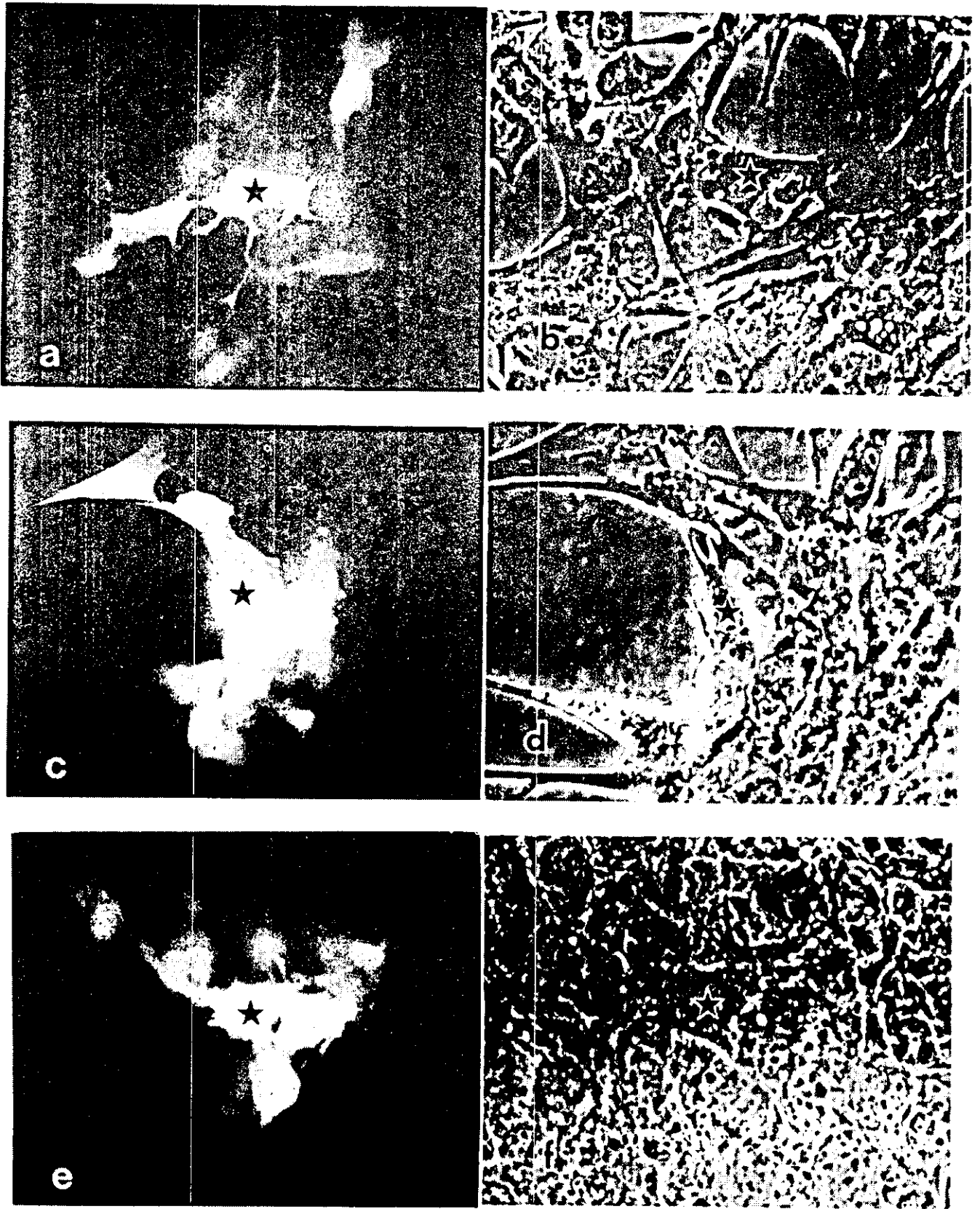
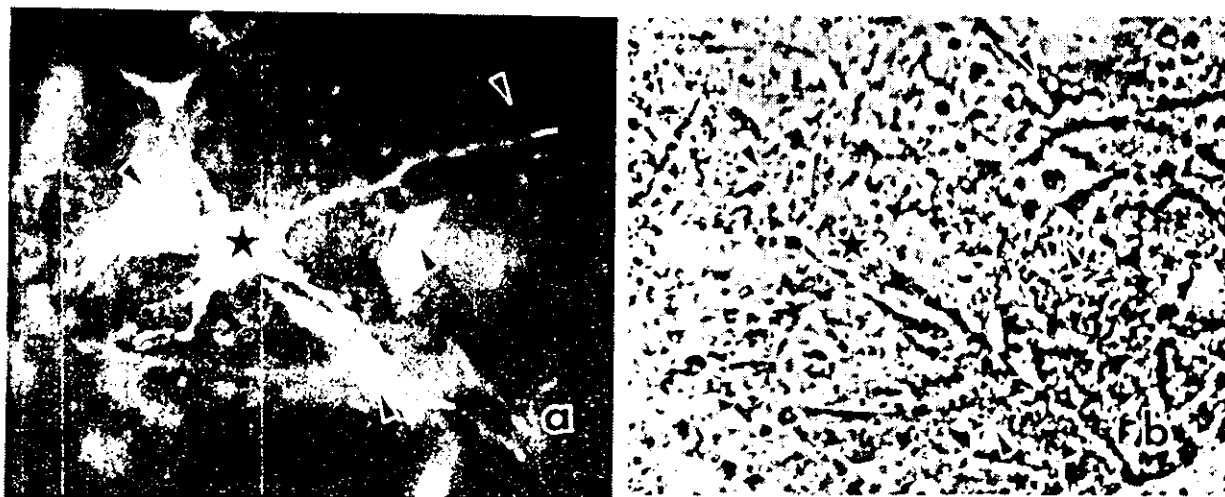


