

## P-05

### 難治性白血病関連遺伝子 *EVI1* は pAKT-BAD axis を通じてアポトーシス耐性に関与する

<sup>1</sup> 名古屋大学高等研究院、

<sup>2</sup> 名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、

<sup>3</sup> Cancer Sciences Unit, University of Southampton、

<sup>4</sup> 藤田保健衛生大学医学部血液内科・化学療法科

○島田 和之<sup>1,2,3</sup>、富田 章裕<sup>2</sup>、南 陽介<sup>2</sup>、安部 明弘<sup>4</sup>、  
C. Hind<sup>3</sup>、清井 仁<sup>2</sup>、M. Cragg<sup>3</sup>、直江 知樹<sup>2</sup>

*EVI1* は 3 番染色体長腕 (3q26) に位置する転写因子で、急性骨髄性白血病の予後不良因子として知られている。*EVI1* は胎生期の造血幹細胞の増殖に必須の他、様々な経路で癌遺伝子として機能するが、アポトーシスへの関与についてはほとんど知られていない。最近、我々は t(3;12) 転座を持ちイマチニブ抵抗性を示した慢性骨髄性白血病患者より細胞株 NCMT-1 を樹立し、イマチニブ抵抗性と *EVI1* との関連について検討を行った。NCMT-1 では *TEL/MDS1/EVI1* 融合遺伝子が認められ、*EVI1* タンパクの高発現を認めた。in-vitro の検討にてイマチニブ感受性株である K562 と比較して、イマチニブを初めとするチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) に抵抗性を示した。*BCR/ABL* 遺伝子に異常はなく、*BCR/ABL* 下流シグナルの検討では、K562 と同様に pCrkl、pSTAT5 が抑制され、*BCR/ABL* 直後のシグナル伝達が正常であることが示唆された。アポトーシス関連タンパクの検討では、*BCL2* の高発現を認め、TKI による *BIM* の発現誘導が認められなかった。BH3-mimetic である ABT-737 と TKI との併用では、著明な相乗治療効果を認め、TKI 耐性が完全に克服された。*EVI1* に対する siRNA (si*EVI1*) を導入した NCMT-1 では、TKI 及び ABT-737 に対する感受性の回復・増強を認め、*EVI1* 下流のシグナル分子である pAKT 及び pBAD の発現が抑制されていた。*EVI1* 抑制による *BCL-2* の発現変化は認められなかった。AKT 阻害剤を用いた更なる検討では、TKI との併用効果を認めた。これらの知見は、難治性白血病関連遺伝子 *EVI1* が TKI 耐性に pAKT-BAD axis を通じて関与し、AKT 阻害剤及び BH3-mimetic との併用にて耐性が克服しうることを示し、今後の *EVI1* 陽性急性骨髄性白血病の治療開発に寄与する可能性がある。

## P-06

### Bupivacaine は Neuro2a 細胞における naofen (WDR35) 発現を増加させる ----ROS を介する p38 MAPK 活性化との関連について

愛知医科大学医学部薬理学講座

○黄 磊、近藤 文雄、恒川 幸司、馮 国剛、  
石川 直久、岡田尚志郎

局所麻酔薬である bupivacaine は、ヒト由来神経芽腫細胞である SH-SY5Y 細胞内の活性酸素種 (ROS) を増加させ、p38 MAPK の活性化を介して、アポトーシスを誘導することが報告されている。我々は、WD repeat protein である naofen (WD repeat-containing protein 35, WDR35) がストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの腎尿管上皮細胞や lipopolysaccharide を投与したラット肝細胞において、caspase-3 活性化を介したアポトーシスを誘導することを報告してきた。本研究では、マウス由来神経芽腫細胞である Neuro2a 細胞において、bupivacaine が細胞死を誘発するか、さらにその細胞死に naofen に関与しているかどうかを調べた。Bupivacaine は Neuro2a 細胞の caspase-3 活性を増加させ、同時に細胞生存率を経時的に減少させたことから、bupivacaine は Neuro2a 細胞のアポトーシスを誘導することが確認された。また、bupivacaine は naofen 発現を濃度依存のおよび経時的に増加させ、同時に細胞内 ROS の増加を認めた。以上の実験成績より、naofen 発現の増加に対する ROS の関与が推測されたため、 $H_2O_2$  を Neuro2a 細胞に投与したところ、naofen 発現は濃度依存のおよび経時的に増加した。次に、p38 MAPK 阻害薬である SB202190 の前投与は、bupivacaine および  $H_2O_2$  による naofen 発現の増加を抑制した。さらに、フリーラジカルスカベンジャーである EUK-8 の前投与は、bupivacaine および  $H_2O_2$  による naofen 発現の増加を抑制した。以上の実験成績から、Neuro2a 細胞において bupivacaine は ROS を増加させ、p38 MAPK の活性化を介して naofen 発現の増加に関与する可能性があると考えられた。しかし、本実験系において、増加した caspase-3 活性は naofen siRNA を導入しても抑制されず、naofen は caspase-3 依存性アポトーシスに関与する可能性は示唆されなかった。今後 ROS を介する caspase 非依存性アポトーシスと naofen の関係を検討する予定である。