

氏名	王 銀 娜	
学位の種類	博 士 (医 学)	
学位記番号	第3755号	
学位授与年月日	平成12年3月23日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者	
学位論文名	マウスT細胞 (CTLL-2) における蛋白リン酸化酵素とアポトーシスに対する protocatechualdehydeの影響	
論文審査委員	主 査 教 授 大谷 周造	副主査 教 授 井上 正康
	副主査 教 授 北川 誠一	

論 文 内 容 の 要 旨

[目的] Protocatechualdehyde(3,4-dihydroxybenzaldehyde, PA)の細胞増殖抑制機序をIL-2依存性に増殖するCTLL-2を用いて検討した。

[方法及び結果] PAが細胞増殖を抑制し、この抑制効果がDNA fragmentation assayにより判定できるアポトーシスによることを明らかにした。このアポトーシスの過程では、PAはIL-2依存性のセリン・スレオニンのリン酸化よりむしろ、約91, 80, 55kDaの各蛋白質のチロシンリン酸化を阻害した。

PA処理により細胞内チロシンキナーゼ (PTK) 活性も抑制され、PTK測定時にPAを加えた場合もPAの濃度依存性にPTK活性を抑制した。しかし、PKA活性については影響はみられなかった。PKC活性はPAで細胞を処理した時のみ減少がみられた。

PAはbcl-2蛋白及びmRNAの発現を抑制し、Caspase-3の活性化を促進したが、Bax蛋白の発現には影響しなかった。

PKCを活性化するPhorbol esterであるTPAは、bcl-2の発現を増加させ、caspase-3の活性を抑制し、PAで誘導されるアポトーシスを減弱させた。

[結論] PAは有効な細胞増殖抑制剤であり、アポトーシス死を誘導するチロシンキナーゼの阻害剤であることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Protocatechualdehyde(PA,3,4-dihydroxybenzaldehyde)は漢方薬である丹参中に含まれる物質で、マウス白血病細胞であるL1210細胞に対し抗腫瘍作用があることが明らかにされている。この論文はその抗腫瘍作用の機序を明らかにするため、IL-2依存性に増殖するマウスT細胞 (CTLL) を用い、PAがCTLL細胞のアポトーシスを誘発するか否か、また、その誘発の機序について検討したものである。PAの添加により12時間後のCTLL細胞の生存率が低下し、12時間後にDNAの断片化を指標としたアポトーシスの誘導が認められた。IL-2刺激の初期に見られる蛋白のリン酸化に対するPAの影響を調べると、PAはIL-2依存的に増加する91, 80, 55kD蛋白のチロシンリン酸化を抑制したが、セリン/スレオニン残基のリン酸化には影響しなかった。PA存在下で培養した細胞の抽出液中のprotein tyrosine kinase (PTK) 活性は減少しており、酵素反応液中にPAを加えた場合も活性の阻害が見られた。cAMP依存性protein kinase活性には影響しなかった。アポトーシス誘導に関係するBcl-2, Bax, caspase-3に対するPAの影響を調べると、PAに

よりBcl-2蛋白及びmRNAの減少とcaspase-3活性の増加が認められ、Bax蛋白量には変化が見られなかった。12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA) は種々の細胞においてアポトーシスを抑制し、細胞の生存を延長する作用があることが知られているが、培養液中へのTPAの添加は、PAによるCTLL細胞のBcl-2蛋白量及びmRNA量の減少、caspase-3活性の増加を抑制し、アポトーシスの誘導を阻害した。これらの結果はPAの抗腫瘍作用はアポトーシスの誘導に起因し、アポトーシスの誘導にはPTK活性の低下、Bcl-2/Bax比の低下、caspase-3活性の増加が関係することを明らかにしており、PAの作用機作、アポトーシスの誘導機序の解明に寄与するところが大きいと考えられた。よって、著者は博士（医学）の学位を授与するに値すると判断された。