

【対象・方法】 当科において切除を施行した肝胆膵癌29例を対象として肝切除または膵切除前にそれぞれ肝静脈または門脈より血液を採取し、CTCを測定した。検出されたCTC数に応じて2群に分け、再発率や生存率を検討した。また、局所進行膵癌症例の末梢血を術前・術後に採取しメタボローム解析を施行し、局所浸潤群に比較して早期遠隔転移群で活性化されている遺伝子の網羅的解析を行った。

【結果】 29例中、CTC数が10/7.5 ml以上の群（CTC陽性群）を12例（40%）に認めた。CTC陽性群のほうが陰性群に比較して1年無再発生存率が不良であった（71.1% vs. 36.4%,  $p=0.0324$ ）。一方3年生存率に関しては両群間に有意差は認めなかった（47.1% vs. 45.5%,  $p=0.7576$ ）。特に膵癌症例においては、CTC陽性群のほうが有意に1年生存率は不良であった（22.2% vs. 0.0%,  $p=0.0018$ ）。また局所進行膵癌における血清メタボローム解析から早期遠隔転移群において活性化されている遺伝子群を抽出した。

【結論】 肝胆膵癌において切除前の肝静脈または門脈から採取したCTC上昇は無再発生存率に寄与する因子であった。今後、進行膵癌の早期遠隔転移群における活性化遺伝子の分子生物学的特性を検討する予定である。

### P3-55.

#### 本邦健常者における *BCL2L11* (*BIM*) 遺伝的多型の頻度と免疫細胞との関係

(血液内科)

○藤本 博昭、片桐誠一郎、大屋敷一馬

(医学総合研究所 免疫制御研究部門)

溝口 出、善本 隆之

(先端分子探索寄附講座)

梅津 知宏

(医学総合研究所 分子腫瘍研究部門)

大屋敷純子

健康人における *BCL2L11* (*BIM*) 遺伝的多型と自然免疫の関係を明らかにする目的で、*BIM* イントロン2での欠失多型およびエクソン5の *BIM*-SNP c465C>T (以下 *BIM*-SNP) の頻度を調査し、さらに一部の例では健常者末梢血 natural killer (NK) 細胞の頻度およびNK活性との関係を検討した。*BIM*

欠失多型は10例（10例/60例：16.7%）、*BIM*-SNPは13例（13例/60例：21.7%）に認め、1例は *BIM* 欠失多型と *BIM*-SNP の重複例であった。年齢分布および *BIM* 遺伝的多型の有無によるNK細胞比率 (CD3-CD56+細胞比率 ( $P=0.5685$ ))、NK細胞数 (CD3-CD56+細胞実数 ( $P=0.5241$ )) には有意差を認めなかった。NK活性とNK細胞頻度および細胞数との関係では正の相関を示すが、*BIM* 遺伝的多型例でも特徴的な変化はみられず、ほぼNK細胞頻度およびNKG2D+CD3-CD56+細胞比率に一致したNK活性を示した。*BIM* の多型は慢性骨髄性白血病患者やEGFR+非小細胞肺癌においてチロシナーゼ阻害薬の感受性や治療薬中止後の再発やと関連すること可能性が想定されている。以上より、健康な状態では免疫能に関与しないと思われる *BIM* の遺伝的多型が、特定の疾病では疾患病態や分子標的療法の評価項目として意義をもつ可能性が示唆された。

### P3-56.

#### 慢性炎症と肥満とをつなぐシノビオリンによるエネルギー代謝調節機構

(医学総合研究所 未来医科学研究寄附講座)

○藤田 英俊、荒谷 聡子、中島 利博

(実験動物センター)

須藤カツ子

(医学総合研究所)

中島 若巳、稲津 正人、西岡久寿樹

中島 利博

(麻酔科)

原 直美、内野 博之

(臨床共同研究センター iGES)

