

東医大誌 53(1): 59~66, 1995

## 抗-IgM 抗体及びコレラ毒素による WEHI-231 細胞増殖抑制機構の解析

東京医科大学小児科学教室 (指導: 星加明徳教授)

篠 本 雅 人

### Analysis of the Mechanisms of Growth Inhibition Induced by Anti-IgM or Cholera Toxin in WEHI-231 B Lymphoma Cells

Masato SASAMOTO

Department of Pediatrics, Tokyo Medical College  
(Director: Prof. Akinori HOSHIKA)

Premature B cells stimulated by the anti-immunoglobulin antibody are known to stop at the G<sub>1</sub> phase and then become extinct. This reaction is considered to be generated by the extinction of cells (apoptosis). It is considered that a group of self-reacting cells is removed by the apoptosis induced by the signals via the antigen receptor, and adaphoria towards self (self-tolerance) is maintained. In the WEHI-231 lymphoma cells originating in premature tumor genetic B cells, the apoptosis is induced by the anti-IgM antibody stimulus. Preceding this reaction, tyrosine phosphorylation, serine, threonine phosphorylation, activation of guanine nucleotide binding protein (G-protein), sthenia of inositol phospholipid, increase of intracellular calcium ion concentration, and activation of protein kinase C (PKC) are recognized. The first step to analyze the relationship between these initial signals and the apoptosis, the author paid attention to the intracellular calcium ion. Since no DNA fragmentation was recognized with the addition of ionomycin and phorbol ester, the intracellular calcium ion is considered not related to apoptosis. Interestingly, the cholera toxin (CT) which activates the G-protein induced cell growth inhibition and apoptosis to the WEHI-231 cells. From the fact that the same results were recognized by the cAMP, part of the effects of CT was estimated to be conducted by cAMP. Discussions were made concerning pathway in which the signals via the antigen receptor induced the apoptosis.

#### 序 論

成熟 B 細胞を抗免疫グロブリン抗体で刺激すると、成熟 B 細胞は T 細胞由来のシグナルのもとで抗体産生細胞へと分裂・分化する<sup>1)</sup>。一方、未成熟 B 細胞を抗免疫グロブリン抗体で刺激すると G<sub>1</sub> 期に

停止し、その後死滅することが知られている<sup>2)</sup>。この反応は細胞死 (アポトーシス) により起きていると考えられている<sup>3)4)</sup>。この抗原受容体を介するシグナルによって誘導されるアポトーシスにより自己に反応する細胞集団が除去され自己に対する不応答性 (自己寛容) が保持されることが考えられている<sup>5)~11)</sup>。未

(1994年9月19日受付, 1994年11月2日受理)

**Key words:** 細胞死 (Apoptosis), ウイハイ-231 (WEHI-231), 抗-IgM 抗体 (Anti-IgM antibody), コレラ毒素 (Cholera toxin), カルシウムイオン (Calcium ion)

成熟 B 細胞が腫瘍化したものであるマウス由来の WEHI-231 リンパ腫細胞においても抗-IgM 抗体刺激によりアポトーシスが誘導される<sup>5)12)</sup>。それ故に、WEHI-231 細胞はアポトーシスによる自己寛容を解析する上で適したモデルと考えられる。WEHI-231 細胞は抗-IgM 抗体で刺激すると、この生物学的に重要な反応に先だてて速やかにチロシンリン酸化、セリン、スレオニンリン酸化、グアニンヌクレオチド結合蛋白質 (G 蛋白質) の活性化、イノシトールリン脂質代謝の亢進、細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) の上昇、プロテインキナーゼ C (PKC) 活性化等が認められる<sup>5)12)13)</sup>。しかし、これらの初期変化がアポトーシスとどのような関連性を有しているのかは未だ明らかにされていない。今回、我々は G 蛋白質を活性化させることが知られているコレラ毒素 (CT)<sup>14)</sup> が WEHI-231 細胞増殖を抑制し、DNA の断裂を誘導することを見出した。また抗原受容体、CT を介するシグナルとアポトーシスの誘導との関連性について考察を加えた。

