

PI-13

EBV 感染下の自己貪食・自己貪食細胞死は鼻咽頭リンパ腫の特異な壊死を特徴づけている（免疫組織化学的自己貪食機能解析の試み）

蓮井 和久¹, 王 嘉¹, 賈 心善², 松山 隆美¹, 榮鶴 義人¹

¹鹿児島大学大学院医歯学総合研究科, ²中国医科大学病理解剖学教室

鼻咽頭リンパ腫の多くは EBV 関連 NK/T 細胞性リンパ腫 (EBV+ NKTCL) であり、特異な壊死傾向を示す。このリンパ腫細胞は、survivin の強発現によるアポトーシス抑制と、Beclin-1 と LC3 で標識される自己貪食亢進を示し、壊死部では LC3 核陽性像を示す。この研究は、35 例の鼻咽頭リンパ腫 (2 EBV- NKTCL, 21 EBV+ NKTCL, 3 EBV+ Cytotoxic T-ML, 9 B-ML 等) で、Beclin-1 と LC3、自己貪食の標的小器官であるミトコンドリア、リソゾーム酵素の Cathepsin D の免疫染色を行ない、免疫組織化学的自己貪食の機能的解析を行なった。B-ML の 1 例の表皮内水疱の変性リンパ腫細胞は、飢餓状態での自己貪食リソゾームでの Cathepsin D の欠乏によるミトコンドリアの蓄積とそれによる自己貪食細胞死での LC3 核陽性像を示した。変性壊死を示さないリンパ腫 (2 EBV- NKTCL, 4 EBV+ NKTCL) は、自己貪食亢進による強い Beclin-1 の発現、LC3 の粗大顆粒状細胞質染色、幾らかの細胞での顆粒状に凝集したミトコンドリア、ある程度の Cathepsin D の発現を示した。EBV 関連症例 (11 NKTCL, 2 Cytotoxic T-ML, 1 B-ML) で特異な壊死は見られ、多くの細胞での顆粒状に凝集したミトコンドリア、Cathepsin D の発現低下を示し、壊死部では、亢進自己貪食での消化遅延による残留ミトコンドリアと LC3 核陽性の自己貪食細胞死を示した。この検索は、自己貪食の免疫組織化学的機能解析の可能性を示唆し、NKTCL の特異な壊死が EBV 感染下でのリソゾーム酵素産生低下による自己貪食リソゾームでの消化の遅延による自己貪食細胞死であることを示した。

(出雲周二、河野嘉文、金蔵拓郎、青笹克之等との共同研究)

PI-14

Development of Circadian Clock Oscillator During the Mouse ES cell Differentiation in vitro

Kazuhiro Yagita¹, Kyoji Horie², Yasufumi Shigeyoshi³, Koichi Kawakami⁴, Junji Takeda², Yasuo Uchiyama⁵, Shoichi Shimada¹

¹Department of Neuroscience and Cell Biology, Osaka University Graduate School of Medicine, ²Department of Social and Environmental Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, ³Department of Anatomy, Kinki University School of Medicine, ⁴Department of Molecular and Developmental Biology, National Institute of Genetics, ⁵Department of Cell Biology and Neuroscience, University of Juntendo

The molecular oscillations underlying the generation of circadian rhythmicity in mammals develop gradually during ontogenesis. Here, using bioluminescence imaging system to monitor Bmal1 clock gene expression, we show that the mouse embryonic stem (ES) cells do not exhibit the molecular oscillation, whereas the circadian oscillator develops during the differentiation culture of ES cells without maternal entraining factors. Circadian clock oscillation re-disappeared in induced pluripotent stem (iPS) cells generated from the ES cell-derived neural stem cells. These results demonstrate that the generation of circadian oscillator correlates with cellular differentiation process rather than maternal entrainment factors. Thus, the cellular differentiation and reprogramming system using ES cells in vitro allows us to observe the origin of mammalian circadian oscillator and may provide a new strategy to understand the key mechanisms that allow cycling the molecular clock in mammals.