P-521 泌尿器科腫瘍における Topoisomerase (Topo I and II) の組織化学的研究

横浜市立港湾病院¹⁾、横浜市立大学²⁾
佐野克行¹⁾、宮井啓国¹⁾、穂坂正彦²⁾

【目的】Topoisomeraseは細胞分裂に欠くことのできない酵素の一つであり、分裂の盛んな癌細胞にも多く含まれている。我々が既に発表してきたように、腎癌においてはTopo IIの出現と組織の悪性度には相関が見られる。また、精巣の胚細胞腫瘍においても高率にTopo I and IIが認められる。これら以外の、大きな組織片を得にくい膀胱癌や前立腺癌でも、この酵素を測定し、化学療法を選択に寄与しようとして組織化学的研究を行った。

【対象と方法】横浜市立港湾病院及び横浜市大関連の病院から集められた精巣腫瘍、腎細胞癌、膀胱癌の手術標本は、切除された直後に冷凍庫に入れて使用まで保存されたものである。これを凍結切片に作り、固定した後、Topo I and IIに対する1次抗体と接触させ、続いて2次抗体とstreptoavidinによって紫に発色させる。エオジンにて対染色した後、鏡検する。400倍の視野を20から30箇所観察し、紫に染まった細胞の核が見られる視野が過半数ならTopo陽性と判定した。組織の一部から酵素を抽出して、TopoGEN製キットにより活性を測定し結果を比較した。

【結果、考察】Topo Iに関しては、約65%、Topo IIに関しては50%以上の例で、組織化学と酵素活性の結果が一致した。不一致の原因の一つとしては、検体が必ずしも均一でない組織から構成されているために、組織化学的検討では部分的なばらつきが一般に見られるが、抽出操作の後は一塊の組織の平均的酵素活性を測定しているという差が考えられる。正確さのためには、両方法を併用することが望まれるが、十分な量の検体が取れない場合、組織化学的な検討だけでも、化学療法剤の選択には寄与すると考える。

P-522 エリスロポイエチン産生における phospholipase A2 (PLA2) と protein kinase C (PKC) の役割

済生会中央病院泌尿器科¹⁾、チュレーン大学薬理学教室²⁾
吉岡邦彦¹⁾、James W. Fisher²⁾

【目的】虚血、低圧空、出血などで誘発される低酸素状態がエリスロポイエチン産生を刺激することはよく知られているが、そのメカニズムはまだ解明されていない。本研究においては、低酸素刺激によるエリスロポイエチン産生におけるPLA2とPKCの役割について in vitro において検討した。【方法】エリスロポイエチン産生ヒト肝細胞癌培養細胞 (Hep 3B 細胞) のエリスロポイエチン産生におけるPKC活性化剤 (1-oleoyl-2-acetyl-ras-glycerol (OAG)), N-(6-phenylhexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide (SC9)), および阻害剤 (chelerythrine chloride), PLA2の活性化剤 (oleic acid (OA)), および阻害剤 (mepacrine) の効果を検討した。低酸素下でのエリスロポイエチン産生を検討するときは、培養液を1%O₂ガスタンクと接続した。培養液中のエリスロポイエチン濃度はラジオイムノアッセイで測定した。【結果】OAGおよびSC9はともに平常酸素濃度 (20%) での Hep 3 B 細胞のエリスロポイエチン産生を増加させた (OAG-control: 37.2±2.7; 10⁻⁹M: 76.4±9.8; 10⁻⁸M: 101.5±11.4; 10⁻⁷M: 102.0±8.7; 10⁻⁶M: 76.0±8.5mU/ml; SC-9-control: 30.6±3.0; 10⁻⁹M: 72.7±11.5; 10⁻⁸M: 89.1±11.8; 10⁻⁷M: 89.1±15.3; 10⁻⁶M: 71.4±14.3mU/ml)。OAはOAGの存在下でのみ平常酸素濃度 (20%) での Hep 3B 細胞のエリスロポイエチン産生を増加させた。chelerythrine chloride および mepacrine は、ともに低酸素濃度 (1%) で刺激されている Hep 3B 細胞のエリスロポイエチン産生を阻害した。【結語】低酸素刺激によるエリスロポイエチン産生機序においてPKCの活性化は重要な役割を果たしており、またPLA2はPKCの作用を増強することでエリスロポイエチン産生に関与していることが示唆された。