

特に低リスク群では 2 次治療の必要性は低く、真の PSA 再発ではない例も含んでいる可能性があった。一方で高リスク群では約半数に 2 次治療が必要であった。これらの情報は手術前の情報として PSA 再発の可能性だけでなく患者・医師にとって重要と考えた。

P2-25.

アザシチジン耐性白血病細胞におけるヒストン化学修飾の役割の解明

(大学院修士課程 2 年分子腫瘍研究部門)

○高橋 諒子

(医学総合研究所)

今西 哲、大屋敷純子

(血液内科)

梅津 知宏、小林 千晶、大屋敷一馬

【背景と目的】 アザシチジン (AZA) は骨髓異形成症候群の治療において重要な薬剤であるが、容易に耐性化してしまうことが臨床上の問題である。AZA の作用機序としては、がん抑制遺伝子のプロモーター領域の DNA 脱メチル化以外に、ゲノムワイドな DNA 低メチル化やヒストンの化学修飾の関与などが想定されている。本研究では、AZA 耐性とヒストン化学修飾の関連を解明することを目的として以下の検討を行った。

【方法】 AZA 感受性ヒト白血病細胞株 (U937, HL-60)、AZA 耐性亜株 (R-U937, R-HL-60) に AZA 5 μ M を添加し 72 時間後のヒストン修飾をウエスタンブロットで比較した。

【結果】 AZA 感受性ヒト白血病細胞株では、U937 細胞と HL-60 細胞に共通して H3K9me3 の増加がみとめられたが、R-U937 細胞と R-HL-60 細胞ではこの変化はみられなかった。H3K27ac は U937 細胞で増加、H3K27me3 は HL-60 細胞で減少をみとめたが、これらの変化も AZA 耐性亜株では見出されなかった。なお H3K4ac、me3、H3K9ac には、全ての細胞株で変化をみとめなかった。以上の結果から、AZA の作用機序において H3K9me3 が特に重要な役割を果たしていると考え、H3K9me3 の特異的リーダーである HP1 ファミリーのタンパク質量を検討した。その結果、U937 細胞と HL-60 細胞で HP1 γ の減少を認めたのに対し、AZA 耐性亜株では HP1 γ の変化

は見られなかった。

【考察】 今回の検討で、AZA が感受性細胞においては、H3K9me3 の増加や HP1 γ の減少を引き起こすことを見出した。AZA 耐性亜株では H3K9me3 や HP1 γ への効果がみられないことから、HP1 γ を介したクロマチン制御が耐性克服の新たな治療標的となりうる可能性が考えられた。

P2-26.

慢性骨髄性白血病におけるチロシンキナーゼ阻害剤中止後の筋骨格痛についての検討

(血液内科)

○片桐誠一郎、田内 哲三、雨宮 文恵

齋藤 優、勝呂多光子、浅野 倫代

吉澤成一郎、作田 寿理、赤羽 大悟

田中 裕子、古屋奈穂子、安藤 恵子

藤本 博昭、岡部 聖一、後藤 守孝

伊藤 良和、大屋敷一馬

チロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor: TKI) の登場により慢性骨髄性白血病 (chronic myeloid leukemia: CML) の予後は大きく改善し、さらには一部の症例では TKI 中止が試みられるようになった。しかし近年 imatinib 中止後の症例で筋骨格痛の出現し、TKI 中止後の離脱症状である可能性が報告された。今回、当院で TKI 加療により分子寛解を達成し、TKI を中止した症例を対象に中止後の筋骨格痛についてアンケート調査を行った。27 名の CML 症例が解析対象となり、中止した TKI は 23 例が imatinib、2 例が nilotinib、2 例が dasatinib であった。27 例中 9 例 (33%) が TKI 中止後に筋骨格痛を自覚していた。TKI 中止後から筋骨格痛が出現するまでの期間は中央値で 2 週間だった。疼痛部位の多くは手関節や肘関節であったが、一部の症例は全身性に症状が出現した。また一部の症例では日常生活に支障があるほどの疼痛であった。8 例が中央値で 6 カ月を経て症状が改善したが、1 例は現在まで症状が持続していた。また 9 例のうち 7 例が TKI 内服中にも筋骨格痛を自覚していたが、5 例が新たな部位の疼痛を自覚していた。TKI 中止後の筋骨格痛有無による患者背景では女性に高率で筋骨格痛を認めた ($p=0.0393$)。また筋骨格痛が出現しなかった症例では有意に中止後の分子

学的大寛解の維持率が高かった ($p=0.0476$)。今回の検討で TKI 中止を行った一部の CML 症例において離脱症状と考えられる筋骨格痛が出現することが確認された。しかしその発症リスクは不明であった。今後 TKI 中止を検討する場合は、離脱症状の可能性も考慮する必要があると考えられる。

P2-27.

