

一般演題(ポスター発表)

基礎系

新規p53下流遺伝子DPYSL4のATP産生・ 酸素消費調節における機能解析

永野 秀和¹⁾、田中 知明¹⁾、橋本 直子¹⁾
鈴木 佐和子¹⁾、鈴木 穰²⁾、菅野 純夫²⁾
龍野 一郎¹⁾、横手 幸太郎¹⁾

¹⁾千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学

²⁾東京大学大学院新領域創成科学研究科

ゲノム制御医科学分野

細胞の番人と呼ばれる転写因子p53においてストレス応答とエネルギー代謝の恒常性維持機能が注目され、肥満・糖尿病への関与が示唆されている。p53-ChIP-seqとRNA-seqから細胞内代謝調節分子としてDPYSL4を同定した。DPYSL4は核酸代謝酵素DHPaseと高い相同性を持ち、p53依存的な転写誘導と癌細胞の増殖抑制を示した。ノックダウンはATP減少とTCA cycle抑制による酸素消費低下を引き起こし、p53-DPYSL4経路による新たなエネルギー産生調節機構を示唆する結果であった。

転写因子p53によるPhosphate Activated Glutaminase (GLS2) を介した新たなミ トコンドリア制御機構と肥満モデルでの発現 解析

鈴木 佐和子、田中 知明、永野 秀和、龍野 一郎
横手 幸太郎

千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学

癌抑制遺伝子p53の遺伝的多型が肥満や糖尿病のリスクであることが報告され、その分子病態が注目されている。我々は高速シーケンサーを用いた細胞内代謝関連標的遺伝子を探索しGLS2に着目した。肥満モデルマウスと細胞レベルでの遺伝子発現プロファイルや生化学的解析から、p53新機能としてGLS2によるグルタミン代謝を介した抗酸化・エネルギー調節などのミトコンドリア制御機構と肥満脂肪組織での生理的役割が示された。

P1-3

乳がん細胞における次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドのエストロゲン応答経路の解析

山賀 亮之介^{1,2,3)}、池田 和博¹⁾、堀江 久仁子¹⁾

大内 尉義²⁾、鈴木 穰⁴⁾、井上 聡^{1,2,3)}

¹⁾埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター 遺伝子情報制御部門

²⁾東京大学大学院医学系研究科 加齢医学講座

³⁾東京大学大学院医学系研究科 抗加齢医学講座

⁴⁾東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻

乳がんのエストロゲン応答は、その診断、治療の上で重要な鍵を握る。我々は、ヒト乳がんMCF7細胞にエストロゲンを負荷した時系列RNAサンプルを採取しイルミナ社次世代シーケンサーを用いてRNAシーケンス法による解析を行った。その結果、ゲノムワイドのエストロゲンによる転写応答を明らかにし、既知ならびに新規のエストロゲン応答遺伝子を同定した。興味深いことに、新規エストロゲン応答ncRNAを見出し、qRT-PCR法にてその存在を確認した。

P1-4

HIF-1 α は骨格筋におけるインスリン依存性糖取込みの制御に重要である

牧野 雄一、坂上 英充、藤田 征弘、滝山 由美

藤代 大介、児玉 暁、小林 厚志、小村 景司

岡本 健作、羽田 勝計

旭川医科大学内科学講座 病態代謝内科学分野

【目的】インスリンは、転写因子HIF-1 α を活性化するが、その意義は明らかでない。今回、骨格筋のインスリン依存性糖取り込み制御におけるHIF-1 α の役割を明らかにすることを目的とした。

【成績】siRNAにより作成したHIF-1 α ノックダウンC2C12筋管細胞(Δ HIF C2C12)において、インスリン依存性糖取り込み及びGLUT4の細胞膜移行の著明な減少を認めた。 Δ HIF C2C12においてAKT substrate of 160kDa のインスリン依存性リン酸化が著明に減少していた。

【結論】HIF-1 α は骨格筋における糖取込み制御に重要な役割を果たし、生体のインスリン感受性を規定する因子である可能性が示唆された。

P1-5

新規p53クロマチン複合体会合分子SP110は、p21転写制御を介してp53依存性の細胞老化を制御する

橋本 直子、田中 知明、龍野 一郎、横手 幸太郎
千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学

動脈硬化などの加齢関連疾患の病態には細胞老化が深く関与するが、癌抑制遺伝子 p53 が重要な役割を果たしている。p53 クロマチン複合体の解析により転写制御分子 SP110 を同定し、細胞老化における役割を検討した。SP110 は PML 小体に存在し p53 と複合体を形成する。過剰発現で細胞増殖は亢進し、サイレンシングにより epigenetic 変化を伴う p53/p21/Rb 経路の活性化と細胞老化誘導を認めた。これらの結果は、SP110 が p53 依存的細胞老化の制御分子であることを示唆している。

P1-6

各ARBはアルドステロン合成酵素CYP11B2遺伝子発現に異なる影響を及ぼす

松田 謙¹⁾、宇留野 晃²⁾、工藤 正孝¹⁾、佐藤 文俊¹⁾
伊藤 貞嘉¹⁾、菅原 明³⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 腎・高血圧・内分泌学分野