第 1 図

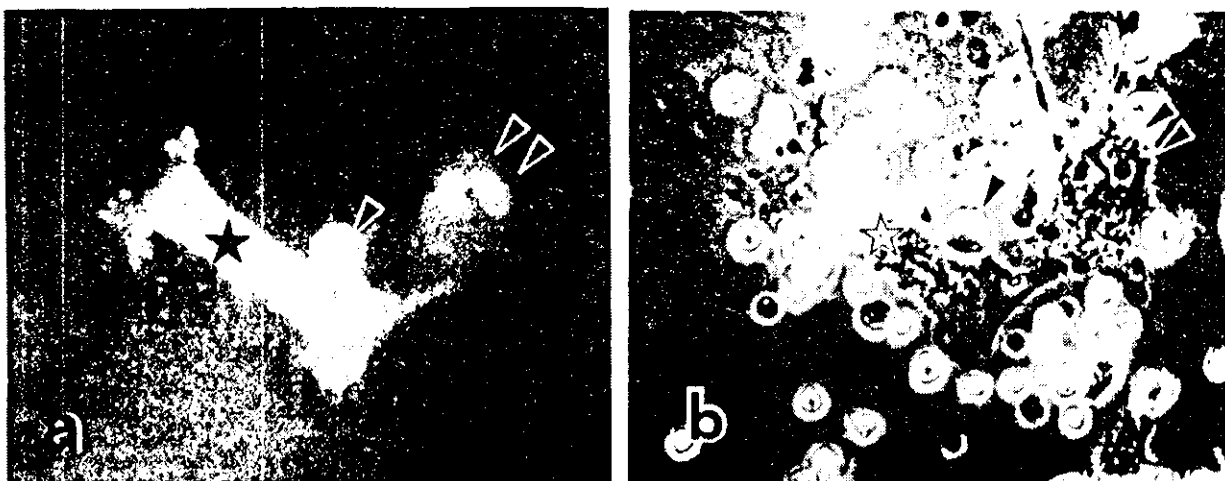


第 2 図

第3図



第4図



第1図 H-1/A 細胞の脂肪細胞への分化前後でのギャップ結合を介する連絡

a. 及び b. 前後脂肪細胞に蛍光色素を注入した。星印の細胞に注入し隣接する細胞への移動を確認した。注入した細胞に隣接する細胞は、矢印で示した。隣接する細胞（矢印）は、4つであり、そのいずれにも色素の移動がみられる。この場合は、4/4であり、100%の比率で移動がみられたことになる。興味深いことに、広範囲に色素の移動がみられるが、脂肪細胞（白い星印で示してある）には色素の移動がない。

c. 及び d. 脂肪細胞に分化した H-1/A 細胞に、色素の注入を行った。全く、色素の移動は見られない。隣接する細胞は（矢印で示してある）、6つであるが色素移動がみられないので、0/6であり、0%の比率で移動がみられたことになる。

a. と c. は、蛍光顕微鏡像であり、b. は a. の、d. は c. の位相差顕微鏡像である。

第2図 H-1/A 細胞に対する放射線照射のギャップ結合を介する連絡への影響 (0-2000 rad)