### 実験材料および方法

#### WEHI-231 細胞

WEHI-231 細胞は (BALB/c×NZB) F<sub>1</sub> マウス由来の B リンパ腫細胞 ( $\mu^+\delta^-x^+$ )<sup>15)16)</sup> である。この WEHI-231 細胞を、最終濃度 10% 牛胎児血清 (FCS) に、カナマイシン (50  $\mu\text{g/ml}$ )、2-メルカプトエタノール (50  $\mu\text{M}$ ) ペニシリン G (100 U/ml) 添加した RPMI-1640 を培養液とし 37°C、5% 二酸化炭素のインキュベーター内で静置培養した。

#### WEHI-231 細胞変異株 (6G8 細胞)

WEHI-231 細胞にエチルメタンスルホネートを加え細胞変異を誘発させた後、抗-IgM 抗体存在下で培養し、抗-IgM 抗体の刺激に抵抗を示して増殖してきた細胞をクローニングすることにより 6G8 細胞を得た<sup>7)</sup>。

#### WEHI-231, H2 細胞株

WEHI-231 細胞を限界希釈法を用いてクローニングする過程で CT に感受性を持つ細胞株を得た。

#### 試薬

抗-IgM 抗体はヤギ由来の抗マウス-IgM の H 鎖特異的抗体 ( $G\mu\delta$ ) は Donna G. Sieckmann 等の方法によって作製した<sup>7)8)</sup>。

コレラ毒素 (CT) は生化学工業、フォルボールエステル (PMA) はシグマ、イオノマイシンはカルビ

オケミカル、ジブチリルサイクリック AMP (d-cAMP) はシグマ製を使用した。

DNA 分子量マーカー ( $\lambda$ -Hind III digest+ $\Phi$ X 174-Hae III digest) はタカラバイオテクノロジー製を使用した。

#### DNA 断裂

抗-IgM 抗体によって誘導される DNA 断裂は、Benhamou 等の方法<sup>9)</sup> にしたがって以下のように行った。WEHI-231 細胞 ( $2.0 \times 10^6/\text{ml}$ ) を抗-IgM 抗体と共に 24 時間培養し、細胞を回収、洗浄した後、 $1.0 \times 10^6$  に調整し、1500 rpm で 5 分間遠心した。Lysis buffer (10 mM EDTA, 200 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0) を 0.5 ml, proteinase-K を 5  $\mu\text{g}$  および 1% SDS を最終濃度 0.1% となるように添加した。50°C、60 分間混和後、フェノール 500  $\mu\text{l}$  を加え 1500 rpm で 1 分間遠心した後、上清を採取した。上清にクロロフォルムとイソアミルアルコール (24:1) 混和溶液 500  $\mu\text{l}$  を加え、1500 rpm で 1 分間遠心した後、再び上清を採取した。上清にエタノール 1.0 ml と 3 M 酢酸ナトリウム 50  $\mu\text{l}$  を加え -20°C にて 60 分間静置後、1500 rpm で 10 分間遠心した。沈渣を -20°C に冷却した 70% エタノール 100  $\mu\text{l}$  で洗浄後乾燥させた。RNase buffer (15 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) と RNase 0.5  $\mu\text{g/ml}$ ) 20  $\mu\text{l}$  を加え 70°C で 10 分間過熱後、loading buffer (25 mM EDTA, 40% サッカロース, 0.5% ブロムフェノールブルー) を加え、DNA (2  $\mu\text{g}$ ) を 0.8% アガロールゲルに load して電気泳動を行った。

#### <sup>3</sup>H-サイミジンの取り込み

WEHI-231 細胞、(4.0×10<sup>4</sup>/200  $\mu\text{l}$ ) を抗-IgM 抗体、CT、PMA 存在下で、96well プレートを用いて培養した。培養終了 4 時間前に <sup>3</sup>H-サイミジン (1.0  $\mu\text{Ci/well}$ ) を加え、定法によりハーベストした後、シンチレーションカウンターにてサイミジンの取り込みを計測した。

#### 細胞生存率の測定

定法により細胞浮遊液にトリパンブルーを加え、この色素を排除するか否かで生存率を測定した。

#### 細胞内カルシウム濃度の測定

Perkin-Elmer LS-5 spectorofluorometer を使用して測定した<sup>9)</sup>。WEHI-231 細胞  $2 \times 10^6/\text{ml}$  を 2.5  $\mu\text{M}$  アセトキシメチルエステルと螢光色素を加えて 1.5 時間後、145 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM Na<sub>2</sub>