²⁾東北大学大学院医学系研究科 医化学分野

³⁾東北大学大学院医学系研究科 病態検査学分野

各ARBのアンジオテンシン(A)II存在下・非存在下でのアルドステロン合成酵素CYP11B2発現に及ぼす影響を、ヒト副腎癌由来H295R細胞を用いて検討した。AII存在下ではロサルタン、バルサルタン、オルメサルタン、テルミサルタン(T)のいずれもCYP11B2転写活性を抑制した一方で、AII非存在下ではTのみがCYP11B2転写活性を上昇させた。さらに、T投与により濃度依存的にCYP11B2 mRNA発現やアルドステロン分泌の上昇が認められた。種々の検討から、Tは転写因子NURR1/NGFIBを介してCYP11B2プロモーターAd5領域に作用してCYP11B2転写活性を上昇させていると考えられた。

P1-7

ER依存性・Letrozole耐性MCF-7の樹立とその耐性機序

遠藤 恵、花村 徹、郷野 辰幸、丹羽 俊文
林 慎一

東北大学大学院医学系研究科 分子機能解析学分野

閉経後ER陽性乳癌患者の治療にはAromatase inhibitor (AI)が広く用いられているが、近年その耐性も問題となっている。そこで我々はERE-GFPレポーター遺伝子とアロマターゼ遺伝子を導入したMCF-7を用い、ER活性を指標にLetrozole耐性細胞(LR細胞)を樹立し、その耐性機序の解明を試みた。LR細胞は、親株よりもSTSの発現が高く、E1Sに対する感受性が上昇していた。また、通常はARに結合し細胞増殖抑制に働くDHTが、LR細胞の増殖を促進した。よって、LR細胞はSTSを介する経路を亢進させ、またARの機能とアンドロゲンに対する感受性を変化させることで、AIに対する耐性を獲得していると考えられる。

P1-8

副腎アルドステロン産生細胞における時計遺伝子群の自律的発現振動プロファイル

土居 雅夫、太田 拓巳、岡村 均

京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学
講座システムバイオロジー分野

遺伝子改変によって生体リズムを欠失させたCry-nullマウスは、副腎球状層の機能障害によってアルドステロンの過剰産生が起こり、その結果、食塩感受性の高血圧を呈す(Doi et al., Nature Med. 2010)。今回我々は、副腎球状層の時計遺伝子の発現を単一細胞レベルのイメージング技術を用いて可視化することに成功した。球状層の細胞には確かに機能的な分子時計が存在し、自律的な24時間の振動を生み出していることを明らかにしたので報告したい。

P1-9

乳癌におけるSuppressor of Cytokine Signaling (SOCS3) の発現意義

櫻井美奈子¹⁾、三木康宏²⁾、石田孝宣³⁾、鈴木貴⁴⁾
大内憲明³⁾、笹野公伸¹⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

²⁾東北大学大学院歯学研究科 口腔病理学分野

³⁾東北大学大学院医学系研究科 腫瘍外科学分野

⁴⁾東北大学大学院医学系研究科 病理検査学分野

SOCS3は腫瘍細胞の増殖に関わるSTAT3経路を阻害すると考えられており、本研究では、乳癌におけるSOCS3の意義について検証した。免疫組織化学法にて乳癌組織におけるSOCS3の発現を検討したところ、乳癌間質(陽性率75.5%)におけるSOCS3発現は癌細胞でのER α と逆相関を示し、リンパ節転移と再発率で正相関が見られた。乳癌において間質細胞におけるSOCS3の発現がparacrine的に癌細胞の生物学的動態に関与する可能性が示唆された。

P1-10

哺乳類個体の代謝制御における β Klothoの機能解明を目指して

田中智洋、小林加奈子、鷲田美和、鍋島陽一
財団法人先端医療振興財団 先端医療センター
医薬品開発研究グループ

α Klothoは、FGF23とFGFR1の結合の媒介やNa,K-ATPaseの細胞膜移行の制御により、ビタミンD合成、副甲状腺ホルモン分泌、Ca \cdot Pの分泌・再吸収の調節を担う。一方、 α Klothoと一次構造上高い相同性を有する β Klothoは、肝臓、膵外分泌腺、脂肪組織に高レベルに発現し、肝臓ではFGF19とFGFR4の結合を媒介することで胆汁酸合成を制御する。我々は、膵および脂肪組織における β Klothoの機能の解明により、個体の代謝制御における β Klothoの生理機能の全貌解明を目指している。

P1-11

Role of Adrenomedullin-RAMP2 system for vascular endothelial function

Teruhide Koyama, Takayuki Sakurai, Akiko Kamiyoshi, Yuka Shindo, Takuma Arai, Yasuhiro Iesato, Lei Yang, Takahiro Yoshizawa, Ryuichi Uetake, Akihiro Yamauchi, Megumu Tanaka, Takayuki Shindo

Department of Organ Regeneration, Shinshu University Graduate School of Medicine

Adrenomedullin (AM) is a peptide involved in both the pathogenesis of cardiovascular diseases and circulatory homeostasis. We have shown that knockout mice of RAMP2 (RAMP2^{-/-}), one of the accessory proteins of AM-receptor, are embryonic lethal at mid-gestation with the similar vascular abnormalities of AM^{-/-}.

