

の細胞数が低下するため、細胞数より割合で比較する方が良いと考えられた。IFN- γ^+ CD3 $^-$ CD56 $^+$ 細胞などのエフェクター NK 細胞の割合は、Fluctuating CMR グループと健常人グループに比較して STOP-IM や CMR グループで有意に上昇していた。さらに、この高い NK 細胞の活性化は、イマチニブ治療中止後 3 年以上も維持されていた。これに対して、IFN- γ^+ CCR7 $^-$ CD45RO $^+$ CD8 $^+$ 細胞などのいわゆるエフェクターメモリー CD8 $^+$ T 細胞の割合は、CMR や fluctuating CMR グループに比べ STOP-IM や健常人で有意に高かった。

以上の結果より、NK 細胞と CD8 $^+$ T 細胞の免疫学的な活性化が CML 患者の CMR への導入および維持に関与している可能性が示唆された。特に、CD8 $^+$ T 細胞の活性化はイマチニブ治療中の CMR の継続に貢献していると考えられ、NK 細胞の活性化の程度は、イマチニブ治療を安全に止められるか続けるかの免疫学的な判断基準になり得ることが期待される。

本研究は、平成 25 年度東京医科大学研究助成金により行われた研究である。

P1-3.

慢性骨髄性白血病患者における *BCL2L11* (*BIM*) 遺伝子多型はイマチニブ不耐応と関係する

(血液内科)

○片桐誠一郎、田内 哲三、勝呂多光子
浅野 倫代、吉澤成一郎、北原 俊彦
赤羽 大悟、田中 裕子、藤本 博昭
岡部 聖一、後藤 守孝、伊藤 良和
大屋敷一馬

(医総研)

梅津 知宏、大屋敷純子

(BML)

田所 健一

【目的】 近年、*BCL2L11* (*BIM*) 欠失多型を有する慢性骨髄性白血病 (CML) 患者ではイマチニブ (IM) の有効性が低いと報告されている。また CML 患者において *BIM* の一塩基多型 (SNP) もイマチニブ抵抗性に加えて、BCR-ABL 遺伝子変異の出現と関連していると報告されている。今回、undetectable minimal residual disease (UMRD) を達成した CML

患者で、これら *BIM* 遺伝子多型の有無と臨床背景の関係を明らかにする目的で本研究を行った。

【方法】 UMRD を達成した 47 例の CML 患者を対象に、*BIM* 欠失多型および SNP を Q-Invader 法により検討した。

【結果】 *BIM* 欠失多型を 6 例、SNP を 11 例に認めた。*BIM* の欠失多型や SNP を持たない群はどちらかの遺伝子多型を有している群と比較し、IM 400 mg 内服を継続できていた症例が有意に多く ($p=0.0002$)、さらにどちらかの遺伝子多型を持つ群は、有意に IM から第二世代チロシンキナーゼ阻害剤 (2nd TKI) に変更している症例が多くみられた ($p=0.0055$)。

【総括】 *BIM* 欠失多型や SNP などの *BIM* 遺伝子多型を持たない CML 症例は IM の至適投与量を維持しながら UMRD を達成し、さらに IM の中止の可能性も持っていると考えられる。以上より、*BIM* 遺伝子多型の検索は CML 治療において重要な情報をもたらすと思われる。

P1-4.

Targeting aggresome formation under simultaneous inhibition of proteasome and autophagy potentiates ER-stress mediated cell death in myeloma cells

(生化学)

森谷 昇太、車 暁芳、平本 正樹
宮澤 啓介

(乳腺科)

小松誠一郎

(医学部 5 年・生化学)

山崎 佳穂、河合 優佑

(電子顕微鏡室)

國場 寛子

(医学総合研究所)

稲津 正人

(順天堂・血液学)

後藤 明彦

(ナノ粒子先端医学応用)

半田 宏

多発性骨髄腫 (MM) は難治性造血器腫瘍であり、現在プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブ (BZ) が臨床使用されている。これまでに我々は、MM 細胞

