

Title	The Earliest Stages of B Cell Development Require a Chemokine Stromal Cell-Derived Factor/Pre-B Cell Growth-Stimulating Factor
Author(s)	榮川, 健
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43775
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	榮 川 健 ^{え がわ たけし}
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 16630 号
学位授与年月日	平成14年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	The Earliest Stages of B Cell Development Require a Chemokine Stromal Cell-Derived Factor/Pre-B Cell Growth-Stimulating Factor (ケモカイン SDF-1/PBSF は最も未分化な段階の B リンパ球発生に必須である)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

【目的】

Bリンパ球の発生・分化は胎生期は肝臓で、成体では骨髄で行われ、造血幹細胞からの分化過程においてこれら造血臓器の微小環境での環境因子が必須であると考えられている。B細胞造血に必須の代表的なサイトカインの一つである Interleukin7 (IL-7) を含め、これまでの最も未分化な段階の B 前駆細胞に必須である環境因子は不明である。一方、ケモカイン SDF-1/PBSF 及びその受容体 CXCR4 は長澤らによりストローマ細胞依存性プレ B 細胞株 DW34 の Stem Cell Factor (SCF)、IL-7 による増殖を促進する因子及びその生理的受容体として同定された。これらの分子の遺伝子欠損マウスは胎生致死であり胎児肝でプロ B 細胞が減少していること及びホモ接合体胎児肝細胞を骨髄移植した成体マウス骨髄においてドナー由来の全 B 細胞数が減少していることからこれらの分子が B 細胞造血に必須であることは示されているが、Bリンパ球の分化段階のうちどの段階がその標的であるかは不明である。そこで我々は成体骨髄及び胎児肝の最も未分化な B 前駆細胞の発生における SDF-1 および CXCR4 の役割を検討すると共に、SDF-1 の生理的標的細胞の同定を試みた。

【方法ならびに成績】

CXCR4 欠損マウスは胎生致死であるため、成体骨髄における B 細胞造血の解析には Ly5.2 アロタイプを持つ CXCR4 欠損胎児肝細胞を放射線照射した Ly5.1 野生型マウスに移植し造血を再構築させたキメラマウスを用い、移植した造血幹細胞による造血が定常化する移植後16週以上経過後にドナー由来の造血の再構築をフローサイトメトリーにて解析した。その結果、CXCR4 欠損胎児肝細胞を移植したマウスの骨髄では多分化能前駆細胞が濃縮された分画である分化抗原陰性 c-kit 陽性 Scal 陽性細胞は対照とほぼ同程度に再構築されたのに対し、骨髄の B 細胞分画の再構築は著明に障害されていた。次に B 前駆細胞分画についてさらに詳細に解析した。成体の B 細胞造血においては、最も早期の分化段階の前駆細胞として複数のグループより B 細胞系列特異的な抗原である B220 を発現するが CD19 が陰性の異なる分画が報告されている。しかし CXCR4 欠損キメラマウスでは B 前駆細胞分画のすべてが対照と比較して著明に減少していた。一方、胎児肝においては、B 前駆細胞の解析は進んでおらず B220 及び CD19 が共に陽性のプロ B 細胞は同定されていたもののこれより早期の B 前駆細胞分画は同定されていなかった。近年、京都大学桂教授らのグループにより MLP アッセイ法を用いて胎生12日目から出現する分化抗原陰性 IL-7 受容体陽性の細胞分画に B 前駆細胞および T/NK 前駆細胞 (p-T/NK) が濃縮されることが報告された。そこで我々は今回新たに抗 CD19