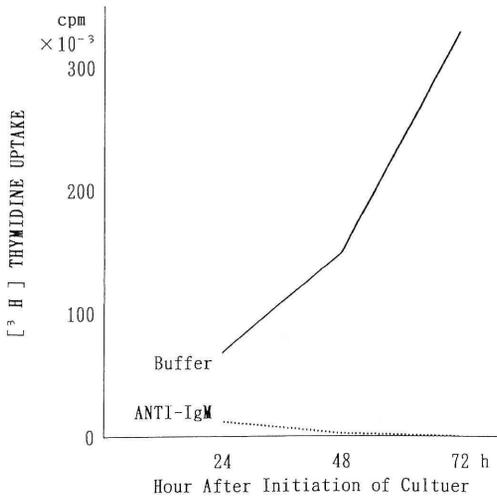


図 1 抗-IgM 抗体刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制

ClHPO<sub>4</sub>, 5 mM glucose, 20 mM Hepes (pH 7.4) にて洗浄後浮遊させ, Perkin-Elmer LS-5 spectrofluorometer を用いて, 339 nm 下にて 492 nm の蛍光にて測定した。データは Perkin-Elmer 3600 にて処理した。

結 果

抗-IgM 抗体刺激による WEHI-231, H2 細胞の増殖抑制と DNA 断裂の誘導

WEHI-231 細胞 (1×10<sup>4</sup>/well) を抗-IgM 抗体 (1 μg/ml) 存在下, 非存在下で 24, 48, 72 時間培養し, <sup>3</sup>H-サイミジンの取り込みで細胞増殖を測定した (図 1)。抗体非存在下で培養すると, 培養時間に比例した取り込みの増加が認められた。しかし, 抗体存在下で培養すると 24 時間で完全に取り込みが抑制され, この抑制は 72 時間でも認められた。次に, 抗体刺激後 24, 48, 72 時間培養した細胞から DNA を抽出し, DNA 断裂(ラダー形成)の有無を検討した。図 2 に認められるように, 刺激後 24 時間で著明な DNA 断裂が誘導され, この断裂は 72 時間まで認められた。コントロールではいかなる変化も誘導されなかった。以上より WEHI-231 細胞を抗-IgM 抗体で刺激することにより細胞増殖抑制, DNA 断裂が誘導され, アポトーシスが誘導されることが明らかになった。以下の実験では特に断らない限り WEHI-231 細胞の刺激には抗-IgM 抗体 (1 μg/ml) を使用し, 24 時間培養後に <sup>3</sup>H-サイミジンの取り込

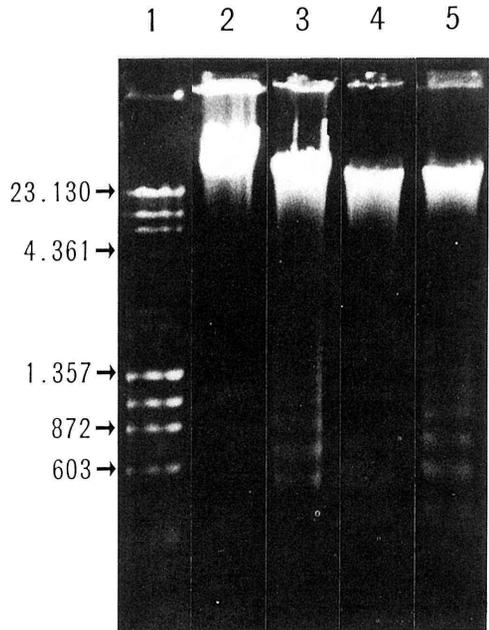


図 2 抗-IgM 抗体刺激による WEHI-231 細胞の DNA fragmentation の誘導

1. Marker
2. Buffer
3. Anti-IgM 1 μl/ml 24 h
4. Anti-IgM 1 μu/ml 48 h
5. Anti-IgM 1 μg/ml 72 h

みと DNA 断裂を検討した。

抗-IgM 抗体刺激に抵抗性をしめす WEHI-231 細胞変異株 (6G8 細胞) の作製

抗-IgM 抗体による WEHI-231 細胞の増殖抑制を検討する手段の一つとして, 抗体刺激によって増殖抑制を示さない変異株の作製を試みた。WEHI-231 細胞をエチルメサンスルフォネートで処理後, 抗-IgM 抗体存在下でも増殖を示す細胞変異株 (WEHI-231, 6G8 細胞) を作製した。この細胞変異株は抗-IgM 抗体濃度 1 μg/ml から 100 μg/ml に渡って増殖抑制に抵抗性を示した (図 3)。親株である WEHI-231 細胞の増殖は同様の条件下で 95% 以上抑制された。以上より, WEHI-231, 6G8 細胞 (6G8 細胞) は増殖抑制変異株であることが示された。

