P- 1 Tumor growth induced by MET mutant M1268T in papillary renal carcinoma is dependent on c-Src activity

横浜市立大学 医学部 泌尿器科¹⁾ 米国国立癌研究所²⁾

中井川 昇¹⁾ Zbar Berton²⁾ 岸田 健¹⁾ 矢尾 正祐¹⁾ 穂坂 正彦¹⁾

Mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene predispose to human papillary renal carcinoma. In vitro assays demonstrated transformation of NIH 3T3 cells by mutant MET genes and constitutive phosphorylation of mutant MET proteins. NIH 3T3 cells transfected by MET mutant M1268T showed constitutive c-Src protein binding and activation. F4 cells, a clone of NIH 3T3 cells transformed by MET mutant M1268T changed shape from spindle to round, aggregates and detached from dish surface in vitro. F4 cells transfected with dominant negative Src genes showed spindle shape, did not aggregate and remained attached to dish surface in vitro. Constitutive phosphorylation of paxillin and FAK detected induced by MET mutant M1268T was inhibited by transfection with dominant negative Src genes. In nude mice, the size of tumors originating from F4 cells was reduced by dominant negative Src. We conclude that tumor growth in nude mice and morphological change in vitro induced by MET mutant M1268T are dependent on the activity of c-Src.

papillary renal carcinoma MET mutant M1268T c-Src

P- 2 腎細胞癌における形質膜局在シアリダーゼの発現

東北大学 医学部 泌尿器科¹⁾

宮城県がんセンター 生化学

斎藤 誠一¹⁾ 和田 正²⁾ 佐藤 信¹⁾ 大山 力¹⁾ 新宅 一郎¹⁾

折笠 精一¹⁾ 宮城 妙子²⁾

【目的】シアリダーゼは糖鎖シアル酸量の制御分子として重要な役割を果たしている。そのなかで形質膜局在シアリダーゼ(hmSD)はGM3を含むganglio-series gangliosidesを脱シアル化する。われわれは腎細胞癌の糖脂質変化について研究し、globo-series gangliosideの発現と腎癌転移との関連を示し、腎癌細胞においてGM3とglobo-series gangliosideの発現が互いに逆関係にあることを報告した。以上より、hmSDの発現上昇がGM3の減少すなわち腎癌の悪性進展に向かう可能性が示唆されたため、まず腎癌症例におけるhmSDの発現をみることを目的とした。【方法】手術により得られた5例の正常腎と腎癌原発巣組織、2例のリンパ節転移巣組織よりtotal RNAを抽出し、competitive RT-PCR法によりhmSDのtranscriptの発現をみた。【結果】正常腎と腎癌原発巣組織の間にはhmSDのtranscriptの発現の差に一定の傾向は見られなかったが、同一症例で比較した2例のリンパ節転移巣組織におけるhmSDのtranscriptの発現は正常腎および腎癌原発巣組織に比較して増加していた。【総括】検討した症例はまだ少ないがhmSDは腎細胞癌の悪性進展に関与している可能性が示唆された。今後さらに症例を増やすとともに、腎細胞癌株におけるhmSD cDNAのstable transfectionを予定している。

腎細胞癌 形質膜局在シアリダーゼ RT-PCR

P- 3 腎細胞癌より単離されたthymosin beta-10

愛知医科大学 泌尿器科学教室¹⁾

愛知医科大学 第2病理学教室²⁾

赤堀 将史¹⁾ 吉川 和宏²⁾ 本多 靖明¹⁾ 山田 芳彰¹⁾ 日比 初紀¹⁾
瀧 知弘¹⁾ 佐賀 信介²⁾ 深津 英捷¹⁾

【目的】Differential display法を用いて腎細胞癌に特異的、あるいは高発現する遺伝子の単離を試み、得られた遺伝子産物の腫瘍マーカーとしての可能性と腎細胞癌に対する染色性を検討した。(材料と方法)腎細胞癌、正常腎組織のRNAを材料としたRT-PCRを行い、発現に差の認められたバンドの遺伝子の抽出、塩基配列を決定し、既知の遺伝子との相同性を検査した。同時にNorthern blot法を実施して正常腎組織と腎細胞癌における発現を検査した。腎細胞癌に発現の高かったthymosin beta-10(TB-10)の一部についてペプチドを合成し、抗体を作製した。抗体はペプチドアフィニティーカラムにて精製し、精製抗体を用いたsandwich ELISA法により、腎細胞癌組織、腎細胞癌株培養上清中より抗原の検出を試みた。さらに作製された抗Thymosin beta-10抗体を用いて腎細胞癌の染色性を蛍光抗体法にて検討した。(結果)腎細胞癌に強く発現する4遺伝子を単離した。これらはTB-10, HLA-DR α chain, 残り2つは未知の遺伝子であった。抗TB-10抗体を用いたsandwich ELISA法により、腎細胞癌組織の可溶化物、腎細胞癌株培養上清から抗原を検出することができ、蛍光抗体法にて腎細胞癌に染色性を示した。(考察)TB-10の腫瘍マーカーとしての可能性が示唆された。

differential display thymosin beta-10 腎細胞癌

P- 4 腎癌におけるリソソームシアリダーゼの発現異常

宮城県がんセンター 泌尿器科¹⁾

宮城県がんセンター 研究所 生化学部門²⁾

川村 貞文¹⁾ 栃木 達夫¹⁾ 桑原 正明¹⁾ 和田 正²⁾ 宮城 妙子²⁾

【目的】表層膜糖鎖の末端に位置するシアル酸は、細胞の癌化に際して質的量的に変化し、とくに癌の浸潤や転移と密接に関連している。これら糖蛋白や糖脂質糖鎖のシアル酸を脱離することによって、シアル酸量調節の重要な一端を担っているシアリダーゼは、近年の遺伝子クローニングの進展によって、癌化や癌の悪性度と深い関わりがあることが明らかになってきた。本課題では、まだ報告例がない腎癌におけるシアリダーゼの発現について検討した。とくに細胞内での主要なシアリダーゼであるリソソーム局在シアリダーゼについて、発現異常が認められたので報告する。【対象および方法】当センター泌尿器科で根治的腎摘出手術が施行された腎癌患者13例を対象とした。新鮮摘出標本から癌組織および正常組織を採取し、それぞれRNAを抽出、競合的RT-PCR法を用いてリソソームシアリダーゼのmRNAレベルを定量した。【結果】腎癌組織では、正常腎組織に比べてリソソームシアリダーゼのmRNAレベルが有意に上昇していた($p < 0.0016$)。一例を除くすべての症例で上昇(1.5-2.4倍)が認められた。また、転移巣では原発巣よりも上昇傾向にあり、リソソームシアリダーゼ発現と腎癌転移との関連性が示唆された。高発現異常の意味や機構についても検討している。

リソソームシアリダーゼ 腎癌 競合的RT-PCR

示
(討論あり)
説