

E318

無血清馴化で変化する IL-6 応答遺伝子の挙動

(福井大院工)○(学)福本 健・(正)寺田 聡*

【緒言】

近年、国内バイオ関連市場は 2 兆円を越える巨大な規模になり、さらに拡大する傾向にある。その中でも、成長著しいのが抗体医薬を始めとする生理活性タンパク質で、これらの製造は主として哺乳類由来の動物細胞で生産されている。しかし、これら動物細胞株は無限に増殖するため、必要以上に培地を消費しコスト高の要因の一つになっている。このことから、適切な増殖制御は培養工学の重要な課題である。

当研究室ではこれまで、ハイブリドーマ細胞2E3株(血清株)と、これを無血清培地に馴化して得られた2E3-0株(馴化株)とでは、インターロイキン-6(IL-6)に対して相反する増殖応答を示すことを見出している。つまり、IL-6の刺激により血清株では増殖が促進され、逆に馴化株では抑制される。そしてこの抑制は細胞周期におけるG1期での停止を誘導する。本研究では、無血清への馴化によるIL-6誘導遺伝子、ならびに細胞内因子の変化を解明することで、増殖制御に関する知見の獲得を目指した。

【方法】

血清株と馴化株を用いて、細胞周期に関連する遺伝子とそれを発現誘導するIL-6シグナル伝達を検討した。関連遺伝子は主にG1/S期に関与する細胞周期エンジンである*cyclinD2*と*cyclinE1*、細胞周期抑制因子である*p19*と*p21*を、リアルタイムPCRで検討した。

そして、IL-6シグナル伝達因子を阻害した際にこれら遺伝子の発現変化から無血清馴化が引き起こすシグナル伝達の変動を推定した。阻害した因子は、IL-6シグナル伝達の主要経路であるJAK/STAT・PI3K/AKT・MAPK経路で重要な役割を担っている、JAK、PI3K、そしてMEK1/2である(Fig. 1)。これら因子をそれぞれAG490(JAK阻害剤)、LY294002(PI3K阻害剤)、U0126(MEK1/2阻害剤)によって阻害した。

【結果・考察】

Fig. 2に示すように、両株の細胞周期関連遺伝子の発現率を比較すると、血清株では*cyclinD2*、*E1*の発現率が馴化株より高いのに対し、*p19*、*p21*は逆に低くなった。これらことから、細胞周期エンジンの発現減少と細胞周期抑制因子の発現増加が馴化株におけるIL-6による増殖抑制を誘導すると思われる。

Fig. 3にU0126(MEK1/2阻害剤)を用いた際の*cyclinD2*の発現率を示す。血清株ではIL-6により発現誘導された*cyclinD2*がIL-6と阻害剤を併用することで、発現が阻害された。一方、馴化株は阻害剤による発現への影響は見られなかった。このことは血清株において、MEK1/2を介して*cyclinD2*の発現を誘導することを示唆する。

以上を統合すると、無血清馴化の過程でMEK1/2が*cyclinD2*の発現誘導に関与しなくなる。このため、IL-6を介した増殖促進効果が弱まり、同時に

p19、*p21*による増殖抑制効果が高まることで増殖抑制が誘導されると思われる。

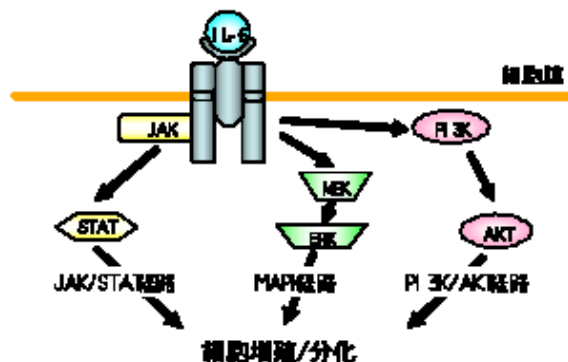


Fig. 1 IL-6シグナル伝達の概略図

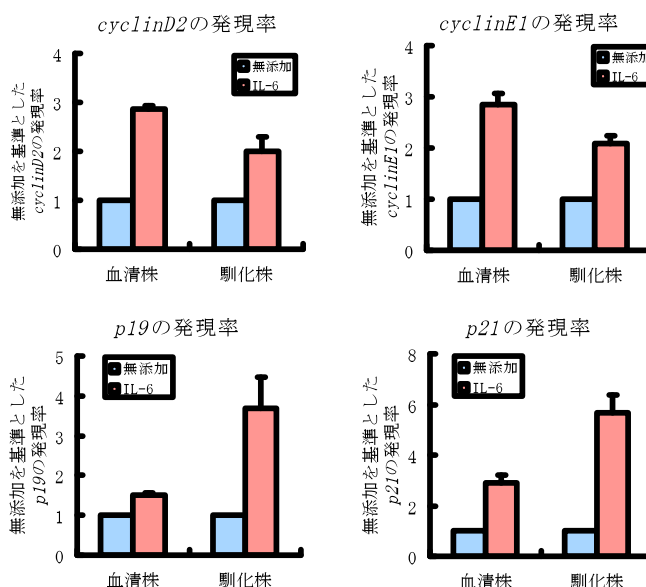


Fig. 2 細胞周期関連遺伝子のIL-6による発現変化

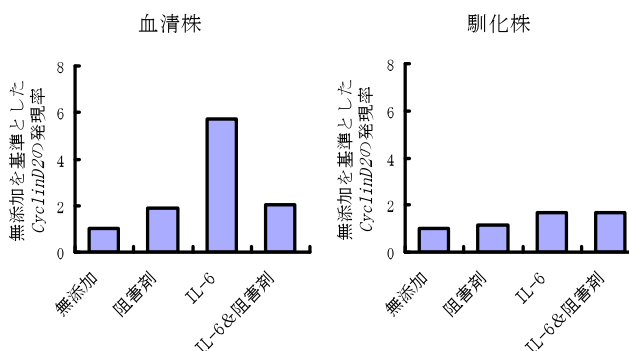


Fig. 3 MEK1/2阻害によるIL-6の*cyclinD2*発現への影響

* Tell 0776-27-8645 Fax 0776-27-8747

E-mail terada@u-fukui.ac.jp