PP-041 腎細胞癌におけるイレッサ感受性に関するプロテオーム解析

防衛医科大学校泌尿器科学講座

黒田 健司, 住友 誠, 浅野 貴子, 瀬田 香織,

佐藤 全伯, 伊藤 敬一, 浅野 友彦, 早川 正道

【目的】腎癌細胞株におけるイレッサ感受性の差異を、タンパク質発現の変化としてプロテオーム解析により検討する。

【方法】当教室にて継代培養している腎癌細胞株に対しイレッサを投与し、細胞数の計測とフローサイトメトリーを実施した。イレッサに対する感受性の高い細胞と、抵抗性を有する細胞からタンパク質を抽出し、等電点電気泳動法(1次元目電気泳動)およびSDS-PAGE(2次元目電気泳動)を施行した。泳動の終了したゲルにおいてCoomassie brilliant blue染色によりタンパクのスポットを可視化し、画像解析ソフトを用いてゲル間のスポットを比較し、明らかに差のあるスポットを同定した。【成績】イレッサ投与後の細胞数、フローサイトメトリーからイレッサ感受性の最も高い細胞株はCaki-1で、最も抵抗性のある細胞株はACHNであった。これらの細胞で2次元電気泳動を実施してゲル間のスポット比較を行い、差のあるスポットは37個観察された。イレッサ感受性の高いCaki-1において発現の増強しているスポットは23個、イレッサ抵抗性を有するACHNにおいて発現の増強しているスポットは14個であった。【結論】タンパクの同定に課題を残すものの、プロテオーム解析は、腎癌細胞株におけるイレッサ感受性の差異を検出し得るものと思われた。

PP-042 腎細胞癌株に対する水溶性フェノキシジン誘導体の抗腫瘍効果

東京医科大学泌尿器科学教室¹⁾, 東京医科大学生化学教室²⁾

大野 芳正¹⁾, 宮川 絢子¹⁾, 大堀 理¹⁾, 坂本 昇¹⁾,

権藤 立男¹⁾, 中神 義弘¹⁾, 吉岡 邦彦¹⁾, 堀口 裕¹⁾,

並木 一典¹⁾, 秦野 直¹⁾, Tomoda Akio²⁾, 橘 政昭¹⁾

【目的】フェノキシジン化合物は、アクチノマイシンDの骨格成分であり、その誘導体である2-amino-4,4 α -dihydro-4 α -7-dimethyl-3H-phenoxazine-3-one (Phx-1)は、ヘモグロビンと2-amino-5-methylphenolの反応により容易に合成される。Phx-1は、様々な癌細胞株に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されているが、腎細胞癌株に対する効果は、現在まで明らかでない。今回の研究では、腎細胞癌株に対するPhx-1の効果を明らかにすることを目的とした。【方法】腎細胞癌株は、Caki1およびKU19-20を使用した。Phx-1は、10, 25, 50, 75, 100 μ Mで添加し24~48時間培養した。細胞増殖における効果は、24, 48時間後にalarBlueによる色素還元法で測定、またapoptotic cellは、TUNEL法にて検出した。【結果】Phx-1は、濃度依存性に増殖抑制効果を示し、特にCaki-1において高い増殖抑制効果を示した。Caki-1、KU19-20の増殖は、50 μ M Phx-1添加24時間後でそれぞれ42%、8%、また100 μ Mで63%、25%、50 μ M Phx-1添加48時間後で59%、31%、100 μ Mで86%、59%であった。Phx-1添加によりアポトーシスが誘導されていることが確認された。【結論】Phx-1は、腎癌細胞株においても増殖抑制効果を示すことが明らかとなったが、今後マウスモデルでの検証が必要であると考えられた。

PP-043 α -Galactosylceramide (α -GalCel) のマウス進行性腎癌株 RENCA に対する抗腫瘍効果の検討

秋田大学医学部泌尿器科学¹⁾, 弘前大学医学部泌尿器科学²⁾

井上 高光¹⁾, 畠山 真吾²⁾, 齋藤 満¹⁾, 熊澤 光明¹⁾,

湯浅 健¹⁾, 松浦 忍¹⁾, 土谷 順彦¹⁾, 大山 力²⁾,

羽瀧 友則¹⁾

【目的】 α -Galactosylceramide (α -GalCel) はNKT細胞に発現するCD1dリガンドであり、NKTを賦活しサイトカインの放出による抗腫瘍効果が期待される。マウス皮下にマウス腎癌株RENCAを移植し、 α -GalCelの抗腫瘍効果を検討した。【対象と方法】RENCAを、Balb/c下肢に2 $\times$ 10⁵個皮下注射した。ManCer群に、2 μ g Mannosylceramide (ManCer)を腹腔内投与し、 α -GalCer群には、2 μ g α -GalCerを腹腔内投与した。抗NK1.1抗体+ α -GalCer群に、RENCA移植前に抗NK1.1抗体200 μ gを腹腔投与し、 α -GalCer 2 μ gを腹腔内投与した。腫瘍容積およびマウス血中サイトカイン濃度を比較検討した。【結果】 α -GalCer群はManCer群に比べ、有意に腫瘍容積が小さかった(p=0.0001)。抗NK1.1抗体+ α -GalCer群は α -GalCer群に比べ、有意に腫瘍容積が大きかった(p<0.0001)。抗NK1.1抗体+ α -GalCer群はManCer群に比べ、腫瘍容積に有意差はなかった。 α -GalCer群はManCer群に比べ、有意に血中サイトカイン濃度が上昇した。【結論】 α -GalCerはRENCAに対して抗腫瘍効果があり、NK1.1陽性細胞を介した経路が含まれる可能性が示唆された。

PP-044 腎癌細胞の増殖・分化に対する脂肪細胞の影響

佐賀大学医学部泌尿器科学

金子 新, 佐藤 勇司, 藤山 千里, 徳田 雄治,

有働 和馬, 魚住 二郎

【目的】当教室では脂肪細胞の分離培養法を確立し、脂肪細胞が分泌するadipocytokineが癌細胞の増殖と分化に関与することを報告してきた。腎細胞癌は周囲脂肪組織へ浸潤すると予後が悪くなることは臨床的に周知のことである。多くの腎癌症例でPI3KやMAPKを活性化させるEGFRが高発現しているとの報告があり、この関連性が指摘されている。そこで、EGFRの関与を調べる目的で腎癌細胞株と分離した脂肪細胞との混合培養を行い、EGFR下流シグナルであるPI3K pathway (特にAKT-Badシグナル: 抗アポトーシス作用)の変化を検討した。

【方法】5つの腎癌細胞株をラットの単離脂肪細胞とコラーゲンゲル3次元培養した。増殖能を細胞集塊サイズ、BrdU indexで評価し、AKT-Badシグナルの評価は免疫染色で行った。

【結果】癌細胞単独培養群に比べ混合培養群で増殖が促進された細胞株ではBadのみリン酸化が亢進していた。一方、混合培養によって細胞形態変化が著明であった細胞株ではAKT-Badシグナルに変化を認めなかった。

【結論】腎癌細胞はその増殖・分化において脂肪細胞から影響を受けたが、その影響は一様でなかった。増殖が促進された細胞株ではAKTを介さないリン酸化Bad亢進の関与が示唆された。細胞形態の変化を認めた細胞株では他の機序(MAPK pathwayなど)の関与が示唆された。