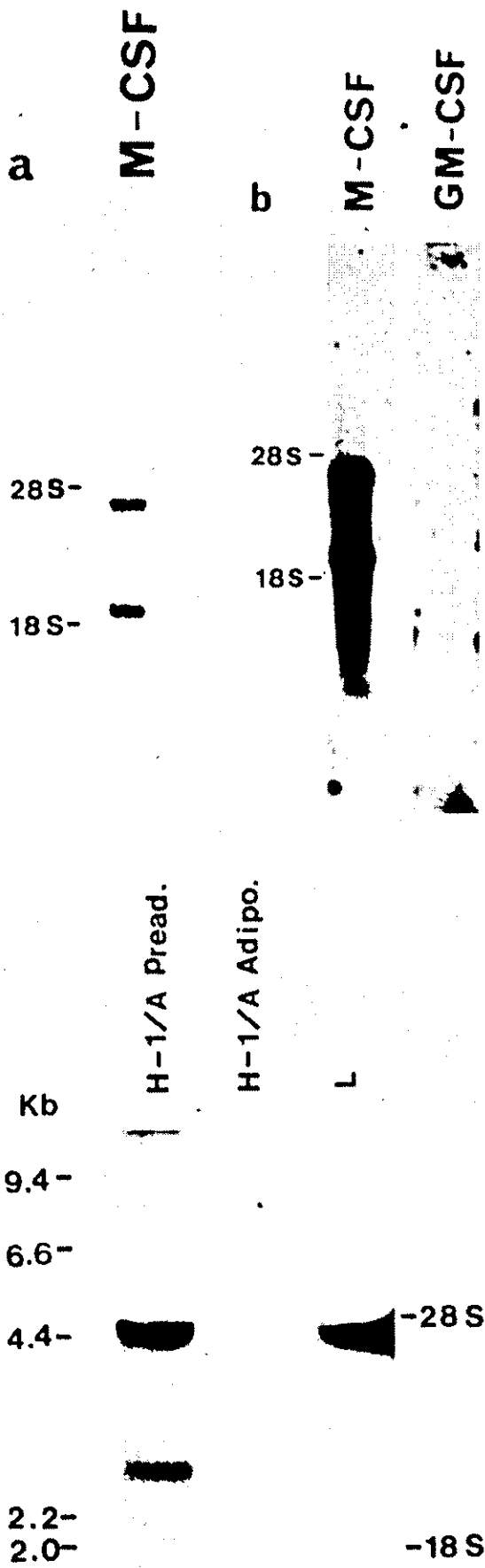
H-1/A 細胞に対し、1000 rad (c. d), 及び 2000 rad (e. f) の照射を行った後、色素の注入を行った。色素の注入は照射後7日後に行った。a. 及び b. は、照射を行っていない。星印で示された細胞に注入し、隣接する細胞への移動を検討した。0, 1000, 2000 rad いずれの場合にも色素の移動は明かであった。a. c. e. は、蛍光顕微鏡像であり、b は a. の、d は c. の、また、f は e. の位相差顕微鏡像。

第3図 H-1/A 細胞に対する放射線照射のギャップ結合を介する連絡への影響 (10000 rad)

H-1/A 細胞に対して、10000 rad の照射を行なった後、8日で色素の注入を行なった。星印で示された細胞に、蛍光色素を注入し、隣接する矢印で示された細胞への色素の移動を認める。また、注入細胞の隣接する細胞を介して、また、その次の細胞への移動もわずかであるがみられる。a. は、蛍光顕微鏡像であり、b. は、位相差顕微鏡像である。

第4図 骨髓培養（初期培養）における壁附着細胞（間質細胞）と血液細胞の連絡

星印で示した壁附着細胞に蛍光色素を注入した。色素は隣接する壁附着細胞（矢印2つで示す）ばかりでなく、円形の壁附着細胞（矢印1つ）への移動も確認された。壁附着細胞上には、いくつかの血液細胞が接触しているが、色素の移動はない。a. は、蛍光顕微鏡像であり、b. は a. の位相差顕微鏡像である。



第5図 H-1/A 細胞の M-CSF 並びに GM-CSF の発現の解析

a, b, いずれも H-1/A 細胞より抽出した 3 μ g のポリ A⁺ RNA (1 レーン) を 1% のアガロースゲル中で泳動した。M-CSF のプローブは、3.9 kb の Eco R1 フラグメントであり、GM-CSF は、0.75 kb の Bam H1-Eco R1 フラグメントである。オートラジオグラムは、インテンシファイイングスクリーンを用い、-80°C で 8 時間 (a), または、48 時間 (b) 行なった。

