

ジメチルスルホキシド処理によるヒト前骨髄性白血病細胞株 HL-60の 非可逆的な増殖停止の機構に関する研究*

北島 健二**

広島大学大学院生物圏科学研究科

Mechanisms of irreversible transition to growth arrest of human myelocytic leukemia HL-60 cells treated with dimethyl sulfoxide

Kenji KITAJIMA

*Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739, Japan*

要 旨

ヒト前骨髄性白血病細胞株 HL-60 は 薬剤処理により脱癌化し、種々の成熟細胞の分化形質を発現し増殖を停止するという注目すべき特徴を持っている。このため、1977年に株化されて以来多くの研究者によりさまざまな角度から研究されてきた。薬剤処理による脱癌化で重要なことは、変化の非可逆性、換言すると薬剤を除去しても誘導された変化が維持されることである。従って、非可逆変化であることを明瞭に示すこと、さらに非可逆性の機構を明らかにすることは最も重要な中心的課題の一つである。

HL-60 細胞の DMSO 処理による顆粒球への分化誘導に伴う増殖停止は、非可逆的であることが多くの実験で示されている数少ない例であるが、その分子機構についてはこれまで不明のままであった。

HL-60 細胞の亜株である HL-60DM 細胞では、がん遺伝子 *c-myc* が Double Minute 染色体 (DM) 上で増幅している。DM には動原体が無く、微小核の中に選択的に取り込まれ細胞外に排出される。この過程は自発的にも起こるが DMSO 処理により促進されるので、*c-myc* 遺伝子のコピー数の減少が非可逆的な増殖停止の原因であるとするのは常識的な考えである。

本論文は、この考えに含まれる矛盾をつぎのような実験的証拠により明かにした。

1) 非可逆的に分化した HL-60DM 細胞において、増幅した *c-myc* 遺伝子が完全に除かれているわけではなく、なお 5 倍程度の増幅がみられる。これと同程度に増幅した *c-myc* 遺伝子を細胞染色体上の Homogeneously Staining Region (HSR) にもつ亜株 HL-60HSR では、DMSO 存在下で分化形質を発現し増殖を停止するが、DMSO を除去すると元の状態に戻る、すなわち変化は可逆である。

広島大学総合科学部紀要Ⅳ理系編、第22巻 (1996)

* 広島大学審査学位論文

口頭発表日：1996年2月14日、学位取得日 1995年3月26日

** 現在の所属：三菱化学・生命化学研究所・先端研究部門

2) HL-60HSR が常に可逆的な増殖停止を示す訳ではなく、DMSO 処理により分化しない分化耐性株の報告が複数ある。

3) *c-myc* 遺伝子の転写は DMSO 処理により早期に抑制されてしまう。また、mRNA およびタンパク質の寿命も非常に短い。従って、*c-myc* 遺伝子の発現が抑制された以後の時点で *c-myc* 遺伝子のコピー数の減少が起こっても細胞に実質的な変化は生じない。ゆえに、非可逆的に増殖停止した HL-60DM 細胞で、*c-myc* 遺伝子の増幅率が常に一定の低い値を示す理由は考えられない。

4) HL-60DM 細胞からは非可逆的に増殖停止した細胞が自発的に生じる。その細胞内の *c-myc* 遺伝子の増幅率は、DMSO 処理によって非可逆的に分化した細胞の値と一致する。また、HL-60HSR 細胞の値とも近いが、HL-60HSR 細胞からは自発的に非可逆的に分化した細胞は生じない。

5) 非可逆的に分化した HL-60DM 細胞に残存している *c-myc* 遺伝子は、処理前には mRNA を発現しているが、分化した細胞では遺伝子の染色体構造が不活性状態に変化し、転写活性は喪失している。

上記の矛盾は次のモデルで簡単に解決できることが本論文で示された。

1) 細胞核内には *c-myc* 以外のがん遺伝子が増幅して発現しており、そのがん遺伝子が除かれると細胞の非可逆的な分化が誘導される。

2) そのがん遺伝子が細胞染色体に HSR として組み込まれるとき、DMSO 処理により発現が抑制される形をとるか、あるいは抑制されない形をとるかで、可逆的分化を示したり分化耐性となったりする。

HL-60細胞のジメチルスルホキシド処理による顆粒球への分化と増殖停止は20年近く研究されてきたが、本論文は非可逆変化の機構に対する初めての重要な貢献である。