

739 ポルフィリン・光刺激による子宮癌細胞死の抗体による促進

○仲里恭子、湯浅透、恵口豊*、高木昌宏、福井希一、今中忠行**

(阪大院・工・応生、* 阪大院・医・バイオメディカル、** 京大院・工・合成生化)

【目的】 光線力学的治療法(PDT)は、腫瘍性親和性を有する光感受性物質(ポルフィリン)の光励起により活性酸素種(ROS)を生じ、物理化学的ストレスとなりガン細胞を死滅させる治療法である。我々は、L鎖単独でポルフィリンと結合し、光増感作用を有している抗ポルフィリン抗体を取得している。そこで本研究では、PDTにおける死滅機構を解析し、さらに抗体を利用することによる効率的なPDTの開発を目的とした。

【方法と結果】 ヘマトポルフィリンと赤色光(600nm, $1 \times 10^3 \text{ mW/m}^2$)でヒト子宮頸部ガン細胞(HeLa)を処理した結果、形態学的に典型的なアポトーシスが蛍光染色法で認められ、Caspase-3活性化、Bcl-2による細胞死抑制、ストレスタンパク質であるJNKとp38の活性化が観察された。また、protein kinase Cを活性化するTPA(12-*o*-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate)を添加すると、PDTによる細胞死は抑制されたことから、セラミドによるアポトーシス誘導プロセスとの共通点があった。ポルフィリンとL鎖複合体による死滅促進効果を調べた結果、ヘマトポルフィリン(60 $\mu\text{g/ml}$)に対して、抗体無添加の状態では30分間光を照射すると生存率は70%であったのに比べ、L鎖(50 $\mu\text{g/ml}$)を添加の場合20%と生存率が低下したことから、抗体による光線力学的ガン細胞死の促進効果が認められた。

Enhancement of porphyrin-photoinduced HeLa cell death by antibody

○Takako Nakazato, Toru Yuasa, Yutaka Eguchi*, Masahiro Takagi, Kiichi Fukui, Tadayuki Imanaka**, (Dept. biotechnol., *Medical Sci., Osaka Univ., **Dept. Synth. Chem. Kyoto Univ.) 【Key word】 apoptosis, HeLa, porphyrin, antibody

740 ヒト好酸球由来リボヌクレアーゼECPの癌細胞に対する効果

○前田貴志、北添翠、二見淳一郎、多田宏子、妹尾昌治、山田秀徳
(岡大院・工・生体)

【目的】 最近、我々のグループ及びNIHのグループによるイムノトキシンの構築で脾臓由来型ヒトRNaseが従来の外来性毒素タンパク質の代わりに毒素ドメインとして利用できる可能性が示され、ヒトRNaseの生理的意義の解明と医療への応用への関心が急速に高まっている。本研究では、ヒト脾臓由来型RNaseのなかでほとんど手のついていないヒト好酸球由来RNase(human ECP, hECP)およびその変異体(-4)hECP(ECPのN末端を4残基延長したもの)について、癌細胞株に対する毒性とその機構の解明を目的とする。

【方法及び結果】 hECPと(-4)hECPの癌細胞株に及ぼす影響は、MTTアッセイおよびコロニーフォーメーション法を用いて調べた。検討した細胞株はマウスメラノーマ細胞株B16/BL6、ヒト乳癌細胞株T-47D、ヒト肝癌細胞株HepG2、ヒト乳癌細胞株MDA-MB-453、ヒト扁平上皮癌細胞株A431である。これらのうちA431細胞に対して、hECPおよび(-4)hECPは同程度の細胞増殖阻害活性を示した(10 μM で約40%の細胞増殖阻害を誘起)。しかしECPを除いた培地に戻すと増殖が始まったのでこの活性は細胞障害ではなく増殖停止の効果である可能性が示唆された。他のRNaseにはこのような細胞増殖阻害活性は全くみられなかった。

【将来の展開】 hECPにタンパク質工学の手法で様々な特定機能を付与することで、抗原性も問題にならない強力な制ガン作用および抗ウイルス作用を持つ有用な分子を構築できる可能性がある。

Effect of Eosinophil Cationic Protein (ECP) on Carcinoma Cells.

○Takashi Maeda, Midori Kitazoe, Junichiro Futami, Hiroko Tada, Masaharu Seno, Hidenori Yamada, (Dept. Biosci and Biotech., Okayama Univ.)

【Key words】 ribonuclease, eosinophil, immunotoxin, cytotoxicity, A431 cell line