

P-14 蛍光標識二次元電気泳動法による HDAC 阻害剤の治療抵抗性原因タンパク質の同定

○藤井一恭^{1,2)}、鈴木規弘²⁾、近藤 格³⁾、金蔵拓郎¹⁾、岩月啓氏²⁾

- 1) 鹿児島大学医学部・歯学部附属病院皮膚科、2) 岡山大学病院皮膚科、
- 3) 国立がん研究センター研究所創薬プロテオーム研究分野

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤は皮膚 T 細胞リンパ腫に対する治療薬として用いられているほか、他のがんの治療薬としても開発が進められている。その抗腫瘍効果は個々の患者間、病変間において異なるが、その細胞学的なメカニズムはほとんど分かっていない。我々は33株のリンパ球系悪性腫瘍の細胞株を用いて、HDAC 阻害剤の1種であるバルプロ酸(VPA)に対する感受性解析のデータと、蛍光標識二次元電気泳動法を用いた各々の細胞株の細胞内タンパク質の網羅的発現解析のデータを比較し、HDAC 阻害剤の感受性に関わる分子を同定した。タンパク質の網羅的解析に当たっては、IPG DryStrip (24 cm、pI 4-7) と9-15%のグラジエント SDS PAGE ゲルを用いて二次元電気泳動上のタンパク質スポットに対応するタンパク質名の同定と発現量の定量データの解析を行った。その結果 VPA の感受性と逆相関する分子として HSP70 ファミリーに属する HSP72 を同定した。さらに HSP70 の阻害剤である KNK437 を併用することで VPA だけではなく、他の HDAC 阻害剤であるボリノスタット

(SAHA)によるアポトーシス誘導効果も増強した。そこで HSP72 を恒常的に高発現した Jurkat 細胞 (Jurkat-hsp72)を樹立し、HDAC 阻害剤による抗腫瘍効果の解析を行った。Jurkat-hsp72 はコントロールの細胞と比べて VPA や SAHA による細胞増殖抑制機能が抑制され、アポトーシス誘導も低下していた。カスパーゼ 3、9 の活性も抑制され、ミトコンドリア膜電位差の低下も抑制されていた。さらに Jurkat-hsp72 では恒常的に bcl-2 の発現が亢進しており、HDAC 阻害剤による Bad のリン酸化や XIAP の誘導が増強している一方、Bid の開裂は抑制されていた。以上のことから HSP72 は HDAC 阻害剤による内因性アポトーシスの誘導を抑制することにより HDAC 阻害剤の効果を減弱すると考えた。