

miR-92a 低下群では正常群と比べ有意 ($P=0.007$) に再発を認め、オッズ比は 15 (95%CI: 1.486_151.4)。

多変量解析では $P=0.02$ 、オッズ比は 16.323 (95%CI: 1.562_168.725)。FL でも血清 miR-92a 低下群では有意 ($P=0.013$) に再発を認め、オッズ比は 16.67 (95%CI: 1.361_204.2)。以上より完全寛解期の血清 miR-92a 測定は NHL の再発予測因子となることが判明した。

P2-29.

骨髄腫細胞株におけるボルテゾミブとバフィロマイシン A₁ との併用による小胞体ストレス誘導と殺細胞増強効果

—オートファジー、ユビキチン・プロテアソーム系および小胞体ストレスとの相互の関連性からみた効率的な癌細胞死誘導法の検討 (II) —

(医学部四年)

○川口 寛裕

(医学部五年)

大友 理

(生化学)

宮澤 啓介、森谷 昇太、車 暁芳

友田 燐夫

(人体構造学)

内藤 宗和、伊藤 正裕

プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブ (BZ) は、難治性骨髄腫 (MM) の治療薬として現在使用されている。IkB α がプロテアソームで分解されることから、これまで BZ の抗腫瘍効果の分子基盤は、NF- κ B 活性阻害が想定されてきた。また近年、ユビキチン化されたタンパクが p62/SQSTM1 を介してオートファジーにより選択的に分解される系が明らかとなった (Kirikin V et al. Mol. Cell. 2009)。一方、抗体産生の活発な MM 細胞では常に小胞体ストレス (ER stress) に曝されており、二つのタンパク分解系を阻害することにより、ER stress を介した殺細胞効果の増強が予想される。そこで BZ とオートファジー阻害剤との併用効果の検討を試みた。

BZ 添加培養により、検討した全ての癌細胞株で抗腫瘍効果を認め、特に MM 細胞株 (U266、IM-9) において強い殺細胞効果が観察された。また、BZ は MM 細胞のオートファジーと ER stress を誘

導した。一方、予想に反して BZ は NF- κ B の活性化を誘導した。オートファジー阻害作用である ba-filomycin A₁ (BAF) は、BZ の抗腫瘍効果を相乗的に増強し、p62 の蓄積と ER stress を誘導した。ただし、BZ と BAF では CHOP (GADD153)/BiP (GRP78) 発現誘導の kinetics が著しく異なり、BZ では 8 hr 以内で誘導されるのに対して BAF では 48 hr を要した。そこで ER stress 誘導を同期させるために、BAF を 48 hr 先行添加後に BZ 添加を行うと、殺細胞効果はさらに増強した。

これよりオートファジー・リソゾーム系、ユビキチン・プロテアソーム系および ER stress の 3 者間の関連性が強く示唆され、癌治療においてこれらの相互作用をコントロールすることで、より有効な治療効果が得られることが予想される。

P2-30.

子宮体癌 CDDP 耐性株を用いた薬剤感受性に関する基礎的検討

(社会人大学院四年・産科婦人科学)

○三森 麻子

(産科婦人科学)

佐川 泰一、藤東 淳也、伊東 宏絵

井坂 恵一

【目的】 CDDP は婦人科悪性腫瘍における化学療法 of the key drug であるが、子宮体癌では、CDDP 耐性になり易いことが治療上大きな障害となっていると考えられる。一方で CDDP の投与量や投与期間などの違いが、CDDP の耐性獲得能や耐性機構に及ぼす影響も見逃すことはできない。本研究では、同一株より樹立した 3 種の性状の異なる子宮体癌 CDDP 耐性株を用いて子宮体癌に対する薬剤感受性に関する検討を行った。

【方法】 CDDP 耐性株の作成は、当教室にて樹立された子宮体癌細胞株 EI を用いて、CDDP の段階増量法と大量投与法の 2 種類の方法を用いて作成した。次に MTT assay を用いて 1) EI および耐性株の CDDP に対する IC₅₀、2) 他の子宮体癌株および子宮頸癌株、卵巣癌株との比較、3) 各種抗癌剤に対する IC₅₀、4) 抗癌剤の暴露時間、培養期間についての検討、5) 多剤併用療法の効果などについて検討を行った。

