

P1-11-4 CaMKI, II を標的とした子宮内膜癌, 卵巣癌の治療

大分大

高井教行, 吉良尚子, 石井照和, 西田正和, 奈須家栄, 植原久司

【目的】細胞内に流入した Ca^{2+} はその細胞内受容体 calmodulin と複合体を形成し calcium/calmodulin-dependent kinase (CaMK) を活性化させ細胞周期など様々な細胞反応に関与する。われわれは、子宮内膜癌, 卵巣癌における CaMKI, II の発現とそれらを標的とする KN-93 の抗癌作用について検討した。【方法】患者の同意を得て採取された子宮内膜癌, 卵巣癌組織より急速凍結切片を作成し CaMKI, II, PCNA の免疫染色を行い、様々なパラメーターとの相関を比較した。患者の同意を得て採取されたヒト正常子宮内膜上皮細胞, 子宮内膜癌, 卵巣癌細胞株に KN-93 を添加し, MTT assay で細胞増殖抑制効果を検討した。Flow cytometry, ウェスタン法で細胞周期とアポトーシスの解析を行った。これらの研究は全て IRB の承認を得た。【成績】CaMKI, II の発現は、病理組織学的予後因子と有意な相関を認めた。子宮内膜癌, 卵巣癌細胞株は KN-93 によって著明に増殖が抑制されたが、同じ濃度の KN-93 を投与しても正常子宮内膜上皮細胞の増殖は抑制されなかった。細胞周期では G0/G1 arrest が確認された。また annexin V assay, ミトコンドリア膜電位の解析でアポトーシスに陥った細胞が増加していた。ウェスタン法では、cyclin D1, cyclin A, bcl-2 の蛋白発現は減弱し、cleaved caspase-3 の発現が亢進した。【結論】CaMKI, II の発現は子宮内膜癌, 卵巣癌の病理組織学的予後因子と相関していた。それらを標的とする KN-93 は子宮内膜癌, 卵巣癌細胞株に対し強力な細胞増殖抑制効果を有し、その機序として細胞周期を停止させ、アポトーシスを誘導するためと考えられた。

P1-11-5 担癌マウスの腫瘍浸潤マクロファージと p53 遺伝子の解析

川崎医大¹, 滋賀医大²郭 翔志¹, 山下聡美¹, 佐野力哉¹, 石田 剛¹, 張 良実¹, 福家信二¹, 前田岳史¹, 中井祐一郎¹, 高橋健太郎², 村上 節², 下屋浩一郎¹, 中村隆文¹

【目的】子宮頸癌の発生に HPV が関与しているが、浸潤癌となるのは HPV 感染患者の 1% 未満でありその浸潤・進展機構は未だ不明である。そこで我々は水晶体上皮に未分化癌が発生するマウスを用いて、癌抑制遺伝子である p53 遺伝子が自然免疫、特に癌の浸潤や転移と関連する腫瘍浸潤マクロファージ tumor associated macrophage (TAM) の機能に影響するかを検討した。【方法】HPV と同じ DNA ウィルスである SV40 の T 抗原をマウスの水晶体上皮に特異的に発現させて多段階発癌するマウス ($\alpha T3$) を作製し、さらにこの $\alpha T3$ と p53 欠損マウスを交配させて p53 欠損発癌マウス ($\alpha T3 (-)$) を作製し、腫瘍局所 (眼球) と全身 (腹腔内) のマクロファージを、汎マクロファージに発現する MAC2 と、腫瘍免疫を抑制するIDO、悪玉の Type2 TAM に発現する F4/80 を免疫組織染色し、各抗原の陽性 TAM 数を比較検討した。実験対照として腫瘍の発生していない p53 欠損マウスと野生型 FVB マウスとを用いた。【成績】(1) 腫瘍局所におけるマクロファージ数の検討では、MAC2 および F4/80 陽性 TAM 数では $\alpha T3$ と $\alpha T3 (-)$ の両群で有意差を認めなかったが IDO 陽性 TAM 数は $\alpha T3 (-)$ の方が有意に多かった ($P < 0.05$)。 (2) 腹腔内のマクロファージ数の検討では、IDO 陽性 TAM 数も $\alpha T3$ と $\alpha T3 (-)$ の両群で有意差はなくさらに p53 欠損マウスと FVB マウスにおいても有意差は認めなかった。 (3) 担癌マウスでは非担癌マウスより IDO 陽性 TAM が多く浸潤している傾向があった ($P = 0.082$)。【結論】マクロファージの p53 欠損が免疫寛容に関与する IDO の発現に直接は影響しないが、p53 の欠損した腫瘍が腫瘍局所において IDO 陽性 TAM の浸潤を誘導して腫瘍の浸潤進展に影響している可能性を示唆した。

P1-11-6 LMP2 および Ki-67 抗体を用いた子宮平滑筋肉腫と核分裂像を有する子宮筋腫との鑑別に関する検討

大阪市立大¹, 大阪市立総合医療センター², 信州大免疫制御学科³, 信州大⁴, 和泉市立病院⁵松田真希子¹, 市村友季¹, 笠井真理¹, 隅蔵智子⁵, 川村直樹², 林 琢磨³, 堀内晶子⁴, 石河 修¹

【目的】子宮平滑筋肉腫の病理診断の指標となる核異型・核分裂像・凝固壊死のうち、核分裂像は通常筋腫においてもしばしば認められる所見である。そのため微小である生検標本での診断では、核分裂像のみが認められる場合、平滑筋肉腫の所見であるのか通常筋腫に見られる分裂像なのかを判断することが困難となる。そこで、平滑筋肉腫と生検標本中に核分裂像がみられる通常筋腫の鑑別に関する後方視的検討を行った。【方法】説明と同意を得て悪性疾患の除外を目的に生検を行った子宮筋腫症例のうち、生検標本に核分裂像のみられた 8 例を対象とした。8 例中 6 例は手術摘出標本で通常筋腫と診断され、2 例は生検後 5 年以上経過するも腫瘍に変化なく通常筋腫と判断した。8 例 (筋腫群) に抗 LMP2 および Ki-67 抗体を用いた免疫染色を行い、同じく説明と同意を得て生検を行った平滑筋肉腫 5 例 (肉腫群) の染色所見と比較検討した。LMP2 の染色結果は範囲と強度をもとにスコア化 (diffuse・陽性: 2 点, focal・弱陽性: 1 点, 陰性: 0 点) して各スコアの積を用い、Ki-67 の染色結果は labeling index (LI) を用いて評価した。【成績】筋腫群の LMP2 スコアは 2~4 点 (中央値 4 点), 肉腫群の LMP2 スコアは 0~2 点 (中央値 0 点) で、筋腫群のスコアは肉腫群に比べ有意に高かった ($P < 0.01$)。筋腫群の LMP2 スコアは 4 点: 6 例, 2 点: 2 例で、2 点: 2 例における Ki-67 の LI は 5% および 0% であった。肉腫群で LMP2 スコアが 2 点であった症例は 1 例で、その Ki-67 の LI は 39% であった。【結論】LMP2 スコア 2 点ならびに Ki-67 LI 15% を Cut off 値をとした場合、核分裂像のみられる通常筋腫と平滑筋肉腫を生検標本で鑑別できる可能性が示唆された。