

た。PGC-1の抑制メカニズムは複数あることが示唆された。次に、PGC-1の本来のターゲットである糖新生にかかわる phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) プロモーターを用いて、ERR $\alpha$  の影響を検討した。Hepatooma 細胞において、ERR $\alpha$  は PGC-1による PEPCK プロモーターの転写活性を抑制した。  
(結論)

以上より、ERR $\alpha$  は PGC-1の転写活性を抑制するという新しいメカニズムが推測された。今後、心筋細胞において PGC-1を調節する他の転写因子、および細胞内シグナル経路の検討を行う予定である。

#### MAP キナーゼ及びカスパーゼを介したエリスロポエチンの抗アポトーシスシグナル解析

内科学講座血液学部門 森 政樹

エリスロポエチン (EPO) は赤芽球系前駆細胞の増殖と分化を調節する最も重要なサイトカインであるが、増殖シグナル伝達とアポトーシス抑制シグナル伝達の双方に働くと考えられている。EPO がその受容体に結合すると、JAK, STAT, MAP キナーゼ, PI3キナーゼなどのシグナル伝達物質が活性化され、赤芽球系前駆細胞の増殖、分化が巧妙に調節されることが知られているが、EPO のアポトーシス抑制シグナルの伝達経路についてはまだ十分に解明されているとは言えない。我々は、増殖因子の作用機序のひとつであるアポトーシス制御に注目し、特に赤血球系造血に及ぼす EPO のアポトーシス抑制作用について、EPO 依存性ヒト白血病細胞株 UT-7/EPO 及びヒト胎児血由来 CD34陽性造血幹細胞から分化させた赤芽球系前駆細胞を用いて検討し、以下の結論を得た。

(1) EPO 依存性ヒト白血病細胞株 UT-7/EPO は EPO 除去後、時間依存性にアポトーシスに陥り、その割合は48時間で18.6%、72時間で32.1%、96時間で41.6%であった。(2) EPO 除去で誘導されるアポトーシスにおいて、著明な Bcl-xL 蛋白の発現低下とカスパーゼ 3, 6, 8 の活性化を認めた。また、ICAD の分解が観察さ

れた。(3) EPO 除去で誘導されるアポトーシスは、汎カスパーゼ阻害剤 VAD 添加で12.6%にまで抑制できた。(4) EPO 添加条件下でも MEK1/2阻害剤 U0126 100 $\mu$ M 前処置にて38.9%の細胞にアポトーシスが誘導されたが、このアポトーシスは VAD 前処理にて阻止された。この時、蛋白レベルでの Bcl-xL の発現は増加していた。(5) ヒト胎児血から磁気ビーズ法を用いて CD34陽性造血幹細胞を回収し、EPO, IL-3, SCF 存在下に培養、分化させて純化した赤芽球系前駆細胞を採取した。(6) 赤芽球系前駆細胞を EPO 添加条件で培養しても、U0126による ERK1/2の活性化阻害で40%以上の細胞にアポトーシスが誘導されたが、VAD 前処理にてこれが阻止され、蛋白レベルでの Bcl-xL の発現は増加していた。

以上より、赤血球系造血における抗アポトーシス作用に関しては MAP キナーゼ経路が重要であり、EPO 存在下における MAP キナーゼ経路は、Bcl-xL のメッセージレベルでの調節と、下流のカスパーゼ経路を抑制して Bcl-xL の蛋白レベルでの切断を抑制する二重の経路により、抗アポトーシス作用を発揮することを示した。同経路は、赤血球系造血における EPO のシグナル伝達経路として、既知の JAK/STAT, PI3キナーゼ/AKT を介した経路とは異なる、カスパーゼを介して Bcl-xL の発現を調節する新規のアポトーシス抑制経路として重要であり、以下に報告した。

Mori M, Uchida M, Watanabe T, Kirito K, Hatake K, Ozawa K and Komatsu N. Activation of extracellular signal-regulated kinases ERK1 and ERK2 induces Bcl-xL up-regulation via inhibition of caspase activities in erythropoietin signaling. *J Cell Physiol.* 2003; 195: 290-297.

胎児心不全での一酸化窒素による重要臓器への血流再分布現象のメカニズムとその発達

小児科学講座

菊池 豊, 白石裕比湖, 桃井真里子