

# 白血病細胞株の分化誘導と細胞周期関連遺伝子の関係について ～蛋白合成阻害剤が遺伝子発現に及ぼす影響の定量的解析～

松 元 英理子

cyclin D1は、cdk (サイクリン依存性キナーゼ) と結合して、癌抑制遺伝子として知られるRB蛋白をリン酸化することにより細胞の分裂を促進する働きを持つ。しかし、白血病細胞株HL-60を分化誘導剤TPA (12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate) によって処理すると、細胞分裂が停止してマクロファージ系に分化すると同時にcyclin D1 mRNAの過剰発現がみられる。これはcyclin D1の本来の機能とは矛盾した興味深い現象である。TPA処理されたHL-60の増殖停止にはcdk inhibitorであるp21の過剰発現が大きな役割を果たしていると考えられているが、TPA刺激によって誘導されるHL-60でのcyclin D1の機能およびその発現メカニズムについては未だ明らかにされていない部分が多い。

本研究では、TPA処理されたHL-60細胞でのcyclin D1発現メカニズムの一端を明らかにする目的で、HL-60細胞をTPA処理する際に、タンパク質合成阻害剤であるcycloheximide (CHX) を添加し、これによってcyclin D1をはじめ、TPA処理により発現量に変動のみられるいくつかの遺伝子について、mRNA発現量がどのように変化するかをRT-PCR法 (半定量法) で測定した。

測定を行ったcyclin D1, p15, p16, p18, p21, cdk2, c-fos, c-myc及び $\beta$ -actin mRNAのうち、TPA単独処理により過剰発現の見られたものはcyclin D1, p21及びc-fos mRNAであり、発現量がやや増加したものは $\beta$ -actin mRNAであった。一方、TPA単独処理により発現量が明らかに減少したものはp16, p18, cdk2 mRNAで、やや減少したものはc-myc mRNAであった。p15 mRNAに関しては発現量が少ないため、今回用いた測定法では検出することができなかった。

次にCHXの存在下で同様の実験を行った結果、持続した蛋白合成が阻害された条件下では、TPAによるcyclin D1の発現亢進が抑制され、p18の発現量低下が抑制され、さらにp21の発現亢進が部分的に抑制された。cdk2, c-fos及びc-mycに関してはCHX処理による影響は観察されなかった。またp16 mRNAに関してはCHX処理細胞では発現量が少なく検出することができなかった。

これらの結果から、TPAによって誘導されるcdk2やc-mycの発現抑制及びc-fosの発現亢進はTPAによって直接誘導され持続した蛋白の合成を必要としないが、cyclin D1の発現亢進やp18の発現低下はTPAによって何らかの蛋白の合成が誘導されその結果引き起こされる現象であることが示唆された。更に、p21はTPAにより直接発現が誘導される経路と何らかの蛋白の合成を介して誘導される経路が混在しているのではないかと考えられた。