O-165 IFN- γ による抗 Fas 抗体での腎癌細胞のアポトーシスの増強と DEVD-CHO (CPP32 inhibitor)による阻害

新潟大学・富田善彦, BILM Vladimir, 川崎隆, 谷川俊貴, 高橋公太

【目的】細胞障害性リンパ球(CTL)の作用発現には, Fas-FasL システムが重要であることが知られており, このシステムを含んだアポトーシスの機構の最終段階で ICE family 分子が基質蛋白を分解することが, 直接アポトーシスを引き起こすことが知られている. 今回我々は抗 Fas 抗体によるアポトーシス誘導と IFN- γ の影響, および ICE family 分子に対する阻害剤の効果について検討した.

【対象・方法】腎癌細胞株 ACHN と KRC/Y を用いた. アポトーシスの誘導は抗 Fas 抗体(CH-11)により, 生細胞数の検討は主に MTT アッセイにより行った. 各分子の発現は, RT-PCR, immunoblotting にて検討した. また, stat-1 のチロシンリン酸化については immunoprecipitation により検討した.

【結果】腎癌細胞株では抗 Fas 抗体(CH-11)によりアポトーシスが誘導され, これは IFN- γ により増強された. このアポトーシスはいずれも, CPP32 inhibitor である DEVD-CHO により阻害された. また, IFN- γ での処理で, Stat-1 のリン酸化と IRF-1 分子, ICE 分子の発現増強が観察された.

【考察】以上より, 腎癌細胞では Fas-FasL システムでアポトーシスが誘導され, この機構の中に ICE 分子が重要な働きをしていることが示唆された. また, IFN- γ は stat-1 のリン酸化と IRF-1 分子, ICE 分子の発現の増強を通してアポトーシスの増強に働くことが考えられ, これが IFN- γ の抗腫瘍効果発現の一つのメカニズムとも考えられる.

O-167 腎細胞癌における glutathione S-transferase- π の発現と cisplatin に対する感受性の検討

九州大学

野間秀哉・内藤誠二・後藤健・横溝晃・古賀寛史・中島信能・小藤秀嗣・長谷川周二・山崎武成・古川学・熊澤浄一

【目的】腎細胞癌は各種抗癌剤に耐性であり, その機序については種々の検討がなされている. Glutathione S-transferase- π (GST- π) は生体内に広く分布し, 解毒機構に関与する多機能酵素であり, 癌組織における発現と薬剤耐性との間に密接な関係があることが示唆されている. 今回われわれは, 腎細胞癌における GST- π の発現と cisplatin に対する感受性との関連について検討した.

【方法】1) 腎細胞癌手術材料 83 例について GST- π の発現を免疫組織化学的に検討し, 病理学的特徴との関連について検討した. 2) その内 28 例については Succinate Dehydrogenase Inhibition (SDI) 法により感受性テストを行い cisplatin に対する感受性との関連を検討した. 3) NKK1, KPK1, SN12C, Caki1, SKR1 の 5 種類の培養人腎細胞癌細胞株の cisplatin に対する感受性をコロニー法により検討した. また, これらの GST- π mRNA の発現を検討した. 4) KPK1 に対しては GST- π 遺伝子を導入し cisplatin に対する感受性の変化を検討した.

【結果】1) GST- π の発現と病理学的特徴の間に明らかな関連はみられなかった. 2) GST- π の発現率と cisplatin に対する感受性の間に明らかな関連はみられなかった. 3) 培養細胞株においても cisplatin に対する感受性と GST- π mRNA の発現の間に明らかな関連はみられなかった. 4) 遺伝子導入株と親株では cisplatin に対する感受性に有意差はみられなかった.

【結論】腎細胞癌の cisplatin 耐性と GST- π の発現との間に明らかな関連はみられなかった.

O-166 Analysis of the mechanism of angiogenesis inhibitors *in vitro*

Dept. of Urology, Nagasaki University School of Medicine, *Ludwig Inst. for Cancer Res., **Dept. of Pediatric Surgery and ***Dept. of Medical and Physiological Chemistry, Biomedical Centre, Uppsala, Sweden
Shigeru Kanda, Takefumi Shono, Ulla Engström*, Rolf Christofferson**, Lena Claesson-Welsh***, and Yutaka Saito

Angiogenesis plays an important role for progression of malignant solid tumors including renal cell carcinomas. Inhibition of angiogenesis is a potential target for the treatment of solid malignant tumors. Many kinds of angiogenesis inhibitors have been reported, the activities of which have been determined by the *in vivo* angiogenesis assays, such as the cornea assay and the proliferation of cultured endothelial cells. However, the effect of these inhibitors on differentiation of capillary endothelial cells is poorly examined. We have established a capillary endothelial cell line from H-2K^b-tsA58 transgenic mouse brain, which differentiates in response to FGF-2. Using this *in vitro* system, the effect of a panel of angiogenesis inhibitors on differentiation of endothelial cells was analysed. TNP-470 and the Col I peptide from thrombospondin-1 (TSP-1) had no inhibitory effect on differentiation of endothelial cells. Platelet factor 4 (PF4) and native TSP-1 inhibited both proliferation and differentiation of endothelial cells. A peptide from laminin was found to inhibit only differentiation of endothelial cells. Effects of these inhibitors on signaling molecules lying on the FGF receptor-1 signal transduction pathway will also be demonstrated.

O-168 マウス腎癌に対するインターフェロン・レチノイド併用療法の基礎的検討

神戸大学

田口 功・原 勲・郷司和男・武市佳純・後藤章暢・山田裕二・山中和樹・玉田 博・岡田 弘・荒川創一・守殿貞夫

【目的】Interferon (IFN)は進行性腎細胞癌に広く用いられているが, その治療効果は必ずしも十分でなく, 化学療法剤や他の免疫賦活剤との併用が試みられている. 一方, ビタミンAの誘導体であるretinoidは種々の癌においてIFNとの相乗効果を示すことが報告されている. そこで, 我々はIFNと13-cis-retinoic acid (CRA)との併用効果につきマウス腎癌転移モデルを用いて検討したので報告する.

【方法】マウス腎癌細胞株RencaにFGF-2遺伝子を導入した高転移株(Renca/F)5x10⁵個をBALB/Cマウスの尾静脈より注入した. その後マウスIFN- α/β およびマウスIFN- γ 各5,000 IU, CRA1.2mgを単剤で, あるいはIFNとCRAの2剤を同時に腹腔内に連日投与し, 2週間目に肺転移結節数を測定し, これら薬剤の転移抑制効果を検討した. また, 対照群としてphosphate buffered salineを投与した.

【結果】肺転移結節数の平均値は対照群; 290.4 $\pm$ 58.9個 (n=5), IFN- γ 単独投与群; 39.8 $\pm$ 30.2個 (n=5), IFN- α/β 単独投与群; 275.6 $\pm$ 50.0個 (n=5)およびCRA単独投与群で210.2 $\pm$ 79.2個 (n=5)とIFN- γ およびCRA投与群で有意に低値を示した(p<0.05). 2剤併用投与群における肺転移結節数の平均値はIFN- γ ・CRA併用群; 3.4 $\pm$ 4.9個 (n=5), IFN- α/β ・CRA併用群; 50.0 $\pm$ 26.7個 (n=5)と単独投与群に比べても有意に低値を呈し(p<0.05), IFNはCRAとの併用でその転移抑制効果が増強されることが示された.

【結論】IFN・CRA併用療法は腎癌の治療法として有用であることが示唆された.