Osaka University Knowledge Archive

Title	GATA-1 blocks IL-6-induced macrophage differentiation and apoptosis through the sustained expression of cyclin D1 and Bcl-2 in a murine myeloid cell line M1
Author(s)	田中, 宏和
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42628
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【68】

氏　　名	田　中　宏　和（たなか ひろかず）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　16075　号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学　位　論　文　名	GATA-1 blocks IL-6-induced macrophage differentiation and apoptosis through the sustained expression of cyclin D1 and Bcl-2 in a murine myeloid cell line M1. （GATA－1がIL－6によるマウス骨髄性白血病株M1の分化、アポトーシス誘導に及ぼす影響についての検討）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　金倉　譲 （副査） 教　授　平野　俊文　　教　授　竹田　潤二

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

造血細胞の増殖、分化、死は、各種の造血因子により正または負に制御され造血の恒常性が維持されている。多くの造血因子は多彩な生物学的作用を有しており、標的細胞の系統や分化段階に応じて種々の細胞現象を誘導する。例えば、IL－6は造血幹細胞や骨髄腫細胞には細胞増殖を誘導するが、成熟Bリンパ球や巨核球には細胞分化を誘導する。このように単一の造血因子が異なった細胞現象を引き起こす一因として標的細胞の内因的な特性の関与が考えられるがその詳細は明らかではない。

GATA－1は造血幹細胞から赤巨核球系細胞への系統の決定及びその最終分化に必須の転写因子であり、造血細胞の特性決定に絶対的な役割を果たす分子の一つである。今回、IL－6によってマクロファージへの分化が誘導されるマウス骨髄性白血病株M1にGATA－1を導入することにより、M1の特性がどのように変化し、IL－6の生物学的な作用がどう影響されるか検討を行った。

【方法ならびに成績】

M1にGATA－1を恒常的に導入したクローン（M1－G1）とコントロールベクターを導入したクローン（M1－V1）を単離した。両クローンの性状の違いを解析すると共に、IL－6によって誘導される細胞現象の違いをシグナル伝達、細胞周期制御、アポトーシス制御の観点から解析した。

M1－V1とM1－G1には形態的特徴やIL－6非存在下での細胞増殖に明らかな差は認められなかった。しかし、FACS解析ではM1－G1においてのみ巨核球系細胞に特異的な表面形質トロンボポエチン受容体c－Mpl及びCD61の発現が認められた。この結果から、GATA－1は骨髄系細胞株M1の系統を巨核球系へと変化させたと考えられた。

M1－V1にIL－6を添加した場合、72時間目には細胞増殖は著明に抑制され、マクロファージ様細胞への形態変化とマクロファージ特異的な表面形質F4／80の発現が誘導された。また、一部の細胞にはアポトーシスが誘導された。一方、M1－G1はIL－6存在下でも持続性の増殖を示し、IL－6による分化誘導、アポトーシス誘導に抵抗性を示した。

IL－6によるM1の分化誘導にはSTAT3が必須であることが報告されているが、M1－G1においてもIL－6によるSTAT3のチロシンリン酸化誘導やDNA結合能の誘導は阻害されておらず、STAT3の標的分子であるJun

Bの発現誘導も抑制されていなかった。また、NIH 3 T 3 細胞を用いたルシフェラーゼアッセイにおいてもGATA－1はSTAT 3 の転写活性化能に影響を及ぼさなかった。これらの結果から、GATA－1はSTAT 3 の機能を直接的に抑制せず、IL－6による分化誘導を阻害すると考えられた。

M1－V1とM1－G1のIL－6に対する異なる反応性の分子機構を明らかにするために、両クローンにおけるIL－6添加後の細胞周期制御分子の発現変化をノザンブロット法で検討した。M1－V1ではIL－6添加後サイクリンD1の発現抑制と$p19^{INK4D}$の発現誘導が認められたが、M1－G1ではこれらの変化は抑制されていた。この結果に一致してM1－V1ではIL－6添加後細胞増殖を推進するcdk 4、cdk 6の活性の低下が認められたが、M1－G1では両分子の活性は維持されていた。同様にアポトーシス関連分子の発現変化を検討したところ、M1－V1ではIL－6添加後bcl－2の発現低下が認められたが、M1－G1ではbcl－2の発現は維持されていた。

M1－G1におけるIL－6存在下でのサイクリンD1とbcl－2の持続性発現の意義を検討するために、サイクリンD1とbcl－2を各々単独あるいは同時にM1に発現させ、これらのクローンのIL－6に対する反応性を検討した。サイクリンD1の過剰発現はIL－6による分化誘導を阻害したがアポトーシス誘導は阻害しなかった。逆に、bcl－2の過剰発現はIL－6によるアポトーシス誘導を阻害したが分化誘導は阻害しなかった。また、両者を過剰発現させたクローンは、M1－G1と同様にIL－6による分化、アポトーシス誘導に抵抗性を示した。

【総括】

GATA－1は骨髄系細胞株M1の系統を巨核球系へと変化させた。GATA－1導入M1細胞はIL－6存在下でも持続的な増殖能を有しIL－6による分化やアポトーシス誘導に抵抗性を示した。GATA－1はM1においてサイクリンD1、bcl－2などの遺伝子発現を介してIL－6による分化、アポトーシスの誘導作用を阻害すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究では、造血幹細胞から赤巨核球系細胞への系統の決定に必須の転写因子GATA－1が、造血細胞の細胞増殖や、サイトカインによって誘導される分化過程にどのような影響を及ぼすのかについて検討が行われた。

このモデルとしてIL－6によってマクロファージへの分化が誘導されるマウス骨髄性白血病株M1に、異所性にGATA－1を導入して解析が行われた。

その結果、GATA－1を導入されたM1細胞の系統は骨髄系から巨核球系へと変化し、IL－6存在下でも持続的な増殖能を有し、IL－6によるマクロファージへの分化誘導やアポトーシス誘導に抵抗性を示すようになった。更に、この分子構造としてGATA－1がサイクリンD1やbcl－2などの遺伝子発現を介してIL－6による分化、アポトーシスの誘導作用を阻害することが明らかにされた。

これらの研究結果から、転写因子GATA－1は一度決定された造血細胞の系統を変更する能力を有するのみでなく、各種の遺伝子発現を直接あるいは間接的に誘導することにより、造血細胞の造血因子に対する反応性を著しく変化させることが明らかとなった。

本研究で得られた結果は、造血細胞の発生機構や造血因子による造血制御機構を解明するうえで極めて重要と考えられる。また、系統特異的な転写因子の機能を制御することにより、造血幹細胞からの各系統の血液細胞の発生を制御できる可能性を強く示唆するとともに、今後の臨床応用への可能性も有しており学位に値する研究であると考えられる。