抗-IgM 抗体刺激によって誘導される WEHI-231 細胞の増殖抑制には [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> は関与していない成熟 B 細胞を抗-IgM 抗体で刺激すると PKC の活性化, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> の上昇が認められる<sup>1) 11)</sup>。逆に,

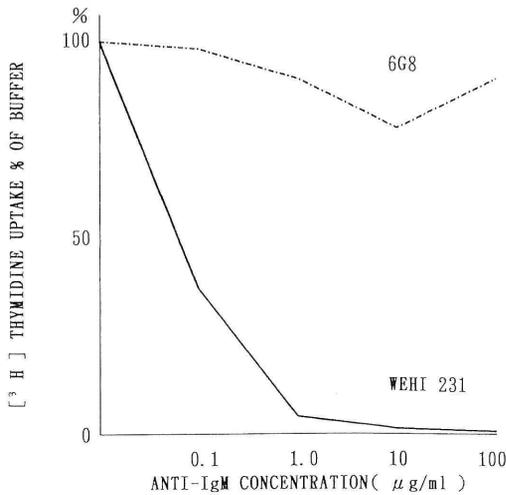


図 3 抗-IgM 抗体刺激による WEHI-231 細胞, 6G8 細胞の増殖抑制

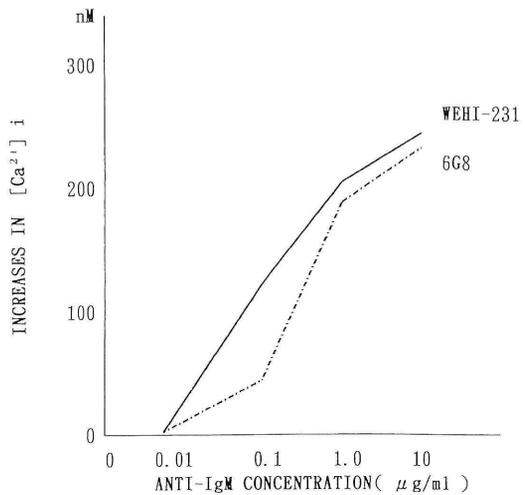


図 5 抗-IgM 抗体刺激による WEHI-231 細胞, 6G8 細胞の細胞内カルシウム濃度の変化

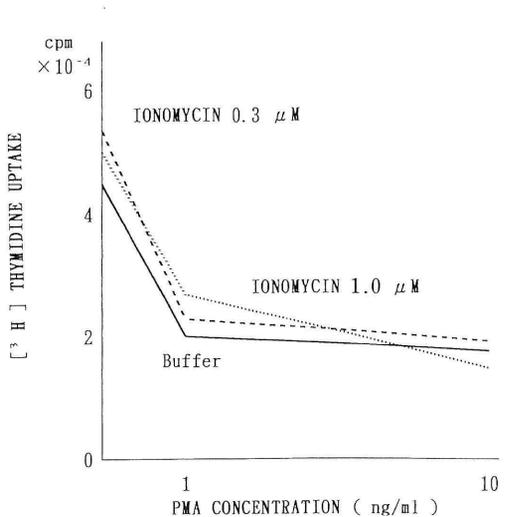


図 4 PMA 刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制

PKC 活性化作用を有する PMA と  $[Ca^{2+}]_i$  を上昇させるイオノマイシンを成熟マウス B 細胞に加えると、これらの B 細胞は抗-IgM 抗体刺激で認められたのと同様に  $G_1$  期を経て S 期へと移行することが知られている<sup>2)</sup>。そこで、抗-IgM 抗体で WEHI-231 細胞を刺激した場合に認められる細胞増殖抑制も、これら両者のシグナルによって説明可能であるか否かを検討した。すなわち、抗-IgM 抗体  $1 \mu\text{g/ml}$  によって誘導される  $[Ca^{2+}]_i$  と同程度の  $[Ca^{2+}]_i$  を誘発できるイオノマイシン  $0.3 \mu\text{M}$ 、更にそれ以上の