To clarify the pathophysiological roles of vascular AM-RAMP2 system directly, we generated vascular endothelial cell-specific RAMP2^{-/-} (E-RAMP2^{-/-}). Although, E-RAMP2^{-/-} survived beyond mid-gestation, most of them were lethal at later-gestation with systemic edema and deformity of endothelial cells. Contrary, a small number of E-RAMP2^{-/-} can survive until adulthood. In the survived E-RAMP2^{-/-}, RAMP2 expression in endothelial cells was kept at 20% of wild-type. In the survived E-RAMP2^{-/-} adult mice showed wall-thinning and expansion of aortic diameter. Blood pressure was lower in E-RAMP2^{-/-} compared with WT. The aortic explants from E-RAMP2^{-/-} showed diminished angiogenesis. Moreover, spontaneous occurrence of vasculitis lesions was detected throughout the body in E-RAMP2^{-/-}. E-RAMP2^{-/-} also showed premature vascular senescence, and severe organ fibrosis with enhanced oxidative stress.

These results show that AM-RAMP2 system is essential for the vaso- and organ-protective effects of AM in adult as well as for the angiogenesis and vascular integrity during development.

P1-12

白色脂肪組織におけるFABP3の役割の解明

中村 祐樹、佐藤 貴弘、椎村 祐樹、児島 将康
久留米大学分子生命科学研究所

脂肪酸動態を調節する脂肪酸結合タンパク質3(FABP3)は、寒冷適応のため褐色脂肪組織(BAT)で誘導される。FABP3は白色脂肪組織(WAT)にも微量に発現しているが、その役割は明らかでなかった。今回、長期の寒冷刺激やβ3アドレナリン受容体刺激により、WATでのFABP3発現が著明に上昇することを見出した。このことから、WATにおけるFABP3の上昇も寒冷適応を調節している可能性が示唆された。

P1-13

発生・発達期のビスフェノールA暴露による遅発中枢影響解析

種村 健太郎^{1,2)}、五十嵐 勝秀¹⁾、佐藤 英明²⁾、
菅野 純¹⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験
研究センター・毒性部

²⁾東北大学大学院農学研究科 動物生殖科学分野

ホルモン受容体を介したシグナル伝達は、中枢神経系の発達にも関与していることから、内分泌かく乱化学物質が、生殖内分泌系のみならず、中枢神経系を標的としている蓋然性がある。その中でもビスフェノール A (BPA) は、発生・発達期における中枢神経系への安全性の確認が必要とされているが、十分な解析がなされていない。そこで、胎児期から幼若期のマウスへのBPA暴露による、成熟後の行動様式解析、形態解析、遺伝子発現解析を行った。今回は、情動行動逸脱を伴う学習記憶異常と、それに対応する神経科学的物証を報告する。

P1-14

ヒト型リガンド結合ドメインノックインPXRマウスの遺伝子発現応答特性

菅野 純、五十嵐 勝秀、相崎 健一、北嶋 聡
種村 健太郎

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研
究センター・毒性部

PXRは代謝誘導に関わる重要な受容体であるが、そのリガンド選択性に種差が大きいことが知られている。そこで、hPXRのリガンド結合ドメイン(LBD)のみをマウスPXR(mPXR)のLBDと入れ替えたノックインマウス(hPXRki mouse)を作製した。このマウスの全身の諸臓器における発現及び反応の基盤情報とシグナル毒性研究への適用の可能性を報告する。

P1-15

タバコ煙抽出液の核内受容体リガンド活性

三木 康宏¹⁾、端 秀子²⁾、鈴木 貴³⁾、熊本 裕行¹⁾
笹野 公伸²⁾

¹⁾東北大学大学院歯学研究科 口腔病理学分野

²⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

³⁾東北大学大学院医学系研究科 病理検査学分野

市販タバコからガス洗浄瓶を用いてタバコ煙抽出液 (CSE) を作成し、CSE の 15 種類の核内受容体 (ER α/β 、PR、AR、RXR $\alpha/\beta/\gamma$ 、ERR $\alpha/\beta/\gamma$ 、PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ 、SXR、CAR) に対するリガンド活性 (agonist/antagonist) について、HEK293 を用いたルシフェラーゼアッセイ (Phenex[®] Gal4 assay) にて確認した。結果、CSE は ER α 、SXR、CAR に対して agonist 作用を有し、ERR α のみ antagonist 作用を示した。以上、喫煙はエストロゲンシグナルの増幅など、内分泌かく乱作用を有することが示唆された。

P1-16

5 α R2 expression in PIN like lesions of the PEARKO mouse mimics 5 α R2 expression in human PIN.

