫細胞では, IL-6R は IL-6 が結合後 gp130 を介して細胞内に増殖  
のシグナルを伝達することが知られている。逆に, IFN- $\gamma$ R は IFN- $\gamma$  が結合後骨髄腫細胞の IL-6R の発現を低下さ  
せ, その増殖抑制に働くことが報告されている。しかし, 骨髄腫細胞における Fas 抗原の意義は未だ知られていない  
ため, この Fas 抗原がアポトーシスを誘導しうるか否かを次に検討した。IgM クラスの抗 Fas モノクローナル抗体  
CH-11 (100 ng/ml) との共培養を37°C, 5 % CO<sub>2</sub> の条件下で行い, その形態変化を May-Grünwald-Giemsa 法で染色  
して経時的に観察した。この結果, 5 種の細胞株中 RPMI8226, ARH77, KMM-1 については60分後より核の断片化,  
アポトーシス小体の出現といったアポトーシスに特徴的な形態変化が現れ始めた。これらの変化を伴う細胞は経時的

に増加し、18時間後には約75%に至った。これに対し、U266 と Hs には同抗体濃度を10  $\mu$ g/ml まで高めてもこれらの変化は現れず、さらに IFN- $\gamma$  (200 IU/ml) と24時間の共培養の後に抗 Fas 抗体を添加し39°Cで培養したが、U266, Hs には変化が現れなかった。8 例の患者から得た骨髓腫細胞に対しても同抗体100 ng/ml によりアポトーシス現象が観察されたが、増殖抑制効果を  $^3$ H-thymidin の取り込みの低下で検討した。SCID mouse より摘出された検体は同抗体により100%の抑制がみられたが、その他は検体によって異なり、平均 $27.6\% \pm 28.0$  (mean  $\pm$  SD, n=7) であった。しかしながら、Fas 抗原の発現量と抑制率との間に明確な相関はみられなかった。

Fas 抗原の発現にも関わらずアポトーシスが誘導されない現象を解析するため、アポトーシスの阻害作用が報告されている Bcl-2 蛋白の発現を上述の5種類の骨髓腫細胞株について FACS で検討した。この結果、いずれの細胞株でも Bcl-2 の発現が認められ、Bcl-2 の発現と Fas 抗原を介したアポトーシス誘導の成否との間には関連がみられなかった。

【総括】 骨髓腫細胞株および患者から得た新鮮骨髓腫細胞において、IL-1R type II, IL-2R $\alpha$ , IL-4R, IL-8R, TNFR type I はいずれの細胞にも検出されなかった。IL-6R は多くの例で認められ、gp130 および IFN- $\gamma$ R は全例で陽性であった。また、ほとんどの検体は Fas 抗原を発現しているが、アポトーシスが誘導されたのはその一部であった。アポトーシスからの回避のメカニズムを解析することは、今後多発性骨髓腫の病態を考える上で重要と考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

骨髓腫細胞は IL-6 をはじめとした種々のサイトカインによりその増殖が促進されることが証明されているが、本論文は患者より得た新鮮な骨髓腫細胞と骨髓腫細胞株を用いていかなるサイトカインレセプターが発現されているかを調べたものである。IL-6 やそのシグナル伝達分子である gp130 が普遍的に発現されていたことは上述の現象に合致した所見であるが、アポトーシスを誘導する Fas 抗原が普遍的に表出されていたことは新たな発見である。更に、同抗原の発現にもかかわらず抗 Fas 抗体でアポトーシスが誘導されるのはその一部のみであることを示している。骨髓腫細胞は緩徐に増殖する腫瘍細胞であるため、腫瘍形成のためにはアポトーシスからの回避が必要であり、多発性骨髓腫の病因を解明する上で重要であると考えられる。よって、本論文は学位に値すると考える。