中島 利博

超高齢化社会と飽食の時代を迎え、国民の関心はメタボリックシンドロームにある。我々は、これまで転写統合装置の研究 (Cell 1996, Nature 1996, Cell 1997, Mol Cell Biol 2003) に従事し、現在では、小胞体ストレスに応答するシノビオリン (Syvn1) に着目し、Syvn1が、変性タンパク質除去に機能するE3ユビキチンリガーゼであることを報告した (J. Biol. Chem. 2005, EMBO J. 2007, Nature clinical practice Rheumatology 2008)。また、Syvn1が関節リ

ウマチの発症、線維化発症や肝硬変に関与するなど炎症と関与することも明らかにした (Genes Dev. 2003, PLoS One. 2010, Genes Dev. 2014)。しかし、成獣マウスにおける *Syvn1* の機能は明らかではなかった。

そこで、時期特異的な *Syvn1* ノックアウトマウスを作製した結果、成獣マウスの体重は減少し、かつ、白色脂肪組織も減少することが明らかになった。肥満モデルマウスである *ob/ob*、*db/db* マウスから *Syvn1* 遺伝子をノックアウトしても同様の結果を確認し、さらに、脂肪組織特異的なノックアウトマウスを作製しても同様な結果を確認できた。詳細な解析の結果、エネルギー産生器官であるミトコンドリアの数の増大、ミトコンドリア機能の亢進、さらには、マウス個体の基礎代謝の亢進がノックアウトマウスで認められた。メカニズムを探索した結果、*Syvn1* がエネルギー代謝に機能する PGC-1 $\beta$  と結合し、分解することを見出した。PGC-1 $\beta$  はエネルギー代謝を正に制御する転写コアクチベータであり、*Syvn1* は PGC-1 $\beta$  を分解することでエネルギー代謝を負に制御していることが明らかとなった。興味深いことに、*Syvn1* 阻害剤を *db/db* マウスに投与した結果、体重の増加を抑制するとともに、血糖値も改善することを見出した (EMBO J. 2015)。以上の結果は、*Syvn1* がリウマチのみならず、肥満や糖尿病の病態に深く関与し、難治性疾患の治療法開発の新規分子標的となる可能性が示された。

### P3-57.

#### *KCNQ1* 遺伝子イントロンの 2 型糖尿病感受性 SNP 領域におけるアリル特異的 DNA 結合因子の解析

(生化学)

○平本 正樹、宮澤 啓介

【目的】 *KCNQ1* は 2 型糖尿病関連遺伝因子として同定されたが (Yasuda K. Nat Genet. 2008)、疾患感受性 SNP はイントロンに集中しており、これら SNP と疾患発症リスク増大との機能的な繋がり不明である。本研究では、これら SNP を含むヒトゲノム領域において、アリル特異的に結合する因子を単離・同定し、機能解析を行った。

【方法】 疾患感受性 SNP を含む 6 つのゲノム領域

について、リスクアリルとノンリスクアリルそれぞれを磁性ナノビーズに固相化し、膵  $\beta$  細胞株の核抽出液から、このナノビーズに結合するタンパク質を精製した。アリル間の比較で結合に差異を認めた因子について、マススペクトル解析により同定した後、組換えタンパク質を用いた DNA 結合能の解析、レポーターベクターを用いた転写活性の測定、クロマチン免疫沈降による細胞内でのアリル特異性の解析を行った。

【結果】 SNP: rs2074196 領域におけるアリル特異的結合因子として、NF-Y と CUX1 を同定した。組換えタンパク質を用いた解析から、NF-Y と CUX1 はいずれも、ノンリスクアリルに対して強く結合した。また、SNP: rs2074196 を含むレポーターベクターと NF-Y 発現ベクターとの共導入では、ノンリスクアリルを有するレポーターベクターでのみ、顕著な転写促進能が観察された。さらにクロマチン免疫沈降実験では、ノンリスクアリルを有する細胞株でのみ、SNP: rs2074196 領域における NF-Y の濃縮が観察された。

【結語】 2 型糖尿病感受性 SNP: rs2074196 領域において、NF-Y がアリル特異的にゲノム DNA に結合し、転写制御に関与することが示唆された。今後、その制御下にある遺伝子を同定することにより、この SNP の機能的意義がさらに明らかになると考えられる。

(本研究は国立国際医療研究センターの安田和基博士との共同研究にて行った。)