

28S-pm04

低酸素応答遺伝子群の転写誘導阻害剤スクリーニング系開発の試み

○倉島 由紀子¹, 田島 雅道², 小倉 勤¹ (¹北陸大薬, ²明海大歯)

[目的]多くのがん細胞はエネルギーの獲得の為、血管新生の誘導や解糖系の亢進を行う。低酸素応答遺伝子群の転写誘導機構は、遺伝子発現調節領域に共通に認められる低酸素応答配列 (HRE) への転写因子 HIF-1 の結合による。我々は、低酸素のみならず炎症による発がん進展に重要な役割を担う一酸化窒素 (NO) が、HIF-1 を活性化し低酸素応答遺伝子群の転写を誘導することを見出した。本研究では HIF-1 を介する転写誘導の阻害剤スクリーニング系の開発を試みた。**[方法]**チミジンキナーゼプロモーター領域の上流に HRE を 6 個結合したルシフェラーゼレポーター遺伝子 (HRE-Luc) をヒト線維芽肉腫細胞株 HT-1080 に導入し HT-1080/HRE-Luc 細胞を樹立した。低酸素 (1%酸素)、NO 供与体 (SNAP:0.5mM) 処理、または LPS 処理マウスマクロファージ RAW264.7 細胞との共培養による HIF-1 の活性化はルシフェラーゼ活性を指標とした。また、RAW264.7 細胞との共培養系に NO 合成酵素 (NOS) 阻害剤ニトロアルギニンを処理し、NO 産生阻害による HIF-1 活性化の阻害を検討した。**[結果]**HT1080/HRE-luc の低酸素または 0.5mM SNAP 処理によりルシフェラーゼ活性は有意に上昇した。また、LPS 処理 RAW264.7 細胞の共培養によりルシフェラーゼ活性は約 3 倍に上昇し、その活性の増大は NOS 阻害剤により完全に抑制された。**[考察]** HT1080/HRE-luc は低酸素や NO による HIF-1 の活性化に高感度に応答し、また、NO の阻害により HIF-1 活性化が抑制された。HT1080/HRE-luc は HIF-1 を介した低酸素応答遺伝子群の転写誘導を高感度に検出することができ、試験管内での転写誘導阻害剤スクリーニングのみならず、細胞移植個体での低酸素応答とその阻害効果の評価系に有用であると考えられる。