← 第5図, 第6図

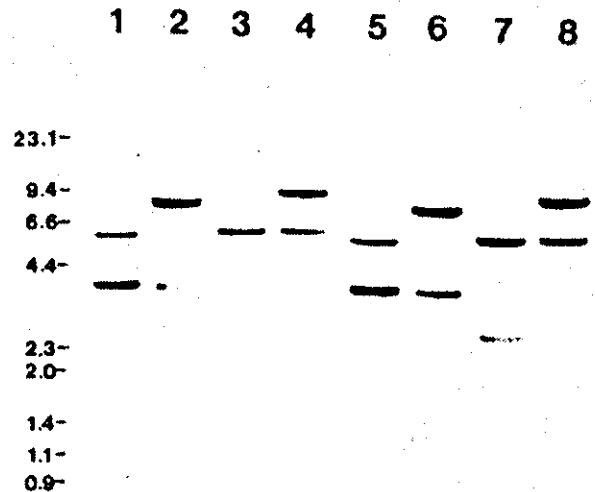
第6図 H-1/A 細胞の脂肪細胞への分化前後での M-CSF の変化

脂肪細胞に分化した H-1/A 細胞 (adipo) と分化する以前の H-1/A 細胞 (preadipo) より RNA を抽出した。10 μ g のトータル RNA を各レーンに泳動した。M-CSF cDNA の Eco R1 フラグメントをプローブとして用いた。比較対照として L 細胞より抽出した RNA (L) も同時に泳動した。オートラジオグラムは、-80°C で 72 時間施行した。

第7図 マウス脾臓 DNA と H-1/A 細胞 DNA のサザンブロット解析

マウス脾臓 (レーン 5 から 8) 並びにマウス H-1/A 細胞 (レーン 1 から 4) より分離した DNA を種々の制限酵素で切断し、0.7% アガロースゲル中を泳動した。プローブは、M-CSF cDNA の Eco R1 フラグメントである。それぞれの DNA は、Bgl II (レーン 1 と 5), Bam H1 (レーン 2 と 6), Hind III (レーン 3 と 7), Eco R1 (レーン 4 と 8) で切断した。

↓ 第7図



分化前後のいずれにおいても明らかな発現は、認められなかった。コンフルエント後、1週間たった細胞より RNA をとり、脂肪細胞を全く見ないコンフルエントになった細胞と比較すると M-CSF の発現が減少しているのがみられたため、H-1/A 脂肪細胞をコンフルエント後1週間たった培養より分離し、M-CSF の発現を見た(第6図)。M-CSF の発現は、脂肪細胞では著明な減少を見た。

6. DNA プロット解析

C57/B1 マウス脾臓及び H-1/A 細胞より、DNA を抽出し、M-CSF cDNA をプローブとして DNA プロット解析を行った。いずれのパターンにも相違はなく、M-CSF 遺伝子に関して再配列など、明らかな変化は検出されなかった(第7図)。

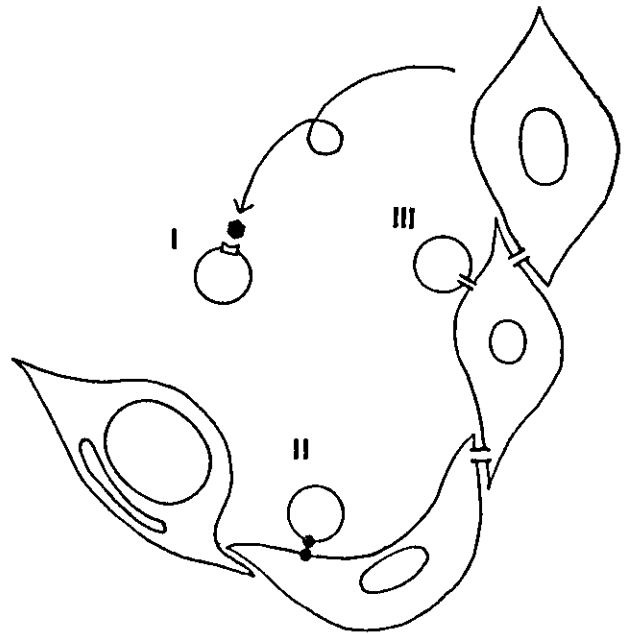
考 察

骨髓間質細胞が、造血に必要であることは、主として *in vitro* の実験において確認されており、形態学的にもこれを支持する所見が得られている^{2,10)}。本報告では、この点について骨髓間質細胞であり、脂肪細胞への分化を示す H-1 細胞のサブクローンを中心に検討を行った。脂肪細胞の分化後でのギャップ結合並びに液性因子の変化をみた結果、ギャップ結合を介する連絡並びに液性因子の発現のいずれもが減少していたことがこの論文での主たる結論である。

骨髓という造血の場においても一般の他の細胞系同様、細胞間の連絡が認められることは十分予想されることであり、また、細胞間の連絡を *in vitro* で解析するうえでは、血液系は良い系の一つである。第8図に示すような通りの連絡が骨髓間質細胞相互間あるいは同細胞と血液細胞との間には存在するものと考えられている。液性因子を介する連絡、膜上の分子を介する連絡、接着装置の一つであるギャップ結合である。本論文では、ギャップ結合並びに液性因子に関しマウス骨髓間質細胞株 H-1/A を用い解析を行った。液性因子は、既に血液細胞の増殖分化に関与することは、明らかにされており、臨床応用も試みられている³¹⁻²³⁾。一方、ギャップ結合に関しては本論文にて存在が明らかにされたのみでその生物学的意義は明瞭でない。

