The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Molecular Cloning and Chromosomal Mapping of a Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene, BST2, That May Be Involved in Pre-B-Cell Growth
Author(s)	石川, 淳
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40335
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

【 33 】

氏　　名	石川　淳（いしかわ　じゅん）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　12683　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	Molecular Cloning and Chromosomal Mapping of a Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene, BST2, That May Be Involved in Pre-B-Cell Growth (pre-B細胞の増殖に関与する骨髄ストローマ細胞上の新規膜蛋白の遺伝子クローニング)
論文審査委員	(主査) 教授　松沢　佑次 (副査) 教授　越智　隆弘　　教授　平野　俊夫

論文内容の要旨

(目　的)

B前駆細胞の増殖にはIL-7などの液性因子だけではなく，骨髄ストローマ細胞との直接接触が必要であるとされているが，その機構は不明である。慢性関節リウマチや多発性骨髄腫患者の骨髄より樹立した骨髄ストローマ細胞株は正常由来の骨髄ストローマ細胞株に比し，pre-B細胞株の増殖支持能が高く，しかもこの増殖支持能は未知のストローマ細胞膜上の膜蛋白を介していることが示唆された。この知見をもとに，本研究ではpre-B細胞の増殖に関与する骨髄ストローマ細胞上の新規膜蛋白を同定し，B前駆細胞の増殖機構を明らかにすることを目的とした。

(方法と成績)

pre-B細胞の増殖支持能の高いヒト骨髄ストローマ細胞株をBalb/cマウスに免疫し，これらのストローマ細胞株とは反応するが，正常由来でpre-B細胞の増殖支持能を持たないストローマ細胞株とは反応しない抗ヒトストローマ細胞抗体RF3，SG2，RS38を樹立した。RF3とSG2は互いに他の結合を阻害することから同一の分子を認識するものと考えられた。RF3/SG2およびRS38の認識する蛋白をそれぞれbone marrow stromal antigen1, 2 (BST-1, BST-2)と名付けた。各種細胞株での発現をフローサイトメーターで検討するとストローマ細胞株以外ではBST-1は単球性白血病細胞株U937や臍帯血由来血管内皮細胞に，BST-2はCL4等のB細胞系の細胞株に発現していた。

BST-1，2を高発現しているストローマ細胞株から発現ライブラリーを作製し，ヒト胎児腎細胞株，293T細胞にリン酸カルシウム法でtransfectionしたのちRF3, RS38抗体を用いてフローサイトメーターでスクリーニングし，RF3, RS38の認識する膜蛋白をコードするcDNAを単離した。BST-1のcDNAは全長1418 bpで最長open reading frame (ORF) から318アミノ酸からなり，N末及びC末に疎水性部分が存在し，それぞれsignal sequence, transmenbrane regionと推定された。また，BST-2のcDNAは全長996 bpで最長ORFから180アミノ酸からなり，N末の20個の親水性部分に続いて28個の疎水性部分が存在し，N末が細胞質内にあるtypeIIの膜蛋白と推定された。

BST-1はアミノ酸レベルでヒトリンパ球抗原CD38と33%，アメフラシcyclaseと26%のhomologyが認められた。BST-2は有意なホモロジーは認められなかった。またBST-1はphosphatidylinositol-specific phospholipase C

処理にて発現が低下することからglycosyl-phosphatidylinositol anchor型の膜蛋白であることが証明された。

種々の組織での発現をノザンブロット法で検討するとBST-1は腎，肺，胎盤に，BST-2は肝，肺，胎盤，心に強く発現していた。また細胞表面をビオチン化した後，モノクローナル抗体で免疫沈降した結果，BST-1，-2の分子量はそれぞれ約45 kDa，約35 kDaであった。

BST-1，2がpre-B細胞の増殖にかかわるか検討するため，マウス繊維芽細胞株BALB3T3に発現させたstable transfectantを作製し，マウスストローマ細胞依存性pre-B細胞株DW34と共培養を行い，回収したDW34の細胞数を算定した。BST-1，2を発現させた細胞株では非発現株に比しDW34の細胞数が約2倍に増加しており，BST-1，2がpre-B細胞の増殖に関与している可能性が示唆された。

（総　括）

1．骨髄ストローマ細胞上に発現している新規膜蛋白BST-1，2を認識するモノクローナル抗体RF3/SG2，RS38を樹立し，発現クローニング法によりBST-1，BST-2をコードする遺伝子を単離した。最長ORFよりBST-1は318アミノ酸，BST-2は180アミノ酸からなると推定された。

2．BST-1はアミノ酸レベルでヒトリンパ球抗原CD38と33%，アメフラシcyclaseと26%のhomologyが認められた。

3．BST-1は分子量45 kDaでGPI-anchor型の，BST-2は35 kDaでtypeIIの膜蛋白であった。

4．マウス繊維芽細胞株にBST-1，BST-2を発現させることにより，pre-B細胞株の増殖が約2倍助長された。このことから，BST-1とBST-2はB前駆細胞の増殖に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究はpre-B細胞の増殖に関与する骨髄間質細胞上の新規膜蛋白BST-1，BST-2のcDNAクローニングを行ったものである。pre-B細胞株の増殖支持能の高い骨髄間質細胞株と反応し，pre-B細胞株の増殖支持能のない骨髄間質細胞株とは反応しないモノクローナル抗体RF3/SG2，RS38を樹立した。また，発現クローニング法により，これらのモノクローナル抗体が認識する新規膜蛋白BST-1，BST-2をコードするcDNAを単離することに成功した。

BST-1は，318アミノ酸からなり，ヒトリンパ球抗原CD38と33%のホモロジーが認められ，分子量45 kDaのGPI-anchor型の膜蛋白であった。また，BST-2は，180アミノ酸からなり，分子量35 kDaのN末が細胞質内にあるtypeIIの膜蛋白であった。種々の組織での発現をノザンブロット法で検討すると，BST-1は腎，肺，胎盤に，BST-2は，肝，肺，胎盤，心に強く発現していた。

さらに，BST-1とBST-2を発現させた繊維芽細胞とpre-B細胞株を共培養した結果から，BST-1，BST-2がpre-B細胞株の増殖に関与していることを明らかにした。BST-1，BST-2の同定は，B lymphopoiesisの機構を明らかにする上で意義深いものであり，学位に値すると考えられる。