

**P1-16.****microRNA補充療法の実現へ向けた短縮化microRNAの開発**

(大学院修士課程2年分子病理学分野)

○板野 華蓮、原田裕一郎、大野慎一郎  
黒田 雅彦

microRNA (miRNA) は、タンパク質をコードしない20塩基長前後の短いRNAであり、相補的な配列を有する標的mRNAに結合し、翻訳抑制およびmRNAの分解に働くことで、標的遺伝子の発現を阻害する。生体の様々な生理活性を制御しており、がん細胞では、がん抑制のmiRNA発現が減少することが原因で複数のがん遺伝子の発現が上昇していることが明らかになっている。

減少したmiRNAを外部から補うmiRNA補充療法は、複数の遺伝子を標的とする類を見ない医薬であり、内在性のRNAであるため副作用も低いことが期待される。しかし、生体への核酸投与は自然免疫反応を誘導することが、核酸医薬のひとつの実用化の障壁となっている。核酸に対する免疫応答は、投与する核酸の長さに影響されるという報告があることから、本研究では、miRNAを短縮化することで免疫応答を抑えることができるかを検討した。具体的には、各種のがんにおいて抑制的に働くmiR-34aに注目し、二次構造を安定化させた形状で核酸の短縮化を行った。通常のmiR-34aと短縮化miR-34aを、肺がん細胞に導入し、real-time PCRを用いて標的遺伝子の抑制効果を検討したところ、標的遺伝子の抑制活性や標的多様性の性質を保持したまま最大で通常の2／3ほどの長さに短縮化できた。さらに、短縮化miR-34aをヒト単球細胞に導入し炎症性サイトカインの発現量を解析した結果、通常のmiRNAの構造と比べ炎症性サイトカインの発現が抑制されていた。以上のことから、副作用が軽減されたmiR-34aの構造を決定することができた。さらにこの短縮化技術は、他のmiRNAにも適用可能であったことから、miRNA補充療法の臨床応用を進める基盤技術となることが期待される。

**P1-17.****ヒトメラノーマ細胞におけるコリントランスポーターの同定とその機能解析**

(医学部医学科3年)

○岡野 智也、光畠 朋美、林 潤  
島田 敏志

(大学病院: 麻酔科)

屋良 美紀

(大学病院: 精神医学)

岩尾 紅子

(分子予防医学)

山中 力、稻津 正人

(医学総合研究所)

稻津 正人

メラノーマは皮膚科領域で最も悪性度の高い腫瘍であり、各種治療に抵抗性を示すことでも知られており、化学療法の奏功率は30%以下と有効な治療法に乏しい腫瘍である。コリンは細胞にとって必須栄養素であり、細胞膜の主要な構成成分であるフォスファチジルコリンなどの合成に必須である。また、メチル基共用体のベタインなどの前駆体としても利用されてDNAやヒストンのメチル化に関与し、エピジェネティクス制御との関連性が注目されている。最近、新規のコリントランスポーターであるcholine transporter-like proteins (CTLs) が各種癌細胞において高発現しており、そのコリン輸送機能を阻害することにより細胞増殖抑制やアポトーシスを引き起こすことが明らかとなった。本研究は、ヒトメラノーマ細胞株であるMeWo細胞を用いて、コリン取り込み機構の特徴とコリントランスポーターの分子的実体を解明することを目的とした。また、既存医薬品のコリン取り込み作用および細胞増殖能におよぼす影響について検討し、ドラッグ・リポジショニングの可能性についても考究する。MeWo細胞は、時間依存性および濃度依存性でNa<sup>+</sup>非依存性のコリン取り込み機構を有し、高親和性と低親和性の2種類の取り込み機構が存在していた。コリン取り込み作用は、細胞外pHの酸性化で抑制され、アルカリ化で増強した。MeWo細胞には、choline transporter-like protein 1 (CTL1) およびCTL2が高発現していた。既存医薬品は、細胞死を誘導し、Caspase-3/7活性を増強させた。さらに、これらの