【成績】 段階増量法にて耐性となった細胞の中で接着細胞のみを培養したものを EICR-Ia とし、浮遊細胞のみを培養したものを EICR-If とした。また、大量投与法にて耐性となった細胞を EICR-II とした。子宮体癌株は、子宮頸癌、卵巣癌に比べ強い CDDP 耐性を示した。単独薬剤においては、5-FU、VP-16、Taxol が耐性株に対して増殖抑制を示したが、このうち 5-FU はすべての耐性株に有用であった。多剤併用では、5-FU+CDDP が耐性株に対して最も効果的に増殖を抑制した。

【結論】 今回 CDDP の投与法の違いにより 3 種の耐性株を作成することができた。これは CDDP の投与法の違いにより異なる耐性機構が獲得されることを意味しており、その治療には各々適した薬剤の選択が重要であると考えられた。また、薬剤別には 5-FU が CDDP 耐性の克服に有用であることが示唆された。

P2-31.

SH3BP5 is a mediator of the Humanin neuroprotective signaling

(医学部三年)

○須長 正貴

(薬理学)

橋本 祐一、松岡 正明

Humanin (HN) inhibits Alzheimer's disease (AD)-relevant neuronal death by binding to the specific cell surface receptor complex, composed of CNTFR α , WSX-1, and gp130, and by activating the JAK2/STAT3 intracellular prosurvival signaling axis. In this study, we attempted identifying essential downstream effectors in the HN signaling. By performing differential display screening, we identified eight genes that were induced by HN stimulation in SHSY5Y human neuroblastoma line cells. Among them, SH3BP5 and Apollon inhibited SHSY5Y cell death induced by familial AD-linked V642I-APP if they were ectopically overexpressed. Reciprocally, the siRNA-mediated knockdown of endogenous SH3BP5, but not that of Apollon, diminished the HN neuroprotective activity against V642I-APP-induced cell death. These results suggested that both SH3BP5 and Apollon belong to the downstream effectors of the HN signaling

and SH3BP5 plays a major role while Apollon plays a minor role in the HN signaling.

P2-32.

単一心筋細胞を用いた不整脈誘発メカニズムの検討

(医学部三年)

○末永 佑太、安田 卓矢、伊藤 祐太

尾山 夏穂、齋藤 優、齋藤 円佳

【目的】 心筋細胞の Ca²⁺ 過負荷や活動電位の延長は不整脈の原因となる。今回、どのような条件下で単一心筋細胞にこれらの異常が引き起こされるかを検討した。

【方法】 モルモット (体重 350~400 g) から心臓を摘出し Langendorff 灌流下に酵素処理し、単一心室筋細胞を単離した。25°C または 37°C において 2 つの実験を行った。1) 細胞内に蛍光 Ca²⁺ 指示薬 fluo-3 を取り込ませ、電気刺激による蛍光強度の変化から細胞内 Ca²⁺ 濃度変化を記録した。2) パッチクランプ法で電流固定または電圧固定を行い、活動電位と膜電流を記録した。

【結果】 1) 細胞外高 Ca²⁺ (4 mM)+ β アドレナリン受容体のアゴニスト isoproterenol (1 μ M) を投与することにより、反復電気刺激時の細胞内 Ca²⁺ 濃度は増大した。細胞内 Ca²⁺ 濃度変化は電気刺激終了後も持続し、期外収縮が観察された。この期外収縮は Ca²⁺ チャネルブロッカー verapamil (1~10 μ M) により抑制された。2) 細胞外に Ba²⁺ (500 μ M) を投与すると活動電位持続時間は著明に延長した。膜電位固定下で、Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 電流を測定したところ、K⁺ 電流のみが強く抑制されていることがわかった。

【考察】 多くの文献に記されているように、心室筋細胞の Ca²⁺ 過負荷により、不整脈が引き起こされることを今回の実験から確認できた。細胞の Ca²⁺ 過負荷による期外収縮に対しては、心筋細胞への主な Ca²⁺ 流入経路である電位依存性 Ca²⁺ チャネルを抑制することが有効であった。一方、カリウム電流の抑制により活動電位の持続時間が延長すると、相対不応期が延長することが予想される。相対不応期に刺激が加わると、立ち上がりの遅い不完全な活動電位が発生することを確認した。したがって、K⁺ チャネルの抑制はリエントリー発生の要因となると