1. 色素移動法により H-1/A 細胞間には、ギャップ結合を介する連絡が高頻度に存在する。

色素移動法は、分子量457の色素 Lucifer Yellow CH



第8図 骨髓における細胞間交流

予想される間質細胞間並びに血液細胞と間質細胞間の交流。M-CSF をはじめとする液性因子を介する交流 (I), 膜上の分子を介した連絡 (II), ギャップ結合を介した交流 (III) の三通りが考えられる。間質細胞間にもギャップ結合を介する連絡が存在するが、脂肪細胞(左下の細胞)と隣接する細胞との間には、ギャップ結合は存在しない。脂肪細胞と血液細胞との間にもギャップ結合は明かでない。おそらく存在しないであろう。また、脂肪細胞に分化すると液性因子 (M-CSF) も発現しなくなる。

の微量注入実験法によりギャップ結合の存在を証明する方法であるが、Lucifer Yellow CH は細胞膜を通過せず、ギャップ結合を通じてのみ隣接細胞に移動する。従って色素の細胞間の移動によりギャップ結合の存在を容易に検出でき、その検出感度も高い¹⁴⁾。故に、以前に報告されているように *in vitro* において骨髓間質細胞間並びに血液細胞・間質細胞間の連絡を電顕的に検出することは必ずしも容易でなかったが、このことと今回、色素注入法にてギャップ結合の存在が明らかになったことは矛盾しない²⁴⁾。

H-1/A 細胞間にギャップ結合が存在することは今回の結果及び前報告¹⁸⁾で明らかとなった。 *in vitro* における H-1/A 細胞間のギャップ結合の存在は、電顕的には前述したように困難であったが、 *in vivo* にて間質細胞間にギャップ結合が存在していることは、すでに電顕による形態観察によって、薄切法、フリーズフラクチャー法によって証明されている^{10,25)}。ギャップ結合を介し

て、心筋細胞、神経細胞が電気的に連絡し、細胞同士が協調して活動するのと同様に、骨髄においても造血細胞に対して間質細胞がギャップ結合を介して協調的に働いていると推察されている¹⁰⁾。また、骨髄を立体的に再構築すると間質細胞は網目様にネットワークを形成し、その間に血液細胞が存在することが明らかにされている。

2. H-1/A 細胞間のギャップ結合を介する連絡は、脂肪細胞への分化の過程で変化するか。

in vitro における色素移動法により、H-1/A 細胞が脂肪細胞へ分化する過程で、ギャップ結合を介した連絡を失うことを明らかにした。前回の報告¹⁸⁾では色素移動法で移動がみられた細胞数でギャップ結合の存在を検討したが、この方法では色素移動法が注入する色素の量を一定にすることがむずかしいことから得られた結果が正確でない可能性がある。今回は、注入細胞の隣接全細胞数対色素移動細胞数の比率をとったため、その結果は色素の注入量に左右されず、この方法によって得られたH-1/A 細胞の分化過程でのギャップ結合の減少という結果は間違いないものと考えられる。ギャップ結合を介する連絡の消失には2通りの考え方がある。ひとつは脂肪細胞化によるコネクソンの消失である。コネクソンは、6個のサブユニットからできていて径約1.5 nmのチャンネルを囲む円筒状の構造物で隣接する細胞のコネクソン同士が接触し、それらが集合することでギャップ結合が形成される¹⁾。コネクソンの構成蛋白質の合成を脂肪細胞は行わない可能性がある。第2は、脂肪細胞化によるコネクソンの閉鎖である。コネクソンの中心のチャンネルを介して低分子の生理活性物質が通過する。そのコネクソンの立体的構造が変化し、物質の通過が困難になっている可能性もある。脂肪細胞への分化の際には今回報告した増殖因子のほかにアクチン、チューブリン等構造蛋白も減少しており²⁶⁾、私は前者の可能性が高いと考える。

脂肪細胞に分化したH-1/A 細胞がギャップ結合を介した連絡を有していないことは、電顕による *in situ* の観察で骨髄脂肪細胞周囲には、基底膜の存在が観察されており⁹⁾、ギャップ結合の存在が考えにくいこととも矛盾しない。間質細胞同士の協調性も脂肪細胞への分化に伴って消失することが推察される。