McNamara K¹⁾, Nakamura Y²⁾, Handelsman DJ¹⁾,
Sasano H²⁾, Simanainen U¹⁾
¹⁾Andrology Department, ANZAC Research Institute,
Sydney, Australia
²⁾Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan

The prostate is highly dependent on androgen signaling, which is amplified in the prostate by the conversion of circulating testosterone (T) to the more potent dihydrotestosterone (DHT). The *in situ* production of DHT is mediated by the 5 α -reductase (5 α R) enzymes and plays pivotal roles in prostatic diseases such as benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate carcinoma where the inhibition of 5 α R activity results in better clinical outcome of the patients. The 5 α R subtype 2 (5 α R2) expression in the prostate epithelium has been proposed to be positively regulated by androgens via androgen receptor (AR). The potential correlation between AR and 5 α R expression is therefore of interest because the prostate intraepithelial neoplasias (PIN) as well as androgen independent prostate cancer associated with increased levels of AR, which may result in overall increased androgenic actions. Using mouse as a model we have successfully characterized the relationship between the AR and 5 α R expression. 5 α R2 expression was reduced upon castration, which is consistent with its hormonal dependency. The correlation between AR and 5 α R2 expression was determined by multiple methods (mRNA, IHC, DHT levels (product of 5 α R2 action)) in separate lobes of the mouse prostate. AR and 5 α R2 expression followed the same pattern between individual lobes of the mouse prostate with anterior prostate having the lowest and ventral prostate the highest levels of expression. AR in the epithelial cells varied more markedly among the lobes than in other components, which lead to the hypothesis that the epithelial AR may regulate the 5 α R2 expression. We then used the mouse model of prostate epithelial AR inactivation (PEARKO) expressing mutated (inactive) AR in prostate epithelia in order to further confirm this hypothesis. The lobe specific patterns of 5 α R2 expression was also detected in PEARKO prostate, suggesting that epithelial AR was not necessarily required for 5 α R2 expression. However, a high level of 5 α R2 was detected in proliferative, aberrantly differentiated epithelial lesions of the PEARKO prostate that were also highly immunopositive for AR. A similar phenotype of high AR and strong 5 α R expression was also detected in human prostate PIN lesions, histologically resembling PEARKO epithelial lesions. The fact that these PEARKO lesions are proliferative, have androgen dependent but epithelial AR independent expression of both AR and 5 α R2 and morphologically simulate human PIN suggests the presence of aberrant AR dependent stromal to epithelial cross-talks or interaction in premalignant lesions of prostate.

P1-17

制限給餌条件下におけるグレリン遺伝子欠損マウスの体温変動

佐藤 貴弘, 中村 祐樹, 椎村 祐樹, 児島 将康
久留米大学分子生命科学研究所

グレリン遺伝子欠損マウスを用いて制限給餌実験を行ない、体温変動を観察した。テレメリー自動計測システムによる観察から、グレリン欠損により、制限給餌後の体温変動に異常の生じることが示された。一方、グレリンは摂食亢進物質として知られるが、制限給餌後の摂食行動は正常に保たれた。以上の結果から、負のエネルギー状態において、グレリンが積極的な体温調節に関与していると考えられる。

P1-18

視床下部4B細胞におけるグルココルチドのghrelin-GHSR1a系の活性化作用について

山形 聡、蔭山 和則、綿貫 裕、村澤 真吾
須田 俊宏

弘前大学大学院 医学研究科 内分泌代謝内科学

GH-releasing peptides (GHRPs) は、GH secretagogue receptor (GHSR) を介してGH及びACTH分泌を促進する。健常人やラットにおいて、GHRPsは視床下部を介してACTH分泌を促進すると推定される。クッシング病では、GHRPs投与によるACTHの過大反応が引き起こされることが知られている。また、内因性リガドで摂食調節に関わるghrelinは、視床下部のストレス反応にも関与している可能性がある。本研究では、視床下部におけるグルココルチコイドのghrelin及びGHSR1aの発現への影響について調べるために、視床下部4B細胞を用いて検討した。同視床下部細胞において、GHSR1a mRNA発現は、グルココルチコイド依存症に促進され、ghrelinも誘導されることがわかった。更に、グルココルチコイド前投与にghrelinを加えると、CRF mRNAの発現はghrelin単独よりも相乗的に増加した。グルココルチコイドによって直接又は間接的に増加したGHSR1aを介して、リガンドのghrelinやGHRPs作用が増強される可能性が示唆された。

一般演題(ポスター発表)

(臨床/translational)

P2-1

Up-regulation of NF- κ B1/RelA in human bronchial wall of mustard gas induced patients

Samaneh Yazdani^{1,2)}, Abbas ali Imani Fooladi³⁾
Mohammad Reza Nourani 1*

¹⁾ Chemical Injury Research Center (CIRC), Baqiyatallah Medical Sciences University (BMSU), Tehran-Iran.

