

- 565 光線力学的治療法におけるガン細胞の死滅機構に関する研究  
(阪大院・工・応生 \*京大院・工・生化)  
○湯浅透 仲里恭子 高木昌宏 今中忠行\*

【目的】光線力学的治療法(PDT)とは、腫瘍親和性を有する光感受性物質と可視光を用いた新しいガン治療法である。光照射により光感受性物質が励起し活性酸素種が生じ、ガン細胞はアポトーシスを誘導し死滅すると考えられている。しかし、詳細なガン細胞特異的ポルフィリン取り込み機構及び死滅メカニズムは明らかになっていない。そこで、アポトーシスを中心に各種の細胞について死滅機構の解析を行うことを目的とする。

【方法及び結果】ヒト子宮頸部ガン細胞(HeLa 細胞)、ヒト肝ガン細胞(HepG2 細胞)及びヒト正常肺線維芽細胞(WI-38 細胞)について、光増感剤であるヘマトポルフィリンと赤色光(600nm 以下の波長をカット)で処理を行い、核を Hoechst33342 と Propidium Iodide で二重染色し、細胞の死滅を蛍光顕微鏡で観察した。その結果、HeLa 細胞では、ポルフィリン濃度と光照射時間に依存してアポトーシスあるいはネクローシスによる死滅を起こしていた。アポトーシスによる死滅では、典型的なクロマチンの核膜への凝縮及びアポトーシス小体が見られた。一方、HepG2 細胞と WI-38 細胞では、ポルフィリン濃度と光照射時間に関わらず、アポトーシスではなく、ほとんどネクローシスによる死滅を示しており、細胞株間で死滅メカニズムに違いがあることが分かった。そこで、アポトーシスにおける死滅機構をさらに解析するために、アポトーシスを抑制する *bcl-2* 遺伝子を組み込んだ HeLa 細胞を用いた結果、蛍光顕微鏡による観察より、アポトーシスが抑制されることが分かった。

今後、caspase-3 活性の測定、及びストレスタンパク質である c-Jun の活性を測定する予定である。

Analysis of tumoricidal mechanism by photodynamic therapy

○Toru Yuasa, Takako Nakazato, Masahiro Takagi, Tadayuki Imanaka\* (Dept. Biotechnol., Osaka Univ. \*Dept. Synth. Chem. & Biol. Chem., Kyoto Univ.)

【Key Words】photodynamic therapy (PDT), apoptosis, necrosis, *bcl-2*

- 566 ヒト正常皮膚線維芽細胞への加圧刺激による  
インターロイキン-6 および-8 の分泌誘導  
○小山純弘<sup>1</sup>、相澤益男<sup>1,2</sup> (海洋科技センター<sup>1</sup>, 東工大・生命理工<sup>2</sup>)

【目的】近年、物理刺激に応答する細胞のシグナル伝達機構に関する研究が活発化してきた。すでに演者らは低周波数微小電圧刺激によってグリア細胞の NGF 発現プロセスを活性化できることを見出している。本研究では、圧力刺激に対する細胞応答を検討したところ、試験細胞に正常ヒト皮膚線維芽細胞を用い、加圧刺激によってサイトカイン産生が活性化されることが明らかとなった。

【方法及び結果】ヒト皮膚線維芽細胞を 3.5 cm シャーレ上で細胞密度  $3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> に達するまで培養した。さらに無血清培地で 24 時間培養することによって増殖を止め、細胞周期を G<sub>0</sub> 期に同調させた。24 時間培養後、シャーレ内を無血清培地で満たし、空気が入らないようにシーロンフィルムで密封した。密封されたシャーレを水圧加圧容器に入れ、各種加圧条件を検討した。加圧終了後、シャーレ内培地を 1% BSA 含有無血清培地 1 mL に交換し、さらに 24 時間培養した。24 時間のインキュベーション中に分泌された各種サイトカイン濃度を ELISA 法によってそれぞれ測定した。測定対象としたサイトカインの内、インターロイキン-6 (IL-6) および-8 (IL-8) が加圧刺激によって誘導されることを統計的に確認した。加圧刺激による IL-6 の最大分泌誘導量は、30 MPa, 20 分間の加圧条件で非加圧条件の約 18 倍、IL-8 では 10 MPa, 30 分間で非加圧条件の約 19 倍になることが認められた。

Pressure-Induced Excretion of Interleukin-6 and -8 from Normal Human Dermal Fibroblasts

○Sumihiro Koyama<sup>1</sup>, Masuo Aizawa<sup>1,2</sup>, (<sup>1</sup>JAMSTEC, <sup>2</sup>Dept. Bioeng., Tokyo Inst. Tec.)

【Key words】Interleukin-6, Interleukin-8, pressure-induced excretion, human skin fibroblast