

Differential Expression of bcl-2 and Susceptibility to Anti-Fas-Mediated Cell Death in peripheral Blood Lymphocytes, Monocytes, and Neutrophils

著者	岩井 和之
著者別名	Iwai, Kazuyuki
雑誌名	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
巻	平成7年7月
発行年	1995-07-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/15240

学位授与番号	医博甲第1152号
学位授与年月日	平成7年3月25日
氏名	岩井和之
学位論文題目	Differential Expression of <i>bcl-2</i> and Susceptibility to Anti-Fas-mediated Cell Death in Peripheral Blood Lymphocytes, Monocytes, and Neutrophils.
論文審査委員	主査 教授 高橋守信 副査 教授 松田保 教授 松島綱治

内容の要旨及び審査の結果の要旨

アポトーシスは胎児発生の過程、胸腺における自己反応性T細胞の除去など生体の恒常性の維持に重要な役割を果たす生理的な細胞死の機構では、細胞の生死に関わる種々の遺伝子産物が最終経路に至るまでを抑制しており、DNAの断片化を導くエンドヌクレアーゼの活性化が最終的に誘導されることが知られている。

近年、特に免疫学の分野で活況を呈したアポトーシス研究に重要なきっかけを提供したのは、1989年のSmithらと1988年のVauxらの二つの論文であった。前者は、胎児胸腺細胞のTCR/CD3複合体を抗体でクロスリンクすると細胞はアポトーシスという非常に特徴的な形態変化を生じて死んで行くことを示し、免疫学分野での先駆けをなした。一方、後者は、当時プロトオンコジーンと考えられていた*bcl-2*が細胞の生存を延長させることを報告、このようにして生じた恒常性の錠錠が癌新生に関わる可能性を示唆し、細胞の生死とその遺伝子抑制についての新しい知見をもたらした。

そして、このように別の分野でなされた二つの報告は、かたや死、かたや生とあたかもコインの裏と表のような関係にありながら、その後のアポトーシス研究に有用な手がかりを与えた。そして、この後、細胞の生死に関連する様々の現象や影響を与える物理的的刺激、薬剤、細胞分子などが相次いで報告されるに至った。

このような報告の中、アポトーシス誘導を主たる機能とする細胞膜表面分子としてFas抗原が米原らにより見い出され、さらに伊藤らがその遺伝子クローニングに成功した。その結果、Fas抗原がTNFリセプターファミリーに属し、なおかつ自己免疫疾患モデル動物である1Prマウスの構造遺伝子をコードすることが判明し、生物学および医学的観点から強く注目されるようになった。特に医学的観点からは細胞死と癌新生および自己免疫疾患などの疾病との関わりへの興味が注がれることとなった。そして、さらに細胞死の分子レベルでの制御はどうなっているのかという観点から、Fas抗原とアポトーシス抑制遺伝子*bcl-2*との関わりについても関心がよせられ始めた。

そこで、著者らは免疫担当細胞におけるFas抗原、Bcl-2蛋白発現の生理的意義および関連性を明らかにする一助として、リンパ球、好中球、単球におけるFas抗原、Bcl-2蛋白発現を解析し、さらにこれら各白血球分画に抗Fas抗体を添加培養、その影響を検討した。まず末梢血より各白血球分画を単離し、Fas抗原は抗Fas抗体とFITC標識抗マウスIgM抗体により、細胞内Bcl-2蛋白は、細胞を4%パラフォルムアルデヒドで固定、0.1%トリトンX-100で細胞膜の透過性を高めたのち、抗Bcl-2とFITC標識抗マウスIgG1抗体を用いて染色し、サイトロン・アブソリュートにて解析した。また抗Fas抗体添加による細胞死の誘導は、DPA法にてDNA fragmentationを半定量し、さらにDNAのアガロースゲル電気泳動でDNAラダーを確認することにより評価した。

Fas抗原の発現は、リンパ球ではメモリー様細胞分画にみられた。一方単球および好中球では構成的にFas抗原が発現していた。またリンパ球は構成的にBcl-2蛋白を発現するが、単球での発現は微弱であった。さらに好中球は、Bcl-2蛋白を発現していなかった。試験管内でのこれら細胞の生存期間は、好中球<単球<リンパ球であり、Bcl-2蛋白の発現がこれらの細胞の寿命の違いを端的に反映するものと推察された。次にこのようなFas抗原とBcl-2蛋白の発現様式を背景にして、各白血球分画における抗Fas抗体添加による細胞死誘導を観察した。Fas陽性のメモリー様リンパ球には抗Fas抗体によるアポトーシスが誘導されなかった。他方、好中球は、あたかもBcl-2蛋白発現の欠如を反映するかのよう、自発的アポトーシスを試験管内で起き易く、さらに抗Fas抗体の添加によって、顕著にアポトーシスの促進を生じることが観察された。単球の抗Fas抗体によるアポトーシスの誘導は、好中球に比べ微弱であった。

これらの結果は、細胞内Bcl-2蛋白発現の程度が、免疫担当細胞の生理的細胞死、ならびに抗Fas抗体の細胞死誘導における感受性の決定に部分的に関わることを示唆するものと考えられた。

以上、本研究は免疫担当細胞におけるアポトーシスに関して重要な知見を明らかにしたものであり、免疫学、小児科学に寄与する労作として評価された。