$[Ca^{2+}]_i$  の上昇をもたらす  $1.0 \mu\text{M}$  を PMA を  $1.0, 10 \text{ ng/ml}$  存在下、非存在下に WEHI-231 細胞を培養した。図 4 に見られるように、PMA によって細胞増殖抑制されたが、この増殖抑制の程度は抗-IgM 抗体によって誘導されるものに比べて低く、DNA 断裂は認められなかった。また、イオノマイシン添加によってもこの抑制は増強されなかった。さらに、抗-IgM 抗体刺激には細胞増殖が抑制に抵抗性を示す 6G8 細胞は抗-IgM 抗体刺激によって親株と同様に濃度依存的に  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を示した (図 5)。これらの事実より、抗-IgM 抗体刺激によって誘導される細胞増殖抑制にはカルシウムイオンは関与していないと推定される。

#### CT 刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制と DNA 断裂の誘導

G 蛋白質は細胞内情報伝達に関与していることが知られている<sup>14)</sup>。G 蛋白質活性化作用を有する CT を用いて WEHI-231 細胞増殖に対する影響を検討した。図 6 に認められるように、CT  $1 \mu\text{g/ml}$  で刺激すると著明な細胞増殖抑制が認められた。この抑制が細胞毒性によって誘導されたものであるか否かを明らかにするために培養細胞の生存率を測定した。CT ( $2 \mu\text{g/ml}$ )、抗-IgM 抗体 ( $1 \mu\text{g/ml}$ ) をそれぞれ加えたもので 6 時間培養した後の細胞の生存率を調べたが、生存率は共に  $97\sim 98\%$  で差異は認められなかった。また、CT 前処理は抗-IgM 抗体によって誘導される  $[Ca^{2+}]_i$  上昇にはいかなる影響も与

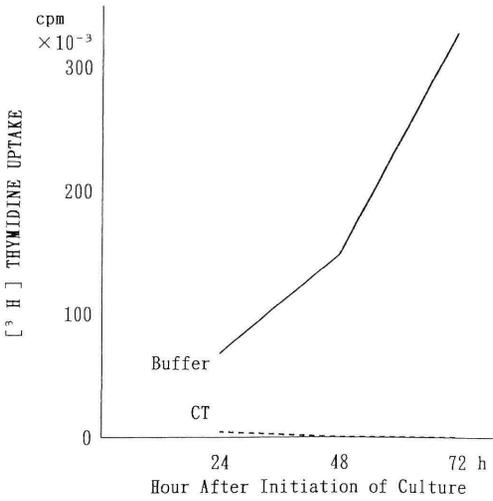


図 6 CT 刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制

えなかった(データ提示なし)。これらの事実は CT が単に細胞の生存率を低下させることによって増殖抑制を誘導しているのではないということを示唆している。次に、CT による細胞増殖抑制がアポトーシスによるものか否かを検討した。図 7 に認められるように抗-IgM 抗体で刺激した場合と同様に DNA の断裂が認められた。

**cAMP 刺激による WEHI-231 細胞増殖抑制の誘導と DNA 断裂の誘導**

細胞内で G 蛋白質が活性化されることにより、cAMP の上昇することが知られている<sup>14)17)</sup>。CT によって誘導されるアポトーシスが cAMP を介して作用しているか否かを検討した。WEHI-231 細胞に種々の濃度の cAMP を加え 24 時間後の細胞増殖と DNA 断裂化を調べた。図 8 に認められるように、 $5.0 \times 10^{-4}$  M ジブチリル cAMP (d-cAMP) で著明な抑制が認められ、 $10 \times 10^{-4}$  M でも同様であった。この cAMP  $5.0 \times 10^{-4}$  M による抑制は CT にて誘導される抑制に比べては弱いものであった(図 9)。抗-IgM 抗体刺激、CT 刺激と同様に cAMP 刺激によって DNA 断裂が誘導されることが示された(図 10)。これらの事実は cAMP は WEHI-231 細胞にアポトーシスを誘導し、その増殖に対して抑制的に作用することを示している。

