ミニレビュー

造血におけるサイトカイン
ネットワーク

辻 孝

はじめに

生体内において造血は、液性の造血制御因子群によって統合的に制御されている。造血制御因子は、造血微小環境を構成している骨髄ストローマ細胞から分泌され、造血幹細胞や前駆細胞の増殖や維持、分化の誘導に作用している。

一般に造血制御因子に限らずサイトカインによる生物作用の発現機構は、恒常的な産生ばかりでなく、複数の因子によってネットワークを形成した調節機構が存在すると考えられる¹⁾。

1. 顆粒球増多症の発症と interleukin 3

Sawada らは、放射線医学総合研究所の関、吉田が樹立した白血病マウスの脾臓細胞から interleukin 3 (IL-3) を過剰に産生する T 細胞株を樹立した²⁾。またこの細胞をマウスに移植すると、顆粒球増多症を惹起することを見いだした³⁾。

IL-3 は、造血幹細胞の増殖や分化に関与する造血因子であり、一般にリンパ球系の細胞が分泌する。IL-3 は、*in vitro* において単独では肥満細胞やマクロファージコロニーを誘導するものの、顆粒球産生は誘導しない。このことは、*in vivo* において IL-3 によって誘導される顆粒球増多症が、IL-3 単独の生物作用の発現というよりは、IL-3 による造血微小環境の修飾として間接的に誘導されていることを示唆している。すなわち造血幹細胞は、IL-3 により増殖と分化が非特異的に刺激され、その上にコロニー刺激因子などが加わって最終

分化に至ると考えられる。

2. IL-3 による造血因子遺伝子の発現誘導

われわれはこれらの仮説を明らかにする目的で、生体内で顆粒球産生に関与していると考えられる顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) と顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が IL-3 によって産生誘導されているかどうかを検討した⁴⁾。

in vitro のアッセイ系では、IL-3 はこれらの因子と同様な活性を発現してしまい解析が困難である。そこで IL-3 が GM-CSF および G-CSF 遺伝子の発現を直接的に誘導するかどうかの点から解析を行った。

われわれは、遺伝子発現誘導の解析方法として reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いた。解析を定量的にするために、反応液中に [α -³²P] dCTP を添加し、細胞内で構成的に発現している β -actin が対数的に増幅されるサイクル数で増幅産物が一定量になるように条件を設定した。RT-PCR 法による定量的な解析には、この条件設定が重要である。

実験には、IL-3 として先に述べた IL-3 産生 T 細胞株の培養上清 (C5CM) を用いた。マウスから分離したばかりの骨髄細胞は、未処理の場合には GM-CSF、G-CSF のいずれの遺伝子も発現していないが、IL-3 を作用させ培養す

図 1 IL-3 による遺伝子発現の誘導

- (a) 全骨髄細胞からの GM-CSF, G-CSF 遺伝子の発現
(b) 骨髄付着細胞と比重で分画した細胞群での造血因子遺伝子の発現

fraction 1: $\rho \leq 1.061$; fraction 2: $1.061 < \rho \leq 1.074$;
fraction 3: $1.074 < \rho < 1.097$

図2 顆粒球造血におけるサイトカインネットワーク

ると両遺伝子の発現を誘導した(図1a)。GM-CSF 遺伝子は24時間目で発現誘導され、その後速やかに消失した。一方G-CSFは、24時間目には誘導されており、その後48時間目で発現量は増加した。

骨髓ストローマ細胞やマクロファージを含む付着性画分でもGM-CSFおよびG-CSF遺伝子の発現誘導が見られ、そのレベルは図1aの場合よりも強かった(図1b)。またIL-6遺伝子もIL-3によって発現誘導が見られた。さらに初代培養マクロファージでもいずれの遺伝子の発現誘導が検出された。一方この逆方向、すなわちGM-CSFやG-CSF、IL-6などではIL-3遺伝子の発現誘導は起こらない。

3. IL-3による顆粒球産生におけるポジティブフィードバック機構

これまでの実験結果から考えられる、顆粒球産生におけるサイトカインネットワークを図2にまとめた。

IL-3は、骨髓ストローマ細胞や血球細胞、マクロファージに作用してIL-6やGM-CSF、G-CSF遺伝子の発現を誘導するポジティブフィードバック機構を有している。これまでの研究から、IL-6はG₀期にあるcolony-forming unit in spleen (CFU-S)に作用してcell cycleに入れることが知られている⁵⁾。IL-3はcell cycleに入ったCFU-Sに作用してpre-CFC-GMにまで分化させ、これに引き続いてIL-6やGM-CSF、G-CSFが最終分化を誘導することが示唆される。

IL-3産生T細胞株の移植によって起こる顆粒球増多症は、過剰に産生されたIL-3によ

って惹起されたものと考えられる。通常正常な生体内ではIL-3の発現自体が制御されており、これらの階級的な統御機構は正常な顆粒球産生の機構にも深く関与していると考えられる。またSugimotoらは、過剰のIL-3刺激によって幹細胞を濃縮した細胞集団がIL-3活性を抑制する阻害因子を産生することを報告しており⁶⁾、IL-3のネガティブフィードバック機構として興味深い。

おわりに

以上、われわれの成果を中心にIL-3によるサイトカインネットワークについてまとめた。サイトカインネットワークは、単に複数のサイトカインの関係を明らかにすることに留まらず、造血微小環境における細胞間相互作用を明らかにしていく上で重要な問題であろう。今後はさらに液性の因子だけでなく、細胞間の直接的な相互作用の観点から細胞社会学的なアプローチの発展が期待される。

本研究は新潟大学理学部生物学教室、森和博教授の研究室で行ったものである。森教授に厚くお礼申し上げます。また本誌に執筆の機会を与えて下さった同大学、白岩善博助教授に感謝いたします。

Key Words : hematopoiesis, cytokine network, interleukin 3

文 献

- 1) Miyashita, M., Sugimoto, K. et al. : *Leukemia Res.*, **15**, 1125-1131 (1991)
- 2) Sawada, H., Itoh, K. et al. : *ibid.*, **12**, 763-771 (1988)
- 3) Sawada, H., Sugimoto, K. et al. : *ibid.*, **13**, 1131-1138 (1989)
- 4) Tsuji, T., Sugimoto, K. et al. : *Growth Factors*, in press
- 5) Ikebuchi, K., Wong, G. G. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 9035-9039 (1987)
- 6) Sugimoto, K., Taniguchi, S. et al. : *Leukemia Res.*, **16**, 889-897 (1992)

(日本たばこ産業(株)生命科学研究所)