

P1-12.**プロテオーム解析に基づく非小細胞肺癌関連蛋白の検討—サイトケラチン発現に関して—**

(大学院単位取得・外科学第一)

○小鹿 雅和

(外科学第一)

平野 隆、片場 寛明、前田 純一

岩崎賢太郎、坪井 正博、大平 達夫

加藤 治文

(病理診断学)

松林 純、芹沢 博美、向井 清

【目的】 原発性肺癌の生物学的性格を反映するバイオマーカーの探索を目的に Ettan-DIGE 法による肺癌組織型関連蛋白の検出・同定を試みた。

【材料と方法】 肺癌組織型ごとに 4~8 症例の組織分化中等度~高分化症例の 2 次元電気泳動 (2DE) 用サンプルを混合し、それぞれの組織型標準サンプルとして蛍光標識後に 2DE を施行、各組織型に高発現するスポットを検出した。各スポットは質量分析法 (MALDI-TOF MS) で蛋白質分子を同定、検証は肺癌腫瘍組織の免疫組織化学染色によって行った。

【結果】 19 種類の扁平上皮癌関連蛋白質 (eSq)、16 種類の腺癌関連蛋白質 (eAd)、17 種類の神経内分泌癌関連蛋白質 (eNE) を検出、この内 6 種類の eSq、8 種類の eAd 関連蛋白質分子を同定した。同定蛋白質の内 8 種類はサイトケラチン (CK) (eSq: CK5、CK6A、CK6C、CK6D、CK17; eAd: CK8、CK18、CK19) であり、肺癌組織の免疫化学染色による検証を行い、各組織型間での CK の発現に特徴があることを示した。

【考察】 腫瘍関連蛋白質の発現量に基づいて肺癌を分類することで、腫瘍の生物学的性格を反映させることが可能となり、治療法選択に応用も可能と考える。

P1-13.**Vitamin K2 は胆管癌細胞株に対して autophagy を伴った抗腫瘍効果を有する**

(大学院単位取得・外科学第三)

○榎本 正統

(外科学第三)

土田 明彦、河北 英明、青木 達哉

(内科学第一)

宮澤 啓介、横山 智央、大屋敷一馬

(人体構造学)

内藤 宗和、伊藤 正裕

Vitamin K2 (VK2) は白血病や肺癌、胃癌、肝細胞癌など種々の悪性腫瘍細胞株に対して in vitro で抗腫瘍効果を有することが報告されてきた。しかし、その作用機序に関しては apoptosis の誘導や細胞周期の停止、分化誘導などが関与するとされるが詳細については明らかでない。

本研究では、胆管癌細胞株および VK2 添加によって apoptosis 誘導および細胞周期停止を介して増殖抑制効果を有することが既知である白血病細胞株 HL-60 を用いて VK2 の抗腫瘍効果および作用機序について比較検討した。その結果 VK2 は 3 つの胆管癌細胞株いずれに対しても抗腫瘍効果を有していた。しかし、これまでの悪性腫瘍細胞株に対して APO2.7 を指標として測定した apoptosis 細胞の割合は少なく、細胞周期停止作用も顕著ではなかった。形態学的には細胞質内に vacuoles を有する細胞を多数認め autophagy に関連する細胞死を生じていることが示唆された。電子顕微鏡で観察すると VK2 添加群では、細胞質内に autophagosome および autolysosome を多く認めた。acridine orange 染色後、蛍光顕微鏡下に観察を行ったところ、VK2 添加群では、autophagy に特徴的である細胞質内の acidic vesicular organelles の増加を認めた。さらに経時的な形態観察を行ったところ、control 群では vacuoles 形成を生じている細胞はほとんど認めなかったが、VK2 添加群では vacuoles を有する細胞の割合は培養時間に対して正の相関を有していた。

本研究では胆管癌細胞株を用いて VK2 の抗腫瘍効果および作用機序について検討した。その結果従来の白血病株や胃癌や肺癌細胞株とは異なり、apoptosis の影響は小さく autophagy が誘導され増殖抑制効果を認めたので報告する。