

## 上野 志貴子 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

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)

PU.1 は、造血系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。これまでに、PU.1 の発現異常が、急性骨髄性白血病を始めとする様々な造血器腫瘍を引き起こすことが判明している。しかしながら、B細胞における PU.1 の機能についてはこれまでに完全には解明されていない。本研究では、形質細胞腫瘍である多発性骨髄腫における PU.1 の役割を、テトラサイクリン添加により PU.1 の発現量を調節する Tet-off システムを用いて解析した。

申請者は、テトラサイクリン添加により PU.1 の発現が抑制されるベクター(Tet-off システム)を導入した骨髄腫細胞株 U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞を用いて cDNA 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変化を比較検討した。その結果、PU.1 発現後に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ること、細胞周期関連遺伝子では、ほとんどの cyclin と E2Fs が発現低下しているが、p21 の発現は増加していることを見出した。そこで、U266<sup>tetPU.1</sup> 細胞に対して、p21 に対する siRNA を導入して p21 の蛋白発現を抑制したところ、PU.1 による細胞増殖停止が部分的に解除された。次に、siRNA 導入により TRAIL 蛋白発現を抑制したところ、PU.1 によって誘導されるアポトーシスが阻害されたことから、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(ChIP) assay 及び electromobility shift assay(EMSA)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。TRAIL promoter を用いたレポーターアッセイでは、TRAIL promoter の転写促進が認められた。

以上の結果より、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-bp3' 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判明した。

審査において、①PU.1 発現低下と骨髄腫発症の関連、②骨髄腫症例における PU.1 と TRAIL 発現の相関関係の有無、③骨髄腫細胞のアポトーシスにおける IRF-4 の関与、④PU.1 と会合する他の転写因子、⑤TRAIL 受容体の種類と骨髄腫細胞における発現、⑥PU.1 発現制御による骨髄腫に対する新規薬剤開発の可能性について等の質疑が行われ、申請者からは概ね的確な回答がなされた。

本研究は、転写因子 PU.1 が TRAIL の転写抑制を介して骨髄腫細胞のアポトーシスを制御していることを示し、骨髄腫の進展機序の解明及び PU.1 を標的とした治療法開発の可能性において意義のある研究として、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 予防開発学担当教授

岡田誠治

審査結果

学位申請者名：上野 志貴子

専攻分野：血液内科学

PU.1 発現による骨髓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)

指導： 満屋 裕明 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文での再審査

可

不可

平成21年11月11日

審査委員長 予防開発学担当教授

岡田 誠治

審査委員 幹細胞誘導学担当教授

江良 規実

審査委員 分子遺伝学担当教授

尾池 龍一

審査委員 免疫識別学担当教授

西村 稔治