

氏名	はら かわ な り 原 川 奈 梨
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1613 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Random migration of polymorphonuclear leukocytes induced by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, involving a signal transduction pathway different from that of fMLP (GM-CSF は好中球に random migration を誘導する, その機序は fMLP とは異なる情報伝達系を介する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 伊 藤 和 彦    教 授 永 田 和 宏    教 授 大 熊 稔

### 論 文 内 容 の 要 旨

GM-CSF は造血前駆細胞に作用し, 分化・増殖を促進するのみならず, 成熟血球に作用しその機能を修飾することが報告されている。今回, GM-CSF はヒト好中球に遊走活性を示さないにもかかわらず, 無方向性の運動 (random migration) を誘導することを確認した。遊走因子である fMLP, IL-8, LTB<sub>4</sub>, C5a は random migration と chemotaxis の両運動を誘導し, サイトカインの G-CSF, IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , は両運動をいずれも誘導しないことから, GM-CSF のヒト好中球に対する作用は極めて特異と考えられた。GM-CSF の作用機序を知るために, これ迄に比較的研究報告されている fMLP と比較しながら, 経時的変化や用量反応, 細胞内情報伝達系について検討した。GM-CSF による random migration は GM-CSF を 1 分間作用させた後洗浄除去しても, その効果は保たれた。一方, fMLP の場合は, 洗浄によって効果が失われ, GM-CSF と fMLP の好中球に対する作用機序の違いを反映したものと考えた。用量反応では, GM-CSF や fMLP による random migration は, それぞれ 100ng/ml 以上, 10<sup>-7</sup>M 以上において, プラトーカーブを示し, 一方, fMLP による chemotaxis は釣り鐘型のカーブを示した。この所見は, random migration と chemotaxis が異なる運動であることを示唆した。fMLP は, G 蛋白質を介し, プロテインチロシンキナーゼ (PTK), プロテインキナーゼ C (PKC), フォスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (P13-K) やその他種々の酵素を活性化した後, 機能を誘導することが詳細に報告されている。そこで GM-CSF により誘導される random migration の機序の検討を, G 蛋白質, PTK, PKC, P13-K, ミオシンライトチェインキナーゼ (MLCK) に対する阻害剤を用いて行った。その結果, GM-CSF 誘導の random migration は, G 蛋白質, PTK, PKC, P13-K を阻害しても, 影響を受けなかったが, MLCK の阻害により抑制された。一方, fMLP 誘導の random migration 及び chemotaxis は, G 蛋白質, PTK, MLCK の阻害により抑制された。結局検討した範囲では, GM-CSF 誘導の random migration には MLCK のみの関与が確認され, fMLP 誘導の random migration や chemotaxis に, Gi, PTK, MLCK

が関与することと明らかに異なる所見であった。GM-CSF 及び fMLP によって誘導される他の機能、 $O_2^-$  産生について、同様に細胞内情報伝達系の解析を行った。GM-CSF によって誘導される  $O_2^-$  産生には、PTK, P13-K, MLCK が関与し、fMLP 誘導の  $O_2^-$  産生には、Gi, PTK, P13-K, MLCK が関与した (fMLP については報告あり)。以上より、GM-CSF 誘導の  $O_2^-$  と fMLP 誘導の  $O_2^-$  産生には、PTK, P13-K, MLCK の関与が共通した。又、GM-CSF 誘導の運動と  $O_2^-$  産生では、細胞内情報伝達系が異なることを示した。GM-CSF 誘導する random migration の細胞内情報伝達系の詳細は、今後さらに検討されなければならない。

GM-CSF は、造血の場や、炎症の場において重要な役割を果たしていると考えられる。本論文では、GM-CSF が成熟好中球に短時間の作用で、random migration を誘導し得ること、そして、その作用機序について一部ながら明らかにした。GM-CSF の *in vivo* における機能と意義を考える上に有用な所見と考えた。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、GM-CSF がヒト好中球に chemotaxis を誘導せず、random migration を誘導することを示したものである。遊走因子である fMLP は両運動を誘導し、GM-CSF はいずれも誘導せず、GM-CSF の作用は極めて特異と考えられた。GM-CSF では、好中球に短時間作用させ、洗浄した後も random migration は持続したが、fMLP の場合はその反応が消失した。用量反応において、GM-CSF と fMLP による random migration はプラトーカーブを示し、fMLP による chemotaxis は釣り鐘型のカーブを示した。この所見は random migration と chemotaxis が異なる運動であることを示唆した。細胞内情報伝達系において、GM-CSF 誘導の random migration には myosin light chain kinase (MLCK) のみが関与し、fMLP 誘導の random migration や chemotaxis には G 蛋白質、protein tyrosine kinase (PTK) 及び MLCK の関与が確認された。GM-CSF に誘導される  $O_2^-$  産生と fMLP 誘導の  $O_2^-$  産生に共通して PTK, phosphatidylinositol 3-kinase 及び MLCK が関与することから、GM-CSF 誘導の運動と  $O_2^-$  産生では、細胞内情報伝達系が異なると考えられた。

以上の研究は、GM-CSF の好中球に対する作用機序の解明に貢献し、炎症や造血の場における GM-CSF の臨床応用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 9 年 2 月 28 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。