²⁾ Biology Dept. Payame Noor University, Tehran-Iran

³⁾ Molecular biology research center, Baqiyatallah Medical Sciences University (BMSU), Tehran-Iran.

Sulfur mustard (SM) is a chemical warfare agent and has been used during Iran-Iraq war against Iranian troops. Nowadays there are more than 40.000 people suffering from SM lesions especially pulmonary disorder in Iran. SM disturbs scavenger of ROS and eventually causes chronic obstructive pulmonary disease (COPD) which is one of the most abundant inflammatory disease.

Nuclear factor κ B (NF- κ B)/ Rel family is one of the most important proteins involved in inflammatory responses. They are members of DNA-binding protein factors that are required for transcription of many proinflammatory molecules. Existence of NF- κ B is a well known marker in inflammatory status in animal model systems to expose the pathobiology of lung diseases. In this study we sought to address the expression of NF- κ B1/RelA and presence of inflammation in bronchial wall biopsies of SM exposed patients. We considered NF- κ B1/RelA heterodimer which is the primary heterodimer in lung inflammation. Ten normal individuals and twenty SM induced patients were comprised. Expression of NF- κ B1/RelA in healthy and SM induced samples were measured by semiquantitative RT-PCR, Real-time PCR.

Expression levels of NF- κ B1 and RelA in SM exposed patients were upregulated about 2.53 ± 0.32 and 3.83 ± 0.87 folds respectively in compare to normal samples. ($P < 0.05$)

As we are aware, this is the first study about the induction of inflammatory molecules in patients exposed to SM. We suggested that over expression of NF- κ B1/RelA molecules in COPD induced by SM, may follow an inflammatory procedure in bronchial wall of these patients at mRNA levels.

Key words: bronchial wall, mustard gas, NF- κ B1, RelA, COPD

P2-2

Cytoplasmic estrogen receptor b as a potential prognosis marker in human non-small cell lung carcinoma

Mohit Kumar Verma¹⁾, Yashuiro Miki¹⁾, Keiko Abe²⁾
Hiromichi Niikawa³⁾, Hironobu Sasano¹⁾

¹⁾Department of Pathology, Tohoku University Graduate School of Medicine

²⁾Department of Pathology, Saitama Medical University

³⁾Department of Thoracic Surgery, Iwate Prefectural Central Hospital, Morioka

Estrogen has been reported to promote an increased susceptibility to lung cancer development. We found that among estrogen receptor b (ERb) and aromatase positive non-small cell lung carcinoma (NSCLC) females (48 cases), the presence of cytoplasmic ERb (c-ERb) was significantly associated with greater tumor diameter ($p = .019$) and tended to be associated with worse overall survival (c-ERb +ve = 60% vs. c-ERb -ve = 71.4%). In addition, among all patients (162 cases), presence of c-ERb was associated with poorer 5 year survival and median survival rates (c-ERb +ve = 54.8% & 1992 days vs. c-ERb -ve = 62.0% & 2805 days, respectively). We further analyzed NSCLC cell lines, i.e. A549 & LCAM, expressing aromatase as well as both c-ERb and n-ERb. U0126 (MAPK/ERK kinase inhibitor) abrogated MAPK phosphorylation, caused by estradiol via c-ERb, more effectively than ICI 182780 (ER blocker) in both A549 and LCAM cells. However, ICI 182780 completely abrogated the ERE-luciferase activity caused by estradiol treatment in both A549 and LCAM cells ($p < .0001$). Combination therapy with ICI 182780 and U0126 was far more effective than either treatment alone in either A549 or LCAM cells ($p < .0001$). Conclusion: These results indicated that in addition to the genomic actions via n-ERb, c-ERb in NSCLC may further contribute via non-genomic action of estrogen.

P2-3

ヒト皮脂腺におけるステロイドホルモン関連因子の発現解析

井上 高良^{1,4)}、三木 康宏^{1,2)}、角尾 進吾⁴⁾

八谷 輝⁴⁾、北原 隆⁴⁾、相場 節也³⁾、笹野 公伸¹⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

²⁾東北大学大学院歯学研究科 口腔病理学分野

³⁾東北大学大学院医学系研究科 皮膚科学分野

⁴⁾花王株式会社 生物科学研究所

これまでにステロイドホルモンは皮膚において皮脂分泌の過程に、深く関与していることが報告されているが、ステロイドホルモンの代謝および受容機構の詳細については未だ明らかにされていない。そこで我々は、皮脂腺におけるステロイドホルモンの産生に関与する因子(StAR, 3 β -HSD, 17 β -HSD2)、受容体(ER β , AR)の発現と、皮脂分泌を亢進する作用が報告されているPPAR γ の発現を、ホルマリン固定されたヒトの皮膚標本を用いて、免疫組織化学的に解析した。その結果、男性の検体において、17 β -HSD2の発現とPPAR γ の発現強度の間に負の相関性が確認された。