**考 察**

未成熟 B 細胞を抗原で刺激すると容易に免疫学的寛容に陥ることが知られている。その機序とし

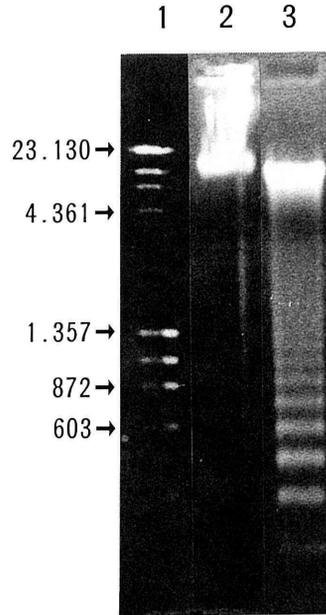


図 7 CT 刺激による WEHI-231 細胞の DNA fragmentation の誘導

- 1. Marker
- 2. Buffer
- 3. CT 2 μg/ml

て、細胞が不活性の状態になること(アナジー)および細胞死によりクローンが除去されること(クローン除去)が考えられている<sup>9)~11)</sup>。抗原刺激の代用として用いられる抗-IgM 抗体刺激によって未成熟 B 細胞は増殖抑制が認められる。未成熟 B 細胞が腫瘍化したものである WEHI-231 細胞は B 細胞のクローン除去の機構を検討する上での有用なモデルを提供している。WEHI-231 細胞を抗-IgM 抗体で刺激すると、成熟 B 細胞を抗体で刺激した場合と同様、チロシンリン酸化、イノシトールリン脂質代謝の亢進、 $[Ca^{2+}]_i$  の上昇等が認められる<sup>9)</sup>。しかし、これらのシグナルのどれが抗-IgM 抗体によって誘導される細胞増殖抑制、アポトーシスに関与しているか明らかにされてない。T 細胞系やある種のヒト B 細胞株では  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇がアポトーシスを誘導することが知られている<sup>18)</sup>。しかし、マウス B 腫瘍細胞である WEHI-231 細胞ではカルシウムイオンの関与を証明することができなかった(図 5)。これらの事実は受容体を介するシグナルがアポトーシスを誘導するには複数の経路が存在していることを示唆している。最近、受容体を介するシグナルによ

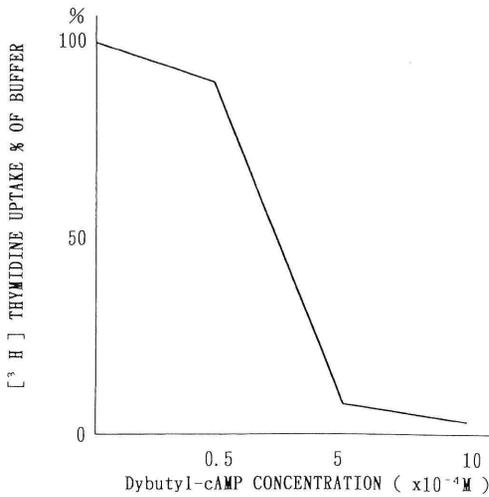


図 8 cAMP 刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制

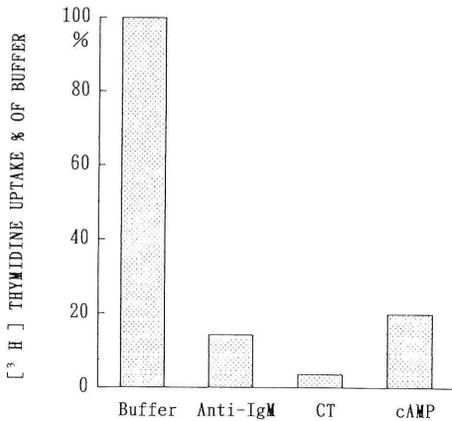


図 9 抗IgM 抗体, CT, cAMP 刺激による WEHI-231 細胞の増殖抑制

て誘導されるアポトーシスが *bcl-2* によって解消されることが報告されている<sup>19)20)</sup>。また、*bcl-2* 類似の遺伝子が複数報告されており<sup>21)~23)</sup>、アポトーシス導入およびその解消には細胞の分化段階によって異なった複数の経路が存在していることが示唆され興味深い。PKC に関してはフォルボールエステル処理によって DNA 断裂が誘導されないことよりアポトーシスの導入には関与していないと思われる。チロシンキナーゼの関与に関しては、今後の検討課題であり、現在、遺伝子導入法を用いた系を作製中である。