3. 骨髄間質細胞と血液細胞との間にはギャップ結合を介する連絡が存在するがその生物学的意義は不明である。

骨髄の初期培養である長期骨髄培養では、骨髄間質細胞と血液細胞との間に色素の移動を見た(第1図)。間質細胞とある種の血液細胞はギャップ結合を有しており、このような異なる細胞間の連絡は、初期発生、細胞増殖に生理的に重要な意味を持つことが明らかにされており^{7,8)}、血液系においても幼若な細胞の維持にかかわっている等の生理機能を有しているものと考えられる。脂肪細胞と血液細胞間のギャップ結合を介する連絡は、全く見られなかった。間質細胞と血液細胞との間のギャップ結合に関しても間質細胞への脂肪細胞への分化に伴い、消失する可能性をH-1/A 細胞での結果は示唆する。

骨髄における膜上の分子を介した血液・間質細胞間連絡に関し報告されている^{2,12)}が、未だにその分子の同定はされていない。それは、接着を解析するよいアッセイ系がないためによると考えられている。骨髄以外では、膜上の分子に関し、リンパ節間質細胞とリンパ球ではリンパ球機能的抗原とCD2であることが証明されており¹¹⁾、リンパ節静脈内皮とリンパ球の間では、内皮細胞膜上に存在するアドレスインが関与していることが明らかにされている²⁷⁾。骨髄では、赤坂がH-1/A 細胞膜表面に対する単クローン性抗体を作成し、その抗体は骨髄、脾臓の間質に発現され、胎生期にも造血に関連した領域に発現がみられるという興味深い知見を報告している²⁸⁾。

4. ギャップ結合を介する連絡は、放射線抵抗性である。

H-1/A 細胞に対し放射線照射を行い、ギャップ結合を介する連絡を観察したが明らかな変化はみられなかった。0から2000 radの照射によってH-1/A 細胞のギャップ結合を介する連絡にほとんど変化は認められず、細胞に明らかな増殖阻害を生じさせるような5000 radまたは10000 radの照射によっても明らかな変化はなかった。ギャップ結合は細胞接着因子の一つであり骨髄腔内で間質細胞が網目構造を形成する際に細胞同士の接着という点で重要であると思われる¹⁰⁾。放射線照射により血液細胞が全く消失したような状態においてもこの網目構造は存在しており電顕にて *in situ* でギャップ結合が確認されている²⁵⁾。照射によって血液細胞が消失するにもかかわらず、間質細胞からなる構造が保たれるのは血液細胞に比較し間質細胞が放射線抵抗性であるばかりでなく、ギャップ結合の構造が保持されるからではないかと予想される。

5. H-1/A 細胞の上清中のコロニー刺激活性は、M-CSF であり、M-CSF の発現低下が脂肪細胞への分化後にみられる。

H-1/A 細胞の上清中に認められたコロニー活性は、RNA プロット解析により、G-CSF, GM-CSF, IL-3 といった増殖因子の発現によるものではなく M-CSF の発現によることが明らかとなった。M-CSF DNA をプローブとすると、4.5 kb と 2.5 kb に明瞭なバンドをみたが、この2つの RNA は、M-CSF cDNA の異なる領域をプローブとして解析を行うと 3' 末端配列が異なることがわかっている（投稿準備中）。ヒトでは、alternative splicing による2種の mRNA の存在が証明されており、H-1/A でも同様の機序が存在することが予想される²⁹⁾。細胞の上清中に見られたコロニー刺激活性が 4.5 kb と 2.5 kb の何れの mRNA より読まれた蛋白質によるものかは分かっていない。液性因子発現という点に関しても脂肪細胞への分化は造血への寄与を減少させる。H-1/A 細胞の上清でのバイオアッセイでもコロニー刺激因子の低下が見られており²⁰⁾、その低下は mRNA レベルで調節を受けていることが明らかになった。これらの現象は、低形成骨髓はしばしば脂肪髄であるといった病理学的現象と関連しており、興味深い。これらの結果は、脂肪髄での造血の低下は、間質の脂肪細胞への分化、言い換えれば、間質の造血への寄与の低下に関係しているかもしれない。

M-CSF の発現の変化が、種々の化学物質によって生じるかが H-1/A 細胞を用い、調べられている。組み換え腫瘍壊死因子 α により、H-1/A 細胞では、著明に M-CSF 発現増加がみられ、一方、脂肪合成のキエンザイムである GPD 発現低下をもたらす（投稿準備中）。

組み換え IL-1 α 及び、IL-1 β 、リポポリサッカライドでは、H-1/A 細胞に対し明らかな増殖因子発現誘導または増加はみられず、他の間質細胞では、G-CSF, GM-CSF の発現増加がみられることより²⁹⁾、超微形態学的にみられた間質の異種性¹⁰⁾は、機能的な面でも存在するものと示唆される。

これらの遺伝子レベルでの研究は、主に電子顕微鏡による形態学より始まった。超微形態学的検討から、間質には、細網細胞、脂肪細胞、内皮細胞、血管周囲細胞、マクロファージとさまざまな細胞の集合がある¹⁰⁾。この研究では、そのうち、造血への寄与があると信じられている前脂肪細胞の株化細胞を用いた。これらの株化細胞は、in vivo の状態を反映しているものと考えられる。しかし、使用した細胞株が電子顕微鏡による間質細胞の

