

## 分化誘導された白血病細胞におけるcyclin D1遺伝子の発現機構に関する研究 ～細胞の接着性獲得とcyclin D1 発現との関連について～

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、細胞はマクロファージ系に分化して培養ディッシュに接着し、細胞分裂が停止するにも関わらずcyclin D1 mRNAの過剰発現がみられる。

本研究では、TPA処理されたHL-60細胞でcyclin D1 mRNAの発現メカニズムを解明する一端として、HL-60細胞の接着性の獲得がcyclin D1発現を誘導するのではないかと考え、培養ディッシュをpolyHEMA (poly (2-hydroxyethyl methacrylate)) でコートして細胞のディッシュへの接着を阻害し、cyclin D1 mRNAの発現量が変化するかどうかをRT-PCR法 (半定量法) を用いて測定した。

通常の細胞培養ディッシュ (対照) ではTPA処理により細胞がディッシュに接着するが、TPA処理24時間後より48時間後のほうが、細胞同士が凝集して接着する傾向にあった。polyHEMAコートディッシュでは、TPA処理後24時間では単独で浮遊している細胞の他に細胞同士の凝集や擬足様の突起を出した細胞が観察されるが、ディッシュへの接着は見られなかった。TPA処理後48時間では単独で浮遊している細胞、凝集して浮遊している細胞、偽足様の突起を出して、ディッシュに弱く接着している細胞、polyHDMAがむらにコートされた部分に接着している細胞などがみられた。すなわちpolyHEMAコートディッシュでは細胞のディッシュへの接着はほぼ阻害できたが、代わりに細胞同士の凝集・接着が多く観察された。

半定量法によるcyclin D1 mRNA発現量の測定の結果、対照、polyHEMAコートディッシュの両方でTPA処理によるcyclin D1 mRNAの過剰発現がみられた。両者の比較では、TPA処理24時間後及び48時間後のいずれでも、cyclin D1 mRNA発現量はほぼ同等か、あるいはpolyHEMAコートディッシュの方がやや多いという結果が得られた。

これらの結果から、TPA処理されたHL-60細胞で発現するcyclin D1は、細胞が接着性を獲得した結果過剰発現したものではないということが示唆されたが、polyHEMA処理によって細胞同士の凝集・接着がおこったために、ディッシュへの接着阻害の本来の効果が得られなかった可能性も否定できないと考えられる。