

示している。しかし、感染細胞では原虫と LC3, Ub の共局在は観察されなかった。原虫は、エンドサイトーシスにより細胞に侵入し、parasitophorous vacuole (PV) と呼ばれる膜に包まれるが、その後 PV 膜を壊し細胞質で増殖する。今回の結果より、感染細胞では、原虫自身は標的として認識されないが、何らかの分子が標的として Ub 化されており、その候補として PV 膜タンパク質が考えられる。本研究で、原虫がオートファジーの標的として認識されず、オートファゴソームが形成されないという可能性が示唆された。

20. *Trypanosoma cruzi* 感染は飢餓誘導性のオートファジーを抑制する

新城 翔子¹, 植松 亜美¹, 瀬戸 絵理²

鬼塚 陽子¹, 嶋田 淳子¹

(1 群馬大院・保・生体情報検査科学)

(2 群馬大院・医・分子予防医学)

【背景】 オートファジーは細胞内の大規模タンパク質分解系で、栄養飢餓などのストレスで活性化される。また、感染細胞の除去に重要であることが知られている。これまでに、細胞内寄生原虫である *Trypanosoma cruzi* は、感染宿主細胞のオートファジーの初期過程を誘導するが、その後のオートファジー経路を阻害することを明らかにした。そこで本研究では、飢餓誘導性のオートファジーにおける *T. cruzi* 感染の影響を調べることを目的とした。**【方法】** ヒト線維肉腫細胞 HT1080 細胞に、LC3 (オートファジー関連タンパク質) と GFP を融合した遺伝子をトランスフェクションし、GFP-LC3 発現細胞を樹立した。*T. cruzi* 感染、アミノ酸飢餓、およびそれらの組み合わせによりオートファジーを誘導した。LysoTracker を用いて蛍光顕微鏡下でオートリソソーム形成を観察した。さらに、蛍光抗体法により LC3 の局在変化、ウェスタンブロット法や免疫沈降法により LC3 の発現解析、LC3 の脂質化を検討した。**【結果と考察】** アミノ酸飢餓 1 h 処理により LysoTracker の蛍光強度は顕著に増加したが、*T. cruzi* 感染 9 h 後の細胞ではコントロールと同レベルであった。しかし、感染 9 h 後に飢餓 1 h 処理した細胞では、飢餓 1 h 処理のみ行った細胞に比べて LysoTracker の蛍光強度が有意に低かった。この結果は *T. cruzi* 感染はアミノ酸飢餓誘導性のオートリソソーム形成を著しく抑制していることを示唆している。オートファジーを抑制する宿主因子として、c-FLIP が知られている。これまでに、我々は *T. cruzi* 感染により宿主の c-FLIP の発現が上昇していることを明らかにした。c-FLIP は LC3 の脂質化の過程を阻害するので、原虫感染で上昇した c-FLIP によりオートファジー経路が阻害され、飢餓誘導性のオートファジーが進行しない可能性が示唆された。

21. パラフィン包埋切片を用いた遺伝子変異とコピー数変化の解析によるグリオーマの分子遺伝学的分類

山田 勢至^{1,2}, Caterina Giannini¹

Robert Jenkins¹, 横尾 英明²

(1 Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic

(2 群馬大院・医・病態病理学)

【背景】 近年我々は、グリオーマが *IDH*・*TERT* promoter 領域の遺伝子変異および染色体 1p19q 共欠失の有無に基づき、分子遺伝学的に 5 つのグループ (Triple-Positive, *IDH* Mutation Only, *TERT* Mutation Only, *TERT* and *IDH* Mutation, Triple-Negative) に分類されることを報告した。この検討さらに発展させ、50 の遺伝子変異とコピー数異常の解析によって各グループ間の特徴的な異常を詳細に調べた。**【方法】** Mayo Clinic で手術された 148 例のパラフィン包埋切片 (FFPE) より DNA を抽出し、次世代シーケンシングによる遺伝子変異の解析と、OncoScan Array プラットフォームを用いたコピー数変化の同定を行った。**【結果】** 148 例は、Triple-Positive 34 例 (23%), *IDH* Mutation Only 40 例 (27%), *TERT* Mutation Only 64 例 (44%), *TERT* and *IDH* Mutation 6 例 (4%), Triple-Negative 2 例 (1%) に分類された。*IDH* Mutation Only のほぼ全例において 2 つの *TP53* 遺伝子変異、もしくは 1 つの *TP53* 遺伝子変異と染色体 17p のコピー数変化を伴わないヘテロ接合性消失 (cnLOH) の両方、を認めた。染色体末端領域における 15MB 以下のコピー数変化は、*TERT* Mutation Only に比して *IDH* Mutation Only で有意に多かった ($p < 0.001$)。Triple-Positive では染色体 9p の部分欠失もしくは cnLOH を持つ症例は有意に予後良好であった ($p = 0.024$)。**【結論】** FFPE を用いた分子遺伝学的解析によるグリオーマの分類は、臨床像の予測、個々の症例に応じた治療法の選択、および腫瘍発生のメカニズム解明に有用であると考えられた。

22. Evaluation of Diffusion Weighted MR Imaging and ¹⁸F FDG PET for Monitoring Triple Negative Breast Cancer Response to Cisplatin Treatment

Nguyen Thu Huong, Hirofumi Hanaoka,

Takahito Nakajima and Yoshito Tsushima

(Department of Diagnostic Radiology and Nuclear Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine)

【Background】 The utility of platinum agents for triple negative breast cancer (TNBC) therapy is controversial since sometimes Cisplatin resistance occurs. In this study, we planned to evaluate the usefulness of ¹⁸F-FDG PET and diffusion weighted MR imaging (DWI) as the early predictor for Cisplatin treatment. **【Methods】** Cisplatin was intraperitoneally injected into TNBC tumor bearing mice.

