

- 443 移植皮膚シート用培養細胞への抗菌ペプチド遺伝子の導入
 (名大院・工) ○新海政重, 永谷尚紀, 戸田雄之, 本多裕之, 小林 猛
 (名大院・医) 畠賢一郎, 上田 実

【目的】 重度火傷患者など広範囲な皮膚欠損に対して、培養して増殖させた皮膚細胞を移植する培養皮膚シートが提案されている。移植医療においては感染による汚染の防止が重要な課題であるが、本研究ではこの点に着目して、正常ヒト角化細胞への抗菌性ペプチドをコードする遺伝子の導入を試みた。

【方法及び結果】 抗菌性ペプチドとして、名取らによって単離されたセンチニクバエ由来のザーペシンを選択した。同cDNAクローンの活性部位を含む断片を市販の分泌タンパク発現ベクターpSecTag2 (invitrogen) に挿入して、抗菌ペプチド発現プラスミドを作成した。皮膚細胞として、正常ヒト表皮角化細胞を用いた。抗菌ペプチドの活性の確認は、大腸菌を用いて行った。遺伝子導入後24時間、48時間の上清は共に大腸菌の増殖を有意に抑えており、時間と共に抗菌ペプチド活性が高まっていくことがわかった。また、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌に対しても適用したところ、抗菌活性が認められた。

Transfection of antimicrobial peptide gene to keratinocyte for transplantable skin sheet

○Masashige Shinkai, Naoki Nagatani, Takeyuki Toda, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi (Dpt. Biotechnol., Nagoya Univ.) Ken-ichiro Hata, Minoru Ueda (Dpt. Oral Surg., Nagoya Univ.)

【Key word】 antimicrobial peptide, gene thrapy, keratinocyte, skin graft

- 444 温熱誘導型プロモーターを用いたTNF α の発現誘導
 (名大院・工・生物機能) ○井藤 彰, 新海政重, イザベル ブホン, 本多裕之, 小林 猛

【目的】 温熱誘導型プロモーターGADD153を用いてTNF α 遺伝子を発現誘導することで、ヒトグリオーマ細胞株U251-SPに対して高い治療効果が得られないかを検討した。また、GADD153プロモーターがTNF- α によっても誘導されるか調べた。

【方法及び結果】 GADD153プロモーターの下流にTNF α 遺伝子を挿入したプラスミドpGadTNFを作成した。これをヒトグリオーマ細胞株U251-SPに導入し、ウォーターバスによる温熱処理(43℃で1時間加温、45℃で1時間加温)を行った。その結果、温熱処理を行わなかったものでは殺細胞効果を示さなかったが、43℃で1時間加温、45℃で1時間加温したものでは顕著な殺細胞効果がみられた。また、温熱処理したpGadTNF-導入細胞を温熱処理しないpGadTNF-導入細胞と共培養したところ、温熱処理しない細胞にもTNF- α 遺伝子発現が観察された。以上より、GADD153プロモーターはTNF- α によって誘導されることが示された。

Induction of TNF α gene expression under the heat inducible promoter

○Akira Ito, Masasige Shinkai, Isabelle A. Bouhon, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi (Dept. Biotechnol., Nagoya Univ.)

【Key words】 hyperthermia, TNF α , stress-inducible promoter, bystander-killing effect