P2-4

機能性下垂体腫瘍におけるオクトレオチドLAR術前投与の有用性とソマトスタチン受容体サブタイプおよび下垂体分化制御転写因子群の発現解析

佐久間 一基、永野 秀和、田中 知明、中谷 行雄
堀口 健太郎、村井 尚之、佐伯 直勝、龍野 一郎
横手 幸太郎

千葉大学大学院医学研究院細胞治療学

機能性下垂体腫瘍へのオクトレオチドLAR投与は、腫瘍縮小効果や周術期管理の点から有用性が報告されているが、その効果にはソマトスタチン受容体サブタイプの発現パターンが重要である。様々な機能性下垂体腫瘍組織を用いて、SSTRsと下垂体前葉細胞分化を規定する転写因子群の発現解析を行った。各機能性ごとに分化段階特異的な転写因子の発現を認め、中でもPit-1 lineageであるGHoma・TSHomaにおいてSSTR2が高発現し、臨床的な薬剤感受性との関係が示唆された。

P2-5

神経内分泌腫瘍に対する分子標的治療薬の効果と臨床応用への可能性

飯田 慎也、三木 康宏、小野 克彦、中村 保宏
笹野 公伸
東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

神経内分泌腫瘍(NET)は稀な腫瘍であり、未だ確立された薬物療法は存在しない。本研究では、NETの新たな治療薬として期待されるmTOR阻害剤やIGF1R阻害剤等、標的治療薬の効果について、NET由来培養細胞およびNET病理標本を用いて検証した。NET症例における免疫染色の結果、mTORやその下流因子、IGF1Rの活性型は高発現を示した。実際に培養細胞で検討した結果、いずれの標的薬も有意な増殖抑制作用を示し、これらの薬剤がNETに対して有効である可能性が示唆された。

P2-6

ヒト転移性肝癌におけるaromataseの発現

端 秀子¹⁾、三木 康宏^{1,2)}、笹野 公伸¹⁾
¹⁾ 東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野
²⁾ 東北大学大学院歯学研究科 口腔病理学分野

aromataseは、閉経期以降のエストロゲン依存性乳癌などに深く関わっている酵素である。転移性肝癌においても発現が認められることが報告されているが、詳細は明らかではない。本研究では、転移性肝癌におけるaromataseの発現を免疫組織化学、qRT-PCRにて局在性を検討した。転移性肝癌は、転移してきた腫瘍の刺激により肝細胞のaromataseが上昇し、腫瘍細胞の増殖を促進していることが示唆された。

P2-7

乳癌組織におけるアミロイド前駆体タンパクの発現

伊藤 重宏¹⁾、高木 清司¹⁾、小野寺 好明²⁾
三木 康宏³⁾、中村 保宏²⁾、石田 孝宣⁴⁾、井上 聡^{5,6)}
笹野 公伸²⁾、鈴木 貴¹⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 病理検査学分野

²⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

³⁾東北大学大学院歯学研究科 口腔病理学分野

⁴⁾東北大学大学院医学系研究科 腫瘍外科学分野

⁵⁾東京大学大学院医学系研究科抗加齢医学講座

⁶⁾埼玉医科大学ゲノム医学研究センター遺伝子情報制御部門

近年、アミロイド前駆体タンパク(APP)が癌の進展に関与する可能性が推察されているが、乳癌における発現意義は検討されていない。そこで今回我々は乳癌組織におけるAPPの免疫局在を検討した。APPは70%の症例で陽性で、アンドロゲン受容体と正相関を示した。またAPP陽性例は有意に予後良好であった。培養細胞実験の結果、APP mRNAはアンドロゲンによって誘導された。以上より、APPは乳癌におけるアンドロゲン作用に関与している可能性が示唆された。

P2-8

エストロゲン陽性乳癌における原発巣と転移リンパ節のアロマターゼ比較検討

柴原 裕紀子、三木 康宏、小野 克彦
工藤 陽花子、中村 保宏、笹野 公伸
東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

ER陽性乳癌の転移リンパ節におけるaromatase発現を検討した研究は少なく、原発巣と同様にaromataseを発現しているかは不明である。本研究で免疫組織学的にER, PR, aromataseを比較検討した結果、転移リンパ節で原発巣同等/それ以上のaromataseを発現していることがわかった。Aromatase発現が消失する例、複数のリンパ節でaromatase発現が異なる例もあり、転移巣での微小環境の影響を強く受けていることが示唆された。

P2-9

乳癌における腫瘍内Estrogen産生とaryl hydrocarbon receptorの関連

齊藤 涼子¹⁾、三木 康宏²⁾、 端 秀子¹⁾
飯田 慎也¹⁾、小野 克彦¹⁾、 石田 孝宣³⁾
鈴木 貴⁴⁾、 大内 憲明³⁾、 笹野 公伸¹⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

²⁾東北大学大学院歯学研究科口腔病理学分野

³⁾東北大学大学院医学系研究科 腫瘍外科学分野

⁴⁾東北大学大学院医学系研究科 病理検査学分野

近年、Aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介する作用により乳癌の進展が抑制される可能性が提唱されてきた。本研究では乳管癌患者を対象にAhRの免疫染色を行い発現動態と臨床病理学的因子との関連を検討した。AhRとホルモン受容体の発現は負の相関を示し、AhRのホルモン作用への影響が示唆された。さらに乳癌培養細胞株にAhRのligandを作用させ、定量的PCRおよびmicroarrayによる解析を実施中である。

