

子体内投与眼では基剤投与眼に比べて有意に炎症が抑制されていた。IFN- γ とTNF α の産生量も、タクロリムス硝子体内投与眼で有意に抑制されていた。MCP-1およびRANTESの遺伝子発現も、タクロリムス硝子体内投与眼の網膜において著明に低下していた。遅延型過敏反応はタクロリムス硝子体内投与を行ったラットでも減弱はみられなかった。

【結論・考察】本研究により、タクロリムスの硝子体内投与は、全身の細胞性免疫能に影響を与えることなく、すでに発症した自己免疫性ぶどう膜網膜炎を抑制できることが明らかとなった。今後難治性ヒトぶどう膜炎に対する新たな治療法になることが期待される。

P3-42.

p27Kip1のTRAIL誘導性アポトーシス抑制機序の検討

(免疫学)

○下 邦明、秦 喜久美、高田 栄子
古畑 昌枝、水口純一郎

【目的】TNFファミリーに属するTRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) は腫瘍細胞にアポトーシスを誘導する。その機序として、カスパー8活性化、ミトコンドリアでの増幅を介する経路 (タイプ2) 及びミトコンドリア非依存的な経路 (タイプ1) が報告されている。一方悪性腫瘍に、細胞周期を負に制御している p27Kip1 の発現が増強している事も知られており、細胞周期とアポトーシス誘導との関連性が指摘され、我々も TRAIL 誘導性アポトーシスが p27Kip1 に阻害されることを既に報告している。今回、其の阻害の程度が p27Kip1 の発現量に依存していることを報告すると共に、p27Kip1 の細胞内での動向についても報告する予定である。

【方法】細胞障害試験は可溶性 TRAIL 市販及び TRAIL 導入 Neuro2A 細胞培養上清と Cell Count kit8 (和光) を用いて評価した。ミトコンドリア膜電位、アポトーシス、及びカスパー8活性化はフローサイトメーター及び測定キットを用いて検討した。過剰発現細胞株は p27 発現ベクターを Jurkat 細胞に遺伝子導入することにより樹立した。発現量は細胞質を可溶化して SDS-PAGE と、免疫ブロット法による検出で比較した。また免疫沈降法にて、p27Kip1 と共沈するタンパク質を検討した。

【結果】腫瘍細胞 (Jurkat) を TRAIL で処理すると、カスパー8活性化、ミトコンドリア膜電位の低下、アポトーシスが誘導された。p27 過剰発現 Jurkat 細胞は p27Kip1 の発現量の高いものほど TRAIL 誘導性アポトーシスに対して強く抵抗性を示した。さらに、カスパー8活性化も阻害されたことより、p27Kip1 は TRAIL 受容体からの DISC (death inducing signaling complex) 形成が阻害されていた。今後 p27Kip1 が直接会合する対象とカスパー8との関わりについて検討していきたい。

P3-43.

白血病細胞における低用量シタラビン (Ara-C) によるオートファジー誘導と Ara-C+G-CSF 併用による殺細胞増強効果

(大学院四年・内科学第一)

○豊武 寿理

(内科学第一)

宮澤 啓介、大屋敷一馬

(人体構造学)

内藤 宗和、伊藤 正裕

オートファジーは、形態学的には細胞質内小器官を取り込む自食胞 (autophagosome) 形成を特徴とし、二重膜構造に取り込まれた小器官はリソソームに分解されアミノ酸として再利用される。オートファジーの生物学的意義は、ホメオスタシスの維持や飢餓への適応から、感染症に対する自己防御反応まで様々であるが、近年、アポトーシスと並ぶ細胞死の一型として注目されている。一方、我々は、白血病細胞に Ara-C を高濃度で作用させるとアポトーシスが、低濃度では細胞分化が誘導されることを報告した。今回、白血病細胞株 U937 を用いて、Ara-C 添加培養時のオートファジー誘導について検討した。

低濃度 Ara-C (2.5~7.5 ng/ml) 添加後 48~72 hr で、U937 の細胞質の空胞形成、封入体形成が顕在化し、その後細胞死に至った。この過程で、高濃度 Ara-C によるアポトーシスと全く異なる細胞形態を示した。また、低濃度 Ara-C に G-CSF (100 ng/ml) を同時添加したところ、Ara-C 単独に比べて細胞死が増強し、かつ封入体形成が増強した。この系に、オートファジー阻害薬 3-メチルアデニン (3MA) を添加すると、細胞死は著しく抑制された。さらに、U937 細胞をヌー