B 細胞抗原受容体を介するシグナルがどのようにしてアポトーシスの誘導に結びつくかを解析する手

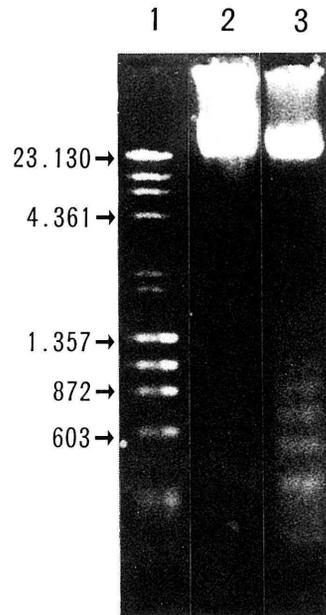


図 10 cAMP 刺激による WEHI-231 細胞の DNA fragmentation の誘導

- 1. Marker
- 2. Control
- 3. cAMP (Dybutyl-cAMP)  $5.0 \times 10^{-4}$

段として、抗-IgM 抗体刺激に抵抗して増殖する増殖抑制変異は有用であろうと思われる。我々が作製した 6G8 細胞は親株と同程度に細胞表面に IgM 分子を発現しており、抗-IgM 抗体刺激によって  $[Ca^{2+}]_i$  上昇が認められた (図 5)。現時点では、親株との相違は明らかではなく、変異ポイントは不明である。一方、北村等は数種類の細胞増殖変異株をスクリーニングし興味ある所見を得た<sup>24)</sup>。ある特定の変異株では、親株に比べて HS1 蛋白質が低下しており、遺伝子移入法により HS1 蛋白質の量を親株と同程度にまで高めてやると、抗-IgM 抗体刺激によりアポトーシスが認められるようになる。この実験により、B 細胞抗原受容体を介するアポトーシスの導入に関与しているタンパク質が初めて明らかとなった。しかし、抗-IgM 後退で刺激すると活性化も誘導され、クラス II 分子の上昇が誘導されることが報告されている<sup>25)</sup>。HS1 がアポトーシスに選択的に作用しているのか、活性化経路でも HS1 が利用されているのか興味もたれる。

G タンパク質を直接活性化することが知られている CT が WEHI-231 細胞にアポトーシス、細胞増

殖抑制を誘導することを明らかにした(図 6, 図 7). その後の研究により, CT に感受性の WEHI-231 細胞はサブラインであることが明らかとなり, 我々はこの細胞を WEHI-231, H2 細胞と名付けた. また, G 蛋白質は細胞内 cAMP 濃度の上昇をもたらすことに着目して cAMP について検討した. d-cAMP の薬効濃度である  $5.0 \times 10^{-4}$  M により WEHI-231, H2 細胞の増殖抑制と DNA の断裂化が認められ, 細胞増殖抑制の少なくとも一部分は cAMP 処理によりアポトーシスが誘導されたと考えられた. しかし, この cAMP による経路が B 細胞抗原受容体を介する経路と同じものであるか否かは, 現在のところ明らかではない. 抗-IgM 後退刺激によって cAMP の上昇が認められるか否かを検討する必要があると思われる. いずれにしても, cAMP 処理によりアポトーシスに陥る B 細胞腫瘍株 (WEHI-231, H2 細胞) を樹立することができた. 抗原刺激による WEHI-231 細胞のアポトーシスの機構が明らかにされていない現在, WEHI-231, H2 細胞を用いた抗原受容体, CT, cAMP により誘導されるアポトーシスへの経路の解析は重要であろうと思われる.

稿を終えるにあたって終始御校閲を賜った恩師星加明德教授に深甚なる謝意を表しますと共に本研究にあたり直接御指導頂きました免疫学教室水口純一郎教授, 教室員各位, 並びに御協力頂いた東京医科大学小児科学の教室員各位に心より感謝をいたします.

