MP-197 プロテオーム解析による VHL 病の表現型成因の解明

京都大学医学部泌尿器科¹⁾, ダナファーマー癌研究所²⁾
中村 英二郎¹⁾, 川西 博晃¹⁾, 栗倉 康夫¹⁾, 井上 貴博¹⁾,
Kaelin William²⁾, 小川 修¹⁾

【目的】VHL 病は腎細胞癌、網膜血管腫、副腎褐色細胞腫などの発症を特徴とする家族性腫瘍であり、その表現型は多岐にわたる。近年、VHL 遺伝子蛋白 (pVHL) が E3 ligase 活性を有し、HIF- α を蛋白質レベルで制御していることが判明した。今回、プロテオーム解析を用いて多様な表現型を呈する原因の解明を試みた。

【方法、結果】pVHL (-) 腎癌細胞株に Wt-VHL を導入、2 次元泳動法により Mock を導入した細胞株との培養上清蛋白質の比較解析を行ったところ、pVHL (+) 細胞で clusterin の過剰産生を認めた。同蛋白質は mRNA レベルで pVHL に制御されており Luciferase Assay の結果、プロモーター領域の AP-1 結合配列を Responsible Element としていた。同結合配列を用いた Gelshift Assay では JUN protein family の一つである JUNB の pVHL (-) 細胞核内での特異的な増加を認め、ラット正常副腎髄質細胞で同蛋白質を強制発現させたところ Anti-apoptotic effect を示した。また、JUNB は pVHL が atypical PKC の kinase activity を抑制することにより調節されていることも明らかとなった。副腎褐色細胞腫のみを発症する亜型 (Type2C) の VHL 病家系に認められる L188V mutant において pVHL の標的蛋白、HIF- α 分解能が保持されているのに比して JUNB が制御されてないことから JUNB の過剰発現が副腎褐色細胞腫の成因であると考えられた。

MP-198 腎細胞癌組織における matrix metalloproteinase (MMP) -10 発現の検討

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科腎泌尿器病態学¹⁾,
長崎大学大学院感染病態制御学²⁾
大庭 康司郎¹⁾, 宮田 康好¹⁾, 岩田 隆寿¹⁾, 神田 滋²⁾,
錦戸 雅春¹⁾, 金武 洋¹⁾

【背景】腎細胞癌の進展には各種の要素が関与している。その代表的なものに matrix metalloproteinase (MMP) family が挙げられ、その多くは癌細胞周囲組織を分解し、癌細胞の浸潤に促進的に作用している。近年、MMP-10 が肺癌などの浸潤に関与していることが知られているが、腎細胞癌組織における発現の検討は少なく、臨床的意義もよくわかっていない。【目的】腎細胞癌にて根治的摘出術を受けた 76 名 (男性 59 名、女性 17 名) を対象とした。MMP-10 の発現はホルマリン固定パラフィン包埋標本を免疫染色学的に検討した。【方法】pT stage は pT1 が 42 名、pT2 が 15 名、pT3 が 16 名、pT4 が 3 名であり、MMP-10 が陽性であったのは、それぞれ 15 名 (35.7%)、8 名 (53.3%)、11 名 (68.8%)、3 名 (100%) であり有意差を認めた ($P=0.034$)。また、high grade な腫瘍で MMP-10 発現は有意に高頻度であった ($P=0.012$)。一方、リンパ節転移を 6 名に、遠隔転移を 14 名に認めたが、転移を有する腫瘍で MMP-10 発現が高い傾向にはあったがものの、有意差はなかった ($P=0.059$ および $P=0.077$)。また、MMP-10 の発現と腫瘍径との間には関連を認めなかった。【結語】MMP-10 は腫瘍の分化や浸潤と関連を認めた。MMP-10 が腎細胞癌の進展、特にその初期の段階において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

MP-199 ヒト腎細胞癌における S100A10 蛋白の発現

聖隷浜松病院泌尿器科¹⁾, 浜松医科大学泌尿器科²⁾, 静岡県立大学生体健康科学研究科生体防御研究室³⁾

杉山 貴之¹⁾, 工藤 真哉¹⁾, 高山 達也²⁾, 影山 晃代²⁾,
堂本 知寛³⁾, 野沢 野沢龍嗣³⁾, 劉 紅明²⁾, 麦谷 莊一²⁾,
大園 誠一郎²⁾

目的: われわれはこれまで、ヒト腎癌組織における Ca 結合蛋白である S-100 A10 protein 遺伝子の発現について報告してきた。今回、対象症例数の増加とともに臨床・病理学的背景因子との相関を加え検討を行った。対象: 対象は、浜松医科大学泌尿器科および関連施設で、2001 年 3 月から 2005 年 3 月までに根治的腎摘除術を施行し、病理組織学的に腎細胞癌と診断した 38 例である。対象の内訳は、男 31 例、女 7 例、年齢: 64.6 ± 12.4 (35—84) 歳。腎癌組織、正常部 (非癌部) 組織につき RT-PCR 法を用いて S-100 A10 protein を測定した。臨床・病理組織学的診断は腎癌取り扱い規約 (第 3 版) に準じた。結果: 腎癌組織、正常部ともに S-100 A10 mRNA が検出された症例は 28 例、腎癌組織のみで検出された症例は 4 例であった。検出例・非検出例の間で臨床病期、異型度、浸潤様式および腫瘍長径、赤沈・IAP などのパラメータで明らかな差は認められなかった。結語: 腎癌組織での S-100 A10 検出の有無と臨床・病理学的背景因子の間では明らかな相関は認められなかったが、過去に報告した Western Blotting による発現結果と併せて考察する

MP-200 VHL 遺伝子変異に伴うシグナル伝達経路の活性化と腎細胞癌増殖への関与

京都大学医学部泌尿器科学講座

山崎 俊成, 中村 英二郎, 川西 博晃, 栗倉 康夫,
井上 貴博, 神波 大己, 伊藤 哲之, 賀本 敏行,
小川 修

【目的】腎細胞癌 (RCC) の発癌には pVHL の不活化に伴った HIF をはじめとする標的遺伝子の発現亢進が深く関わっている。一方、ERK や S6K をはじめとする細胞内シグナル伝達経路も RCC 細胞増殖への関与が示唆されているが、pVHL の不活化との関係は明らかではない。そこで本研究では RCC 細胞株を用いて VHL 遺伝子変異に伴うシグナル伝達経路の活性化と細胞増殖への関与について検討した。【方法】pVHL (-) RCC 細胞株 786-O 及び A-498 に Wt-VHL vector を再導入した細胞株 (WT-7, WTD10)、mock を導入した細胞株 (PRC3, PRCJ17) を用いた。一定期間無血清培地にて培養後に蛋白を抽出し、主としてリン酸化抗体を用いた Western blotting 法にて ERK 及び mTOR/S6K のシグナル伝達経路の活性に差があるかを検討した。【結果】p-ERK は PRC3 と WT-7 に差はなかったが、PRCJ17 では WTD10 に比して活性が亢進していた。また、PRC3, PRCJ17 では、WT-7, WTD10 と比して p-mTOR、p-S6K、p-4EBP の活性は亢進していた。【総括】pVHL 不活化にて、mTOR 下流のシグナル伝達経路が活性化している可能性が示唆された。S6K、4EBP の恒常的活性化は細胞増殖や形質転換に関与する為、mTOR シグナル伝達系が RCC の治療標的となると考えられた。Wortmaninn, Rapamycin 等の薬剤を用いて細胞増殖能の検討を進め報告する。