

[H27-3]

大気マイクロPIXE法による急性骨髄性白血病細胞内微量元素の動態解明 Analysis of Acute Myelogenous Leukemia Cell Line Using In-Air Micro-PIXE

笠松哲光 ^{#,A)}, 金井敬海 ^{A)}, 村上博和 ^{A)}
Tetsuhiro Kasamatsu ^{#,A)}, Yukihiro Kanai ^{A)}, Hirokazu Murakami ^{A)}
^{A)} Gunma University Graduate School of Health Sciences

Abstract

Doxorubicin is an anthracycline antibiotic with antineoplastic activity and intercalates between base pairs in the DNA helix. To evaluate influence of the doxorubicin, we analyzed the elemental change in acute myelogenous leukemia (AML) cell HL-60. We added doxorubicin of 0 nM, 850 nM in HL-60 and cultured 24 hours. Compared to multiple myeloma cell, HL-60 showed higher level of K. The level of K in HL-60 treated with 850 nM was lower than 0 nM.

Keyword: acute myelogenous leukemia, anthracycline

1. はじめに

急性骨髄性白血病 (AML) は分化・成熟能が障害された幼若骨髄系細胞のクローナルな自律性増殖を特徴とする多様性に富む血液腫瘍である。骨髄における白血病細胞の異常な増殖の結果、正常な造血機能は著しく阻害され、白血球減少、貧血、血小板減少に伴うさまざまな症状を呈する。適切な治療がなされない場合は、感染症や出血により短期間で致死となる重篤な疾患である。今研究では、AML の病態解明および新たな疾患の病型分類・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 AML 細胞内の微量元素の検討を行った。

2. 対象と方法

2.1 対象

急性前骨髄性白血病由来 AML 細胞株 (HL-60)

2.2 方法

アントラサイクリン系抗腫瘍薬ドキソルビシン (DXR) を 0 nM、850 nM の濃度で添加し、24 時間培養を行った。細胞を TRIS-HNO₃ (pH 7.4) 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、AML 細胞内微量元素を解析する。

3. 結果と考察

3.1 結果

AML 細胞株 HL-60 と他の血液疾患である多発性骨髄腫のヒストグラムを Figure 1 に示す。1 細胞あたりを示す濃グレーのヒストグラムを比較すると、AML 細胞株である HL-60 では、多発性骨髄腫細胞株に比べ K のピークが高かった。他の元素では細胞起源による明らかな差は認められなかった。DXR24 時間処

理の HL-60 では未処理に比べ、K のピークが低くなっていた。Si のピークも高くなっていたが、分布を確認したところ細胞の位置に関係なく全体的に高くなっていた。

3.2 考察

一般的に K は約 90% が細胞内液に存在し、神経や筋肉の興奮や伝達に重要な働きをしている。細胞膜に存在するカリウムチャンネルによって細胞内外の K の恒常性が保たれている。神経や筋以外の非興奮系細胞ではカリウムチャンネルによる K の細胞外への流出は細胞容積を減少させ、細胞種により異なるが、マイトジェンの活性化による細胞増殖とはカスパーゼやエンドヌクレアーゼ活性を上昇させ、アポトーシスが誘発される経路が存在している [1]。HL-60 は非興奮系細胞であるが、K の流出により細胞増殖と細胞死のどちらが活性化されるかは明らかではない。DXR は腫瘍細胞の DNA と複合体を形成することによって、DNA polymerase や RNA polymerase 反応を阻害し、DNA 複製、RNA の合成、ひいては蛋白合成を阻害し、腫瘍細胞の増殖を抑制する。本研究で DXR の添加により K 濃度が低下しており、DXR が直接的または間接的に K 濃度に影響し細胞死に関与していることが示唆される。今後 DXR によりカスパーゼやエンドヌクレアーゼの発現が上昇することを確認していきたい。

また、Eilらは悪性骨肉腫の細胞を用いて、細胞死を起こした腫瘍細胞が周囲環境に高濃度の K を放出することで、腫瘍特異的な T 細胞の働きを抑制すると報告している。本研究では、HL-60 は B リンパ球の最終分化段階である形質細胞が腫瘍化した多発性骨髄腫細胞株に比べ、K 濃度が高く、さらに DXR によって K 濃度が低下していた。今回培養後の培養上清を保存していないため死細胞からの K の放出を確認していないが、AML でも K の放出により周囲免疫が抑制される可能性が示唆される。

今後は他の AML 細胞株や異なる抗腫瘍薬を用いた検討を行っていく予定である。

[H27-3]

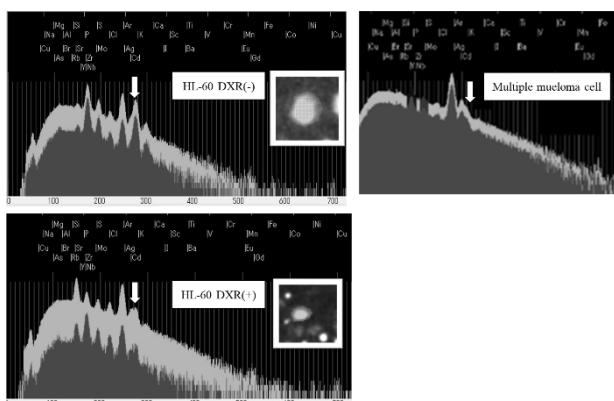


Figure 1. The histogram of AML cell and multiple myelomacells.

参考文献

- [1] Wang Z, Roles of K⁺ channels in regulating tumour cell proliferation and apoptosis. *Pflugers Arch.* 448, 274-86, 2004.
- [2] Eil R et al., Ionic immune suppression within the tumour microenvironment limits T cell effector function. *Nature.* 537, 539-543, 2016.