

調節作用が見られた。今後は、この調節作用を分子レベルで解析することで、メラニンの感染防御免疫に及ぼす影響を明確にする予定である。

本研究は文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の支援を受けて行った。

### P3-54.

#### 癌個別化治療を目的とした HOXB9 による Cellular Senescence 誘導

(八王子：消化器外科・移植外科)

○佐野 達、千葉 斉一、郡司 崇裕  
小澤 陽介、疋田 康祐、沖原 正章  
富田 晃一、大島 剛、河地 茂行

(平成 28 年度東京医科大学研究助成金による研究)

【背景】 転写因子 HOXB9 はヒトゲノム上に 39 種存在する HOX 遺伝子ファミリーの一つで、HOX 遺伝子群は胎生期における器官形成時の分化に重要な役割を演じているが、近年腫瘍の発生と進展に深く関わっていることが多数報告されている。一方細胞老化 (Cellular Senescence) 現象が癌抑制機構に働くと同時に発癌作用や癌の悪性度への影響を及ぼす作用を有する可能性が報告されている。

【目的】 これまでに、HOXB9 導入により p53/p21 経路の関与によって Cellular senescence が誘導され、さらには Ras の存在下では逆の現象が発生することを確認した。また HOXB9 遺伝子の増減が乳がん術後の DFS や肝細胞が術後の OS に寄与する因子であることも確認している。そこで HOXB9 遺伝子による Cellular Senescence 誘導を中心とした癌の悪性化に寄与するメカニズムの詳細を明らかにすることを目的とした。

【方法】 HOXB9 遺伝子による Cellular senescence 誘導のメカニズムを In vitro において詳細に検討した。

- ① HoxB9 遺伝子導入による  $\beta$ Galactosidase 染色細胞、PML 染色細胞の確認
- ② HoxB9 遺伝子導入による PML、p21、p16 の増減の確認
- ③ HoxB9 遺伝子導入による細胞周期の変化
- ④ H-Ras 導入下における上記 ①、② の確認
- ⑤ HoxB9 高発現細胞における shHoxB9 によるノックダウン効果の検証

【結果】 HoxB9 遺伝子導入により  $\beta$  Galactosidase 染

色細胞は増加し、PML 陽性細胞も増加を認めた。また Western Blot では p21 が HoxB9 により Up regulate されており、細胞周期は G1 細胞が増加していた。HRas 導入下では同様に Cellular Senescence が誘導されるが、HoxB9 により相殺された。さらに、HoxB9 高発現細胞 MB231 において shHoxB9 により Cellular Senescence は減弱傾向を認めた。

【結論】 HoxB9 遺伝子は Cellular Senescence 誘導を調節する因子である。今後、in vivo や臨床検体での検証を進める予定である。

### P3-55.

#### Amino Acid-Starving Culture Condition Enhances Gefitinib-Induced Cytotoxicity via Necroptosis-like Cell Death in EGFR-Expressing Cancer Cells

(耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

○齊藤 雄、平澤 一浩、塚原 清彰  
(生化学)

森谷 昇太、風間 宏美、日野 浩嗣  
高野 直治、平本 正樹、宮澤 啓介  
(乳腺科)

宮原 かな  
(中央校舎共同利用研究室)

國場 寛子

既に我々は頭頸部癌細胞株において、オートファジー阻害活性を持つマクロライド抗生剤が、アミノ酸飢餓条件下 (AAS) では細胞内アミノ酸プールの枯渇させることで殺細胞効果を発現することを報告した (Hirasawa K, PLoS One 2017)。一方、ゲフィチニブ (GEF) に代表される各種 EGFR-TKI が、種々の癌細胞株においてオートファジーを強力に誘導することも明らかにした (Sugita S, BBRC 2015)。今回、EGFR を高発現している各種癌細胞を用いて、AAS 条件下での GEF の殺細胞効果を検討した。

