

氏 名	横 井 暁 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2173 号
学位授与の日付	平成 12 年 1 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Selective Expression and Function of Granzyme D in the Lymphohematopoietic Stromal Cells (リンパ球造血支持細胞におけるグランザイム D の選択的発現及び機能に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 桂 義 元 教 授 西 川 伸 一 教 授 田 中 紘 一

論 文 内 容 の 要 旨

グランザイムは細胞障害性リンパ球の細胞内特殊顆粒中に存在するセリンプロテースのファミリーで、マウスではグランザイム A から G, K の 8 種類が同定されている。中でもグランザイム B はカススペースを活性化して、グランザイム A はグランザイム B とは別の機構でアポトーシスに関与することが知られている。グランザイム D, E, F, G は高いシーケンスホモロジーを有しており、発現は IL-2 で活性化した細胞障害性リンパ球に報告があるのみでその機能についてはほとんど報告されていない。本論文はグランザイム D が造血支持能を持つ線維芽細胞様ストローマ細胞株及び初代培養した骨髓ストローマ細胞に選択的に発現しており、ストローマ細胞の造血支持能に関与している可能性を示唆したものである。

実験は、正常臓器及び種々の細胞株におけるグランザイム D の発現をノーザンブロット法及び RT-PCR 法を用いて解析した。またストローマ細胞依存性のプレ T 細胞株である BTK を用いてストローマ細胞の BTK 増殖支持能とグランザイム D の発現との相関を解析した。

グランザイム D は正常臓器では胸腺に発現しており、細胞株では IL-2 依存性リンパ球の他、造血支持能を有するストローマ細胞株 ST 2, Tst-4, OP 9, PA 6 に発現していた。また骨髓細胞を Whitlock-Witte 法により初代培養して得られた線維芽細胞様付着細胞にもグランザイム D の発現を認めた。

次にストローマ細胞依存性のプレ T 細胞株 BTK を用いて、ストローマ細胞の BTK 増殖支持能を解析したところ、グランザイム D の発現と相関していた。すなわちグランザイム D の発現をノーザンブロットで同定できた ST-2, Tst-4 は BTK の増殖をよく支持し、ノーザンブロットでは同定できなかったが RT-PCR 法で同定できた PA 6 は ST-2, Tst-4 に比べて BTK の増殖能が弱かった。またグランザイム D の発現を RT-PCR においても認めない線維芽細胞様株 Tst-10 は BTK の増殖を支持できなかった。しかし Tst-10 にグランザイム D を遺伝子導入したところ Tst-4 と同程度 BTK の増殖を支持した。

以上の結果よりグランザイム D は造血支持細胞に発現し、リンパ球造血においてリンパ球とストローマ細胞間の相互作用に関与していることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、正常臓器及び種々の細胞株におけるグランザイム D の発現とその役割りを明らかにするために行ったものである。ノーザンブロット法及び RT-PCR 法を用いて解析した結果、グランザイム D は胸腺に発現しており、細胞株では造血支持能を有するストローマ細胞株 ST 2, Tst-4, OP 9, PA 6 に発現していた。また骨髓細胞を Whitlock-Witte 法により初代培養して得られた線維芽細胞様の付着性細胞にも発現が認められた。

ストローマ細胞依存性のプレ T 細胞株 (BTK) 細胞を用いて、グランザイム D の役割りを検討した。BTK 細胞の増殖を支持するストローマ株 TSt-4 はグランザイム D を発現していたが、支持能を持たない TSt-10 は発現していなかった。そこで、TSt-10 にグランザイム D の遺伝子を導入したところ、BTK 細胞の増殖支持能を獲得した。すなわち、プレ T 細胞の増殖にはグランザイム D が重要な役割りを担っていることが強く示唆された。

以上の研究はリンパ球系造血における支持細胞の機能の解明に貢献し、免疫学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 10 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。