いずれかに相当するかは、分らない。細胞膜表面マーカーより、細網細胞由来と予想されている¹³⁾が、単クローン性抗体による解析で骨髓間質細胞と共通抗原を有していることも明らかになった²⁸⁾。今後、電子顕微鏡レベルでの増殖因子の局在、発現の解析が、より間質の詳細な造血への寄与、特に局所の調節の解析に、必要になってくる。

結 論

脂肪細胞への分化能を有する骨髓間質細胞株 H-1/A の細胞間連絡を明らかにするため、ギャップ結合を介する連絡、M-CSF の発現を解析し、以下の結果を得た。

1. H-1/A 細胞間には、Lucifer Yellow CH 微量注入により、色素の移動がみられ、ギャップ結合が存在することが明かとなった。
2. H-1/A 細胞間のギャップ結合を介する連絡は、脂肪細胞への分化後、消失した。
3. 骨髓の初期培養で、骨髓間質細胞と血液細胞との間にギャップ結合を介する連絡を確認した。
4. H-1/A 細胞間のギャップ結合を介する連絡は、0 から 2000 rad の照射で影響を受けず、5000 rad ないし 10000 rad といった高線量でも明かな変化を認めなかった。
5. H-1/A 細胞は、M-CSF を発現しており、脂肪細胞への分化後、M-CSF の発現の低下を見た。

この研究の元となる考え方は、渡辺陽之輔教授より指導を受けたものである。また、H-1 細胞の供与、また、それに関する情報を与えてくれたのは、張ヶ谷健一先生である。RNA, DNA プロット解析は、高野利也先生、立花宏一先生の指導による。病理学教室諸先生方、職員の方々の援助は、欠かせないものであった。

文 献

- 1) Molecular Biology of the Cell. 1973. Garland Publishing, Inc.
- 2) Dexter, T. M., Allen, T. D., Lajtha, L. G., Schofield, R., and Lord, B. I: Stimulation of differentiation and proliferation of hematopoietic cells in vitro, J. Cell Physiol, 82: 461~470, 1977
- 3) Gough, N. M. Gough, J., Metcalf, D., Kelso, A., Grail, D., Nicola, N. A., Burgess, A. W., and Dunn, A.R.: Molecular cloning of cDNA encod-

- ing a murine haematopoietic growth regulator, granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Nature*, 309: 763~767, 1984
- 4) Fung, M.C., Hapel, A.J., Ymer, S., Cohen, D.R., Johnson, R.M., Campbel, H.D. and Young I.G.: Molecular cloning of cDNA for murine interleukin -3. *Nature*, 307: 233~237, 1984
 - 5) Ladner, M.B., Martin, G.A., Noble, J.A., Witman, V.P., Warren, M.K., McGrogan, M., and Stanley, E. R.: cDNA cloning and expression of murine macrophage colony-stimulating factor from L 929 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 6706~6710, 1988
 - 6) Tuchiya, M., Asano, S., Kaziro, Y., and Nagata, S.: Isolation and characterization of the cDNA for murine granulocyte colony-stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 7633~7637, 1986
 - 7) Mehta, P. P., Bertram, J. S., and Loewenstein, W.R.: Growth inhibition of transformed cells correlates with their junctional communication with normal cells. *Cell*. 44: 187~196, 1986
 - 8) Warner, A.E., Guthrie, S.C., and Gilula, N.B.: Antibodies to gap-junctional protein selectively disrupt junctional communication in the early amphibian embryo. *Nature*, 311 (13): 127~131, 1984
 - 9) Watanabe, Y.: An electron microscopic study on the reticuloendothelial system in the bone marrow. *Tohoku J. Exp. Med.*, 89: 167~176, 1966
 - 10) Watanabe, Y.: Fine structure of bone marrow stroma. *Acta. Haematol. Jap.*, 48:1688~1700, 1985
 - 11) Springer, T. A., Dustin, M. L., Kishimoto, T. K., and Marlin, S.D.: T-lymphocyte function-associated LFA-1, CD 2, LFA-3 molecules: cell adhesion receptors of the immune system. *Annual Review Immunology*, 5: 223~252, 1987
 - 12) Ohkawa, H. and Harigaya, K.: Effect of direct cell-to-cell interaction between the KM-102 clonal human marrow stromal cell line and the HL-60 myeloid leukemic cell line on the differentiation and proliferation of the HL-60 line. *Cancer. Res.*, 47: 2879~2882, 1987
 - 13) Harigaya, K., Cronkite, E.P., Miller, M.E., and Shadduck, R.K.: Murine bone marrow cell line producing colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci.*, 78: 6963~6, 1981
 - 14) Stewart, W.W.: Functional Connections between cells as revealed by dye-coupling with a highly fluorescent naphthalimide tracer. *Cell*, 14: 741~59, 1978
 - 15) Feinberg, A.P., and Vogelstein, B.: A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem.* 132: 6~13, 1983
 - 16) Azarnia, R. and Russell, T. R.: Cyclic AMP effects on cell-to-cell junctional membrane permeability during adipocyte differentiation of 3 T 3 -L1 fibroblasts. *J. Cell. Biol.*, 1: 165~9, 1985
 - 17) Naparstek, E., Donnelly, T., Kase, K. and Greenberger, J.S.: Biological effects of in vitro X-irradiation of murine long-term bone marrow cultures on the production of granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Exp. Haematol.*, 13: 701~708, 1985
 - 18) Umezawa, A., Harigaya, K. and Watanabe, Y.: Bone marrow stromal cells lose their gap junctional communication in vitro during the differentiation to adipocytes. *Hematology Rev. Comm.*, 1: 277~283, 1987
 - 19) Meda, P., Bruzzone, R., Knodal, S. and Orci, L.: Blockage of cell-to-cell communication within pancreatic acini is associated with increased basal release of amylase. *J. Cell. Biol.*, 103: 475~483, 1986
 - 20) Nakamura, M., Harigaya, K. and Watanabe, Y.: Correlation between production of colony-stimulating activity (CSF) and adipose conversion in a murine marrow-derived preadipocyte line (H-1/A). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 179: 283~7, 1985
 - 21) Miyauchi, J. Kelleher, C.A., Wang, C., Minkin, S., McCulloch, E.A.: Growth factors influence the sensitivity of leukemic stem cells to Cytosine Arabinoside in culture. *Blood* 73 (5): 1272~78, 1989
 - 22) Miyauchi, J., Kelleher, C., Yang, Y.Y., Wong, G.G., Clark, S.C., Minden, M.D., Minkin, S., McCulloch, E.A.: The effect of three recombinant

