



Expression profile of S100A2 and its clinicopathological significance in renal cell carcinoma

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2021-02-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 杉山, 貴之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003784

博士（医学） 杉山 貴之

論文題目

Expression profile of S100A2 and its clinicopathological significance in renal cell carcinoma

（腎細胞がんにおける S100A2 の発現プロファイルとその臨床病理学的意義）

論文の内容の要旨

[はじめに]

ヒト *S100* ファミリー遺伝子は構造的類似性を持つ少なくとも 21 のメンバーで構成されており、細胞内 Ca^{2+} センサーおよび細胞外因子として多様な細胞応答を調節するという報告がなされている。近年、様々ながん種における *S100* ファミリー遺伝子発現が報告されているが、*S100A2* に関する報告ではがんに対し抑制あるいは促進的に作用するとの相反する報告があり、また文献検索した限りヒト腎細胞がん（RCC）における *S100A2* の機能的役割は示されていない。今回の研究は、RCC における *S100A2* の発現パターンとその臨床病理学的有意義を評価することを目的とした。

[材料ならびに方法]

ヒト RCC 細胞株 3 種（Caki-1、769P、Caki-2）および外科的に切除されたヒト RCC 標本 81 例（淡明細胞型 RCC: ccRCC 67 例、非淡明細胞型 RCC: non-ccRCC 14 例）を使用した。ヒト検体を用いた研究プロトコルは浜松医科大学倫理委員会によって承認され（14-076）、書面による同意を得て手術標本より研究用組織を採取した。

S100A2 および *P53* mRNA 発現は、特異的プライマーを用いた RT-PCR にて解析した。陽性対照には *S100A2* 発現を確認した膀胱がん細胞 T24 を用いた。RT-PCR 産物を 2%アガロースゲルで電気泳動し、得られた画像のバンド強度を NIH image を用いて定量化した。臨床パラメーターによる *S100A2* mRNA 発現レベルの違いは、Fisher の直接確率検定を行い、RCC 標本における *S100A2* および *p53* mRNA 発現レベルとの関連は Spearman 順位相関係数分析を用い評価を行った。RCC 細胞における *S100A2* のプロモーターメチル化は、Combined bisulfite restriction analysis を使用して評価した。ゲノム DNA を亜硫酸水素ナトリウムで処理し、*S100A2* の調節領域を標的とするように設計されたプライマーを用いた PCR を行った。次に増幅産物を制限酵素 *Bst*UI と反応させ、PCR 産物の切断の有無に基づき判定した。タンパク質発現は、RCC 細胞では Western blotting、ヒト検体では免疫組織染色にて評価した。

[結果]

ヒト RCC 細胞株における *S100A2* の発現: ヒト RCC 細胞株における *S100A2* mRNA の発現は、3 種のヒト RCC 細胞株で確認されたが、Caki1 および Caki2 では mRNA 発現量が相対的に少なかった。タンパク質発現も RT-PCR と一致する所見を示した。さらに全てのヒト RCC 細胞株で *S100A2* プロモーター領域のメチル化を確認した。

ヒト RCC 検体における *S100A2* の発現: RCC 手術検体において、がん組織における *S100A2* mRNA の発現は、正常部位と比し低レベルであった。免疫組織染色においても RT-PCR と同様の所見であった。臨床検体 81 検体中の *S100A2* mRNA 発現比の中央値 0.2 をカットオフとし、高発現 30 例 (37.0%) および低発現 51 例 (63.0%) に群別化した。*S100A2* mRNA 高発現 RCC 検体の割合は、ccRCC に比べ non-ccRCC 例で有意に高かった (それぞれ 29.9 および 71.4%)。臨床病理学因子と *S100A2* mRNA 発現との相関を評価したが、有意な相関を有する因子を認めなかった。

RCC 検体における *S100A2* および *p53* の発現との関連: ccRCC64 検体における *p53* mRNA の発現レベルを RT-PCR で測定し、*S100A2* mRNA 発現との相関関係を検討したところ、*p53* mRNA と *S100A2* mRNA の発現レベルの間に有意な正の相関関係を認めた。

[考察]

嫌色素性腎細胞がんとオンコサイトーマの鑑別における *S100A1* の免疫組織染色の有用性、non-ccRCC と比較し ccRCC でより高レベルな *S100A4* mRNA 発現など、腎がんにおける組織診断補助としての *S100* ファミリー遺伝子の有用性が示されている。しかし *S100A2* と腎がんに関する検討は報告されていない。本研究では、まずヒト RCC 細胞株における *S100A2* の発現プロファイルを検索したが、ヒト RCC 細胞株における *S100A2* の発現レベルは低いことが明らかになり、また *S100A2* プロモーター領域におけるメチル化を認めた。臨床 RCC 標本の評価においても、正常腎組織と比較して腫瘍組織での *S100A2* の発現が低いことが示され、non-ccRCC 検体と比較し ccRCC 検体の *S100A2* 発現は低い傾向であった。これらの結果は、ccRCC と non-ccRCC の鑑別における *S100A2* 発現評価の有用性を示唆している。

ヒトにおける *S100A2* は非小細胞肺がん、膵がんなど複数のがん種において、がん遺伝子およびがん抑制遺伝子として機能しているとの相反する報告が認められる。本研究では、*S100A2* の発現レベルと有意に相関する因子を特定できなかったが、進行例を含むより多数サンプル解析により、腎細胞がんにおける *S100A2* の役割が明らかにされる可能性があると考えられる。

S100 タンパク質はがん抑制遺伝子 *p53* の転写活性調節に関与する、Ca²⁺ 依存的に *p53* 転写活性を促進するなど *S100* ファミリー遺伝子と *p53* シグナル伝達との相互作用に関する知見が示されている。本研究では、ccRCC において *S100A2* および *p53* mRNA の発現レベル間に有意な正の相関が認められ、RCC における *S100A2* と *p53* との関連性を裏付ける結果と考えられた。

[結論]

ヒト RCC 細胞株においてプロモーターメチル化による *S100A2* mRNA およびタンパク質の低発現を認めた。RCC 組織の *S100A2* mRNA 発現は正常腎組織より低く、*S100A2* mRNA 発現レベルは、ccRCC では non-ccRCC に比し有意に低かった。*S100A2* および *p53* の mRNA 発現レベルの間には正の相関関係を認めた。これらの結果は、RCC、特に ccRCC の進展における *S100A2* の役割は限定的で

ある可能性を示唆している。