O-321 尿路上皮癌における9q32-33領域 (DBC1) のメチレーション異常

秋田大学 泌尿器科¹⁾ 京都大学 泌尿器科²⁾

羽瀧 友則¹⁾ 王 立忠¹⁾ 高橋 毅²⁾ 赤尾 利弥¹⁾ 佐藤 滋¹⁾
佐藤 一成¹⁾ 小川 修²⁾ 加藤 哲郎¹⁾

【目的】我々は9q上の尿路上皮癌の抑制遺伝子候補領域を9q32-33にマップし、新たな遺伝子DBCCR1を同定した。さらにDBCCR1の5'領域のCpG methylationにより、その発現が抑制されることを報告した。今回、尿路上皮癌を対象としてDBCCR1-5'領域のCpG methylationを調べ、その発症におけるCpG methylationの意義を検討した。【対象と方法】膀胱癌細胞株 6例、正常尿路上皮11例、様々な病期の尿路上皮癌23例、多発尿路上皮癌21症例の44の腫瘍、計84検体を対象とした。bisulphite処理したDNAを用いてPCR増幅後、シーケンスを行い、DBCCR1-5'領域の20カ所のCpG siteのmethylationを評価した。【結果と結論】正常尿路上皮では加齢に伴いわずかながらDBCCR1の5'領域の methylationが認められる。高度のmethylationが認められる細胞株もあるが、DBCCR1の発現とは必ずしも相関しない。またこのmethylationは尿路上皮癌の進展とは相関せず、他の遺伝子変化 (LOH) とは別に進行していることが示された。詳細なCpG methylation mapは新たなgenetic fingerprintとなる可能性がある。またCpG siteの異常メチレーションが加齢に伴う尿路上皮癌の発症に寄与している可能性がある。

尿路上皮癌 分子遺伝学 メチレーション

O-322 Caspase involved synergistic cytotoxicity of bcl-2 antisens phosphorothioate oligodeoxynucleotide and Adriamycin on Transitional cell cancer cells

新潟大学 医学部 泌尿器科学教室¹⁾

Bilim Vladimir¹⁾ 笠原 隆¹⁾ 原 昇¹⁾ 高橋 公太¹⁾ 富田 善彦¹⁾

Introduction and Objectives. Bcl-2 is a critical regulator of apoptosis in variety of cell systems. Transitional cell cancer (TCC) cells expressing high levels of Bcl-2 are resistant to ADM triggered apoptosis. Here we examined antisens phosphorothioate oligodeoxynucleotide (AS PODN) - mediated downregulation of Bcl-2 expression and its effect on sensitivity to Adriamycin (ADM) treatment in TCC cell line. Methods. Cell viability was measured by MTT assay in T24 cells, high Bcl-2 expressors, with or without bcl-2 AS PODN. Bcl-2 family molecules were examined with immunoblot analysis. Evaluation of caspase activity and TUNEL staining were performed to confirm apoptosis. Results. Treatment of T24 cells with bcl-2 AS PODN downregulated Bcl-2 expression in T24. Administration in combination with ADM resulted in synergistic cytotoxicity, accompanied with an increase in DEVD-specific caspase activity. Conclusions. bcl-2 AS PODN reduced Bcl-2 protein and sensitized T24 cells to ADM treatment. bcl-2 AS PODN might be useful means for overcoming drug resistance in highly malignant TCC.

antisense oligonucleotides

Bcl-2 caspase

O-323 進行膀胱癌症例に対するHLA拘束性腫瘍抗原エプITOペプチド刺激自己血樹状細胞による免疫治療

慶應義塾大学 医学部 泌尿器科¹⁾

宝酒造バイオメディカル研究所²⁾

橘 政昭¹⁾ 西山 徹¹⁾ 小津 兆一郎¹⁾ 堀口 裕¹⁾ 村井 勝¹⁾
竹迫 一任²⁾

【目的】多剤併用化学療法に抵抗性を示した転移性進行膀胱癌患者を対象に腫瘍特異抗原を標的とした自己血樹状細胞による免疫治療の安全性ならびに臨床効果を検討した。【対象ならびに方法】腫瘍退縮抗原(MAGE-3)発現膀胱癌患者で多臓器転移を伴い多剤併用化学療法および放射線治療に抵抗性を示しかつHLA-A24である4症例を対象にMAGE-3/HLA-A24エプITOペプチド刺激自己血樹状細胞(DC)約1x10⁸細胞を2週に1回皮下投与し、副作用を含め臨床経過を観察した。【結果】1例にDC投与後、発熱を認めた以外明らかな副作用は認めなかった。4例中3例に何らかの転移部位における変化を認めた。第一症例はDC投与3回後、消化管穿孔に伴う敗血症を生じ死亡した。剖検ではリンパ節転移の消失が認められた。第2例ではDC投与6ヶ月後に肺炎にて急死した。剖検では傍大動脈周囲リンパ節転移の著明な壊死が認められた。症例3は肝、傍大動脈周囲リンパ節転移が画像上著明な縮小を認めたが、その後、脳転移が出現し死亡した。【まとめ】腫瘍特異抗原を標的とした、自己血樹状細胞による免疫治療は進行膀胱癌の治療として今後の臨床応用の可能性が示唆されるものと考えられる。

進行膀胱癌 樹状細胞 免疫療法

O-324 Antitumor Activity of BCG-Activated Killer(BAK) Cells against Bladder Tumor implanted into SCID mice and the Mechanism involved Apoptosis

弘前大学 医学部 泌尿器科学¹⁾

劉 星星¹⁾ 工藤 誠治¹⁾ 盛 和行¹⁾ 鈴木 唯司¹⁾

(objective)we try to investigate the antitumor effects of BAK cells *in vivo* and determine if it may induce the tumors implanted into SCID mice to undergo apoptosis. (Methods and Results)Lymphocytes were cocultured with BCG, PHA, OKT3 and IL-2 for 3days, and the activation was evaluated by alamer blue assay. Then cytotoxicity assays were performed with 5637 cells as target. At an E/T ratio of 12:1, the specific lysis was 36.6% with BAK cells, significantly higher than the control(P<0.001). HE stain showed that infiltrating cells were recruited to the tumor area after BAK injection, and there were obvious apoptosis and necrosis in the tumors. Immunostain(SAB method) displayed that the infiltrating cells were CD3⁺ with a predominance of CD8⁺(88.37%) versus CD4⁺(11.63%). TUNEL revealed that the number of apoptosis positive tumor cells in BAK-treated mice was higher than those in the control(P<0.001).(Conclusion)Our data indicate that BAK cells not only have cytotoxic effect *c in vitro* but also develop tumorocidal activity against bladder tumor *in vivo* and the mechanism is supposed to be involved to apoptosis. BCG BAK cells bladder cancer