P-257 腎細胞癌における Fas 抗原の発現と apoptosis の誘導

久留米大学¹⁾、同第一病理²⁾

井上通朗^{1) 2)}、矢野博久²⁾、神代正道²⁾、宮原 茂¹⁾、松岡 啓¹⁾、野田進士¹⁾

【目的】Fas 抗原は apoptosis を媒介する細胞表面抗原である。今回、腎細胞癌における Fas 抗原の発現とその機能に関して検討した。

【材料と方法】25 例の腎癌切除組織と 8 種類の腎癌細胞株を用いて、免疫染色と Flowcytometry (FCM) で Fas 抗原の発現を検討した。つぎに、細胞株に抗 Fas 抗体 (CH-11, 100ng/ml) を単独あるいは蛋白合成阻害剤である cycloheximide (CHX, 20 μ g/ml) の存在下で添加し、24 時間培養後に細胞数を MTT assay 法で測定した。更に、同様に処理した細胞より DNA を抽出し 1.6 % の agarose gel にて電気泳動を行った。また、細胞を 8 種類のサイトカインで 24 時間 incubate し、Fas 抗原の発現の変化と抗 Fas 抗体に対する感受性の変化を検討した。

【結果とまとめ】切除組織の免疫染色で全ての腎癌組織において、腎癌細胞に Fas 抗原の発現を認めた。また、全ての腎癌細胞株において FCM で細胞表面に比較的強い Fas 抗原の発現を認め、TNF α 、IFN α 、IFN γ 、IL1 β などのサイトカイン前処置により多くの細胞株で Fas 抗原の発現の増強を認めた。腎癌細胞に抗 Fas 抗体を単独で添加した場合、1 株は高度の、5 株は軽度の apoptosis 誘導を認めたが、残り 2 株は抵抗性であり、サイトカインの前処置による感受性の変化は認めなかった。CHX の存在下で抗 Fas 抗体を投与することにより、抗 Fas 抗体抵抗性株の apoptosis 誘導が認められた。以上の結果より、腎細胞癌では Fas 抗原の発現が高率にみられるが、抗 Fas 抗体による apoptosis 誘導には抵抗性を示し、その理由として Fas 抗原の細胞内情報伝達系の障害よりも apoptosis 抑制蛋白が新規に合成され機能していることが考えられた。

P-258 腎癌細胞における bcl-2, ICE ファミリー分子の発現とその機能

新潟大学

畠田善彦, Vladimir Bilim, 川崎隆, 谷川俊貴, 高橋公太

【目的】最近の apoptosis machinery の研究から、apoptosis を引き起こす刺激は様々であるが、apoptosis には ICE family と呼ばれる protease の活性化が必要であり、その過程でシグナルを抑制、あるいは促進する bcl-2 family と呼ばれる分子が存在することが明らかにされた。これまでに我々は腎癌細胞では p53 mutation の低頻度であること、bcl-2 が高頻度に発現されていることを報告してきた。本研究では腎癌細胞についてこれら bcl-2 および ICE ファミリー分子の発現と機能につき検討した。

【対象・方法】腎癌細胞株 7 種およびそれぞれの分子の陽性対照となる細胞株について、Immunoblotting によりその発現と、抗癌剤、IFN 処理による影響について検討した。また、apoptosis の初期 signal の一つと考えられる p53, p21 発現についても検討した。生細胞数は MTT assay 法により定量化した。

【結果・考察】bcl-2 は 7 細胞株中 5 株で高発現を認め、Ich-1, CPP32 はともに全細胞株で発現を認めた。bcl-2 低発現, p53 wild type の ACHN と bcl-2 高発現, p53 mutant type の KRC/Y について機能の検討を行ったところ、Doxorubicin, 5-Fluorouracil に対する感受性は ACHN の方が高かった。また、抗 Fas 抗体により、誘導される apoptosis は、ICE inhibitor で抑制された。以上より、腎癌細胞においても bcl-2 および ICE ファミリー分子は apoptosis に重要な働きをしているものと考えられる。