抗体及び AA4.1抗体を用いその IL-7 受容体陽性細胞から B 前駆細胞が高度に濃縮された分画を同定した。この分画は B220陰性 CD19陰性 AA4.1陽性 IL-7 受容体陽性で B 細胞特異的遺伝子を有意に発現するが CD19陽性のプロ B 細胞よりも胎生期の早い時期に出現し B220陽性 CD19陽性のプロ B 細胞で見られる免疫グロブリン遺伝子座の VDJ 組換えが見られないことから、このプロ B 細胞より未分化な B 前駆細胞と考えられた。SDF-1 欠損及び CXCR4 欠損マウスの胎児肝では野生型に比較し多分化能前駆細胞数及び IL-7 受容体陽性分画中の p-T/NK の細胞数はほぼ同様に見られるのに対し、CD19陽性プロ B 細胞に加えこの CD19陰性 B 前駆細胞分画の発生も著明に障害されていた。一方 B 細胞造血に必須であることが示されているサイトカインである IL-7 の欠損マウスでは CD19陽性プロ B 細胞の減少は認められるが、この CD19陰性 B 前駆細胞は野生型とほぼ同様に見られた。

さらにこの CD19陰性 B 前駆細胞および p-T/NK の SDF-1、SCF、IL-7 に対する反応性を *in vitro* で調べたところ、両分画とも SDF-1 に対し遊走活性を示したが、B 前駆細胞のみ IL-7 と SDF-1 あるいは SCF と SDF-1 の組み合わせに対し特異的に生存促進活性を示した。

【総括】

成体骨髄において最も早期の B 前駆細胞分画の候補がこれまで複数のグループから報告されているが、どれが B 細胞造血の主たる生理的な分化系列上の前駆細胞かは明らかではなかった。我々は胎児肝において経時的に発生段階を解析することにより生理的な B 前駆細胞と考えられる分化抗原陰性の分画を同定した。SDF-1 は骨髄及び胎仔肝においてこれら系列決定直後の最も未分化な B 前駆細胞の発生に必須のサイトカインであることが明らかになった。また SDF-1 はこれらの最も未分化な B 前駆細胞に必須であることが示された最初のサイトカインである。SDF-1 は白血球に対して遊走誘導活性を示すサイトカインとされるケモカインファミリーのメンバーである。これまでケモカインは主に炎症部位への白血球の遊走あるいは免疫反応時の胚中心でのリンパ球の移動に必要なサイトカインと考えられてきたが、今回得られた知見はケモカインが生理的な B 細胞造血の極早期の段階で必須の役割を持つことを示すものでありケモカインの機能に新たな一面を加えるものである。さらに近年、造血環境内での前駆細胞の移動あるいは造血幹細胞、前駆細胞固有の Niche の存在が提唱されている。SDF-1 は極早期の B 前駆細胞に対し高い遊走誘導活性を示したことから造血臓器内でのこれら前駆細胞の Niche への移動を制御している可能性が示唆される。したがって本研究により血球の発生における新しい環境因子による制御機構の存在が示唆される。

論文審査の結果の要旨

本研究は B リンパ球の初期造血におけるケモカイン SDF-1/PBSF 及びその受容体 CXCR4 の役割に関するものである。これまで、その分子的基盤が明らかでなかった B リンパ球発生の初期段階を支持する環境因子に関し、本研究では遺伝子欠損マウスを用いた成体及び胎児での B リンパ球造血の詳細な解析により SDF-1 の B リンパ球造血における生理的標的細胞の同定し、系列決定直後の極早期の段階の B リンパ球前駆細胞に対する SDF-1 の役割を明らかにした。特に胎児肝での解析においてはこれまで同定されていなかった極早期の B リンパ球前駆細胞集団を純化し同定するとともに、それらの細胞に対する SDF-1 の生物学的活性についても *in vitro* で解析がなされている。これらの結果より SDF-1 が系列決定直後の B リンパ球前駆細胞を標的とし、それらの細胞の発生に必須の役割を持っていることが明らかになった。本研究により生理的な状態での早期の血球発生段階でのケモカインの機能が示され、ケモカインの機能の新たな側面が明らかになった。また、SDF-1 に対する系列決定直後の前駆細胞の高い遊走活性が示されたことから、近年その存在が示唆されている造血臓器内での各前駆細胞の固有のニッチ (Niche) への前駆細胞の移動をストローマ由来の因子が制御している可能性も考えられ、本研究はこれまで考えられていた増殖、接着といった環境因子の機能に造血臓器内での前駆細胞の空間的制御という新たな概念を提唱するものである。よって、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。