



Title	Synergistic Roles for Pim-1 and c-Myc in STAT 3-Mediated Cell Cycle Progression and Antiapoptosis
Author(s)	白銀, 隆宏
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42661
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	しろがねたかひろ 白銀隆宏
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16049 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 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	Synergistic Roles for Pim-1 and c-Myc in STAT 3-Mediated Cell Cycle Progression and Antiapoptosis. (STAT 3 依存的な細胞周期移行と細胞死抑制における Pim-1 と c-Myc の協調的役割。)
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 長田 重一 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

【目的】

IL-6 ファミリーサイトカイン受容体の共通のサブユニットである gp130 を介する細胞増殖において、STAT 3 は、細胞死抑制と G1-S 細胞周期移行に関わっている。しかし、STAT 3 の下流でどのような遺伝子が、どのようにしてこれらの機能を果たしているかは不明であった。本研究はその遺伝子の同定とその機能解析を目的とする。

【方法ならびに成績】

gp130 の細胞内領域と G-CSF 受容体の細胞外領域を有するキメラ受容体を安定導入した proB 細胞株である BAF-B03 細胞を用いた研究より、(1)gp130 を介する細胞増殖には、gp130 の細胞内領域のうちチロシン759 とチロシン767 を有する133アミノ酸の領域が最低限必要であること、(2)チロシン767 は STAT 3 の活性化に必要であり、STAT 3 は、細胞死抑制と G1-S 細胞周期移行に関わっていること、(3)癌遺伝子の1つである *c-myc* の発現は、gp130 のシグナル伝達において STAT 3 の制御を受けていること、が今までに明らかにされている。しかし、gp130 のシグナル伝達においてどのような遺伝子がどのようにして細胞増殖に関わっているかは明らかでなかった。そこで、gp130 の刺激依存的に誘導され、細胞増殖に関わっている遺伝子の同定するため、細胞増殖に最低限必要な gp130 の細胞内領域133アミノ酸を含む領域と G-CSF 受容体の細胞外領域を有するキメラ受容体を安定導入した BAF-B03 細胞株 G133細胞を用いてその刺激前後で、それぞれ mRNA を回収、cDNA を合成し、サブトラクションを行なった。その結果、セリンスレオニンキナーゼをコードし、プロトオンコジーンとして知られ、リンパ腫発症において *c-myc* との協調作用がある、*Pim-1* 及び *Pim-2* を単離した。次に、*Pim-1* と *Pim-2* が、gp130 の細胞内のどの領域に依存して誘導されるかを、様々な gp130 の細胞内領域の変異を有するキメラ受容体を発現させた細胞および優性抑制型 STAT 3 を発現させた細胞を用いて、ノザンプロットにて解析した。その結果、*Pim-1* および *Pim-2* は STAT 3 の活性化に依存して誘導され、さらに、サイクロヘキシミドで処理してもその誘導が抑制されないことから STAT 3 により直接誘導されることが分かった。そこで、STAT 3 の下流での *Pim-1* の機能を調べるため、STAT 3 が活性化できない gp130 のキメラ受容体を発現させた細胞、G133F3細胞に、*Pim-1* のみを発現させたところ、刺激依存的な *bcl-3* の誘導を認め、細胞死を部分的に回避し増殖した。また、もう1つの STAT 3 標的遺伝子である *c-myc* のみを G133F3細胞に発現させたところ、細胞死が促進し、*bcl-2* により細胞死を抑制させても、G1 から S への細胞周期の移行は認められなかった。ところが *Pim-1* と *c-myc* を同時に発現させたところ、細胞は刺激依存的

に完全に細胞死を回避し増殖し、*bcl-2* の誘導の増強が見られた。また、細胞増殖に最低限必要な gp130 のキメラ受容体を発現させた G133 細胞に酵素不活型 *Pim-1* を発現させたところ部分的に細胞増殖が抑制され、*bcl-2* の誘導が抑制された。これらのことから、*Pim-1* と *c-Myc* は、gp130 依存的な細胞増殖において、STAT3 の下流で働き、お互いに協調しあい STAT3 の機能である細胞死抑制と細胞周期移行について完全に代償できることが分かった。さらに、*Pim-1* を発現させた細胞を用いてサブトラクションを行い酵母 *cdc48* のホモログである VCP を単離した。VCP の機能を調べるため、2ヶ所の ATP 結合部位に変異を導入した VCP を発現させたところ細胞は細胞死に至り *bcl-2* の抑制が見られた。このことから、VCP は、*Pim-1* を介する細胞死抑制に関与していることが示唆された。

【総括】

以上の研究より、gp130 を介する細胞増殖において、STAT3 の下流で *Pim-1* と *c-myc* という 2 つの癌遺伝子が、重要な働きをしていることが示唆された。STAT3 は、多くの骨髄腫細胞や悪性リンパ腫細胞において恒常的に活性化されていることがこれまでに報告されており、本研究は、サイトカインを介する細胞増殖のみならず、骨髄腫や悪性リンパ腫などの発症のメカニズムの解明の足がかりになり得ると考えられる。

論文審査の結果の要旨

gp130 は、IL-6 ファミリーサイトカイン受容体の共通のサブユニットであり、サイトカインの刺激を細胞内に伝える役割を持っている。gp130 を介する細胞増殖において、STAT3 は細胞死抑制と G1-S 細胞周期移行に関わっている。しかし、STAT3 の下流でどのような遺伝子がどのようにしてこれらの機能を果たしているかは、不明であり、本研究は、その遺伝子の同定と機能解析を目的に行われた。まず、サブトラクション法を用いて gp130 依存的に誘導される遺伝子として、プロトオンコジーンとして知られる *Pim-1* と *Pim-2* を同定し、それらが STAT3 によって直接制御されていることを明らかにした。さらに、*Pim-1* が、STAT3 のもう一つの標的分子である *c-Myc* と互いに協調しあい、細胞死抑制と G1-S 細胞周期移行について STAT3 の機能を完全に代償できることを明らかにした。さらに、*Pim-1* の下流で酵母 *cdc48* のホモログである VCP が細胞死抑制に関わっていることを明らかにしている。

本研究は、サイトカインによる細胞増殖において *Pim-1* と *c-myc* という 2 つの癌遺伝子が STAT3 の下流で働いていることを明らかにしたものである。そして、骨髄腫細胞など多くの悪性腫瘍において、STAT3 が恒常的に活性化されているというこれまでの報告と考え合わせた時、本研究の成果は、サイトカインによる細胞増殖のメカニズムの一端を明らかにしただけでなく、骨髄腫や悪性リンパ腫といった悪性腫瘍の発症機構の解明の足がかりになり得るものであり、学位授与に値すると考えられる。