

氏 名	かわもと ひろし 河 本 宏
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1700 号
学位授与の日付	平成 11 年 9 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	Emergence of T cell progenitors without B cell or myeloid differentiation potential at the earliest stage of hematopoiesis in the murine fetal liver (マウス胎生期肝臓内造血の最も初期段階における B 細胞およびミエロイド細胞への分化能をもたない T 前駆細胞の発生)

論文調査委員 (主 査) 教授 漢 長 博 教授 西川 伸一 教授 桂 義 元

論 文 内 容 の 要 旨

T 細胞は主に胸腺でつくられ、その前駆細胞は胸腺外の造血臓器すなわち胎生期では肝臓 (fetel liver; FL), 成獣では骨髓に由来する。しかし、胸腺へ移行するのは多能前駆細胞なのか、T 細胞系列にのみ分化するよう決定された細胞なのかということは不明であった。このような問題を解決するには、個々の前駆細胞の分化能を解析できる培養系が必要である。われわれは、胎仔胸腺培養 (FTOC) に幹細胞因子 (SCF), IL-7 および IL-3 を加えることによって T 細胞, B 細胞およびミエロイド細胞が共に効率よく分化誘導できる培養系をつくることに成功した。この培養系で 1 個ずつの前駆細胞を培養すると、多系列への分化能を解析できる。この培養法を multilineage progenitor (MLP) アッセイと呼んでいる。

MLP アッセイを用いて胎仔胸腺中の最も未分化な分画の個々の前駆細胞の分化能を調べた結果、胸腺中には多能前駆細胞 (p-Multi) は存在せず、前駆細胞の大多数は T 細胞系列に決定された前駆細胞 (p-T) であった。B 細胞系列あるいはミエロイド細胞系列に決定された前駆細胞 (p-B, p-M) も、少数ながら存在していることがわかった。さらに、FL 中の前駆細胞分画にも、p-Multi だけでなく p-M, p-B とともに p-T が存在すること明らかになり、胸腺へ移行する前駆細胞は T 系列に決定したものである可能性が強く示された。

FL で p-T が生成する過程を明らかにするために、前駆細胞が濃縮された細胞群をさらに分画することを試みた。胎齢 12 日 FL 中の c-kit⁺ 細胞群を Sca-1 強陽性 (Sca-1^{high}), Sca-1 弱陽性 (Sca-1^{low}) および Sca-1 陰性 (Sca-1⁻) に画分すると、p-Multi は Sca-1^{high} 群にのみ検出された。一方、Sca-1^{low} 群の前駆細胞の殆どは系列決定済みであった。p-T はヌードマウスの FL 中にも正常マウスの FL と同じ頻度で認められ、p-T は胸腺由来ではないことが示された。さらに、胎仔血液中には p-T の頻度が高く、血流を介して前駆細胞が胸腺に移行するという考えを支持していた。p-T は FTOC 中で、非常に速く多数の T 細胞を生成する。また、FL 中の p-T はすべて常に $\alpha\beta$ T 細胞と $\gamma\delta$ T 細胞をともに生成する。一方、p-Multi も T 細胞を生成するが、p-T と比べて T 細胞の生成が 3-4 日遅れること、FTOC 中でサイトカイン無添加でも多数の B 細胞とミエロイド細胞をつくることなどから、p-Multi は胸腺へ移行する前駆細胞ではないことが強く示唆された。

もうひとつの重要な知見は、T 細胞と B 細胞とだけをつくる前駆細胞、すなわちリンパ系に共通の前駆細胞が検出されなかったことである。一方で、T 細胞とミエロイド細胞をつくる前駆細胞 (p-MT), B 細胞とミエロイド細胞をつくる前駆細胞 (p-MB) は多数検出された。p-T および p-B が造血のごく初期の段階から独立して存在すること、おそらくは p-MT および p-MB の段階を経て T, B 系列へと決定されることは、T, B 系列がそれぞれ独自の進化経路をたどった独立した系列であることを示唆している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、胸腺へ移行して T 細胞をつくりだす前駆細胞は多能前駆細胞なのか T 細胞系列へ分化決定された細胞 (T 前駆

細胞)なのかということを明らかにするために行ったものである。まず、個々の前駆細胞の T, B およびミエロイド細胞系列への分化能を解析できる培養系を樹立した (multilineage progenitor assay: MLP アッセイ)。この MLP アッセイを用いて、胎仔胸腺中には多能前駆細胞は存在せず、前駆細胞の大多数は T 前駆細胞であることを明らかにした。さらに、胎仔肝臓中にも多数の T 前駆細胞が存在すること、胎仔血液中には多能前駆細胞は検出されず、多数の T 前駆細胞が存在することを明らかにした。また、多能前駆細胞は胸腺中で T 細胞をつくる能力はあるが、T 前駆細胞と比べて 3-4 日遅れること、胸腺中で T 細胞以外に多数の B 細胞とミエロイド細胞をつくることなども示された。以上の結果から、胸腺へ移行する前駆細胞は多能前駆細胞ではなく、T 前駆細胞であると結論した。

さらに、従来その存在が想定された T, B リンパ球系に共通の前駆細胞が全く検出されないことを示し、おそらくそのような前駆細胞は存在しないと結論した。すなわち、リンパ球系への分化決定の過程に関する従来のモデルに対して再考を促すものである。

以上の研究は、T 細胞初期分化の機構の解明に貢献し、血液細胞分化の研究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 7 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野ならびに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。