P2-10

非浸潤性乳管癌におけるエストロゲン作用

江幡 明子¹⁾、鈴木 貴²⁾、高木 清司²⁾、三木 康宏³⁾
五十嵐 やよい²⁾、中村 保宏⁴⁾、石田 和之⁵⁾、
渡辺 みか⁵⁾、大内 憲明¹⁾、笹野 公伸⁴⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科腫瘍外科

²⁾東北大学大学院医学系研究科 病理検査学分野

³⁾東北大学大学院歯学研究科口腔病理学分野

⁴⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

⁵⁾東北大学病院 病理部

エストロゲンは乳癌の増殖・浸潤に関与するが、その詳細は明らかではない。そこで、非浸潤性乳管癌 (pDCIS)、浸潤性乳管癌の乳管内癌成分及び浸潤癌成分の3群におけるエストロゲン作用を、免疫染色やマイクロアレイを用いて比較検討した。pDCISは他群とは異なるエストロゲン応答遺伝子の発現パターンを示し、pDCISにおけるエストロゲン作用はDCIS-cやIDC-cとは異なっている可能性が示唆された。

P2-11

正常副腎皮質、副腎腫瘍における代謝型グルタミン酸受容体3型 (GRM3) の発現解析

フェリゾラ・サウロ¹⁾、中村 保宏¹⁾、佐藤 文俊²⁾、小野 寺 好明¹⁾、岩淵 絵里奈¹⁾、小野 克彦¹⁾、三木 康宏³⁾、笹野 公伸¹⁾

¹⁾東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野

²⁾東北大学病院腎高血圧内分泌科

³⁾東北大学大学院歯学研究科口腔病理学分野

副腎腫瘍では、様々な G 蛋白質カップリング受容体(GPCR)の異所性発現が知られている。

最近、副腎腫瘍において GPCR の 1 つであり中枢神経系の神経伝達に關与する代謝型グルタミン酸受容体3型 (GRM3) の mRNA 発現亢進が報告された。本研究では、正常副腎、副腎腫瘍での GRM3 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討した。正常副腎球状層、アルドステロン産生副腎腺腫等で、GRM3 陽性像が確認された。以上から、GRM3 はこれらの副腎組織に発現し、何らかの機能的役割を果たしている可能性が示唆された。

P2-12

脂質異常症患者のピタバスタチンの脂質プロフィールと炎症バイオマーカーに対する効果の検討

Kansai Investigation of Statin for Hyperlipidemic Intervention in Metabolism and Endocrinology (KISHIMEN)

Hisato Tatsuoka, Hiroyuki Koshiyama, Kenichi Hirata, Yoshio Fujioka, Tatsuro Ishida, Sun L, Yasuda T, Toh R, Rikitake Y, Ataru Taniguchi, Kiyoshi Tanaka, Shinji Kagimoto, Yoshio Nakamura, Akane Iwakura, Kyoko Hara, Taizo Yamamoto, Akira Kuroe, Michihiro Ohya, Shimpei Fujimoto, Yoshiyuki Hamamoto, Sachiko Honjo, Hiroki Ikeda, Koichiro Nabe, Kinsuke Tsuda, Nobuya Inagaki, Yutaka Seino, and Noriaki Kume.

財)田附興風会 医学研究所 北野病院 糖尿病内分泌センター

【目的】ピタバスタチンの脂質プロファイルおよび高感度CRP, IL-18, 血管内皮リパーゼなどのバイオマーカーに対する効果を明らかにする。【方法】178人の脂質異常症患者(うち58%が糖尿病)にピタバスタチン12mg/日を12ヶ月投与し, LDL-C, HDL-C, RLP-C, TG, 高感度CRPに関して検討した。【結果】LDL-Cは30.3%減少, HDL-Cは2.6%上昇, RLP-Cは22.8%減少, 高感度CRPは34.8%減少 ($P < 0.01$) した。さらにIL-18高値の群で有意に減少させた。さらに血管内皮リパーゼをin vivo, in vitroともに減少させた。【結論】ピタバスタチンは糖尿病患者も含む日本人の脂質異常症患者の脂質のみでなく高感度CRP, IL-18, 血管内皮リパーゼを改善する。

P2-13

ACTH stimulation during adrenal venous sampling does not attenuate laterality of aldosterone hypersecretion.

