

P2-15.

乳癌細胞における clarithromycin と bortezomib との併用による小胞体 (ER) ストレスを介した殺細胞増強効果—プロテオゾームおよびオートファジー・リソゾーム同時阻害による ER ストレスの増強—

(乳腺科)

○小松誠一郎、河野 範男

(生化学)

宮澤 啓介、森谷 昇太、友田 燁夫

(医学部5年)

高瀬 晶子

(医学総合研究所)

稲津 正人

(人体構造学)

内藤 宗和、伊藤 正裕

現在、多発性骨髄腫の治療に 26S プロテオゾーム阻害剤 bortezomib (BZ) が使用されている。一方、BZ の乳癌細胞に対する殺細胞効果も報告されている。最近、マクロライド系抗生剤 clarithromycin (CAM) がオートファジー・リソゾーム系を阻害し、骨髄腫細胞の増殖抑制を有することが報告された。我々は、BZ の殺細胞効果が ER ストレスを介することを報告した。今回、BZ と CAM の併用でユビキチン・プロテオゾーム系とオートファジー・リソゾーム系の2つの主要な細胞内タンパク分解系を同時阻害することで、ER ストレス増強による乳癌細胞の殺細胞効果を検討した。

BZ は乳癌細胞株 (MDA-MB231, MDA-MB468) にアポトーシスとオートファジーを誘導した。BZ+CAM 同時添加で、これらの細胞株に対しアポトーシス誘導の増強を認めた。CAM 単剤では殺細胞効果はほとんど認めなかったが、オートファゴゾーム形成と p62 タンパクの蓄積が認められた。これより、CAM がリソゾーム機能を阻害してオートファゴゾーム分解を止めていることが示唆された。BZ+CAM 併用では BZ 単剤に比べ、western blotting による LC3B-II/LC3B-I 比の上昇と p62 のクリアランス増加を認め、オートファジー誘導の増強が観察された。また、BZ+CAM で pro-apoptotic transcription factor CHOP (GADD153) と GRP78 の発現誘導を著しく増強した。si-RNA による CHOP のノック

ダウンで、MDA-MB231 細胞に対する BZ の殺細胞効果が減弱した。さらに、Chop-/- MEF 細胞株では wild type に比べ BZ に抵抗性を示し、かつ、BZ+CAM 併用による殺細胞増強効果は完全消失した。

以上より BZ+CAM 併用による乳癌細胞株の殺細胞効果の増強は ER ストレス増強に伴う CHOP 誘導が大きく関与していると考えられた。

P2-16.

* 前立腺再生検における前立腺癌検出率予測ノモグラムの開発

(社会人大学院4年泌尿器科学)

○伊関 亮

(泌尿器科学)

大堀 理、大久保秀紀、澤田 陽平

大野 芳正、中島 淳、橋 政昭

【目的】 本邦でも前立腺癌は急激に増加しており10年後には肺癌を抜き最も頻度の高い癌になるとまで言われている。血清前立腺特異抗原 (prostate specific antigen、以下 PSA と略す) の普及により前立腺生検を施行される患者は急速に増加し、早期発見が可能になった。その一方で前立腺生検で癌が陰性であっても、完全に癌は否定できず、その後も生検を繰り返し施行される患者が多く存在する。再生検の際に癌陽性・陰性の正確な予測が可能になれば患者の疼痛や負担を軽減するのはもちろん、医療経済に与える影響も大きい。そこで、われわれはノモグラムという統計学的手法を用い、臨床において利用可能な因子を全て用いて再生検癌予測モデルの作成を試みた。

【対象と方法】 2000年から2010年までに当院で前立腺生検を受けた2,600症例(3,500回)のうち初期生検陰性で再生検を受けた459例を対象とし生検の各因子単独、組み合わせでの予測能力をROC分析で検討。Logistic分析によりノモグラムを作成した。

【結果】 459例に対して計807回の再生検が施行された(平均1.7回、範囲1~7回)。807回中16.4%に癌陽性を認めた。再生検時の平均年齢は67.3歳(36-87)、PSA値は10.1ng/ml(0.2-76.7)であった。1回目の再生検で16.3%、2-3回目の再生検で

16.9%、4-7回目でも14%に癌を認めた。有意な各因子の予測能力 (AUC) は PSATZ density 0.68、PSA density 0.64、PSA 0.56、生検本数 0.56、年齢 0.57、HGPI0.52 であったが、これらを組み合わせることにより 0.75 と有意に改善した。Logistic 分析をもとに再生検癌予測ノモグラムを作成した。

【考察】 再生検における癌予測は容易でないが各因子を組み合わせることで、より良い予測能力が得られ、これを基に作成したノモグラムは再生検決定の一助となると思われた。

P2-17.

低酸素環境における Exosomal miRNA を介した血管内皮-癌細胞間情報伝達機構の解析

(東京薬科大学大学院薬学研究科)

○田所 弘子

(先端分子探索寄附講座)

梅津 知宏

(医学総合研究所)

大屋敷純子

(内科学第一)

大屋敷一馬

【緒言】 近年、分泌小胞であるエクソソームにより細胞外放出される miRNA (exosomal miRNA) の存在が示され、細胞間情報伝達への影響が検討されている。一方、細胞間情報伝達においてその周辺の微小環境が重要視されている。特に、低酸素微小環境では虚血疾患やがんにおいて血管新生が生じるため、強い関心を集めている。本研究では、低酸素環境下での exosomal miRNA による細胞間情報伝達に対する影響を検討した。

【方法】 exosomal miRNA を多く分泌することが知られている白血病由来細胞 (K562 cells) と血管内皮細胞として用いられる正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) を、それぞれ窒素ガスにより酸素濃度 1% に維持したインキュベーター内にて単独培養し、低酸素の指標である HIF-1 α や miR-210 の発現をウエスタンブロッティングおよび RT-PCR によって測定した。また tube formation assay を用い、血管新生における低酸素環境の影響を検討した。

【結果】 K562 cells、HUVECs 共に低酸素環境下において miR-210 が高発現した。また HUVECs にお

いて低酸素環境下における HIF-1 α の発現上昇がみられた。HUVECs 単独による tube formation assay では長期的な低酸素環境下で網目形成が抑制される傾向がみられた。一方、K562 cells 上清を添加した低酸素環境下で網目形成が促進する傾向がみられた。

【考察】 K562 cells、HUVECs ともに低酸素環境に応答性を持つことが確認された。また虚血疾患や腫瘍における血管新生は、酸素濃度のみによる影響ではなく複合的な因子による結果であることが示唆された。

P2-18.

Overexpression of TDP-43 causes partially p53-dependent G2/M arrest and p53-independent cell death in HeLa cells

(薬理学)

○鈴木 宏昌、李 嬉京、松岡 正明

It has been hypothesized that the dysregulation of transactive response DNA-binding protein-43 (TDP-43) in neurons is closely linked to the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions. However, it remains undefined whether the dysregulation of TDP-43 in non-neuronal cells contributes to the pathogenesis of these neurodegenerative diseases. In this study, we show that a low-grade overexpression of TDP-43 causes p53-dependent G2/M arrest and p53-independent death in non-neuronal cells including glial cells. Because glial cells support the integrity of neurons, it is likely that TDP-43-induced G2/M arrest and death of non-neuronal cells may contribute to the neuronal loss through the non-neuron-autonomous toxicity.