

19 2次元電気泳動法による組織中SCC
抗原発現パターンの検討

山口大, 同第一生化*
 縄田修吾, 津永長門, 平林 啓, 坂口優子,
 村上明弘, 尾縣秀信, 住浪義則, 沼 文隆,
 中村和行*, 加藤 紘

【目的】扁平上皮癌関連蛋白SCC抗原は2次元電気泳動法(2-DE)により4個の蛋白分画に分離される。今回、2-DEを用いて子宮頸部の正常扁平上皮、異形成、癌におけるSCC抗原の発現パターンを比較検討した。
 【方法】正常子宮頸部23例、異形成(軽度異形成6例、中等度異形成8例、高度異形成8例)、上皮内癌6例、浸潤癌18例より、組織を採取し、各組織抽出液を試料とした。2-DEは、1次元目に未変性条件によるキャピラリー等電点電気泳動(IEF)を8°Cで2550Vh行った後、2次元目にSDS-PAGEを室温でゲル当り15mAの定電流にて行った。Western blot後、SCC抗原を特異モノクローナル抗体Mab13にて検出した。また、SCC抗原の多様性の一因としてリン酸化について検討を加えた。【成績】1) 2-DEにおいて組織中のSCC抗原は4個のスポットに分離された。スポット1, 2, 3は、等電点各々約6.4, 6.3, 6.0, 分子量約44,500, スポット4は等電点約5.9, 分子量約45,000であった。2) 各種組織におけるSCC抗原の発現パターンにつき特にスポット3と4の比較でみると、正常扁平上皮23例中21例ではスポット4が明かに大きく、2例では両スポットが同程度であったが、浸潤癌18例は全例スポット3が大きく、また上皮内癌6例中4例でもスポット3が大きかった。異形成ではスポット3と4が同程度を示すものが多かった。3) 2次元目にnon-SDS-PAGEを用いたnative 2-DEで、SCC抗原のスポット4は、IEF後アルカリフォスファターゼ処理によりスポット1とほぼ同じ相対的移動度となった。【結論】2-DEにおいて、SCC抗原のスポット4は、スポット1がリン酸化された亜分画であると考えられ、異形成、癌において減少する傾向を認めた。一方、スポット3は、癌において増加する傾向を認めた。

20 SCC 抗原による apoptosis 抑制効果

山口大, ビッツバーグ大病理*
 住浪義則, T. L. Whiteside*, 加藤 紘

【目的】SCC 抗原は、アミノ酸配列より serine protease inhibitor (serpin) family の一員であり、chymotrypsin と複合体を形成することより、酵素阻害活性を有する inhibitory serpin と考えられている。今回 SCC 抗原の生理的意味を考えるために、SCC 抗原を産生しない腫瘍細胞株に SCC 抗原の cDNA を transfection し、活性化 NK 細胞による腫瘍細胞に対する細胞障害性の変化を検討した。【方法】SCC抗原 cDNA を retroviral vector (MFG) に挿入し更に G418 による selection の為に Neo-r gene を下流に挿入した(SCC)。コントロールとして Neo-r gene のみを含むものを作製した(NEO)。これらの constructs を packaging cell (CRIP) に transfection し、得られた培養上清で SCC抗原を産生しない扁平上皮癌細胞株PCI-51を感染させ、G418でselection をかけた。得られた形質転換細胞に対する、IL2活性化 NK細胞の細胞障害性を MTT Assay法, ^{51}Cr Release 法, ^3H -TdR Release 法, TdT-mediated dUTP nick end labeling (Tunel) 法にて比較検討した。【成績】活性化 NK細胞による腫瘍細胞傷害性を総合的に評価しうる MTT Assay 法では、SCC による形質転換細胞は NEO に比較し有意に低い細胞障害性を示した。またapoptosisを介する細胞障害性を表す ^3H -TdR Release 法でも同様の結果であった。このapoptosisの抑制はTunel法でも確認された。しかしながら膜障害性を表す ^{51}Cr Release 法では、SCC と NEO による形質転換細胞間の差は認められなかった。【結論】SCC抗原は活性化NK細胞による腫瘍細胞のapoptosisを抑制することが判明した。このことは腫瘍細胞の増殖にSCC抗原が関与している可能性を示すものと思われた。