慢性骨髄性白血病におけるチロシンキナーゼ阻害薬中止後の筋骨格痛ではエクソソーム miR-14-3p の上昇がみられる

(血液内科)

浅野 倫代、片桐誠一郎、田内 哲三
後藤 守孝、安藤 恵子、岡部 聖一
大屋敷一馬

(血液内科、医学総合研究所分子腫瘍研究部門)

○梅津 知宏、小林 千晶

(医学総合研究所分子腫瘍研究部門)

大屋敷純子

チロシンキナーゼ阻害薬 (TKIs) により慢性骨髄性白血病 (CML) は画期的な生存期間の延長がもたらされ、一部の症例では TKIs 中止後も無治療寛解が維持される。しかしながら、TKIs 中止後の約 30% の患者に筋骨格痛が出現する事が明らかにされたが、その病態は不明である。我々は TKIs 中止後の CML 患者で筋骨格痛を認めた 5 例、筋骨格痛を認めない 5 例、健常者 3 例において exosomal miRNA (ex miR) profiling を行った。患者末梢血より Exosome isolateon kit (Invitrogen) を用いて血漿中 exosome を抽出し、miRNeasy kit (Qiagen) を用いてエクソソーム分画から RNA を抽出後、TaqMan Low Density Array (TLDA: Thermo Scientific) を用いて ex miR の半網羅的解析を検討した。各患者検体由来 exosome の標準化には spike miRNA (ath-miR-159) を用いた。また、R software を用いた wilcoxon 順位和検定によって統計解析を行った。筋骨格痛を認めない例に比べ筋骨格痛を認めた例では 7 つの ex miR の上昇および 2 つの ex miR 低下を認めた。これら 9 つの ex miR の内、健常者との比較検討では筋骨格痛を認めた群で ex miR-140-3p のみが有意に上昇していた ($p=0.0358$)。ex miR-140-3p は自己免疫性関節炎に関与すると共に、CD38 を標

的とする miRNA であることから、TKIs 中止後の筋骨格痛の発現と深くかかわっている事が示唆された。

P2-28.

Macrolides enhance bortezomib-induced cytotoxicity and overcome stromal cell-mediated drug resistance in myeloma cells

(生化学)

○森谷 昇太、風間 宏美、平本 正樹
宮澤 啓介

(ナノ粒子先端医学応用講座)

半田 宏

我々はクラリスロマイシン (CAM) を初めとするマクロライド抗生剤がオートファジーの阻害作用を持つこと、及び、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブ (BZ) との併用により骨髄腫細胞に対して小胞体ストレス負荷を介した殺細胞増強効果を生じることを報告してきた。(Moriya S. Int J Oncol. 2013, 2015)

近年、骨髄間質細胞 (骨髄微小環境) と骨髄腫 (MM) 細胞との相互作用が MM 細胞の増殖・生存を促進し、BZ への抵抗性を生じることが報告されている。そこで骨髄微小環境下での本併用療法の有用性を検証するために、骨髄ストローマ細胞株 LP101 および AA101 (日本大学 相澤信教授より供与) と MM 細胞株の共培養実験系の構築を試みた。

共培養系における細胞識別のために、まず、各種 MM 細胞株 (RPMI8226, IM-9, KMS-12-PE) の EGFP 安定発現株を樹立した。ストローマ細胞株と各種 EGFP 安定発現 MM 細胞株を同細胞数で調製し、各比率で混合後、フローサイトメーターで EGFP 陽性/陰性・生細胞数を検出すると、それぞれ 10% 以下の混合比率においても正確に生細胞数が検出可能であることが確認された。この検出系を用いて、ストローマ細胞株 LP101 の単層培養上に各 MM 細胞株を共培養し、BZ 添加後の生細胞数を経時的に測定すると、単培養系に比べて BZ の殺細胞効果の減弱が観察された。しかし、ここに CAM を同時添加することで殺細胞増強効果が認められた。また、CAM 単剤ではストローマ細胞株および MM 細胞株への細胞毒性はほとんど認められなかった。