

助や病勢制御による OS 延長に貢献する可能性が示唆された。

4-1.

DICER1 症候群モデルマウスにおける肝疾患に対する miRNA 補充療法の検討

(大学院修士課程 2 年分子病理学分野)

○小野 佳那、大野慎一郎、黒田 雅彦

(疾患モデル研究センター)

須藤カツ子、熊谷 勝義

DICER1 症候群は、様々な臓器で悪性および良性の腫瘍を発生する腫瘍素因症候群である。近年、肝間葉性過誤腫および肝細胞癌などの肝臓腫瘍においても DICER1 遺伝子に変異が見つかり、肝臓腫瘍の発生における DICER1 遺伝子変異が注目されている。DICER1 は microRNA (miRNA) 前駆体から 2 本の成熟 miRNA (miRNA-5p, miRNA-3p) を切り出す RNA 切断酵素である。DICER1 の RNaseIIIb ドメインにミスセンス変異を有する DICER1 症候群の患者組織では、2 本鎖 miRNA の片方 (miRNA-5p) を正しく切り出せないことが明らかとなっているが、発症機構の詳細は不明である。したがって本研究は、DICER1 症候群の発症機構を解明し治療法を開発する目的で、DICER1 症候群の患者の遺伝子型を肝臓特異的に再現する遺伝子改変マウスを作製した。結果、DICER1 症候群モデルマウスの肝臓では、miRNA-5p の発現が有意に低下しており、肝炎、線維化、胆管増生が亢進し、さらに一定の頻度で間葉性過誤腫を発症した。ヒトおよびマウスの肝臓で発現する miRNA を網羅的に解析すると、miR-122-5p 等の一部の miRNA の発現が突出して高い。このことから、DICER1 変異に伴うこれらの miRNA-5p の欠失が発症の原因である可能性が示唆された。したがって、次に miRNA-5p の補充療法の検討を行った。miRNA-5p と miRNA-3p の位置を入れ替えた miRNA 前駆体を発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを作製し、DICER1 変異体を発現する細胞株へ導入した結果、miR-122-5p 等の miRNA-5p の発現を回復させることができた。これらの結果から、miRNA-5p の補充療法は、DICER1 遺伝子変異を原因とする肝臓疾患に対する治療法として期待できる。

4-2.

Targeting endoplasmic reticulum stress enhances the inhibitory effect of ruxolitinib in mutated CALR transfected cells

(社会人大学院博士課程 4 年血液内科)

○森山 充

(東京医科大学病院：血液内科)

赤羽 大悟

(東京医科大学：生化学)

森谷 昇太、宮澤 啓介

(順天堂大学：血液内科、順天堂大学：先導的がん医療開発センター)

今井 美沙

(順天堂大学：輸血・肝細胞制御学)

荒木真里人

(順天堂大学：血液内科)

小松 則夫

(東京医科大学病院：血液内科、順天堂大学：血液内科)

後藤 明彦

Primary myelofibrosis (PMF) is a Philadelphia chromosome (Ph)-negative myeloproliferative neoplasms (MPN) with high risk of leukemic transformation. Ruxolitinib is currently the only approved JAK inhibitor to improve clinical symptoms in patients with PMF. However, ruxolitinib is not powerful enough to eliminate PMF clones. *CALR* mutations have been shown to be the drivers of PMF, and the mechanism by which mutated *CALR* directly binds to MPL to activate the JAK2 pathway has been revealed. Targets other than the JAK2 pathway to suppress PMF clones have not been fully elucidated. We reported that simultaneous inhibition of autophagy and proteasomes resulted in a pronounced anti-myeloma effect by enhancing ER stress-mediated apoptosis. Since *CALR* works as a chaperone to reduce ER stress, we examined the effect of ER stress in *CALR*-mutated cells.

We used UT-7/TPO, a human TPO-dependent cell line, as a model of megakaryocytes that are key to the pathogenesis of PMF. Mutated *CALRs* were transfected, and these cells acquired TPO-independent growth. Proteasome inhibitors suppressed growth of both types of

mutated *CALR* transfected cells. They also enhanced the inhibitory effect of ruxolitinib. Azithromycin and clarithromycin, which inhibit autophagy, did not suppress these cells but did enhance the inhibitory effect of ruxolitinib. Further, ER stress inducers, such as tunicamycin and thapsigargin, strongly suppressed the growth of these cells.

These results suggest that inducing ER stress contributes to the anti-PMF effect by JAK inhibitors in *CALR*-mutated cells.

4-3.

Canonical TGF- β signaling upregulates sensitivity to tyrosine kinase inhibition in EGFR-mutated lung adenocarcinoma

(呼吸器・甲状腺外科学分野)

○田村 温美、牧野洋二郎、大平 達夫、
池田 徳彦

(東京医科大学 分子病理学分野、Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Konkuk University)

Bae Eunjin, Hwan YoonJeong、真村 瑞子
(東京大学大学院医学系研究科)

永渕 泰雄、藤尾 圭志
(東京医科大学 人体病理学分野)

助田 葵、長尾 俊孝
(Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kyungpook National University)

Lee Inkyu
(東京医科大学 分子病理学分野)

Soo HanJin、黒田 雅彦
(Catholic iPSC Research Center, College of Medicine, The Catholic University of Korea)

Hyun JuJi
(山梨大学 大学院総合研究部(医学域)生化学講座)

宮澤 恵二
(筑波大学 医学医療系実験病理学)
加藤 光保

【Background】 By contrast with the numerous genetic mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKI) in EGFR-mutated lung adenocarcinoma, the few

mechanisms of primary resistance have been reported. Transforming growth factor (TGF)- β is the pivotal cytokine to regulate the progression and metastasis of cancers. Canonical TGF- β signaling pathway is mediated through TGF- β -specific receptor-regulated SMADs (R-SMADs): SMAD2 and SMAD3 and the common SMAD: SMAD4. However, whether and how TGF- β regulates primary EGFR-TKI resistance in lung adenocarcinoma are yet to be determined.

【Objective】 We sought to determine whether and how SMADs regulate primary EGFR-TKI resistance in EGFR-mutated lung adenocarcinoma.

【Methods】 We examined immunohistochemistry of the EGFR-mutated lung adenocarcinoma specimens obtained from EGFR-TKI sensitive and resistant patients to evaluate the expression and phosphorylation status of SMADs. We examined lung adenocarcinoma cell lines: HCC827 harboring EGFR746_A750del, NCI-H1975 harboring EGFR790M and mouse Ex3LL-luc cells for the mechanistic investigation.

【Results】 We found that C-terminal phosphorylation of SMAD2 and SMAD3 along with the expression of SMAD4 were significantly downregulated in the lung adenocarcinoma from the patients who presented primary resistance to gefitinib or osimertinib, which were significant in the lung adenocarcinoma from the sensitive patients. RNA-seq of the lung cancer cell lines in which SMADs were overexpressed or knocked-down has identified the target genes of canonical TGF- β signaling for induction of EGFR-TKI sensitivity.

【Conclusion】 Downregulation of C-terminal phosphorylation of R-SMADs and SMAD4 in the treatment-naïve tumor biopsies could be biomarkers to predict primary resistance to EGFR-TKI in EGFR-mutated lung adenocarcinoma.

4-4.

HDAC 阻害剤の抗骨髄腫作用に関する研究

(ケミカルバイオロジー)

○朝妻 知子、伊藤 拓水、半田 宏

サリドマイド誘導体である免疫調節薬 (IMiDs) は抗多発性骨髄腫活性のある薬剤として臨床でも使