### 4. IFN-$\alpha$ 誘導性アポトーシスにおける TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) の関与

(免疫学)　矢那瀬紀子　水口純一郎
(小児科学)　林田　美穂　金高　由季

IFN-$\alpha$ は抗腫瘍剤として臨床応用がなされているが、機序については十分に明かにされていないのでわれわれはB lymphoma 細胞株を用いて解析した。

Daudi 細胞では IFN-$\alpha$ の刺激により時間依存的にアポトーシスが誘導され、同時に TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) の発現が増大した。MAP kinase の JNK は、Daudi 細胞では IFN の刺激により活性化していたので、ドミナントネガティブ JNK を導入した安定株を作成し、IFN-$\alpha$ で刺激すると JNK の活性は抑制されて、TRAIL 発現およびアポトーシスが抑制されていた。

IFN-$\alpha$ 非感受性の U266U 細胞に MKK7-JNK を過剰発現させた安定株を作成し、IFN-$\alpha$ で刺激すると、TRAIL promoter の活性化、TRAIL 発現増強し、アポトーシスも促進した。

以上のことから、IFN-$\alpha$ の抗腫瘍効果には、TRAIL の発現増大に起因するアポトーシスが関係していたことが明らかになった。

このことは、薬理活性機序の異なる化学療法剤と IFN-$\alpha$ の併用療法が、副作用の軽減により有効であることを示唆している。

### 5. プロテアゾーム阻害剤・Bortezomib の成人T細胞性白血病細胞株に対する増殖抑制効果の検討：遺伝子発現制御ネットワーク解析による分子機構の解明

(内科学第一)　浜村　良子、張　宇、高久　智生
大屋敷一馬
(難治性免疫疾患研究センター)
大屋敷純子

ユビキチン・プロテアソームシステム (UPS) はアポトーシスなどの制御において重要な役割を担っており、その分子機構として知られる NF-kB カスケイドはがん治療における分子標的として注目されている。また、成人T細胞性白血病 (ATL) では、恒常的な NF-kB の発現上昇が報告されている。そこでプロテアソーム阻害剤 bortezomib の ATL 細胞における抗腫瘍効果とその分子機構を解明する目的で遺伝子発現プロファイリングシステムを用いて検討を行った。DNA マイクロアレイ解析の結果、様々な遺伝子群に発現の変化を認めた。なかでも酸化ストレス関連遺伝子 (Heme oxygenase-1) の発現上昇が特徴的であった。さらに遺伝子制御ネットワーク解析の結果、bortezomib の ATL 細胞に対する抗腫瘍効果には複数のシグナル伝達経路が関与していることが明らかになった。

・DNA microarray analysis : We designed a pathway focused low-density oligonucleotide microarray (Novusgene Inc., Tokyo, Japan) which contains 667 selected genes related to cell growth, cell cycle, apoptosis, transcription, DNA repair and cell stress responses (GPL 2535). For dual color analysis, cDNA obtained from untreated TaY cells was labeled with Cy3 as a reference, and cDNA obtained from bortezomib-treated cells was labeled with Cy5. Hybridization was carried out automatically using GeneTAC Hybstation (Genomic Solutions, AnnArbor, MI, US) as reported previously [Zhang et al. Br J Cancer. 2006, 94 : 599]

・Data analysis and statistic validation : The hybridized signals were scanned by GenePix 4000B Microarray Scanner (Axon Instruments, Union City, CA, USA), then analysed by a GeneSifter® (VizXLabs, Seattle, WA, USA). Analysis of variance (ANOVA), and Student's *t*-test, were done using GeneSifter®. Values of $P<0.05$ were considered to be indicate a statistically significant difference and theBenjamini-Hochberg algorithm was used for estimation of false discovery rates. We also performed a genetic network analysis using a VoyaGene® VoyaGene® is a computational statistical software (Mitsui Knowledge Industry, Inc, Tokyo, Japan) for constructing an artificial genetic network from microarray gene expression data [Takaku et al., Biochem Biophys Res Commun. 2005 336 : 469]

### 6. ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 LAQ824 はメラノーマ細胞株のレチノイン酸受容体を再発現させ異なる抗腫瘍効果を示す

(皮膚科学)　加藤　雪彦、坪井　良治
(ジョンス-ホプキンス大学腫瘍学)
Roberto Pili

悪性黒色腫の化学療法に対する耐性は、その治療の大きな障害となっている。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤のようなクロマチン再構成薬はいくつかの悪性腫瘍に対し、Epigenetics 異常により抑制されている遺伝子を再発現させる。我々は前立腺癌や乳がんでヒストン脱アセチル化酵素阻害剤とレチノイン酸が相加的な抗腫瘍効果を示したことを報告してきた。ここではその2剤のヒト悪性黒色腫細胞株に対する抗腫瘍効果を報告する。A2058、HMV-I の2つの細胞株に対しヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) LAQ824 は、コロニー形成アッセイや XTT アッセイにおいて量依存性の最大98%までの抗腫瘍効果を示した。シスレチノイン酸 (CRA) に対してはほぼ耐性であったが、併用療法は相乗的な