PP-425 腎細胞癌における acyl-coenzyme A cholesterol acyltransferase 発現の検討—臨床パラメーターとの相関

熊本大学医学薬学研究部泌尿器病態学

松本 賢士, 中熊 健介, 吉田 正貴, 上田 昭一

【目的】腎細胞癌は、細胞内にコレステロールエステルが蓄積していることが知られている。その原因の1つとして Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) の活性の上昇が挙げられる。以前、我々は clear cell type の腎細胞癌において ACAT 活性が上昇していることを報告した。今回は、ACAT の isozyme である ACAT-1、ACAT-2 の発現と臨床パラメーターとの相関も検討した。【方法】19 例の clear cell type の腎細胞癌症例から得られたサンプルを使用した。ACAT 酵素活性は放射性同位元素ラベルした基質を用い、再構築法にて測定した。ACAT-1、ACAT-2 の発現は免疫染色、immunoblot 法にて検討した。【結果】ACAT 活性は clear cell type の腎細胞癌において正常腎に比較して 5.7 倍の活性上昇を認めた。免疫染色、immunoblot 法では、腎細胞癌組織に ACAT-1 の強い発現を認めた。Densitometer にて定量化すると腎細胞癌では、正常腎と比較して 2.9 倍の ACAT-1 の発現を認めた。ACAT-2 の発現は腎細胞癌でも正常腎でも認められなかった。臨床パラメーターとの相関では、ACAT 活性は細胞学的悪性度 (grade) と高い相関を認めた。【結論】clear cell type の腎細胞癌では ACAT-1 の発現が亢進し、ACAT 活性が上昇している。これは腎細胞癌の細胞内コレステロールエステル蓄積の一因となっている可能性がある。

PP-426 ヒト腎細胞癌における Brain specific Angiogenesis Inhibitor 1 (BAI 1) 遺伝子発現の意義

岩手医科大学医学部泌尿器科学

井筒 俊利, 近田 龍一郎, 小原 航, 藤岡 知昭

BAI 1 遺伝子は、脳で特異的に発現する血管新生抑制遺伝子として分離、同定された。その後、脳腫瘍以外にも肺癌、乳癌などでその発現が低下または消失する事が報告されている。我々は、ヒト腎細胞癌株 (ACHN、Caki 1) に BAI 1 遺伝子を導入し、抗腫瘍効果を検討すると共に、腎細胞癌臨床検体を用いて BAI 1 遺伝子の発現と臨床病理所見との関連性について評価した。重症複合型免疫不全マウス皮下にヒト腎細胞癌株を移植し腫瘍の増殖を観察した。BAI 遺伝子導入株では LacZ 導入あるいは Wild type に比較し移植 20 日から有意な増殖の抑制が観察された。この腫瘍増殖抑制には、腫瘍内微小血管の有意な減少が関与していた。次に、臨床検体における BAI 1 mRNA の発現 (real time PCR) と臨床データとの関係を検討した所、癌組織では非癌部に比して BAI 1 mRNA の発現が有意に低下していた。また、BAI 1 mRNA は T1・2 症例に比し T3・T4 症例で有意に発現が低かった。この結果、BAI 1 遺伝子発現の低下が腎細胞癌進行に関与すると考えられ、BAI 遺伝子導入による腎細胞癌治療の可能性が示唆された。なお、現在免疫染色法による BAI 1 蛋白の発現も検討中であり、これも併せて報告する予定である。

PP-427 腎細胞癌における sFRP2 遺伝子の DNA メチル化ならびにヒストン修飾に関する検討

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科尿路系腫瘍学¹⁾,

米サンフランシスコ退役軍人局医療センター泌尿器科²⁾

川元 健^{1,2)}, 平田 寛²⁾, 菊野 伸之²⁾, 榎田 英樹¹⁾,

西山 賢龍¹⁾, Rajvir Dahiya²⁾, 中川 昌之¹⁾

【目的】分泌型 Frizzled 関連蛋白質遺伝子 2 (sFRP2) のメチル化は腎細胞癌 (RCC) はじめ膀胱癌、直腸癌などで報告されている。しかしながらヒストン修飾に関する検討はまだない。今回我々は、RCC における sFRP2 遺伝子のメチル化とヒストン修飾に関して検討を行った。【方法】免疫組織染色により RCC 20 例における蛋白発現を、Real-time RT-PCR 法によりヒト近位尿細管細胞株 (HK-2)、RCC 細胞株 (Caki-1, Caki-2, A-498, ACHN) における sFRP2 遺伝子の mRNA 発現を評価。細胞株におけるメチル化とヒストン修飾を bisulfite DNA sequencing 法ならびに chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay で行った。【結果】RCC 85% (17/20) で sFRP2 遺伝子の蛋白発現がみられず、全ての RCC 細胞株で mRNA の発現低下を認めた。Caki-1 細胞のプロモーター領域は partial methylation, その他の RCC 細胞株は hypermethylation の状態だった。全ての RCC 細胞株で不活性型のヒストン修飾パターンが認められた。Caki-1 細胞はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (TSA) で発現回復あり。他の RCC 細胞株は TSA では発現回復は認めなかったが、脱メチル化剤 (DAC) により発現回復を認めた。【結論】腎細胞癌における sFRP2 遺伝子の発現低下には DNA メチル化とともにヒストン修飾が関与していることが示唆された。

PP-428 腎細胞癌のスクリーニングによりファージ抗体ライブラリーから単離された抗 EGFR 抗体の機能解析

藤田保健衛生大学腎泌尿器外科¹⁾, 藤田保健衛生大学 21 世紀 COE プログラム超低侵襲標的化診断治療開発センター²⁾, 藤田保健衛生大学総合医科学研究所抗体プロジェクト³⁾

佐藤 乃理子^{1,2)}, 白木 良一¹⁾, 住友 万里子²⁾, 小川 恵子²⁾, 村松 千穂²⁾, 松田 一起²⁾, 黒澤 仁³⁾, 森田 美和³⁾, 赤堀 泰³⁾, 星長 清隆¹⁾, 黒澤 良和³⁾

【目的】EGFR (Epidermal growth factor receptor) は腎細胞癌の 40~85% に発現し、過剰発現は癌細胞増殖能や遠隔転移に関連すると報告されており、腎癌治療の良い標的と考えられる。我々はこれまでに phage display 法を用いて作成された抗体ライブラリーと腎癌細胞株のスクリーニングにより、2 種類の抗 EGFR 抗体を単離した。抗体の主な抗腫瘍作用は ADCC 活性、自己リン酸化阻害などが考えられており、これらを測定することにより、2 種類の抗 EGFR 抗体の機能解析をした。【方法】本学総合医科学研究所抗体プロジェクトにて作成されたヒト B リンパ球を材料としたファージ抗体ライブラリー (AIMS 5 ライブラリー) と腎癌細胞株のスクリーニングにより 2 種類の抗 EGFR 抗体 (059-15, 062-130) を単離した。機能解析には 3 種類の樹立腎癌細胞株 (CCF-RC1, ACHN, Caki-1) 標的とし、これらの抗体の ADCC 活性、リン酸化阻害、細胞増殖抑制を測定した。【結果】ADCC 活性は CCF-RC1, ACHN を標的細胞とした場合、ともに 35~40% 認められた。リン酸化阻害は 062-130 では認められたが、059-152 では認められなかった。細胞増殖抑制試験では 059-152, 062-130 とともに細胞増殖抑制が認められた。【結論】本実験により我々が単離した 2 種類の抗 EGFR 抗体は in-vitro において腎癌細胞株に対する抗腫瘍効果を有しているものと考えられた。