

れた。また、羊膜細胞は、胎児の赤血球造血に関与している可能性が推測された。

P-17.

肝細胞癌でのサイクリン A と p53 の異常発現の遺伝子転写レベルにおける検討

(内科学第四)

○穀野真一郎, 真神 易, 古川雅也, 中山大寿, 月岡佳久, 堀部俊哉, 関 知之, 斎藤利彦

【目的】 細胞周期はサイクリン, cdk, cdk 抑制因子, 癌抑制遺伝子などが複雑に作用しあって調節されているが, 種々の癌でこれらの異常が指摘されており, 発癌機構を細胞周期制御機構の破綻という点から明らかにすべく研究が進んでいる。今回我々はサイクリン A と p53 に焦点をあて, 培養肝癌細胞を用いて検討した。

【実験材料と方法】 肝癌細胞株のサイクリン A の転写活性を調べるために, サイクリン A 遺伝子のプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子上流に組み込んだプラスミドベクター (pCyclinA-luc) を肝癌由来の細胞株である HepG2, Huh-7, HLE に lipofectin を用いて導入後 24 時間培養後にルシフェラーゼアッセイを行い, プロモーター活性を評価した。さらに, このプロモーター領域から転写因子 Sp1, ATF の結合領域を欠失させた construct を用い, プロモーター活性の発現に関与する領域を解析した。また p53 がサイクリン A の転写活性に及ぼす影響を調べるために, 野生型および変異型 p53 発現プラスミド (pC53SCX3.3), (pC53SN3.3) を, pCyclin A-luc とコトランスフェクションし, 導入後 24 時間培養後に, ルシフェラーゼアッセイを行い, プロモーター活性の抑制効果を検討した。

【結果】 サイクリン A プロモーター活性は Huh7 が最も高く, HepG2, HLE では低い傾向にあった。また, サイクリン A プロモーター活性はプロモーター領域の Sp1 結合領域, ATF 結合領域を欠失させると著明に抑制された。すべての細胞株で野生型 p53 遺伝子導入により, サイクリン A のプロモーター活性は著明に抑制されたが, 変異型 p53 遺伝子導入では, 細胞種により差が見られた。

【結語】 以上のことより肝細胞癌の増殖, 進展にサ

イクリン A と p53 が相互作用しながら, 深く関与していることが明らかになった。なお, この研究は平成 11 年度東京医科大学研究助成金による助成を受けた。

P-18.

ホメオボックス遺伝子 DLX-7 によるアポトーシスの抑制および intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の発現制御

(内科学第一)

○嶋本隆司, 大屋敷一馬

【目的】 我々はこれまでに divergent homeobox 遺伝子の一つである DLX-7 が, ある種の白血病細胞の増殖やアポトーシスの制御に関わっていることをアンチセンスの系を用いて報告してきた。そこで今回, 血液細胞における DLX-7 のさらなる機能解析を目的として, 以下のごとく遺伝子導入株を作成し, 検討を行った。

【方法】 マウス IL-3 依存性細胞株 BaF3 を用い, DLX-7 発現ベクターを electroporation 法にて遺伝子導入を行った後, G418 で選別した。MTT 変法にて細胞増殖能を検討し, TUNEL 法にてアポトーシス細胞の検出を行った。Integrin family の発現を FACS にて解析した。

【結果】 安定した DLX-7 遺伝子導入株を 3 クローン得た。これらの細胞株は IL-3 を含んだ培地では control と比較して増殖能に変化はなかったが, IL-3 非存在下において IL-3 非依存性増殖能を獲得した。さらに TUNEL 法によりこれらはアポトーシスからの回避によるものであることが明かとなった。DLX-7 遺伝子導入株は aggregation をきたす傾向が見られたため, FACS により ICAM-1, ICAM-2, LFA-1, LFA-2 の発現を検討したところ, ICAM-1 の強い発現が認められ, また抗 ICAM-1 抗体による blocking で aggregation の解除がみられた。

【まとめ】 DLX-7 はアポトーシスの制御のみならず, 接着分子の発現制御にも関わっていることが示唆された。