

氏名（本籍）	井 口 淳 子 <small>い ぐち あつ こ</small>
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 3029 号
学位授与年月日	平 成 10 年 3 月 4 日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当
最終学歴	昭 和 59 年 3 月 27 日 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	骨髄間質細胞依存性の顆粒球造血の解析

（主 査）

論文審査委員 教授 里 見 進 教授 伊 藤 恒 敏

教授 菅 村 和 夫

# 論文内容要旨

## 【研究目的】

樹立されたマウス骨髄間質細胞株と、血液前駆細胞との共培養により、顆粒球造血が造血微小環境においてどのように制御されているかを解析する。

## 【方法および結果】

1) 成体マウス骨髄あるいは13日目マウス胎仔肝由来の血液前駆細胞と、骨髄間質細胞株との *in vitro* の共培養系を作成し、骨髄間質細胞を支持細胞としたときに、200個程度の顆粒球からなるコロニー (large G-colony) 形成がみられ、支持細胞のない条件でサイトカイン添加によって生成する小コロニーとは異なることがわかった。

2) large G-colony は、G-CSF とは独立に、支持細胞との直接的相互作用によって形成されていた。

3) 顆粒球に特異的な分化マーカーである、Gr-1 と MPO (myelo-peroxydase) について検討すると、どちらも、その発現には G-CSF に依存する段階と、間質細胞に依存する段階があると考えられた。

4) 顆粒球前駆細胞と間質細胞との直接的相互作用に関与する分子について、共培養系を用いて検討すると、c-Kit と SCF (steel factor), VLA-4 と VCAM-1 の相互作用が部分的に作用することがわかり、造血幹細胞と間質細胞との相互作用と比較して、これら分子の関与の割合が低くなっていることがわかった。また、この共培養系において、PECAM-1 の関与が認められ、PECAM-1 が他の血球への分化との相違を決定する因子である可能性が示唆された。

本研究は、顆粒球造血において、サイトカイン G-CSF と独立に間質細胞との直接的な相互作用に依存した分化・増殖の経路が存在することを、*in vitro* の系で初めて示した点において独創的であり、成熟顆粒球の遊走に機能するとされる PECAM-1 が初期の顆粒球造血にも関与することを示し、造血微小環境において機能する分子の今後の探索に寄与する点で、意義がある。

## 審査結果の要旨

造血細胞の分化・増殖には、造血組織における細胞と細胞との接触を介した、いわゆる微小環境が必須であることは、これまでに様々な研究によってあきらかにされてきた。

生体防御において重要な役割を担う好中球（以後顆粒球と記述）については、分化・増殖に働く因子として、IL-3, GM-CSF, G-CSF といった液性のサイトカインを中心に研究が進められてきた。なかでも G-CSF が顆粒球前駆細胞の増殖刺激や分化誘導に重要と考えられている。しかし、この G-CSF および G-CSF 受容体を欠損させたマウスで、顆粒球数は半減するものの、その骨髄および末梢血中には成熟した顆粒球が認められたという報告があり、G-CSF に依存しない顆粒球造血の段階が存在すると推察されていた。本実験は、*in vitro* で、G-CSF 非依存性の顆粒球造血の存在を証明したものである。

マウスの顆粒球前駆細胞と骨髄間質細胞株との共培養系を確立し、顆粒球前駆細胞として 13 日目マウス胎仔肝細胞および成体マウス骨髄細胞を用い、SV40 large T-antigen 導入トランスジェニックマウスから樹立された骨髄間質細胞株と共培養を行って、数日後に観察される 200 個以上の顆粒球コロニーを large G-colony と名付け、顆粒球前駆細胞の増殖の指標とした。また、共培養後の細胞の分化の程度について、顆粒球特異的な表面抗原 Gr-1 および myeloperoxidase の mRNA の発現について解析し、共培養系に抗 G-CSF 抗体を加えても、large G-colony の出現頻度や、分化マーカーの発現が部分的にしか阻害されないことから、顆粒球の増殖・分化いずれにおいても、支持細胞との直接的な相互作用に依存した段階があることを示している。更に、顆粒球前駆細胞とその支持細胞との直接的な相互作用に関与する分子を探索し、c-Kit と SCF (steel factor)、また、VLA-4 と VCAM-1 との相互作用が関与していることを示した。また、PECAM-1 の関与していることも示し、PECAM-1 が造血幹細胞から他の血球への分化との相違を決定する因子である可能性を示唆した。

本研究は、顆粒球造血において、サイトカイン G-CSF と独立に、間質細胞との直接的な相互作用に依存した増殖・分化の段階が存在することを、*in vitro* の系で初めて示した点において独創的であり、成熟顆粒球の遊走に関与するとされてきた PECAM-1 が、初期の顆粒球造血にも関与することを示したことは、造血微小環境において機能する分子の今後の探究に寄与するものである。よって本研究は十分に学位に値するものである。