医薬品は、コリン取り込みも阻害した。以上の結果より、ヒトメラノーマMeWo細胞にはコリンとプロトンとの交換輸送であるCTL1およびCTL2が高発現し、コリンを積極的に取り込み細胞増殖に利用していると考えられる。さらに、その機能阻害がCaspase活性を増大し細胞死を誘導する可能性が示唆され、幾つかの既存医薬品にその活性を有していることを見出した。

### P1-18.

#### The expression of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in early-stage small cell carcinoma of the uterine cervix

(研究生：Department of Molecular Pathology)

○ Settakorn Jongkolnee, Kuroda Masahiko

(Department of Pathology Faculty of Medicine, Chiang Mai University)

Settakorn Jongkolnee, Sukpan Kornkanok,

Siriaunkgul Sumalee, Khunamornpong Surapan,

Utaipat Utaiwan

(Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University)

Srisomboon Jatupol

(Department of Pathology, Toda Central General Hospital)

Kudo Motoshige

(Department of Pathology, Tama-Nagayama Hospital, Nippon Medical School)

Katayama Hironori

**【Introduction】** Small cell carcinoma is an aggressive cervical cancer. Targeted therapy via inhibiting proteins in PI3K/Akt/mTOR signaling pathway may be beneficial, if this pathway involves in carcinogenesis of the cancer.

**【Objectives】** To examine the expression of proteins in this signaling pathway in early-stage small cell carcinoma of the uterine cervix.

**【Materials and Methods】** Thirty seven patients were treated by radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection. The studied parameters included age at diagnosis, clinical staging, pure or mixed carcinoma, tumor size, extent of tumor invasion, lymph-vascular space invasion, parametrial and lymph node involvement,

HPV genotype (PCR and dot blot hybridization), and protein expression (immunohistochemistry). The studied proteins were PI3K, Akt, mTOR, phospho-mTOR, 4E-BP1, phospho-4E-BP14, and PTEN.

**【Results】** PI3K and Akt expression was observed in all cases (100%). The majority of cases expressed mTOR ( $n=35$ , 94.59%), phospho-mTOR ( $n=33$ , 89.19%), and phospho-4E-BP14 ( $n=36$ , 97.30%). 4E-BP1 and PTEN expression was found in only 7 (18.92%) and 9 (24.32%) cases, respectively.

**【Conclusion】** This study demonstrates the existing of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cervical small cell carcinoma. As almost all of the tumors express PI3K, Akt, and mTOR, targeted therapy to these proteins may be potentially useful for the patients.

**【Acknowledgements】** This study is supported by 1) the National Research University Project, under Thailand's Office of the Higher Education Commission ; and 2) the Faculty of Medicine, Chiang Mai University

### P1-19.

#### 長期の低酸素耐性骨髄腫細胞株の樹立と解析

(大学院修士課程1年 医学総合研究所 分子腫瘍研究部門)

○武内 健

(大学病院：先端分子探索寄附講座)

梅津 知宏、小林 千晶

(大学病院：血液内科学分野)

大屋敷一馬

(大学病院：医学総合研究所 分子腫瘍研究部門)

東 劍虹、大屋敷純子

**【背景と目的】**これまでの低酸素応答に関する研究では、短期間（数時間～数日）の低酸素曝露による解析が一般的であるが、これらの系では骨髄内のような慢性的な低酸素環境を解析するための *in vitro* モデルとしては不十分であった。そこで、骨髄腫細胞とその微小環境との相互作用を解析するためのモデル系として、長期的に低酸素曝露した骨髄腫細胞亜株（低酸素耐性株）の樹立を試みた。

**【方法】**ヒト骨髄腫由来細胞株IM-9を、マルチガスインキュベーター（MCO-5AC, Panasonic）内で低酸素環境（1% O<sub>2</sub>）を維持した状態で3ヶ月間培