

氏 名	岡 智 子
(ふりがな)	(おか さとこ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第 号
学位審査年月日	平成 24 年 1 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Preferential expression of phosphatidylglucoside along neutrophil differentiation pathway (好中球分化経路におけるホスファチジルグルコシ ドの優先的発現)
論文審査委員	(主) 教授 田 窪 孝 行 教授 吉 田 龍 太 郎 教授 林 秀 行 教授 石 坂 信 和

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《緒 言》

細胞膜は細胞の情報伝達に関わる部分であり、多種多様の脂質により構成されている。リン脂質は自己組織化により脂質 2 重層を形成し、細胞膜の主な構成成分となっている。ホスファチジルグルコシド (phosphatidylglucoside: PtdGlc) は近年発見された新しいリン脂質の一つであり、分子内にリン酸基とグルコースを有する。通常のグリセロール骨格を有するリン脂質は不飽和脂肪酸を含むが、PtdGlc は不飽和脂肪酸を含まず、炭素数 18 および 20 の飽和脂肪酸のみを有する特徴的な脂肪酸組成を示している。これまでの研究により、PtdGlc は急性前骨髄性白血病由来の細胞株である HL-60 細胞や赤芽球性血病由来の細胞株である EEB(early erythroblast)細胞、好中球、マクロファージ、上皮細胞、星状膠細胞などに存在することが明らかにされた。また、PtdGlc は HL-60 でマイクロドメイ

ンを形成すること、このマイクロドメインを介するシグナルによって HL-60 が好中球へ分化することが明らかにされた。しかし、造血前駆細胞の分化において PtdGlc がどのように発現しているのかについては不明である。

《目的》

本研究では、造血前駆細胞の分化過程における PtdGlc の発現を明らかにするため、抗 PtdGlc 抗体の DIM-21 (マウス IgM モノクローナル抗体) を用いて、健常人の血液細胞、白血病患者の白血病細胞、造血前駆細胞、HL-60 における PtdGlc の発現を検討した。

《方法》

- 1) フローサイトメトリーを用いて、健常ヒトの末梢血と骨髓血、臍帯血、急性骨髄性白血病患者の白血病細胞、HL-60 細胞における PtdGlc の陽性率を検討した。
- 2) HL-60 細胞を retinoic acid (RA) にて顆粒球に、また 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (PMA) にて単球に分化させ、PtdGlc の発現強度を検討した。
- 3) ヒト臍帯血から濃縮した CD34 陽性細胞にサイトカインを添加し、顆粒球に分化させ PtdGlc の陽性率を検討した。
- 4) ヒト臍帯血から濃縮した CD34 陽性細胞を、セルソーターを用いて CD34⁺PtdGlc⁺細胞と CD34⁺PtdGlc⁻細胞に分離し、各々の細胞のコロニー形成能を検討した。

《結果》

健常ヒトの末梢血では、好中球、単球、T リンパ球は PtdGlc を高発現していたが、B リンパ球には PtdGlc の発現を認めなかった。健常ヒトの骨髓血では、顆粒球、単球、T リンパ球は PtdGlc を高発現していたが、B リンパ球や赤芽球には PtdGlc の発現を認めなかった。

急性骨髄性白血病患者の白血病細胞における PtdGlc の陽性率は $38.2 \pm 3.9\%$ であり、

CD15 の陽性率との間に正の相関を認めた ($r=0.839$, $p<0.001$)。しかし、CD13、CD33 や CD34 と PtdGlc の間の陽性率に相関を認めなかった。

HL-60 細胞を RA で顆粒球へ分化させたところ、PtdGlc と CD15 の発現強度 (MFI) は、各々 1814 ± 533 から 7500 ± 614 ($p<0.01$)、 455.3 ± 123 から 2800 ± 357 ($p<0.01$) へと増加した。しかし PMA を用いた単球-マクロファージへの分化においては、CD15 の発現強度は増加したものの、PtdGlc の発現強度は、 1814 ± 533 から 3882 ± 340 へと変化したが優位な増加を認めなかった ($p=0.11$)。

ヒト臍帯血から濃縮した CD34 陽性細胞の好中球への分化における PtdGlc の発現を検討したところ、好中球への分化に伴い、PtdGlc の発現強度が増加し、同様に CD15 の発現強度も増加した。一方、CD34 の発現強度は減少した。

臍帯血から濃縮した CD34 陽性細胞を、セルソーターを用いて CD34⁺PtdGlc⁺細胞と CD34⁺PtdGlc⁻細胞に分離し、各々の顆粒球系コロニー形成能と赤芽球系コロニー形成能を検討したところ、CD34⁺PtdGlc⁺細胞は、大部分が顆粒球系コロニーを形成し、赤芽球系コロニーの形成はわずかであった。一方、CD34⁺PtdGlc⁻細胞は、顆粒球系コロニーと赤芽球系コロニーの両方のコロニー形成を認めた。

《結 論》

PtdGlc は、CFU-GM から好中球にかけて発現すること、好中球への分化が進むにつれ PtdGlc の発現が増強することが判明した。

論文審査結果の要旨

ホスファチジルグルコシド (phosphatidylglucoside: PtdGlc) は、近年発見された新しいリン脂質の一つである。PtdGlc は、白血病由来の細胞株である HL-60 や EEB 細胞、好中球、マクロファージ、上皮細胞、星状膠細胞などに存在することが明らかにされた。しかし、PtdGlc が造血前駆細胞の分化においてどのように発現しているかは不明であり、本研究で検討した。

- 1) 健常ヒトの末梢血や骨髄血では、顆粒球、単球、T リンパ球で PtdGlc を高発現していた。また急性骨髄性白血病患者の白血病細胞における PtdGlc の陽性率と CD15 の陽性率との間に正の相関を認めた。
- 2) HL-60 細胞は、好中球への分化に伴い、PtdGlc と CD15 の発現強度は増加したが、単球-マクロファージへの分化においては、CD15 の発現強度は増加したものの、PtdGlc の発現強度は優位には増加しなかった。
- 3) CD34 陽性細胞は、好中球への分化に伴い、PtdGlc、CD15 の発現強度が増加した。
- 4) CD34 陽性細胞を CD34⁺PtdGlc⁺細胞と CD34⁺PtdGlc⁻細胞に分離して解析したところ、CD34⁺PtdGlc⁺細胞の大部分は、CD15 陰性 CD33 陽性であった。さらに、各々の顆粒球系コロニー形成能と赤芽球系コロニー形成能を検討したところ、CD34⁺PtdGlc⁺細胞は、大部分が顆粒球系コロニーを形成し、赤芽球系コロニーの形成はわずかであった。一方、CD34⁺PtdGlc⁻細胞は、両方のコロニー形成を認めた。

以上より、PtdGlc は、CFU-GM から好中球にかけて発現すること、また好中球への分化が進むにつれ発現が増強することが判明した。本研究は、PtdGlc の造血前駆細胞での発現を明らかにし、今後、白血病などの治療に資するものと考えられる。

以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Leukemia & Lymphoma 50(7): 1190-1197, 2009