

OII-05

免疫学的シナプス形成における脂質ラフト構成脂質の局在の検討

馬場 健, 古矢 直己

茨城県立医療大学保健医療学部医科学センター

【目的】 免疫シナプスの形成には、細胞接着分子や細胞骨格とともに脂質ラフトが重要な役割を担っている。しかし、脂質ラフトを構成する脂質の動態については十分には検討されていない。今回、スフィンゴミエリン (SM) を特異的に認識するライセニン (Lys) を用いて、T細胞活性化時のSMの動態を検討した。

【材料と方法】 Jurkat細胞を用い、活性化のために抗CD3抗体を用いた。細胞を4°CでLysやコレラトキシン (CTXB) で標識した。抗体結合ビーズと混合し4°Cでインキュベート後加温し、経時的に固定した。一部の細胞は4°Cで抗体処理カバースリップに滴下、加温後経時的に固定し蛍光抗体法を行った。一部の細胞はコロイド金で標識後、電子顕微鏡にて観察した。

【結果】 4°CではLysとCTXBは細胞表面を均等に標識していた。しかし1分間加温した細胞では偽足様突起が形成され、そこにLysとCTXBが凝集していた。3分間加温後、細胞突起は抗体結合ビーズを取り囲み、Lysは接着周辺部に局在していた。抗体結合カバーグラスでも細胞接着の周辺部にLysが凝集しており、LATやアクチンの動態と類似していた。同様の局在変化が電子顕微鏡的にも確認された。

【結論】 今回の検討で、免疫シナプスの形成時に脂質ラフトを構成する脂質の局在が変化することが明らかとなった。

OII-06

血清中の膀胱癌マーカー候補タンパク質の探索

南尚¹, 長塩亮^{3,4}, 川島祐介², 小寺義男², 前田忠計², 佐藤雄一^{1,3}

¹北里大学大学院医療系研究科分子病態診断学, ²北里大学理学部生体分子動力学, ³北里大学医療衛生学部遺伝子検査学, ⁴群馬大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学

【目的】 膀胱癌の早期血清診断のための有用なマーカーは少ない。今回、膀胱癌患者血清中のマーカータンパク質の解析を独自で開発した方法で行い、同定したタンパク質の有用性は膀胱癌組織を用いて免疫組織化学的に検討した。

【方法】 膀胱癌患者6例の手術前・後の血清(計12血清)をAlbumin/IgG除去カラムを通し、限外濾過を行ったサンプルを逆相HPLCにより22分画した。その後、同一画分中に含まれるタンパク質成分をSDS-PAGEで比較し、全ての検体における分画タンパク質成分の均一性を比較した。また、同一サンプルを二次元電気泳動で展開し、手術前後で発現量に差のあるタンパク質をゲル内消化後、質量分析計により同定した。さらにS100A8, S100A9タンパク質に対する抗体を用いて外科的に切除された移行上皮癌77例のホルマリン固定・パラフィン包埋組織を対象に免疫染色を行った。

【結果・考察】 12血清全てで同一画分のSDS-PAGEパターンは同様であり、再現性よくタンパク質を分画できていることが確認された。様々な疾患との関連が報告されているS100A8, S100A9タンパク質や膀胱癌との関連が報告されているcomplement factor Hなど複数の腫瘍関連タンパク質が同定された。抗S100A8, S100A9タンパク質抗体を用いた免疫染色では、両者とも炎症性細胞に加えて様々な程度に癌細胞が陽性を示した。膀胱癌におけるS100A8, S100A9の発現はともにstage Pa, Pis, P1に比して筋層浸潤の認められるP3-4で発現が有意に高く(P<0.05)、またS100A9の発現はgrade1,2に比して3で発現が有意に高いことも明らかとなった(P<0.05)。以上より、血清を独自の方法で処理し、逆相HPLCを用いて分画する方法は効率よく腫瘍関連タンパク質を同定できることが明らかとなった。