

## p21 によるヒト肝細胞株での分化誘導療法の開発

國枝 武美

近年、肝不全に対する肝補助療法として肝細胞移植や肝機能の中心を担う部分に生物学的素材を用いたバイオ人工肝臓の開発が望まれている。肝細胞療法に使用する細胞はより高い分化肝機能が維持されていることが重要であると考えられる。p21WAF1は cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitor であり、特に G1 期における細胞周期停止を誘導する事が知られている。また、p21 を強制発現させる事で様々な細胞株で分化誘導が示されている。本研究では SV40T 抗原ヒト不死化肝細胞株 NKNT-3 における p21 の分化誘導能を検討した。NKNT-3 に p21 発現アデノウイルスベクター (AdCMVp21, CMV のエンハンサー及びプロモーター下流に p21 がインサートされている) および TAT protein と p21 の fusion protein (pTAT-p21) を用いて、p21 の形質導入をおこなった。細胞形態、細胞周期、アルブミン発現、薬物代謝酵素である cytochrome P450 関連酵素 (CYP) 発現に及ぼす効果を検討した。免疫染色および Western blotting によって AdCMVp21 および pTAT-p21 による効果的な p21 の発現が NKNT-3 細胞に認められた。p21 形質導入後の細胞は細胞密度は減少し、胞体の増大を認め N/C 比の低下が認められた。細胞周期解析では G1 arrest の状態となった。また、アルブミンおよび CYP3A4, CYP2C9 の発現増強が認められた。ヒト不死化肝細胞 (NKNT-3) に p21 を過剰発現させることにより分化機能誘導が可能であることが示唆された。

(平成14年8月29日受理)

### p21 Transduction Augments Differentiated Phenotypes in Immortalized Human Hepatocytes

Takemi KUNIEDA

Recently, there has been great expectation regarding the use of cell therapies such as hepatocyte transplantation and bioartificial livers to treat patients with liver failure. Improvement of differentiated cellular functions is of fundamental importance in hepatocyte-based biological therapies. The molecule of p21, known as WAF1, is a potent cyclin-dependent kinase inhibitor which regulates the transition from the G1 phase to the S phase in a cell cycle. Investigators have demonstrated that p21 transduction induces cellular differentiation in various cell lines. We used SV40Tag-immortalized human NKNT-3 hepatocytes in this study. A replication-deficient adenovirus vector, Ad5CMVp21, expressing a p21 gene under the control of the CMV promoter, was used to achieve efficient p21 delivery. A pTAT-p21 fusion protein was also utilized for transduction in NKNT-3 cells. Morphological alteration, cell-cycle progression, and protein expression of albumin, CYP3A4, and CYP2C9 were analyzed in the p21-transduced NKNT-3



















