

Title	Survivin associates with cell proliferation in renal cancer cells : Regulation of survivin expression by insulin-like growth factor-1, interferon- γ and a novel NF- κ B inhibitor
Sub Title	サーバイピンは腎癌細胞増殖に関連している : インシュリン様増殖因子1、インターフェロンガンマ及び新しいエヌエフカップビー阻害薬によるサーバイピン発現の制御
Author	佐藤, 全伯
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.4 (2006. 12) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20061202-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Survivin associates with cell proliferation in renal cancer cells: Regulation of survivin expression by insulin-like growth factor-1, interferon- γ and a novel NF- κ B inhibitor

(サーバイピンは腎癌細胞増殖に関連している：インシュリン様増殖因子1、インターフェロンガンマ及び新しいエヌエフカップビー阻害薬によるサーバイピン発現の制御)

佐藤 全伯

内容の要旨

進行性腎癌の予後は極めて不良である。抗癌剤による治療は有効であることはなく、免疫療法の成績も満足できるものではない。癌増殖に関わる分子を標的とした新たな治療法の開発が望まれている。

サーバイピンは、カスパーゼを抑制することでアポトーシスを抑制し、癌の増殖に関与する分子である。多くの癌種でサーバイピンの発現が報告されている一方で、成熟した正常組織では発現が認められないことより、癌治療における新たな標的分子として注目されている。これまでサーバイピンの腎癌増殖における役割、あるいはその制御因子については解明されていない。

本研究では腎癌培養株KU19-20を用いて、サーバイピンの発現と細胞増殖との関連、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、interferon (IFN)- γ 及び新たな NF- κ B 阻害薬である dehydroxymethyl-epoxyquinomicin (DHMEQ) によるサーバイピン発現の制御について検討した。

まず、サーバイピンの制御因子について検討するために、IGF-1、IFN- γ 、DHMEQのサーバイピン発現及び細胞増殖に及ぼす効果について検討した。サーバイピンの発現はWestern blot法で、細胞増殖はAlamar blue法にて評価した。KU19-20にIGF-1 (100-500ng/ml) を投与し、48時間培養を行ったところ、サーバイピンの発現と細胞増殖は、濃度依存的に増強された。一方で、IFN- γ (100-1000U/ml) を投与し、48時間培養すると、サーバイピンの発現及び細胞増殖は抑制された。更に、DHMEQ (5-20 μ g/ml) を投与し、48時間培養を行うと、サーバイピンの発現及び細胞増殖は濃度依存的に抑制された。また、IFN- γ とDHMEQを同時に投与した場合は、サーバイピンの発現抑制および細胞増殖抑制効果は更に増強された。次いで、サーバイピンの発現の変化と細胞増殖の変化が直接関連していることを示すために、KU19-20にサーバイピンに特異的なsmall interfering RNA (siRNA) をlipofectionを用いて導入し、サーバイピンの発現抑制および細胞増殖の変化について検討した。siRNAの細胞内への導入は、蛍光標識したsiRNAを用いて蛍光顕微鏡による観察で確認された。siRNAの導入後、72時間培養を行ったところ、サーバイピンの発現が抑制されると共に、細胞増殖も抑制された。

以上より、KU19-20では、サーバイピンが細胞増殖に関連していることが示された。また、IFN- γ とDHMEQの併用は、サーバイピン発現の抑制および細胞増殖抑制に有効であり、進行腎癌治療への応用が期待できるものと考えられた。

論文審査の要旨

サーバイピンは癌増殖に関与するアポトーシス抑制蛋白の一つである。本研究では腎癌細胞培養株KU19-20においてインシュリン様増殖因子1 (IGF-1) がサーバイピンの発現を増強し、細胞増殖も促進すること、またインターフェロン (IFN)- γ およびNF- κ B 阻害薬である dehydroxymethyl-epoxyquinomicin (DHMEQ) がサーバイピンの発現、細胞増殖を抑制することが示された。またIFN- γ とDHMEQの併用によってサーバイピンの発現抑制、細胞増殖抑制効果は増強された。small interfering RNA (siRNA) を用いた検討では、サーバイピンの発現抑制とともに細胞増殖も抑制された。以上よりサーバイピンの発現は細胞増殖と関連することが示され、IFN- γ とDHMEQの併用は進行腎癌治療への応用が期待できるものと考えられた。

審査では、まず本研究はKU19-20単独の実験の結果であり、他の細胞株についても検討すべきとの指摘があった。次に正常組織でのアポトーシス抑制蛋白の発現について質問され、サーバイピン以外は正常組織でも発現が見られるが、サーバイピンは成人では癌に特異的に発現すると回答された。癌以外でのサーバイピンの役割についての質問に対しては、胎生期に発現していることより発生、分化に関わると回答された。手術標本においてサーバイピンが正常組織にも発現していることに関し、免疫組織化学による検討およびコントロールとして正常の尿管上皮細胞を用いた実験が必要な旨が指摘された。また細胞増殖抑制の評価に%survivalを用いるのは不適切と指摘され、サーバイピンの発現抑制によるアポトーシス誘導を検討したかの質問があった。これに対しsiRNAによるサーバイピンの抑制が細胞周期解析ではsub-G1 fractionを増加させており、増殖抑制のみでなくアポトーシスも誘導していると回答された。IFN- γ によるサーバイピンの制御について質問がなされ、発現に変化がなかったと回答された。次いでIGF-1投与濃度の間隔設定が倍数であるべきとの指摘があった。またIGF-1、IFN- γ によるサーバイピンの制御機構について質問され、AktあるいはSTATを介してNF- κ Bが調節を受けサーバイピンの発現を制御している可能性があるかと回答された。この際にレセプター発現の有無を確認すべきと指摘された。またサーバイピンの発現を検討する際にWestern blot法の他にRT-PCR法も有用と助言された。siRNAを用いた実験ではコントロールとしてリボゾームのみ投与したものも加えるべきとの指摘があった。免疫治療の開発も進んでいるサーバイピンは有望な治療標的であるとの助言があり、臨床応用の展望について質問された。これに対し動物モデルにてIFN- γ 、DHMEQ、siRNAを用いた治療を行い、臨床応用を検討すると回答された。

以上のように本研究は今後さらに検討すべき課題を残しているが、腎癌におけるサーバイピンの発現と細胞増殖との関連を明らかにした点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 泌尿器科学 村井 勝
病理学 坂元 亨宇 先端医学 河上 裕
内科学 伊藤 裕
学術誌担当 池田 康夫、坂元 亨宇
審査委員長 坂元 亨宇

試問日：平成18年 8月31日