

29【P2】Ⅱ-413

胚性腫瘍細胞 P19 での Sox6 発現抑制は神経分化の抑制と RA 依存的な apoptosis をひきおこす

○小川 大輔¹, 濱田 美知子¹, 石川 恭子¹, 別所 有美¹, 楢原 正則¹, 三宅 正治¹(¹神戸学院大薬)

【目的】Sox ファミリーは転写因子をコードしており、胚発生期中枢神経系での発現パターンから中枢神経系の発生・分化に関与するのではないかと考えられている。中でも Sox6 は胚性腫瘍細胞 P19 の神経分化初期過程で発現することから、Sox6 が P19 細胞の神経分化に関与する因子ではないかと考えた。P19 細胞は 4 日間 5×10^{-7} M RA 存在下で浮遊培養後、RA なしで接着培養することで神経細胞とグリア細胞へと分化する。我々は既に、Sox6 過剰発現によって RA 非依存的に神経細胞へ分化することを見出し報告した。今回は、Sox6 発現抑制によって RA 誘導による神経細胞への分化に対する影響を検討した。

【方法】発現抑制細胞は Sox6 cDNA を pcDNA3.1myc/his vector に逆向きに挿入し、P19 に導入し作製した。神経への分化は常法通り 4 日間 RA 誘導後、形態および分子マーカーの発現によって検討した。細胞増殖はコールターカウンターで測定し、apoptosis の指標として PI, Hoechst33342 蛍光二重染色によりクロマチンの凝集を、電気泳動により DNA の断片化を検出した。また、caspase-3 activity を測定した。

【結果および考察】Sox6 発現抑制によって、RA で神経に分化誘導しても神経細胞へ分化しなくなった。さらに興味深いことに RA 依存的な細胞死がみられた。この時 apoptosis の指標であるクロマチンの凝集、DNA ladder、caspase-3 activity の上昇がみられたことから、Sox6 抑制によって RA 依存的な apoptosis がおこるのではないかと推定された。