

れていないが、TSC で高頻度に出現する骨硬化と考えられた。2012 年 International TSC Consensus Conference の診断および検査・治療に関する推奨に従って全身検索を行い、眼科で網膜無色素斑、頭部 CT で上衣下結節が指摘された。家族歴の聴取により母に患者と同様の爪変形あり、兄にてんかんと知的障害があることが判明した。

【結語】 TSC の診断、治療において複数の診療科が連携することが重要であることを実感した。腎臓の血管筋脂肪腫は加齢とともに増大し、破裂して突然死の報告もあることから、TSC 患者においては生涯を通じて 1~3 年ごとに腹部 MRI、または CT/超音波検査の実施が推奨されている。本患者も今後定期的に経過観察する予定である。

P1-11. Analysis of HSPB8 myopathy using zebrafish models

(病態生理学)

○川幡由希香、川原 玄理、林 由起子

Heat shock protein B8 (HSPB8), a member of the small heat shock protein family, is known to have chaperone activity and protein quality control via the ubiquitin-proteasome pathway and chaperone-assisted selective autophagy. Previous studies reported that mutations in *HSPB8* cause hereditary motor neuropathy and myopathy. Recently, novel candidate mutations of *HSPB8* were identified in families with myopathy. However, it remains to be elucidated pathogenic mechanisms of HSPB8-related myopathy. In this study, we established zebrafish models to confirm the pathogenicity of these novel *HSPB8* mutations. We carried out microinjection of wild-type or mutant human *HSPB8* mRNA in zebrafish embryos at 1-2 cell stage. Embryos were maintained 5 days post-fertilization, then we analyzed phenotype of these fish. Overexpression of mutant *HSPB8* resulted in morphological abnormalities at a high rate compared to expressing wild-type *HSPB8*-injected and non-injected fish.

Moreover, these abnormal fish caused severe muscle degeneration. Our data suggest that the novel mutations of *HSPB8* can cause myopathy.

P1-12.

The effects of anti-IL-6 receptor antibody on muscle pathology in dystrophin/utrophin dKO mice

(病態生理学)

○和田 英治、林 由起子

(国立精神・神経医療研究センター：遺伝子疾患治療研究部)

谷端 淳、武田 伸一

(大阪大学：医学部社会医学講座公衆衛生学教室)

岩村 憲

(東京大学大学院：総合文化研究科)

松田 良一

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 患者の血中や筋組織ではインターロイキン-6 (IL-6) が顕著に増加している。IL-6 は組織内の炎症や線維化にも寄与していることから、筋疾患の病態悪化に関与していると考えられる。本研究は重篤な DMD モデルマウスである dKO マウスを用いて、IL-6 阻害薬の長期投与による改善効果を検討した。IL-6 の機能を阻害する抗 IL-6 受容体抗体 (MR16-1) 投与を生後 14 日から開始し、90 日齢に達するまで行った。抗体は初回 200 mg/kg per body weight、その後 1 週間に 1 度 25 mg/kg per body weight で投与を継続した。その結果、MR16-1 投与群では血中 CK 値は有意に減少した。体重や側弯症状に有意な改善は認められなかった。また血中 IL-6 濃度は抗体投与群で有意に増加したものの、筋組織内 IL-6 濃度と IL-6 の遺伝子発現レベルは減少傾向にあった ($P=0.16$, $P=0.052$)。

筋組織内 IL-6 シグナル経路の *socs3* レベルは有意に減少しており、リン酸化 STAT3 のタンパクレベルも有意に抑制したことから MR16-1 の長期投与は骨格筋内の過剰な IL-6 シグナルを阻害することが明らかとなった。IL-6 の阻害効果により筋再生が促進され、中心核線維数の減少、筋組織内線維化の減少、筋径の回復、急性炎症マーカーの減少など筋ジストロフィー症状の改善効果が認められた。一方、心筋と横隔膜に対する効果は認められなかった。無処理の dKO マウスの四肢筋、心筋、横隔膜を比較した結果、IL-6 シグナルは四肢筋 (大腿四頭筋) で最も亢進していたことから、MR16-1 の IL-6 経路の阻害効果は四肢筋で特に顕著であったと考え

る。一方、心筋や横隔膜（不随意筋）の変性には他の因子が大きく関与している可能性があると言える。本研究結果から抗 IL-6 受容体抗体は筋ジストロフィー骨格筋に対する有効な候補治療薬であると期待できる。

P1-13.