株において① BZがオートファジーを誘導し、② オートファジー阻害活性を持つクラリスロマイシン (CAM) を併用することで小胞体 (ER) ストレス負荷の増大を介した殺細胞増強効果が得られること、さらに、③ BZ+CAM 同時添加により異常タンパク質凝集体であるアグリソームが形成されることを報告した (Int J Oncol. 2012, 2013, Biochem Biophys Res Commun. 2013)。一方、アグリソームは不良タンパク質の細胞内蓄積に対して“細胞保護的”に形成されると考えられており、この形成にはヒストン脱アセチル化酵素6 (HDAC6) が必須であることが報告されている (Kawaguchi Y, Cell. 2003)。そこで本研究では、BZによってUb-プロテアソーム系を、CAMでオートファジー-リソソーム系を、さらにHDAC6阻害活性を有するポリノスタット (SAHA) によってアグリソーム形成を同時に阻害することで、MMに対してERストレス負荷増大による殺細胞効果の増強が得られるかを検討した。

各種MM細胞株にSAHA+BZ+CAM三剤同時添加培養を行うと、BZ+CAMよりも更に著しいERストレス負荷増大と殺細胞増強効果が観察された。抗ビメンチン抗体を用いた免疫染色法では、BZ+CAMで核膜周囲へのアグリソーム形成が示唆されたが、これはSAHAを同時添加することで有意に抑制された。同様にHDAC6 siRNAによるノックダウンでもSAHA添加時の上記の現象が全て再現された。以上より細胞内タンパク質分解機構およびアグリソーム形成を効率的に遮断することは、MMのERストレス負荷を増大させ、治療成績改善につながることを示唆された。

【謝辞】 本研究は平成25年度東京医科大学研究助成金の支援を受けております。

多大なるご支援に深く御礼申し上げます。

P1-5.

Novel separation method of SDS-PAGE using inverse-gradient polyacrylamide gel

(細胞生理学)

○橋口美津子

Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) is a widely used technique to separate a mixture of proteins based on their molecular

size. Separation of proteins in SDS-PAGE relies on the gel concentration of acrylamide. Thus, suitable gel concentration must be chosen to separate target proteins.

I have been working on analyzing the regulatory mechanisms of tau phosphorylation catalyzed by tau kinases by Western blot analysis using phosphorylation dependent anti-tau antibodies. Phosphorylated tau proteins have been separated on an acrylamide gel with similar migration distances and it is not easy to distinguish all the isoforms of phosphorylated proteins by immunoblotting because of sharing the immunoreactivity. Concerning this difficulty, better separation has been expected.

We are proposing the use of inverse-gradient acrylamide gel SDS-PAGE for the separation of the proteins with subtle differences in molecular size. This modified SDS-PAGE technique traps high molecular size proteins at the top of the gel, which contains high concentration of acrylamide. Electrophoresis of smaller size of proteins accelerates with decreasing acrylamide concentration of the bottom of the gel.

As a result, the method provided wider separation of proteins with certain molecular sizes below certain molecular mass. We found that 15-5% inverse-gradient gel is best suited for the separation of the proteins smaller than 100 kDa (Journal of Electrophoresis 2011; 55: 1). We will also demonstrate further improved method of inverse-gradient gel and the result will be discussed.

P1-6.

末梢小型肺癌の診断における仮想気管支鏡ナビゲーションシステムの有用性

(社会人大学院2年外科学第一)

○大森 智一、前田 純一、嶋田 善久
吉田 浩一、萩原 優、垣花 昌俊
長瀬 清亮、梶原 直央、大平 達夫
池田 徳彦

【目的】 ヘリカルCTの普及に伴い微小肺結節の発見が増加しており、これらに対して経気管支肺生検 (Transbronchial lung biopsy: TBLB) を行う機会もまた増加傾向にあるが、現状では診断率の向上が課題となっている。当科では仮想気管支鏡ナビゲ-