growth factors, IL-3, GM-CSF, and G-CSF, on the blast cells of acute myeloblastic leukemia maintained in short-term suspension culture. *Blood*, 70 (3): 657~663, 1987

- 23) 大島充一：再生不良性貧血の病態に関する研究, 慶應医学, 65 (1): 1~13, 1988
- 24) Cohen, G.I., Greenberger, J. S. and Canellos, G.P.: Effects of chemotherapy and irradiation on interactions between stromal and hemopoietic cells in vitro. *Scanning Electron Microscopy*, 1982/I: 359~365, 1982
- 25) 山崎一人：放射線全身照射後のマウス大腿骨骨髓支持組織の微細構造 慶應医学, 62 (4): 469~498, 1985
- 26) Spiegelman, BM, Farmer, SR: Decrease in tubulin and actin gene expression prior to morphological differentiation of 3 T 3 adipocytes. *Cell*, 29: 53~60, 1982
- 27) Nakache, M., Berg, E.L., Streeter, P.R., Butcher E.C.: The mucosal vascular addressin is a tissue-specific endothelial cell adhesion molecule for circulating lymphocytes. *Nature*, 337: 179~181, 1989
- 28) 赤坂喜清：マウス骨髓前脂肪細胞株 H-1 細胞に対する単クローン性抗体の作製, 慶應医学 66 (6): 1183~1199, 1989
- 29) Rennick, D., Yang, G., Gemmell, L. and Lee, F.: Control of hemopoiesis by a bone marrow stromal cell clone: Lipopolysaccharide- and interleukin-1-inducible production of colony-stimulating factors. *Blood*, 69 (2): 682~691, 1987

ABSTRACT

Intercellular communication of the marrow preadipocyte cell line H-1/A

Akihiro Umezawa, M.D.

Department of Pathology,
School of Medicine, Keio University

To clarify the intercellular communication of H-1/A cells, we investigated the gap junction and the expression of colony stimulating factors. H-1/A cells had gap junctional communication with adjacent cells, as probed with microinjected fluorescent tracer, Lucifer Yellow CH. The cells lost the communication after adipocyte differentiation. The differentiation of stromal cells to adipocytes causes the interruption of gap-junctional communication in bone marrow. However, the communication was radioresistant to varying levels of irradiation. Concerning about humoral factors, H-1/A cells expressed a high level of macrophage colony stimulating-factor (M-CSF). The gene coding M-CSF did not demonstrate any rearranged structure by the Southern analysis. After adipocyte differentiation, expression of M-CSF decreased. In terms of gap junctional communication and humoral factor secretion, stromal cells apparently decreased their contribution to hematopoietic cells after adipocyte differentiation.