OP-381 腎がん腫瘍血管内皮細胞を用いた薬剤感受性の解析

北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学¹⁾, 北海道大学大学院歯学研究科口腔病理病態学²⁾

定本 圭弘¹⁾, 秋野 文臣¹⁾, 樋田 京子²⁾, 篠原 信雄¹⁾, 野々村 克也¹⁾

【目的】進行性腎細胞がんに対して、血管新生阻害療法が臨床応用され良好な治療効果が報告されはじめているが、腫瘍血管内皮細胞を用いての薬剤感受性に関する報告は少なくそれらに関しては不明点が多い。今回、マウスの腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞を用いて、代謝拮抗剤 5-FU と血管新生阻害剤 sorafenib に対する薬剤感受性の差異を検討した。【方法】ヒト腎がん細胞を移植したマウスから腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞を分離し、5-FU と sorafenib に対する増殖抑制効果を、細胞増殖アッセイを用いて比較した。【結果】5-FU は用量依存的にこれら細胞の増殖を抑制した。正常血管内皮細胞は 0.05~0.1ng/μl の濃度で増殖が 68~79% 抑制されたが、一方、腫瘍血管内皮細胞は 33~48% しか抑制されなかったことから、腫瘍血管内皮細胞は 5-FU に対して抵抗性があることが示唆された。sorafenib に関しては、0.2~1ng/μl の濃度で、腫瘍血管内皮細胞の方が正常血管内皮細胞より増殖が抑制される傾向がみられた。【結論】5-FU と sorafenib に対して、腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞には、薬剤感受性の相違がみとめられた。

OP-382 進行性腎癌における転移および interferon-α 感受性に関わる microphthalmia-associated transcription factor 発現の意義

筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床医学系泌尿器科¹⁾, 愛知医科大学・先端医学・医療研究拠点²⁾, 美浦中央病院泌尿器科³⁾, 筑波大学大学院人間総合科学研究科基礎医学系分子腫瘍学⁴⁾, 筑波大学産学リエゾンセンター⁵⁾
島居 徹¹⁾, 小島 崇宏^{1,5)}, 吉川 和宏²⁾, 阿弥 良浩³⁾, 内田 和彦^{4,5)}, 赤座 英之¹⁾

目的：我々は腎癌のマイクロアレイ解析にて interferon-α (IFN) 感受性関連遺伝子の候補として microphthalmia-associated transcription factor (MITF) の発現を報告した (Cancer Sci, 2007)。今回、腎癌細胞株における MITF 発現量と IFN 感受性の相関性、腎癌組織における MITF 発現の臨床的意義を検討する。方法：腎癌細胞株における *in vitro* での MITF 発現量と IFN 感受性の相関性、MITF 遺伝子導入による感受性の変化を統計学的に検討した。また 32 例の腎癌組織の MITF 発現量と臨床病理学的因子との相関性を検討した。結果：MITF 高発現腎癌株は低発現株に比べ、有意に IFN 感受性が高かった ($p=0.0032$) が、臨床的な IFN の効果との関連は評価し得なかった。抵抗性腎癌株 SKRC-33 への MITF 強制発現により IFN 感受性が濃度依存性に亢進した。腎癌組織の MITF 発現が正常腎より低い症例は有転移例が有意に多く認められた ($p=0.0353$)。結論：腎癌細胞における MITF 発現量と IFN 感受性には相関性が認められ、MITF 強制発現により IFN 感受性を獲得した。また臨床的に MITF 発現低下は転移形成に関係する可能性が示唆された。

OP-383 beta2-microglobulin (b2M) シグナル伝達系を標的とした腎細胞癌治療法の検討

大分大学医学部腎泌尿器外科学講座¹⁾, エモリー大学医学部泌尿器科²⁾

野村 威雄¹⁾, 三股 浩光¹⁾, Leland W.K. Chung²⁾

【目的】腎細胞癌増殖に関与する b2M の直接作用および抗 b2M 中和抗体による抗腫瘍効果に関して分子細胞生物学的に解析した。【方法】腎細胞癌細胞株培養上清にリコンビナント b2M 蛋白 (b2M) または抗 b2M 中和抗体を添加し、細胞増殖およびアポトーシス細胞の変化を MTS 法、コロニー形成法およびフローサイトメトリー法にて解析した。同時に、細胞増殖およびアポトーシス誘導に関係するシグナル伝達系を解析した。【成績】b2M 蛋白添加により腎癌細胞の増殖およびコロニー形成傾向が増加した。一方、抗 b2M 中和抗体添加により細胞増殖およびコロニー形成能が低下した。また抗 b2M 中和抗体によりカスパーゼカスケードの活性化とアポトーシスが誘導された。b2M 添加により Akt, ERK のリン酸化および Bad のリン酸化が誘導され、抗 b2M 中和抗体添加により Akt および ERK は脱リン酸化され、同時に JNK および Bcl-2 のリン酸化が誘導された。さらに Akt, ERK および JNK 阻害剤を用いてそれぞれのシグナル伝達系を解析したところ、JNK-Bcl-2 シグナル伝達系はアポトーシス誘導の際のみに活性化していた。【結論】b2M は Akt および ERK シグナル伝達系を活性化し、下流に位置する Bad のリン酸化を亢進することで腎癌細胞の増殖に関係しているため、抗 b2M 中和抗体による b2M シグナル伝達系の阻害は新たな腎細胞癌治療法となる可能性が示唆された。

OP-384 腎細胞癌における suberoylanilide hydroxamic acid と topotecan の併用効果

防衛医科大学校泌尿器科学講座

佐藤 全伯, 浅野 貴子, 堀口 明男, 伊藤 敬一, 住友 誠, 浅野 友彦

【目的】腎細胞癌における histone deacetylase (HDAC) 阻害剤 suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) と topoisomerase I 阻害剤 topotecan の併用効果を検討する。【方法】腎細胞癌培養株 769P, 786O, A498, Caki-1 に SAHA (0-5 μM) および topotecan (0-0.1 μg/ml) を投与し、24 時間、48 時間後の細胞増殖抑制効果を MTS assay で検討した。また、細胞周期の変化を flow cytometry で、細胞周期関連蛋白、抗アポトーシス分子の発現の変化を Western blot 法で検討した。【結果】SAHA は用量、時間依存性に細胞増殖を抑制し、ヒストンのアセチル化及び Rb の脱リン酸化を促進した。SAHA と topotecan の併用は、相乗的に細胞増殖を抑制し、また細胞周期解析では、sub-G1 fraction を増加させ、アポトーシスの誘導が示唆された。蛋白発現に関しては、cyclinD1 あるいは cdk4, 抗アポトーシス分子である XIAP, survivin の発現が抑制され、更に Caki-1 では p21 の発現が促進された。また、同併用療法では、HDAC1, 2, 3, 6 の発現も抑制された。【結論】SAHA と topotecan の併用は腎細胞癌増殖抑制に有効であった。相乗効果のメカニズムの一つとして、HDAC の機能、及び発現の抑制が考えられた。