慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Different Roles of p38 MAPK and ERK in STI571-Induced Multi-Lineage Differentiation of K562 Cells.
Sub Title	チロシンキナーゼ阻害剤STI571によるK562細胞の多系統血球分化誘導におけるp38 MAPKおよびERKの役割
Author	光村, かの子
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.22-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0022

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Different Roles of p38 MAPK and ERK in STI571-Induced Multi-Lineage Differentiation of K562 Cells.

（チロシンキナーゼ阻害剤STI571によるK562細胞の多系統血球分化誘導における p38 MAPKおよびERKの役割）

光村　かの子

内容の要旨

（緒言）STI571はチロシキナーゼ阻害剤であり、慢性骨髄性白血病（CML）に対する分子標的治療薬として臨床的に高い細胞遺伝学的寛解をもたらす画期的な治療薬として注目されている。近年、酪酸や抗癌剤ヒドロキシカルバミドがCML細胞株K562細胞に対し、ERKの抑制とp38MAPKの活性化を介して赤芽球系への分化を誘導することが報告された。STI571もK562細胞のヘモグロビン産生を誘導することが報告されたが、STI571の血球分化誘導機構は明らかではない。ERK、JNK、p38MAPKなどのMAPKシグナル伝達経路が細胞における増殖、分化を幅広く制御していることがこれまでに報告されていることから、本実験系におけるp38MAPKとERKの果たす意義について検討した。

（方法と結果）CML細胞株K562細胞をSTI571 0.5μMで刺激し、p38MAPK、ERK、JNKのリン酸化をウェスタンブロット法で確認したところ、p38MAPKのリン酸化とERKの脱リン酸化が誘導された。STI571によるK562細胞のヘモグロビン産生誘導と細胞増殖抑制効果を検討したところ、STI571刺激でジアニシジン陽性細胞、すなわちヘモグロビン産生が増加した。さらにMEK/ERK特異的阻害剤U0126添加下ではジアニシジン陽性細胞がさらに増加し、p38MAPK阻害剤SB203580添加下ではヘモグロビン産生がほぼ抑制されたことから、STI571による赤芽球系への分化誘導にERKの脱リン酸化とp38MAPKのリン酸化が重要であることが示唆された。またSTI571刺激により、各血球系統細胞表面マーカー（CD11b、CD13、CD41a、CD42b、glycophorin A：GP-A）の発現が増強し、SB203580の投与で発現が減弱したことからSTI571はp38MAPK経路を介して赤芽球系分化のみならず、顆粒球系、巨核球系分化も誘導することが確認され、形態学的にも同様の結果を得た。血球分化に関与する各種転写因子の発現変化をRT-PCRで検討したところ、STI571刺激でc-mybの発現が低下したが、SB203580投与によりその発現低下は抑制された。STI571はablキナーゼの他にc-kit、PDGFRα、PDGFRβなどのキナーゼ活性を阻害することも知られているが、K562細胞ではこれらキナーゼの発現は認めなかった。一方Ph染色体陰性赤芽球性白血病細胞株TF-1細胞においてはc-kitの発現を認めるが、STI571刺激でのGP-A発現変化は認められなかった。

（結語）STI571はAblキナーゼ活性を抑制し、p38MAPKのリン酸化とERKの脱リン酸化によりK562細胞の多系統への分化を誘導すると考えられた。

論文審査の要旨

慢性骨髄性白血病細胞株K562細胞は、酪酸などの薬剤で赤芽球系への分化が誘導されることが報告されている。その機序としてp38 MAPKのリン酸化とERKの脱リン酸化の重要性が報告されている。STI571によるK562細胞の赤芽球系への分化も報告されているが、その機序は明らかではない。本研究ではSTI571によるK562細胞の分化誘導にp38 MAPKのリン酸化とERKの脱リン酸化が重要であり、かつSTI571により多系統血球分化誘導が認められることを明らかにした。

論文審査において、STI571刺激によりヘモグロビン産生が誘導される際のミトコンドリアの状態の確認や、MTT assayで増殖抑制効果を確認するのみではなく、細胞周期の停止が起きているのかあるいはアポトーシスが誘導されているのか詳細な検討が必要と指摘を受けた。またSTI571刺激によりこれまで報告されてきた赤芽球系のみではなく、多系統血球分化誘導が示され、血球分化に重要である転写因子c-mybの発現変化をRT-PCRで確認しているが、プロモーター領域のメチル化、ヒストンの修飾（メチル化、アセチル化）を将来解析すると転写因子の発現調節の解明につながると助言された。さらに本研究ではSTI571によりp38MAPKのリン酸化が上昇するものの、その上流であるMKK3/6のリン酸化が変化しないことについて質問があった。これに対し、p38 MAPKの上流に関しては未だ全貌が明らかではなく、おそらくMKK3以外にも重要な因子が存在している可能性があること、また過去の報告例でも本研究同様赤芽球系分化誘導にp38 MAPKのリン酸化が重要であったが、MKK3のリン酸化は変化しなかったことを回答した。また、本論文ではK562細胞にc-kit、PDGFRα、PDGFRβが発現しておらず、かつPh染色体陰性の赤芽球性白血病細胞株TF-1は分化能をもつにもかかわらずSTI571では分化が誘導されないことを根拠に、STI571による分化がab1キナーゼ活性を抑制することで誘導されるとしたが、K562細胞にc-kitを発現させたうえでSTI571による分化誘導がおこるかを確認することも重要であると指摘された。

以上より本研究はさらなる検討されるべき点はあるものの、STI571による分化誘導に着目し、その機序としてp38 MAPKの活性化、転写因子c-mybの発現低下を初めて明らかにした点で価値ある研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　池田　康夫
発生・分化生物学　須田　年生　微生物学・免疫学　小安　重夫
医化学　末　松　　誠
学力確認担当者：
審査委員長：須田　年生

試問日：平成16年２月12日