Ryo Morimoto¹⁾, Fumitoshi Satoh¹⁾, Masataka Kudo¹⁾, Yoshitsugu Iwakura¹⁾, Yoshikiyo Ono¹⁾, Kei Takase²⁾, Masakazu Seiji²⁾, Shigeto Ishidoya³⁾, Yasuhiro Nakamura⁴⁾, Shoki Takahashi²⁾, Yoichi Arai³⁾, Hironobu Sasano⁴⁾, Sadayoshi Ito¹⁾

¹⁾ 東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科
²⁾ 東北大学病院 放射線診断科
³⁾ 東北大学病院 泌尿器科
⁴⁾ 東北大学病院 病理部

[Background] Adrenal venous sampling (AVS) has been regarded as the most reliable method to determine laterality of aldosterone hypersecretion in primary aldosteronism (PA). While some investigators advocate that stimulation with cosyntropin might be helpful in AVS (1), others do not prefer to use because cosyntropin might induce aldosterone hypersecretion from bilateral, non-neoplastic adrenal (NNA), resulting in ambiguous results of laterality compared to those without stimulation. [Aim] To evaluate effect of cosyntropin on aldosterone secretion from NNA in patients with unilateral aldosterone-producing adenomas (APA). [Patients and Methods] Cosyntropin-stimulated 'superselective' AVS was performed in consecutive 10 patients (seven men, mean age 49.5) who were diagnosed as PA with both baseline and captopril-loaded aldosterone over renin ratio (ng/dl per ng/ml/h) of 272+/-66.7 and 205+/-59.5 (mean+/-SEM), respectively. Microcatheters were cannulated into tributaries from central veins to draw samples exclusively from APA or NNA. The ratio of aldosterone over cortisol levels (A/C) was calculated. When A/C obtained from NNA was less than that obtained from peripheral vein, we determined aldosterone secretion from the NNA was 'suppressed.' [Results] In 9 cases with unilateral tumors, AVS-based laterality agreed with CT-based laterality. In the one with bilateral tumors, AVS showed left-sided hypersecretion. While cosyntropin-stimulated AVS showed A/C sampled from drainer vein of APA was 17.6+/-5.11 with 6.61+/-1.00 -fold increase from that of peripheral vein (2.49+/-0.41), A/C obtained from both ipsilateral NNA of APA (1.18+/-0.36) and contralateral adrenal (0.978+/-0.11) were all below that of peripheral vein with reduction of 53.1+/-7.70% and 53.7+/-8.42%, respectively. Based on cosyntropin-stimulated lateralized ratio of A/C between APA and contralateral adrenal of 18.1+/-4.98, unilateral adrenalectomy was performed and showed pathological diagnosis of APA and 'paradoxical hyperplasia' within NNA using immunohistochemistry of steroidogenic enzymes. [Conclusion] Cosyntropin-stimulated 'superselective' AVS indicated aldosterone secretion was suppressed in both ipsilateral NNA attached to APA and contralateral NNA, suggesting it is less likely that cosyntropin might induce aldosterone hyperresponse from NNA with subsequent misleading to disappearance or reversal of aldosterone laterality obtained without cosyntropin in patients with APA.

P2-14

Clinical significance of early diagnosis of primary aldosteronism to prevent causing and progressing renal dysfunction - The existence of quite a few patients with "masked CKD" disguising normal renal function before the specific therapy -

Yoshitsugu Iwakura¹⁾, Ryo Morimoto¹⁾, Masataka Kudo¹⁾, Yoshikiyo Ono¹⁾, Kei Takase²⁾, Kazumasa Seiji²⁾, Shoki Takahashi²⁾, Shigeto Ishidoya³⁾, Yoichi Arai³⁾, Yasuhiro Nakamura⁴⁾, Hironobu Sasano⁴⁾, Sadayoshi Ito¹⁾, Fumitoshi Satoh¹⁾

¹⁾ 東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科
²⁾ 東北大学病院 放射線診断科
³⁾ 東北大学病院 泌尿器科
⁴⁾ 東北大学病院 病理部

<Background> The prevalence of chronic kidney disease (CKD) and renal outcome in patients with primary aldosteronism (PA) remains to be elucidated. <Objectives> To clarify the prevalence of CKD and alteration in renal function in patients with PA. <Methods> 144 patients with PA were treated according to the result of adrenal vein sampling. Adrenalectomy was performed on patients diagnosed with unilateral disease (ADX group : n=84) after a 3-month treatment with mineralocorticoid receptor antagonists (MRA), while those who were diagnosed with bilateral disease (MED group : n=60) were given medical treatment including MRA. Renal outcomes indicated alteration of estimated glomerular filtration rate (eGFR) and urinary albumin excretion (UAE). eGFR was calculated by the equation of the MDRD method for Japanese established by Japan society of Nephrology. Patients with eGFR<60 ml/min/1.73m² were defined to have CKD. <Results> Systolic and diastolic blood pressure significantly decreased in both groups and they remained a plateau during the follow-up. eGFR decreased significantly after a 3-month treatment with MRA in the ADX group. During the follow-up period, neither significant decrease in eGFR nor significantly increment of UAE was observed in both groups. The proportion of CKD patients was elevated after the specific treatment in both groups. We experienced quite a few PA patients with masked CKD disguising normal renal function before the specific treatment. <Conclusion> PA should be detected and treated appropriately as early as possible to prevent causing and progressing renal dysfunction.