

審査の結果の要旨

氏名 大塚 秀文

本研究はアポトーシス抑制因子として知られている Bcl-2 及びその関連因子が細胞増殖にどのように影響を及ぼしているかを明らかにするために、マウスの IL-3 依存性造血系細胞株 BAF-B03 細胞 (BAF 細胞) を用いて、Bcl-2 及びその関連因子により cyclin の発現がどう影響するかの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

- 1) Bcl-2、Bcl-xL 及び c-Myc を BAF 由来細胞に恒常的に発現させた BB 細胞、BX 細胞及び BM 細胞を用いて、サイトカイン除去後の cyclin mRNA の発現の変動を調べた。親細胞及び BM 細胞ではすべての G1 cyclin mRNA の発現が認められなくなるのに対して、BB 細胞及び BX 細胞では cyclin D3 のみがサイトカイン除去しても発現の低下が認められなかった。また、別のマウスの IL-3 依存型細胞である FDC-P1 細胞に Bcl-2 を強制発現させた細胞でも同じ現象が認められることから、造血系細胞においては Bcl-2 や Bcl-xL を介して cyclin D3 mRNA の発現を調節する機構が存在することが推測された。
- 2) BB 細胞の核を単離し、核ランオンアッセイを行った。その結果サイトカインを除去することにより BB 細胞及びコントロールである親細胞いずれにおいて cyclin D3 の転写量の減少は両細胞とも僅かであり、Bcl-2 の発現による cyclin D3 mRNA の転写量の変動は認められなかった。このことから、Bcl-2 は cyclin D3 mRNA の転写には関係せず、mRNA の安定性に寄与していることが推測された。
- 3) BB 細胞の培地からサイトカイン除去後 12 時間の細胞を回収し、細胞抽出液での CDK4 及び CDK6 のキナーゼ活性を測定した。サイトカイン除去後 12 時間のコントロールの親細胞では双方の活性が低下したのに対して、BB 細胞では CDK6 のキナーゼ活性が 12 時間後でも維持されていた。このことから Bcl-2 は、cyclin D3 mRNA の安定性を介して cyclin D3/CDK6

の活性を制御することが示された。

- 4) cyclin D3 と c-Myc ないし Bcl-xL を BAF 由来細胞に強制発現させた細胞 (BMD 細胞及び BBD 細胞) を作製して増殖の影響を調べた。興味あることに、サイトカインを除去しても BMD 細胞は増殖を続け、cyclin D3 は、c-Myc と協調して細胞増殖を誘導することが示された。一方で、Bcl-2 と cyclin D3 を恒常的に発現する BBD 細胞ではこの現象が認められないことから、cyclin D3 は Bcl-2 の下流で働く細胞増殖制御の標的因子として機能していることが示唆された。また Bcl-xL でも同様の結果が得られていることから、Bcl-2 及び Bcl-xL 共通のメカニズムとして cyclin D3 mRNA の安定性に関与することが示唆された。
- 5) Bcl-2 ファミリーの下流のアポトーシス実行因子である caspase 阻害因子、Cowpox virus 由来の産物である CrmA を BAF 由来細胞に高発現させた BC 細胞では、サイトカイン除去後の cyclin D3 mRNA の発現の低下が部分的にしか認められなかった。このため cyclin D3 mRNA の安定化についてはサイトカイン除去による caspase の活性化を Bcl-2 や Bcl-xL がミトコンドリア上で抑制することにより、その機構の一部として caspase 感受性の mRNA 安定化機構が働いていることが推測された。

以上本論文は、造血系細胞のサイトカインによる細胞増殖誘導において、Bcl-2 や Bcl-xL が cyclin D3 を介して制御をしているという新しい機構を見出した。この結果は、今後の Bcl-2 ファミリー因子による細胞周期の制御機構において新しい方向性を示す情報を提供するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。