クロマチン制御因子 HP1 γ のアザシチジン耐性白血病細胞における役割の解明

(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・目的】 アザシチジン (AZA) は骨髄異形成症候群をはじめとする骨髄系腫瘍に用いられるが、治療抵抗例や耐性獲得例が存在し、臨床上的の問題となっている。当研究部門では、ヒト白血病細胞株 U937、HL-60 で AZA 処理後にみられるクロマチン制御因子 heterochromatin protein 1 γ (HP1 γ) タンパク質の減少が、AZA 耐性亜株 R-U937、R-HL-60 ではみられないことを報告した。そこで、HP1 γ が AZA 耐性白血病の治療標的となるか検討するために、shRNA を用いて、HP1 γ の発現抑制が AZA 耐性細胞に及ぼす効果を調べた。

【方法】 Tet-on システムで HP1 γ 特異的 shRNA (shHP1 γ) を発現するプラスミド (聖マリアンナ医科大学 太田智彦教授より供与)、またはコントロールプラスミドをレトロウイルスで U937、HL-60、RU937、R-HL-60 の各細胞に導入した。薬剤選択後、得られた細胞を 1 μ g/ml のドキシサイクリン (DOX) で 96 時間処理して、定量的 RT-PCR 法による HP1 γ mRNA の相対定量、WST-8 法による増殖能の測定、Annexin V/PI 二重染色によるアポトーシス誘導の FACS 解析を実施した。統計処理は 2-way ANOVA を行った後、T-test を行った。

【結果】 DOX 処理後の shHP1 γ 導入細胞での HP1 γ mRNA 発現量は、無処理群の約 18%~40% に減少していた。コントロールでは DOX 処理は HP1 γ mRNA 発現量に影響せず、shHP1 γ による HP1 γ の発現抑制が確認できた。shHP1 γ 導入 R-U937 細胞と shHP1 γ 導入 R-HL-60 細胞の増殖は DOX 処理によって、それぞれ $52.5 \pm 2.2\%$ ($p =$

0.0093)、 $51.6 \pm 4.0\%$ ($p = 0.0093$) に低下した。また、shHP1 γ 導入 R-U937 細胞では DOX 処理により Annexin V 陽性/PI 陰性細胞や Annexin V 陽性/PI 陽性細胞の増加 (それぞれ 3.9% \rightarrow 9.6%、6.1% \rightarrow 19.4%) がみられた。shHP1 γ 導入 R-HL-60 細胞でも、DOX 処理は Annexin V 陽性/PI 陰性細胞や Annexin V 陽性/PI 陽性細胞を増加させた (それぞれ 6.8% \rightarrow 8.4%、7.3% \rightarrow 18.0%)。しかし shHP1 γ 導入 U937 細胞と shHP1 γ 導入 HL-60 細胞の、増殖能や Annexin V 陽性率、PI 陽性率は DOX 処理の影響を受けなかった。

【考察】 HP1 γ は、AZA 耐性細胞特異的に重要な機能を果たしていることが示された。HP1 γ が AZA 耐性を獲得した骨髄系腫瘍の新たな治療標的となる可能性が考えられる。

P1-14.

Wnt/ β -catenin signaling activates nephronectin expression in osteoblasts

(大学院博士課程 3 年口腔外科学)

○池畑美紀子

(歯科口腔外科・矯正歯科)

近津 大地

Nephronectin (Npnt) is an extracellular matrix protein that plays crucial roles as an adhesion molecule in functions of various organs, such as the kidneys and bones. Furthermore, a high level of Npnt expression is observed in osteoblasts. Thus, clarification of the regulation mechanism of Npnt expression is important for understanding the association between bone development and cell adhesion. Previous studies have suggested that Wnt3a induces Wnt/ β -catenin signaling, which promotes the proliferation of pre-osteoblasts, and also plays an important role in the control of bone mass. Wnt proteins are secreted glycoproteins that play a variety of crucial roles in early development and morphogenesis, as well as cell growth and differentiation, and are known to be essential for tissue regeneration. In the present study, we first examined the regulation of Npnt expression by Wnt family proteins using MC3T3-E1 cells. We found that Wnt3a, an activator of the canonical Wnt signaling pathway, upregulates the expression of Npnt in both a time- and dose-dependent