

25. 多機能蛋白 APE1 の急性骨髄性白血病発症リスクへの関与と治療標的としての可能性

笠原 渉¹, 後藤 七海¹, 齋藤 貴之¹
 大園 真純¹, 松井 文香¹, 山田 晴加¹
 井野 瑠美¹, 北村 裕也¹, 本間 和貴¹
 長嶋 友海¹, 高橋 範行¹, 笠松 哲光¹
 清水 啓明², 石崎 卓馬², 横濱 章彦³
 滝沢 牧子², 小磯 博美², 三井 健揮²
 塚本 憲史², 佐倉 徹⁴, 半田 寛²
 野島 美久², 村上 博和¹

- (1 群馬大院・保・生体情報検査科学)
- (2 群馬大院・医・生体統御内科学)
- (3 群馬大医・附属病院・輸血部)
- (4 済生会前橋病院)

【背景】 APE1 は DNA 修復や細胞増殖に関わる多機能蛋白である。その遺伝子多型は各種がんの発症リスクとの関連が報告されている。さらに、固形腫瘍で APE1 の高発現と薬剤耐性との関連が報告されている。以上より、がんリスクおよび病態と APE1 に密接な関わりがあると示唆されるが、急性骨髄性白血病 (AML) における役割は明らかでない。我々は、APE1 の DNA 修復活性に関わる D148E 多型、発現量に関わる -656 T/G 多型を対象に AML 発症リスクとの関連を検討した。また、その発現量や APE1 阻害剤の効果を調べ、AML の新規治療標的としての可能性を検討した。【方法】 多型解析は AML 患者 105 例、健康人 176 例を対象に、PCR-RFLP 法で行った。発現定量は AML 細胞株 6 種と対照細胞株 5 種、AML 患者 36 例と対照患者 14 例を対象に real-time PCR で行った。APE1 阻害剤は Methoxyamine と E3330 を用い AML 細胞株 6 種における効果を検討した。なお本研究は本学 IRB の承認済みである。【結果】 遺伝子多型解析では、D148E DD 型 (高活性型) が AML 患者に有意に多く (AML vs. Control = 44.7% vs. 30.6%, $p=0.02$), -656 T/G TT 型 (高発現型) も AML 患者に有意に多かった (AML vs. Control = 28.5% vs. 18.7%, $p=0.048$)。さらに APE1 が低活性かつ低発現となる遺伝子型 (nonDDnonTT 型) が AML 患者で有意に少なかった (AML vs. Control = 43.8% vs. 60.2%, $p=0.008$)。そして、APE1 は AML 細胞株および患者骨髄細胞で高発現していた。APE1 阻害剤の検討では、Methoxyamine は全ての AML 細胞株で、E3330 は一部に対して増殖抑制効果が確認された。【結論】 APE1 が高活性あるいは高発現であることが AML 発症リスクであることが示唆された。また、AML 細胞株および患者骨髄細胞において APE1 の発現が上昇していたこと、APE1 阻害剤に感受性を示したことから、APE1 が AML の新規治療標的となることが示唆された。

26. 大気 Micro-PIXE 法を用いた多発性骨髄腫細胞内微量元素の動態解析

金井 敬海¹, 笠松 哲光¹, 栗田 真彩¹
 村田 圭祐¹, 長嶋 友海¹, 山田 尚人¹
 喜多村 茜¹, 佐藤 隆博², 江夏 昌志²
 神谷 富裕³, 長嶺 竹明¹, 村上 博和¹

- (1 群馬大院・保・生体情報検査科学)
- (2 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 高崎量子応用研究所)

【目的】 多発性骨髄腫 (MM) は、自家造血幹細胞移植やサリドマイドなどの新規薬剤が導入され、生存期間が改善してきている。しかしながら、ほとんどの患者は化学療法に抵抗性であり、未だ治癒が望めない。本研究では、MM の病態解明・治療法の開発へと結びつけることを目的とし、大気 Micro-PIXE 法を用いた MM 細胞内の微量元素の測定法の確立と検討を行った。【対象と方法】 MM 細胞株 (KMS11) を用いて、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブを 0 nM, 20 nM, 50 nM の濃度で添加し、24 時間培養を行った。細胞を TRIS-HNO₃ (pH7.4) にて洗浄後、 3×10^5 個/mL に再懸濁後、集細胞遠心装置にて、500 rpm, 15 分遠心し、0.5 μ m 厚のポリカーボネート膜に細胞を接着させ、真空蒸着させる。量子機構・高崎研のシングルエンド加速器から SB コースのビームを受け取り、マイクロビーム形成を行う。ビームサイズおよびビーム電流を確認後、分析試料を大気 Micro-PIXE 分析チャンバーに装着、順次測定し、MM 細胞内微量元素を解析する。【結果】 1 細胞あたりの元素ヒストグラムの比較では、0 nM と 20 nM では各元素のピークに差は認められなかった。しかしながら、50 nM では 0 nM に比べ、Ca のピークが高かった。さらに、P, S, Cl, Ca の元素分布を比較したところ、0 nM と 20 nM では各元素の分布に差は認められなかった。50 nM では他の濃度と比較し、P 分布が断片化しており、細胞死による核の断片化を反映していると示唆された。また、50 nM では Ca 分布の核への集積が認められた。【結論】 集細胞遠心装置を応用した MM 細胞の大気 Micro-PIXE 法による微量元素の測定法を確立できた。また、プロテアソーム阻害剤による MM 細胞内の P と Ca の変動が確認された。

27. SIRP α 欠損マウスにおけるクプリゾン感受性の亢進

野津 智美¹, 橋本 美穂¹, Ruwaida Elhanbaly²
 石川 達也³, 齊藤 泰之³, 小谷 武徳³
 村田 陽二³, 深澤 有吾², 的崎 尚³
 大西 浩史¹

- (1 群馬大院・保・生体情報検査科学)
- (2 福井大学医学部医学科 脳形態機能学)
- (3 神戸大学大学院医学研究科 シグナル統合学分野)

一回膜貫通型分子 SIRP α (Signal regulatory protein α) は、免疫系と中枢神経系細胞に強く発現し、隣接する細胞