

平成19年2月

堀江和峰 学位論文審査要旨

主 査 箸本 英吉
副主査 林 眞一
同 西連寺 剛

主論文

The role of p38 mitogen-activated protein kinase in regulating interleukin-10 gene expression in Burkitt's lymphoma cell lines

(バーキットリンパ腫細胞株のIL-10遺伝子発現制御におけるp38 MAPキナーゼの役割)

(著者：堀江和峰、大橋 誠、佐藤幸夫、西連寺 剛)

平成19年1月 Microbiology and Immunology 51巻 149頁~161頁

学 位 論 文 要 旨

The role of p38 mitogen-activated protein kinase in regulating interleukin-10 gene expression in Burkitt's lymphoma cell lines

(バーキットリンパ腫細胞株のIL-10遺伝子発現制御におけるp38 MAPキナーゼの役割)

悪性B細胞リンパ腫において高頻度でIL-10発現の増強及びp38 MAPKのリン酸化が観察される。これらの性状は細胞の悪性形質であり、これらは治療における有効な分子標的になると考えられる。IL-10はB細胞リンパ腫の自己増殖及び免疫抑制因子として腫瘍形成を促進することが示唆されており、IL-10産生機構の解明は極めて重要と考えられる。本研究ではIL-10発現の機構を調べるため、バーキットリンパ腫(Burkitt's lymphoma; BL)細胞株を用いてIL-10発現におけるp38 MAPキナーゼ(p38 MAPK)による調節の役割を解析した。

方 法

EBウイルス感染BL細胞株(Akata、Daudi、P3HR-1、EB-1)、及び非感染BL細胞株(Ramos、BJAB)を用いた。細胞培養はRPMI1640に牛胎児血清(FCS)を添加した培地を用いた。IL-10及びIL-10レセプターmRNAの発現はRT-PCR法で解析した。IL-10産生量はELISAにて測定した。細胞増殖はMTTアッセイ及びトリパンブルー染色法にて解析した。IL-10によるシグナルの伝達はIL-10レセプターに会合するJak1、Tyk2のリン酸化をウエスタン解析した。リン酸化p38 MAPKの細胞内局在は、細胞質、核分画タンパクをウエスタン解析及び共焦点蛍光顕微鏡下で観察した。p38 MAPKのリン酸化レベルの解析はセリン・スレオニンキナーゼ阻害剤H7を用いた。Stat3のDNA結合能はp38 MAPK特異的阻害剤SB203580を用いてEMSA法にて解析した。

結 果

IL-10 mRNAはEBウイルス感染、非感染に関わらず全ての細胞株で検出されたが、IL-10産生量は細胞株間で異なり、IL-10 mRNA発現レベルと相関した。IL-10レセプターの発現は全ての細胞で認められた。Akata細胞においてIL-10添加後Jak1、Tyk2が速やかにリン酸化され、IL-10の濃度依存的に細胞増殖が促進された。いずれのBL細胞株も恒常的にp38 MAPKがリン酸化しており、細胞質内の局在が明らかになった。p38 MAPKの特異的阻害剤SB203580によりIL-10産生及び細胞増殖は濃度依存的に抑制された。p38 MAPKのリン酸化はセリン・スレオニンキナーゼ阻害剤H7によって減少し、IL-10産生量も抑制された。Akata細胞に

SB203580添加後速やかにSTAT3のDNA結合能が抑制され、IL-10 mRNA発現もそれと平行して抑制された。

考 察

本研究は、BL細胞株においてp38 MAPKの恒常的リン酸化及び細胞質での局在を検証し、p38 MAPK活性阻害によりStat3のDNA結合能が減少し、IL-10産生の低下が誘導されることを明らかにした。

IL-10遺伝子プロモーター領域にはStat3結合部位が存在することから、BL細胞株におけるIL-10産生の機構は、恒常的に活性化されたp38 MAPKの下流でStat3が活性化されることでIL-10遺伝子プロモーターが活性化しIL-10を産生すると考えられる。

p38 MAPKは基質であるMAPK-activating protein kinase (MK)と複合体を形成し核外移行するという報告があり、MKはmRNAの分解抑制に関わることが知られている。BL細胞においてp38 MAPKはIL-10遺伝子の転写促進のみならず、IL-10 mRNA分解の抑制に関与していることが示唆された。

結 論

BL細胞株においてp38 MAPKは恒常的にリン酸化され細胞質に局在し、Stat3を介してIL-10の発現を促進する。