

3 培養ヒト癌細胞の血管内皮細胞への接着におけるTn抗原の関与

徳島大

寺澤晃司, 桂 真澄, 井川佐紀, 古本博孝,
鎌田正晴, 青野敏博

[目的] 我々はこれまで、ムチン型母核糖鎖抗原であるTn抗原 (α -N-Acetylgalactosamine-O-Ser/Thr) を発現する子宮頸癌は、有意にリンパ節転移が多く臨床的に予後不良であることを報告してきた。今回、その転移機序を明らかにする目的で、Tn抗原を介する細胞接着が存在するか否かを、また抗Tn抗体が如何なる役割を演じているかを、培養癌細胞と血管内皮細胞との接着試験を行い検討した。

[方法] 単層培養したヒト臍帯静脈内皮細胞に、HeLa S3(SC)細胞を重層し、30分間のインキュベート後、緩衝液で洗浄し、顕微鏡下に接着癌細胞数を算定した。癌細胞は抗Tnモノクローナル抗体 (B1.1., TKH-6), Tn抗原特異的レクチン (Soybean Agglutinin, Vicia Villosa Agglutinin), 内皮細胞は α -N-Acetylgalactosamine, 合成Tn様抗原 (α -N-Acetylgalactosamine-O-Ser methyl ester) で前処置し接着性の変化を観察した。またABC法により癌細胞を染色しTn抗原の発現をみた。

[成績] 1) HeLa S3(SC)細胞はTn抗原陽性であった。2) HeLa S3(SC)細胞はヒト臍帯静脈内皮細胞に接着した。3) 2種の抗Tnモノクローナル抗体 (B1.1., TKH-6) はいずれも濃度依存性に有意に接着を阻止した。4) その他の処置では有意差は認められなかった。

[結論] Tn抗原を介する細胞接着が存在し、抗Tnモノクローナル抗体によりTn抗原発現癌細胞の血管内皮細胞への接着が阻止されることが示唆された。

4 新規転移抑制剤Urinary trypsin inhibitor は癌細胞膜結合性のplasmin活性を抑制する

浜松医大

平嶋泰之、小林 浩、鈴木麻理子、村山益生、定方久延、篠原弘光、寺尾俊彦

(目的) Urinary trypsin inhibitor (UTI)の癌転移抑制に関与する部位とその浸潤転移抑制の作用機序について検討した結果、UTI内のdomain IIのplasmin抑制が重要であり、特に、溶液中のみならず癌細胞膜結合性plasminをも高率に抑制することが初めて確認されたので、各種peptidesを作成してplasmin抑制および癌細胞の浸潤抑制に関して検討した。

(方法) 癌細胞は3LLを用い、Matrigelを敷いたmodified Boyden chamberを用い、filterの下面に浸潤した細胞をカウントしin vitro浸潤能とした。各種合成peptidesを作成した。以前報告したpeptide 1 (UTIのN末端)、peptide 2(domain I内の15個のアミノ酸)、peptide 3(domain II内の15個のアミノ酸)を用い、これらをmodifyし活性部位を検索した。合成基質S-2251を用いて各種peptidesによるplasmin抑制実験を行った。同時にtrypsin, elastaseに対する抑制作用も確認した。次に、3LL細胞を培養し、癌細胞表面に結合しているplasmin抑制に関して検討した。対照として使用したinhibitorsはalpha2-plasmin inhibitor (a2PI)とalpha2-macroglobulin (a2M)である。(結果) 溶液中のplasmin抑制に関してはa2PI>a2M=UTIの順にplasmin抑制作用を認めたが、癌細胞膜結合性plasminに関してはUTI>a2PI>a2Mの順にplasmin抑制作用を認め、UTIは癌細胞膜に結合したplasminを特異的に抑制することが判明した。in vitro浸潤抑制実験の結果も、UTIは濃度依存性に3LL癌細胞の浸潤を抑制したが、他のinhibitorsには抑制作用は認められなかった。各種UTI peptidesを用いた実験によりUTI分子内のRGPCRAFIの8つのアミノ酸配列が癌細胞膜結合性plasmin抑制の活性中心であり、さらにこの同一部位が浸潤抑制に最も大切であった。

(結論) UTIはdomain II分子内に存在する細胞膜結合性plasmin抑制作用により癌細胞のproteolysisを抑制することにより癌の浸潤、転移を抑制するものと考えられた。