

重要であることが明らかとなっている。一方、がんにおける AGO ファミリーの解析はほとんどされておらず、その発現および機能は不明な点が多い。そこで本研究は、がんにおける AGO ファミリーの機能を明らかにすることを目的とした。ヒト肺癌細胞株および肺癌組織における AGO ファミリーの発現を解析したところ、AGO1 および AGO2 の高い発現が認められた。続いて肺癌における AGO1 および AGO2 の機能を明らかにするために、CRISPR/Cas9 system を用いて AGO1, 2 欠損ヒト肺癌細胞株を作成し、機能解析を行った。その結果、AGO1 もしくは AGO2 単独の欠損では影響が認められなかったが、AGO1, 2 両欠損細胞株で有意に増殖が低下した。この結果は、新しい治療標的としての AGO ファミリーの可能性を示すと同時に、AGO1 と AGO2 の間には機能の重複が有り、各々が補うようにがんの増殖を維持していることを示唆している。さらに、一部のヒト肺癌組織では、AGO1 および AGO2 が核内に局在していたことから、核内における mRNA の重要な生成過程である RNA スプライシングの解析を行った。その結果、AGO1 および AGO2 両欠損細胞株では、いくつかのがん遺伝子の選択的スプライシングに異常があることが示された。AGO ファミリーは細胞質における RNA 干渉だけでなく、核内におけるスプライシング機構などの制御も介して、がん形質の維持に働いている可能性が示唆された。

P2-30.

低酸素耐性骨髄腫細胞株 IM-9-HR の樹立と性状解析

(大学院修士課程 2 年医学総合研究所分子腫瘍研究部門)

○武内 健

(先端分子探索寄附講座)

梅津 知宏、小林 千晶

(血液内科学)

大屋敷一馬

(医学総合研究所)

東 剣虹、大屋敷純子

【背景と目的】 多発性骨髄腫における骨髄内の「低酸素環境」は、基礎的、臨床的にも研究対象として

高い注目を集めている。これまでの低酸素応答研究は、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り、骨髄内のような慢性的な低酸素環境を解析するには不十分であった。そこで、骨髄腫細胞と低酸素環境との相互作用を解析する目的で、低酸素環境でも増殖可能である骨髄腫細胞亜株（低酸素耐性株）によるモデル実験系の構築を試みた。

【方法】 ヒト骨髄腫由来細胞株 IM-9 を、低酸素状態（1% O₂）のマルチガスインキュベーター（MCO-5AC, Panasonic）内で 6 ヶ月間以上培養して低酸素耐性株を樹立した。親株と低酸素耐性亜株における細胞表面マーカー解析（CD19, CD38, CD138, CD49e）をフローサイトメトリーによって、核型解析を G-band 染色法によって行った。それぞれの細胞から total RNA を抽出し、GeneChip Human ST array（Affymetrix）を用いて遺伝子発現解析を行った。さらに、低酸素耐性亜株をマトリゲルに封入してヌードマウス皮下に移植して生体内での挙動を解析した。

【結果・考察】 長期的な低酸素環境下での培養の結果、低酸素環境でも増殖可能な亜株（低酸素耐性株 IM-9-HR）の樹立に成功した。IM-9-HR は親株 IM-9 と比較して形態、核型において顕著な相違は見られなかったが、細胞表面マーカーおよび遺伝子発現の解析結果からインテグリンを含む細胞接着系の発現が IM-9-HR で上昇していた。また、マウス皮下に移植したマトリゲル内の IM-9 は腫瘍を形成しなかったのに対し、IM-9-HR は過剰な腫瘍形成および血管新生を誘導した。この IM-9-HR は骨髄内の低酸素環境に存在する骨髄腫細胞のモデル系として有用であると考えられた。