

Title	CD43分子によるリンパ球-歯肉線維芽細胞間接着制御機構の解析
Author(s)	安藤, 昭嗣
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42464
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	安藤 昭嗣
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 16131 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	CD43分子によるリンパ球-歯肉線維芽細胞間接着制御機構の解析
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏 (副査) 教授 伊集院直邦 講師 岩本 資己 講師 大倉 正也

論文内容の要旨

(研究目的)

慢性炎症疾患である歯周炎の病巣局所、特に歯周ポケット上皮直下の結合組織には、リンパ球をはじめとする多数の免疫担当細胞の浸潤が病理組織学的に認められる。このように病巣局所に遊走、浸潤してきたリンパ球は、結合組織を構成する歯肉線維芽細胞(HGF)や細胞外基質に接着して病巣に定着するものと考えられる。事実、活性化したリンパ球はVLAインテグリン、LFA-1/ICAM-1、CD44/ヒアルロン酸を介してHGFと接着することを当教室ですでに明らかにしている。興味深いことに、抗CD44抗体であるOS/37でHGFを処理すると、HGFとリンパ球との接着が飛躍的に亢進することが近年見いだされた。我々はこのOS/37処理により誘導される異種細胞間接着を負に制御する抗体3S-B2の樹立に成功し、この抗体がリンパ球上のCD43分子を認識することを明らかにした。そこで、本研究ではリンパ球上のCD43分子が如何なる機構により上記のリンパ球-HGF間の細胞接着を制御しているのかを分子レベルで検討した。

(材料と方法)

- (1) 細胞接着実験：24穴平底培養プレートで単層培養したHGF上および各種細胞外基質を固相化したプレート上で、⁵¹Crにて標識した種々のリンパ球系細胞を30分間培養した。洗浄により非接着細胞を除去した後、HGF上に接着した細胞からの放射活性をガンマカウンターにて測定し、接着細胞数の定量化を行った。
- (2) CD43-Igキメラ蛋白の作成：ヒトCD43分子の細胞外部分をコードするDNAとマウスIgG2aFc部分をコードするDNAとを発現ベクター(pCl-neo)に組み込み、これをヒト胎児腎形質転換細胞株(293T)にリン酸カルシウム法にて遺伝子導入し、CD43-Igキメラ蛋白を作成した。
- (3) CD43遺伝子導入細胞株の作成：全長ヒトCD43分子をコードするDNAを発現ベクター(pCl-neo)に組み込み、pCl-neo-CD43Fを作成した。これをヒトCD43分子を発現していない細胞株であるマウス前駆B細胞株(Baf3)にエレクトロポレーション法にて遺伝子導入し、Baf3-CD43を作成した。次に、全長あるいは細胞内ドメインを欠損したヒトCD43分子をコードするDNAを発現ベクター(pCl-neo)に組み込んだpCl-neo-CD43FならびにpCl-neo-CD43TMをそれぞれ作成した。これらをマウス胸腺腫細胞株(EL-4)にエレクトロポレーション法にて遺伝子導入し、EL-4-CD43FならびにEL-4-CD43TMをそれぞれ作成した。
- (4) 代謝阻害剤を用いた細胞接着実験：赤芽球系白血病腫瘍細胞株(K562)を各種代謝阻害剤で30分間前処理し、

洗浄後、この K562 と OS/37 処理した HGF との細胞接着実験を行った。

(結果)

- (1) リンパ球上の CD43 分子が直接の接着分子として機能する可能性の検討：CD43-Ig キメラ蛋白は OS/37 処理により誘導される K562-HGF 間の接着を競合的に阻害しなかった。また、CD43 分子を発現しておらず、且つ、OS/37 処理した HGF と接着亢進能をもたない細胞である Baf 3 にヒト CD43 分子を強制発現させても (Baf 3-CD43)、同細胞の OS/37 処理した HGF に対する細胞接着の亢進は認めなかった。
- (2) リンパ球上の CD43 分子がシグナル伝達分子として機能し、3S-B2 による刺激が接着に対して負のシグナルを細胞内に伝達する可能性の検討：ヒト CD43 分子の発現のない細胞株である EL-4 に、全長ヒト CD43 分子 (EL-4-CD43F)、もう一方は細胞内ドメインを欠損したヒト CD43 分子 (EL-4-CD43TM) を強制発現させ、OS/37 処理した HGF と細胞接着実験を行ったところ、3S-B2 は EL-4-CD43F の細胞接着亢進のみを抑制した。
- (3) CD43 分子を介した細胞内シグナルが他の接着経路におよぼす影響についての検討：K562 を 3S-B2 にて処理しても、固相化したフィブロネクチンならびにヒアルロン酸に対する接着 (それぞれ VLA β 1 インテグリンならびに CD44 依存的) には何ら影響をおよぼさなかった。
- (4) 各種代謝阻害剤を用いた細胞間接着制御の検討：OS/37 処理により誘導される K562-HGF 間の接着は、K562 をプロテインキナーゼ C (PKC) 活性化剤 (PMA) ならびにグアニル酸シクラーゼ阻害剤 (LY-83, 583) で処理することにより抑制された。

(結論および考察)

以上の研究結果から、リンパ球系細胞上の CD43 分子は、直接の接着分子としてではなく、シグナル伝達分子として作用し、OS/37 処理により誘導される HGF とリンパ球との接着亢進に対して細胞接着制御分子として働くことが示唆された。CD43 分子はその構造上の特徴から、多様な生理的機能を営むことが推察されており、細胞接着という現象に限定しても、種々の細胞間接着において相反する機能を果たすユニークな性質を持つ分子である。本研究では、CD44 分子を介して活性化された HGF に対するリンパ球系細胞の接着に対して、CD43 分子の細胞内ドメインを欠落した細胞株が細胞接着阻害能を示さなかったことから、この接着制御機構には CD43 分子の細胞内ドメインの存在が不可欠であることが示された。また、HGF との接着に関わる K562 内のシグナル伝達には PKC およびグアニル酸シクラーゼ経路が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、CD44 分子を介して活性化されたヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) とリンパ球との異種細胞間接着をリンパ球上の CD43 分子が制御する機構について検討したものである。その結果、CD43 分子は接着分子として直接機能するのではなく、その細胞内ドメインを介したシグナル伝達系を介して、この細胞間接着を特異的に制御することが示された。また、このシグナルにはプロテインキナーゼ C およびグアニル酸シクラーゼ活性が関与することが示唆された。これらの知見は、種々の細胞間における接着性相互作用を制御する分子の一つとして重要視されている CD43 分子の機能を知る上で貴重な情報を提供するものであり、本研究は博士 (歯学) の学位請求に値するものと認める。