AAS 条件単独、および GEF 単剤添加においても一定の殺細胞作用が認められるが、AAS 条件下に GEF を添加することで、全ての細胞株において著しい殺細胞効果の増強が観察された。この増強作用は必須アミノ酸の培地内への再添加により抑制された。また、通常培地下で L 型アミノ酸トランスポーター LAT-1 のノックダウンによっても GEF の殺細胞効果が増強したことより、細胞内アミノ酸プール

の枯渇の関与が示唆された。

興味深いことに、AAS 条件下で増強する GEF の細胞死誘導は、アネキシン V/PI 二重染色でアポトーシスパターンをとらず、caspase-3 活性の増強も伴わなかった。電顕像ではオートファゴソーム/オートリソソームの増加とともに細胞質やオルガネラの膨化や空胞変性が観察されたが、クロマチン凝集や核の断片化は認めなかった。さらに、RIPK-1 阻害剤であるネクロスタチン-1 の添加により増強効果は有意に抑制されたが、キャスパーズ阻害剤 (Z-VAD) やオートファジー阻害薬 (3-MA, SP600125) の影響は認めなかった。これよりネクロプトーシス誘導が示唆された。しかし、同条件下で RIPK-1 や MLKL のリン酸化、および、ネクロソームの形成が観察されなかった。

以上より、アミノ酸飢餓条件下で誘導される強力な GEF の殺細胞増強は、アポトーシスやオートファジー細胞死ではない“新規ネクロプトーシス様細胞死”を介するものと考えられる。

### P3-56.

#### 低分子 G タンパク、RhoA タンパクについての検討

(消化器外科・小児外科)

○和田 貴宏、粕谷 和彦、土田 明彦  
勝又 健次、永川 裕一、石崎 哲央  
細川 勇一、榎本 正統

【背景】 もしどのような大腸癌が肝へ血行性転移す

るのかを転移成立前に知ることができれば臨床的に大きな意味を持つ。樹立された細胞株の中にも転移能を有する細胞株 (高転移能株) とその親株がある。

我々は遺伝子配列の変異に依存しない変化、いわゆるエピジェネティックな変異であるメチル化の異常に着目した。既に樹立された高転移能株 KM12SM とその親株 KM12C を用い、約 48 万か所の遺伝子のプロモーター領域のメチル化の度合いの違いを解析したところ、Rho GTPase activating protein 28 (ARHGAP28) が検索内で最も高メチル化に状態にあった。ARHGAP28 は GTPase 活性化タンパク質 (GAP) のひとつであり、活性型 RhoA-GTP を不活性型に GTPase を通じて不活性型にする。

【方法 1】 KM12SM と KM12C の RhoA 活性を Western、ELISA で比較した。

【方法 2】 当院にて 2016 年 2 月～2016 年 12 月に手術した大腸癌患者を対象とし、切除大腸癌検体から癌および正常大腸粘膜のタンパク質を抽出し、RhoA の活性を測った。

【結果 1】 Western と ELISA の両方法とも、KM12SM は KM12C より活性型 RhoA-GTP の量が多かった。

【結果 2】 現在解析中である。

【考察】 胃癌において RhoA 遺伝子に変異のある症例は数個の細胞が胞巣状の構造をとるびまん性胃癌の典型像を呈したとの報告がある。また RhoA の下流には RhoA kinase があり、その阻害剤による大腸癌細胞の遊走の阻害が報告されている。臨床検体の結果次第では RhoA は肝転移を含む、大腸癌悪性度のバイオマーカーになり得ると考えた。

---

### 国際交流学生報告 : G-01～G-12

---

#### G-01.

#### カンザス大学 留学報告

(医学部医学科 6 年)

○坪井 宥璃

I rotated the department of Clinical Allergy, Immunology, and Rheumatology at The University of Kansas

Medical Center (KUMC) for a month. I have been participating in the weekly KUMC allergy, Immunology, and rheumatology outpatient clinics for first two weeks, as well as assist in Rheumatology subspecialty inpatient consultations for latter two weeks.

At the clinics, I mainly did history-taking and general practice before doctors saw the patients and gave them presentations. Regular interesting lectures by the