

P-19 S100A16 タンパク質の新規肺腺癌診断マーカーとしての有用性

◎齊藤慶汰¹⁾、小林 信^{1,2)}、長塩 亮^{1,2)}、龍華慎一郎³⁾、真木幸代³⁾、蔣 世旭³⁾、三枝 信³⁾、鉢村和男²⁾、佐藤雄一^{1,2)}

1) 北里大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学、2) 北里大学医療衛生学部臨床検査学、
3) 北里大学医学部呼吸器内科学、4) 北里大学医学部病理学

【目的】

低分子量タンパク質には細胞や組織の機能に重要な役割を担う分子が多く含まれており、腫瘍の進展や浸潤転移のメカニズム解明に有用であるとの報告がある。そこで本研究では、肺癌細胞株を対象にした 2-DE 法を用いた低分子量プロテオーム解析より獲得した S100 ファミリータンパク質の S100A6、S100A10、S100A16 のうち、現在までに報告の少ない S100A16 に着目し、肺腺癌 (AC) の新規診断マーカーとしての有用性評価を行った。

【方法】

細胞株間の個体差を軽減するために AC 由来細胞株 2 種 (A549, LC-2/ad) とその他の肺癌細胞株 3 種 (扁平上皮癌 RERF-LC-AI、大細胞性神経内分泌癌 LCN1、小細胞癌 N231) をそれぞれ等量混合し、トリシン 2-DE 法を用いてタンパク質を分離した。実験は 3 回独立に行い、2-DE パターンの平均化を行った。他方に比して AC 由来細胞株において平均 1.5 倍以上の発現量の差が認められたスポットは質量分析装置によりタンパク質

を同定した。同定されたタンパク質のうち S100A16 については、肺癌組織マイクロアレイと 111 症例の肺癌組織を用いた免疫染色法を行い、組織内発現と臨床病理学的因子との相関を評価した。

【結果と考察】

トリシン 2-DE 法の結果、AC で発現が有意に高かった 7 スポットを検出した。そのうち 5 スポットが同定され、その上位 3 種は S100A6、S100A10、A100A16 であった。S100A6 タンパク質は AC において浸潤能との関連が報告されている分子であったが、S100A10 と S100A16 に関しては現在まで AC における詳細な検討の報告はない。今回の検討で、腫瘍細胞における S100A16 の膜発現はステージや腫瘍径等の種々の臨床病理学的因子と有意の相関性を示し、多変量解析の結果より、独立した予後予測因子になり得る傾向が示唆された ($P=0.06$)。今後は症例数を増やした検討を行うとともに、血清診断マーカーとしての有用性の検討も行っている。

P-20 ヒト大動脈老化のプロテオーム解析

◎三浦ゆり¹⁾、岩本真知子¹⁾、兼平 茜²⁾、津元裕樹¹⁾、副島友莉恵²⁾、戸田年総³⁾、森澤 拓¹⁾、新井富生⁴⁾、濱松晶彦⁵⁾、遠藤玉夫¹⁾、沢辺元司²⁾

1) 東京都健康長寿医療センター研究所・老化機構研究チーム、2) 東京医科歯科大学大学院・保健衛生学研究科、
3) 横浜市立大学・先端医科学研究センター、4) 東京都健康長寿医センター・病理診断、5) 東京都監察医務院

動脈硬化のひとつである「加齢性中膜変性症」は、梗塞などの閉塞性合併症を伴わないため、粥状硬化症に比べて研究が著しく遅れている。しかし、加齢により生理的に発生し、大動脈解離、大動脈瘤、うっ血性心不全など重篤な症状を引き起こす場合もあることから、その病態を解明することはきわめて重要である。そこで本研究では、若齢 (20 代)、中齢 (50-60 代)、高齢 (80 代-100 歳) の大動脈組織についてプロテオーム解析を行い、老化に伴う大動脈組織のタンパク質変化について明らかにする。

大動脈中膜サンプルは、東京都健康長寿医療センター及び東京都監察医務院において病理診断の確定した若齢者 3 例、中齢者 5 例、高齢者 4 例を用いた。マッシャーやジルコニアビーズを用いて破碎し、タンパク質を抽出した。蛍光色素 (IC3-OSu, IC5-OSu) を用いてタンパク質のラベルを行った後、等電点電気泳動 (pH4-7) 及び SDS-PAGE による蛍光ディフュージョン

二次元電気泳動 (2D-DIGE) を行い、スポットの比較解析を行った。発現の変動したスポットについて、トリプシンによるゲル内消化を行い、MALDI-TOF/MS 及び MALDI-TOF/MS/MS を用いた質量分析により、タンパク質を同定した。また、同位体標識法 (iTRAQ) による比較解析も行い、2D-DIGE の結果と比較し考察した。

平滑筋収縮に関与するタンパク質については、アクチンが減少するほか、アクチン結合タンパク質やトロポミオシン、ミオシンなどが増加し、アクチンの脱重合に関与するタンパク質が減少した。これらは、アクチンの減少による平滑筋の機能低下を補うために、その他のタンパク質が平滑筋の収縮能を促進させる変化を起こしたものと考えられる。また、酸化ストレス関連タンパク質である extracellular SOD (EC-SOD)、glutathione S-transferase、thioredoxin などが増加することが明らかになり、加齢により大動脈組織が酸化ストレスにさらされている可能性が示唆された。