

# 学位論文抄録

PU.1発現による骨髄腫細胞の細胞増殖停止及び細胞死の

メカニズムの解析

(Mechanisms of Growth Arrest and Apoptosis of Multiple Myeloma Cells induced by PU.1)

上野志貴子

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻血液内科学

指導教員

満屋 裕明 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻血液内科学

## 学位論文抄録

### 【 目的 】

PU.1 は、造血において特に顆粒球、単球、B リンパ球系の細胞の分化に必須の転写因子である。PU.1 の発現異常は種々の造血器腫瘍を惹起する。PU.1 の enhancer 領域の conditional knockout マウスでは、骨髄細胞での PU.1 の発現が 20%まで低下し全例急性骨髄性白血病を起こし、また T 細胞では PU.1 発現が低下せずに T 細胞リンパ腫を起こし死亡する。以上より PU.1 の発現異常は様々な造血器腫瘍を引き起こすと考えられるようになっている。しかしながら B cell における PU.1 の機能はこれまで完全には解明されていない。

我々はこれまで、正常の形質細胞において PU.1 が発現維持されていること、これに対して多くの骨髄腫細胞株および一部の骨髄腫患者の骨髄腫細胞で PU.1 発現が低下していることを報告してきた。さらに、PU.1 非発現骨髄腫細胞株に tet-off の系で PU.1 を conditional に発現させる U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞及び KMS12PE<sup>tetPU.1</sup> 細胞を用いて PU.1 を発現させると、細胞増殖停止及びアポトーシスを引き起こした。そこで、PU.1 発現によって引き起こされる骨髄腫細胞の増殖抑制及び細胞死のメカニズムについて解析することとした。

### 【 方法・結果 】

PU.1 を conditional に発現させた U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞において DNA マイクロアレイ解析を行い、PU.1 発現の前後の遺伝子発現の違いを比較検討した。その結果、アポトーシス関連の遺伝子の中では、TRAIL が特に強く発現誘導していた。cell cycle に関連した遺伝子の中では、ほとんどの cyclin と E2Fs が発現低下しており、p21 は発現上昇していた。

まず、PU.1 発現によって誘導される細胞増殖停止について p21 の関与について検討を行った。U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞に対して、p21 に対する siRNA を導入し、PU.1 発現後の p21 の蛋白発現を抑制すると PU.1 による細胞増殖停止が一部解除された。

次に、PU.1 発現により誘導される U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞及び KMS12PE<sup>tetPU.1</sup> 細胞で誘導されるアポトーシスへの TRAIL の関与について検討を行うこととした。siRNA によって TRAIL を knock down すると、PU.1 によって誘導されるアポトーシスが阻害され、PU.1 が誘導するアポトーシスは TRAIL を介していることが示唆された。さらに、U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞及び KMS12PE<sup>tetPU.1</sup> 細胞を用いて、chromatin immunoprecipitation assay 及び Electromobility shift assay を行ったところ、PU.1 は TRAIL の遺伝子の転写開始部位より 30-bp の 3' 側域に直接結合していることが示唆された。U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞と KMS12PE<sup>tetPU.1</sup> 細胞ともに、TRAIL promoter を用いたレポーターアッセイで、TRAIL promoter の transactivation が誘導され、さらに TRAIL promoter の推定される PU.1 結合部位に mutation を入れたところ、この transactivation は消失した。

### 【 結論 】

PU.1 発現による骨髄腫細胞の細胞死には TRAIL が、増殖抑制には一部 p21 が関与することが示唆された。さらに、骨髄腫細胞の中で、TRAIL 遺伝子の転写開始地点より 30-bp 3' 側に PU.1 が直接結合することによって PU.1 が直接 TRAIL の転写を活性化させ、その結果アポトーシスが誘導されることが示唆された。