## 文 献

- 1) T.Kishimoto, T Hirano, : Molecular regulation of B lymphocyte response : Ann Rev Immunol **6** : 485 ~512, 1988.
- 2) David W. Scott, Daniella Livat, : Cell cycle dependence for negative signalling of WEHI-231 B lymphoma cells by anti- $\mu$  : Exp. Med **164** : 156 ~164, 1986.
- 3) Jhagvaral Hasbold, Gerry G.B.Klaus, : Anti-immunoglobulin antibodies induce apoptosis in immature B cell lymphomas : Eur. J. Immunol **20** : 1685~1690, 1990.
- 4) 鱒田武志 : B リンパ球の選択とアポトーシス : 実験医学 **11** : 2281~2286, 1993.
- 5) Laure E. Benhamou, P-A. Cazenave, : Anti-immunoglobulins induce death by apoptosis in WEHI-231 B lymphoma cells : Eur. J. Immunol **20** : 1405~1407, 1990.
- 6) G.J.V.Nossal, : Immunologic tolerance : Science **245** : 147~153, 1989.
- 7) Junichiro Mizuguchi, et al : Membrane IgM, IgD and IgG act as signal transmission molecules in a series of B lymphomas : J. Immunol **137** : 2162 ~2167, 1986.
- 8) David A. Nemazee, et al : Clonal deletion of B lymphocytes in a transgenic mouse bearing anti-MHC class I antibody genes : Nature **337** : 562 ~566, 1989.
- 9) Junichiro Mizuguchi, et al : Phorbol myristate acetate inhibits anti-IgM-mediated signaling in resting B cells : Immunology **83** : 4474~4478, 1986.
- 10) Junichiro Mizuguchi, et al : BSF-1 action on resting B cells does not require elevation of inositol phospholipid metabolism or increased  $[Ca^{2+}]_i$  : J Immunol **137** : 2215~2219, 1986.
- 11) J.C.Cambier, J.T.Ransom, : Molecular mechanisms of transmembrane signaling in B lymphocytes : Ann Rev Immunol **5** : 175~199, 1987.
- 12) Junichiro Mizuguchi, et al : Tyrosine protein kinase is involved in anti-IgM-mediated signaling in BAL 17 B lymphoma cells **148** : 689~694, 1992.
- 13) Alfred G.Gilman, : G proteins ; Transducers of receptor-generated signals : Annu. Rev. Biochemi. **56** : 615~649, 1987.
- 14) Lainier L.L, N.L. Warner, : Cell cycle related heterogeneity of Ia antigen expression on a murine B lymphoma cell line : J Immunol **126** : 626 ~1981.
- 15) Bodyd A.W, J.W. Schrader, : The regulation of growth and differentiation of a murine B cell lymphoma II. The inhibition of WEHI 231 by anti-immunoglobulin antibody : J Immunol **126** : 2466~1981.
- 16) Melvin I.Simon, Michael P. Strathmann, : Diversity of G protein in signal transduction : Science **252** : 802~808, 1991.
- 17) J. John Cohen, Richard C. Duke, : Glucocorticoid of a calcium-dependent endonuclease in

- thymocyte nuclei leads to cell death : J. Immunol **132** : 38~42, 1984.
- 18) David Hockenbery, et al : Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death : Nature **348** : 334~336, 1990.
- 19) 辻本賀英 : bcl-2 細胞死 : 実験医学 **10** : 2068~2072, 1992.
- 20) Olivati. Z, Korsmeyer. S.J. : U.S. Japan Cooperative program for Recobinant DNA Research : 1993.
- 21) Lawrence H. Boise, et al : bcl-x, a bcl-2-related Gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death : Cell **74** : 597~608, 1993.
- 22) Zoltan N.Oltvai, Curt L.Milliman, Stanley J.K. : bcl-2 heterodimerizers *in vivo* with a conserved homology, Bax, that accelerates programmed cell death : Cell **74** : 609~619, 1993.
- 23) 福田隆浩, 北村大介, 谷内一郎 : B細胞抗原受容体を介した apoptosis のシグナル伝達における HS 1 蛋白質の機能 : 日本免疫学術学会総会 : 1993.
- 24) 鱈田武志, 本 庶佑 : CD40 を介するシグナルによる B細胞アポトーシスの抑制 : 日本免疫学会総会学術集会 1993.
- (別刷請求先 : 〒 160 新宿区西新宿 6-7-1  
東京医科大学病院小児科学教室 篠本雅人)
-