

( $p=0.0270$ )。2年の無病生存率は、CD19-FCM(-)PTH(-)が $69 \pm 7\%$ 、CD19-FCM(+ )PTH(-)が $30 \pm 11\%$ 、CD19-FCM(+ )PTH(+ )が $21 \pm 13\%$ であった( $p=0.0016$ )。生存率に及ぼす因子の検討では、65歳以上、PS 2以上、Stage III以上、PTHで骨髄浸潤あり、CD19-FCMで骨髄浸潤ありが予後不良因子であった。

結論：CD19-FCMを用いた骨髄浸潤の評価は、B細胞性リンパ腫の予後因子となる可能性が示唆された。

### 脳神経節形成における Six1, Six4の機能解析

細胞生物研究部学内講師 小西 慶幸

和文要約：当研究室では器官発生における転写因子 Six の役割を解析してきた。Six1 と Six4 は発生初期において脳神経節内の感覚神経細胞に豊富に発現する<sup>1)</sup>。これまでの解析から、脳神経節のうち三叉神経節において、Six1 または Six4 単独の欠損では顕著な異常が見られないのに対し、Six1, Six4 二重欠損マウスの神経節においては神経細胞が著しく減少することが明らかになった<sup>2,3)</sup>。Bcl-x は神経細胞の生存維持に特に重要な因子である。免疫組織染色により、Six1, Six4 二重欠損マウスの三叉神経節において Bcl-x の発現が減少することが観察された。この研究により、分化初期の感覚神経細胞の生存維持に関わる機構について新たな知見が得られたと考えられる。

キーワード：Six1, Six4, 神経発生, アポトーシス, 三叉神経節

ランニングタイトル：Six1, Six4による神経細胞の生存調節

#### 引用文献

- 1) Kawakami K. et al. : Six family genes-- structure and function as transcription factors and their roles in development. *Bioessays* 22, 616-626, 2000.
- 2) Ozaki H. et al. : Six4, a putative myogenin gene regulator, is not essential

for mouse embryonal development. *Mol. Cell. Biol.* 21, 3343-3350, 2001.

- 3) Ozaki H. et al. : Six1 controls patterning of the mouse otic vesicle. *Development* 131, 551-562, 2004.

#### The function of Six1 and Six4 in the development of cranial ganglia

Division of Biology, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University

Yoshiyuki Konishi

英文要約：Survival of sensory neurons is tightly regulated in a cell-type and developmental-stage-specific manner. Transcriptional regulatory mechanisms underlying this regulation remain to be elucidated. In the present study, we investigated the role of Six1 and Six4 in the development of trigeminal ganglia. Abundant expression of Six1 and Six4 was noted in sensory neurons during early trigeminal gangliogenesis. Loss of both Six1 and Six4 in mice caused severe defects in the trigeminal ganglia, wherein massive apoptosis accompanied by activation of caspase-3 was observed at early but not late stages of gangliogenesis. In *Six1*<sup>-/-</sup> *Six4*<sup>-/-</sup> mice, trigeminal sensory neurons were generated, but showed reduced expression of Bcl-x compared to the wild-type mice. Accordingly, neurons from the deficient mice could not survive in culture even in the presence of neurotrophins. Our results suggest a cell-intrinsic role of Six1 and Six4 in the survival of early-generated trigeminal sensory neurons.

担癌患者における免疫機能とポリアミンとの関係

総合医学第2助手 中村 豪

(目的) 担癌患者では免疫機能が抑制されており、手術により癌を完全に摘出することで免疫機能が改善することもしばしば報告されていることから、免疫抑制物質の存在が指摘されてきた。一方、ポリアミンは増殖の活発な癌組織で自立的に合成されるため、担癌患者では血中ポリアミン濃度が上昇していることや、癌の完全切除後には血中ポリアミン濃度が低下することが知られている。また、血中ポリアミン濃度が高い患者の予後は不良であることも報告されている。これらのことより、癌細胞等で産生されるポリアミンが、免疫細胞等に移行することにより、抗腫瘍免疫機能に影響をおよぼしているのではないかと推測して研究をおこなった。

(方法) 健常成人ボランティアから分離した末梢血単核球をヒトのポリアミンであるプトレスシン、スペルミジン、スペルミンとともに培養し、癌免疫に関連のある細胞膜分化抗原の発現や細胞機能の変化を検討した。さらに、インフォームドコンセントの得られた自治医科大学大宮医療センター外科の入院患者のうち、術前に完全な腫瘍切除が可能と判断された癌患者を対象に、手術前および術後1か月目における血中ポリアミン濃度とLAK活性を測定し、両者の関係を検討した。

(成績) ボランティアの末梢血単核球を用いた検討では、LPS刺激に対する末梢血単核球のTNFの産生をスペルミンおよびスペルミジンが濃度依存性に抑制した。また、刺激をしない状態で末梢血単核球のCD11aおよびCD56の発現強度を抑制し、培養プレートへの細胞接着能を抑制した。スペルミン濃度の上昇した末梢血単核球をIL-2とともに培養してLAK細胞を誘導し、その細胞傷害活性を検討したところ、スペルミン濃度依存性に活性が抑制された

( $91.5 \pm 1.7\% : 100 \mu\text{M}$ ,  $84.9 \pm 3.0\% : 500 \mu\text{M}$ )。25名の癌患者(平均年齢=67歳。男性18名、女性7名。食道癌4例、肺癌4例、胃癌7例、膵癌2例、大腸癌8例)において、術後の血中ポリアミン濃度の変化とLAK活性の変化を検討したところ、術後にスペルミン濃度の低下した8例では、全例で術後のLAK活性(測定値)が上昇し、術後にスペルミン濃度の上昇した17例中11例で術後のLAK活性(測定値)が低

下した。血中スペルミン濃度の変化とLAK活性の変化(対数)の間には負の相関( $r = -0.510$ ,  $p = 0.008$ )を認めた。

(結論) 血中ポリアミン濃度の上昇した癌患者の予後は不良である事が知られているが、これは単に癌細胞の増殖が活発であることを反映していると考えられている。しかし、我々の検討では、血中スペルミン濃度が上昇する事によって、癌患者の抗腫瘍免疫が抑制され、その結果として癌の進展が助長されるといった機序が存在することが示唆された。

#### 乾癬増悪のメカニズム—ヒトケラチノサイトのVEGF産生におよぼす神経ペプチドの影響—

総合医学第2助手 加倉井真樹

乾癬などの炎症性皮膚疾患では、神経ストレスで増悪することが知られているが、その増悪のメカニズムについては未だ解明されていない。Vasoactive intestinal peptide (VIP), サブスタンス P, calcitonin gene related peptideなどの神経ペプチドが神経末端より放出されて悪化すると考えられるが、神経ペプチドが主としてどの細胞に働いて、いかなる機序により増悪するのかについてはまったく不明である。現在までに、乾癬では、病変局所で神経ペプチドのひとつであるVIPの含有量が増加していることが知られている。一方、Vascular endothelial growth factor (VEGF)には血管新生作用と血管透過性亢進作用があることが知られている。おそらく乾癬でみられる真皮の毛細血管の拡張や蛇行、増生にはVEGFも関連していると考えられる。そこで、皮膚の局所において、神経細胞やマスト細胞から分泌されるVIPや、リンパ球、マスト細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞などから分泌されるサイトカインが表皮ケラチノサイト由来のVEGFの産生に与える影響について検討した。

まず、正常表皮ケラチノサイトおよび培養ヒト皮膚表皮細胞(SCC cell line, DJM-1)にVEGF mRNAがみられるかをreverse transcription-polymerase chain reaction法で