

氏 名 (本籍) なか むら たけ ひこ
 中 村 武 彦

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 9 7 5 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 6 3 年 2 月 2 4 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 5 6 年 3 月
 東 邦 大 学 理 学 部 生 物 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 Retinoic Acid Regulates IgG Fc Receptor
 Expression in Human Myelomonocytic leuke-
 mia cells and Normal Peripheral Monocytes.
 (ビ タ ミ ン A 酸 に よ る ヒ ト 骨 髄 性 細 胞 の Fc レ セ
 プ タ ー の 発 現 調 節)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 菅 村 和 夫 教 授 橋 武 彦

 教 授 伊 藤 恒 敏

論文内容要旨

〔目的〕

レチノイド類は細胞の増殖・分化を制御する物質として知られている。しかし、それらの役割や作用機作について不明な点が多い。生体内レチノイドのひとつであるビタミンA酸(RA)は、血液中に10 nM程度の濃度で存在しており、血液細胞への作用に興味が持たれている。これら細胞のうち骨髄性細胞でのRAの作用は比較的解明されており *in vitro* でヒト骨髄性細胞株の分化を誘導することが知られている。著者は、骨髄性白血病細胞の分化の研究過程で、RAが細胞株によってはIgG-Fcレセプター(Fc γ R)の発現を増強あるいは抑制することを見出した。そこで骨髄性細胞のFc γ Rの発現調節に対するRAの作用をより詳細に明らかにする目的で種々の骨髄性株化細胞・正常人及び白血病患者由来の白血球を用い検討した。

〔方法〕

ヒト骨髄性細胞株はMyeloblast様細胞KG-1a・KG-1・ML-1, Promyelocyte様細胞HL-60, Monoblast様細胞U-937, そしてMonocyte様細胞THP-1-Tの6種を用い、ウシ胎児血清添加RPMI 1640培地で継代培養した。正常人末梢血あるいは白血病患者末梢血及び骨髄細胞(13例)は比重遠心法により白血球画分を分離し実験に供した。RAはエタノールに溶解後培地に添加し、継時的に細胞のFc γ Rを測定した。Fc γ Rの検出は、1) 抗ヒツジ赤血球(SRBC) IgGで感作したSRBCを用いたEAロゼット法、2) ¹²⁵I標識IgGを用いたbinding assayで行ない、更に、Scatchard解析を行なった。

〔結果〕

細胞株ではKG-1a・KG-1はRA 300 nMによるFc γ Rの発現増強は認められなかった。HL-60はRA 300 nMによりEA陽性細胞が23.2%から48.6%と約2倍に増加した。一方、ML-1・U-937・THP-1-Tでは300 nM RA処理により各々38.9%から29.3%, 47.0%から35.3%, 79.7%から41.5%とEA陽性細胞がそれぞれ減少した。白血病患者の白血球では、AML 6例はRA処理によってEA陽性細胞の増減が認められなかったが、APL 2例(5%から45%, 67%から89%)・AML 2例(4%から21%, 4%から35%)でRA処理によりEA陽性細胞が増加した。一方、AMMoL 2例(38%から32%, 81%から58%)及び正常人単球(56%から25%)ではRA処理でEA陽性細胞が減少した。更に、HL-60とTHP-1-Tを用い詳細に検討した。RAによるEAの増強および抑制は、検索した1 nMから1 μ Mの範囲で濃度

依存的であった。しかし、HL-60でEA陽性細胞の増加が認められたのがRA処理後48時間以降であったのに対して、THP-1-TではRA処理後6時間よりEA陽性細胞の減少が見られ、12時間後には最大となり、少なくとも120時間後まで持続した。次に ^{125}I -IgGを用いScatchard解析を行なったところ、HL-60の未処理の細胞とRA 300 nM処理の細胞のレセプター数は各々約22,000/細胞と約100,000/細胞で、又、Kd値は8.4 nMと8.5 nMであった。THP-1-Tでは未処理の細胞とRA 300 nM処理の細胞のレセプター数は各々約208,000/細胞と約100,000/細胞で、Kd値は12.9 nMと13.7 nMであった。このことはRA処理によるFc γ Rの変化が数的な変化であって結合親和性の変化によるものではないことを示している。

〔 考 察 〕

Fc γ Rは骨髓球の分化段階においてはMyeloblast以降に発現しており、その発現量は細胞が成熟するに従って増加すると考えられている。未成熟な細胞でFc γ Rの発現のほとんど認められないKG-1a・KG-1やAML 6例はRAによる影響を受けなかったこと、ならびにAML 2例・APL 2例・及びHL-60ではFc γ Rの発現増強がみられたことから、RAはlateのmyeloblast以降の分化段階の細胞に作用するものと考えられた。しかも、AMMoL 2例・正常単球・U-937・THP-1-TにおいてはFc γ R発現を抑制したことからRAの作用は2相性であることが明らかになった。また、Fc γ Rの増加が48時間以上を要しde novo合成を必要としたのに対し、抑制には6-12時間と短時間の作用であることから、その作用機作は増強時と抑制時で異なることが示唆された。更に、HL-60とTHP-1-TではFc γ Rの数が未処理の細胞では約10倍の差があるのに対し、300 nM RA処理の細胞ではほとんど同じになり、かつ貪食能やADCC活性などを有するようになる。即ち、充分量のFc γ Rを発現した細胞ではその機能発現のためにFc γ Rの量を調節する必要がある、又、Fc γ Rの発現が不十分な未成熟な細胞では成熟の過程において必要量のFc γ Rを獲得する機構の存在が示唆され、RAはその発現調節を担っているものと考えられた。

審査結果の要旨

レチノイド類（ビタミンAとその類縁体）は、細胞の分化・増殖を制御する生体内因子として知られている。著者は、骨髄性白血病細胞の分化に関する研究過程で、ビタミンA酸（RA）が分化マーカーの1つであるIgG-Fcレセプター（Fc γ R）発現を調節していることを見出した。この現象をもとに分化段階の異なる骨髄性細胞を用いて、RAによるFc γ R発現調節について詳細に検討した。

まず、培養ヒト骨髄性白血病細胞および正常人あるいは白血病患者の細胞を用いFc γ R発現に対するRAの影響を調べた。その結果、RAは比較的未成熟でFc γ Rのほとんど発見していない細胞に影響を及ぼさない。一方、比較的成熟したmyeloblast以降の分化段階の細胞に対しては増強あるいは抑制作用を示すことが明らかになった。即ち、RAはFc γ R発現量の少ない細胞（promyelocyteやmyelocyte）にはその発現量を増強するが、すでに充分量発現している細胞（monoblastやmonocyte）にはその発現を抑制する。また、株化細胞（HL-60, THP-1-T）を用いての詳細な実験から、RAによるFc γ R発現増強作用にはde novo蛋白合成が必要であるのに対し、抑制作用にはその必要がない。従って、RAによるFc γ R発現増強と抑制作用の機序が異なることが判った。さらに、Fc γ R数が大きく異なる株化細胞をRA処理した場合に、それら全ての細胞ではFc γ R発現量が同程度になる。これら細胞における分化機能を調べると貧食能ならびにADCC活性において全て発現していることが確かめられた。

以上の結果から、著者は、RAが骨髄球の機能発現調節の一端を担っていると結論づけた。このように、本論文は骨髄性細胞の分化過程とFc γ R発現を結びつけ、さらに、ビタミンA酸の生体での役割の一端を明らかにした研究である。よって本論文は学位授与に値すると認められる。