Small animal PET and animal MRI scanner were used for image acquiring on before treatment (day 0), day 3, and day 7 after treatment. The highest standardized uptake value (SUVmax) and the average of apparent diffusion coefficient value (ADCmean) were measured. Tumor size was followed up until it reached to 2000 mm³. **【Results】** We divided mice into two groups (response and non response) based on tumor size (threshold of tumor size on day 14: 250 mm³). SUVmax in response vs. non response group on day 0 and day 3 were not significant difference, while SUVmax on day 7 in response group was significantly lower than those of non response group (0.68 ± 0.08 vs. 1.31 ± 0.19 , respectively, $P=0.001$). ADCmean (mm²/s) in response vs. non response group on day 0 and day 3 were 0.30 ± 0.24 vs. 0.53 ± 0.32 , 0.42 ± 0.17 vs. 0.38 ± 0.25 , respectively. There were no significant difference of ADCmean between two groups on day 0 and day 3, but ADCmean had tended to rise in response group on day 3. **【Conclusions】** SUVmax change may be an early predictor to determine the response of triple negative breast cancer to Cisplatin treatment. Since number of mice would be not enough, we need further studies.

23. ⁹⁰Y-Bevacizumab Radioimmunotherapy (RIT) in Breast Cancer Xenograft: A Preliminary Study

Ryan Yudistiro, Ayako Takahashi and Yoshito Tsushima
(Department of Diagnostic Radiology and Nuclear Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine)

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an endothelial cell-specific mitogen that play important roles in tumor angiogenesis. VEGF is overexpressed in several cancer cells including breast cancer cells. Bevacizumab is a monoclonal antibody that binds and inactivates VEGF to inhibit tumor angiogenesis, growth, and proliferation. Bevacizumab has succeeded in labeling with several radioisotopes and has potential for specifically targeted radioimmunotherapy (RIT). We evaluated in vivo therapeutic study of Bevacizumab that radiolabeled with ⁹⁰Y as RIT in breast cancer xenograft. Bevacizumab was conjugated with diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) and labeled with radioisotopes. In vivo biodistribution and therapeutic study was performed by using ¹¹¹In-DTPA-bevacizumab and ⁹⁰Y-DTPA-bevacizumab on mice bearing MDA-MB-231 breast cancer cell line. From 72 hours biodistribution study, ¹¹¹In-DTPA-bevacizumab showed high specific tumor uptake and significantly higher than ¹¹¹In-labeled non-specific monoclonal antibody ($18.10 \pm 2.01\%$ dose/gram and $6.44 \pm$

0.71% dose/gram, respectively, $p < 0.001$). From preliminary therapeutic study, ⁹⁰Y-DTPA-bevacizumab treated mice showed slower tumor growth than control mice (tumor volume at 10 days after treatment: 374.0 and 583.1 mm³ ($n=2$), and 901.2 ± 445.6 mm³ ($n=3$), respectively). Based on these results, ⁹⁰Y-DTPA-bevacizumab RIT can be a potential targeted RIT in breast cancer.

24. Detection of EGFR Positive Lung Squamous Cell Carcinoma by Dynamic Fluorescence Imaging

Xieyi Zhang, Mai Kim, Aiko Yamaguchi, Takahito Nakajima and Yoshito Tsushima
(Department of Diagnostic Radiology and Nuclear Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine)

【Objective】 To test the possibility by using fluorescence imaging to differentiate between epidermal growth factor receptor (EGFR)-expressing and non-expressing lung squamous cell carcinoma (SCC). **【Materials and methods】** Lung SCC EGFR-expression cell line H226 and non-expression cell line H520 were used. Panitumumab targeting EGFR conjugated to indocyanine green (ICG) was used for fluorescence imaging. Fluorescent microscopy study and flow cytometry were performed to test the ability of in vitro binding. 2 million H520 or H226 were subcutaneously injected into two sides of dorsal in the mice. 1 week after implantation, 50μg Panitumumab-ICG was injected intravenously and fluorescence images were acquired 6, 24, 48 and 72 hours after injection. The ratios of average fluorescent signal (AFS) of tumors and background were calculated for analysis and comparison. **【Results】** Panitumumab-ICG were initially quenched and showed an increased fluorescence signal. Fluorescent microscopy study and flow cytometry showed specific binding between conjugate and H226 but no specific binding with H520. The ratios of AFS at 48 hours (2.17 ± 0.45 versus 0.68 ± 0.16) and 72 hours (2.82 ± 0.66 versus 0.44 ± 0.21) showed significant differences between H226 and H520 ($p < 0.05$). However, there was no significant difference of the ratio between 48-hour and 72-hour images in H226 tumors ($p=0.135$). **【Conclusion】** Panitumumab-ICG demonstrated a promise as a method to differentiate EGFR positive and negative lung SCC. The optimal time to acquire such fluorescent imaging was 48 hours after conjugate injection. In vivo fluorescence study by using lung SCC lymph node metastasis tumor model will be performed for next step.