

359 子宮内膜癌細胞株における tissue-type plasminogen activator (t-PA) 分泌調節の機序

香川医大

単 莉, 加藤賢朗, 神保利春

〔目的〕子宮内膜癌細胞におけるt-PA産生, 分泌の有無, 産生の調節因子についてはよく知られていない。我々は子宮内膜癌細胞株(KLE細胞)を用いて、t-PA産生の有無, 又t-PA分泌を調節する因子について検索したので報告する。〔方法〕KLE細胞を 3×10^5 cells/wellの濃度で6穴multi-dishに播いた。三日後, 培養液を除去し, 新鮮な4% FCS・HAMF 12・DMEM(1:1) 2mlを加え, さらに試薬を添加し, 適当な時間incubateした。実験の最後に培養液を採取した。細胞数をTrypsin-EDTA処理後, Coulter Cell Counterを用いて測定した。培養液中のt-PAはELISA法により測定した。〔成績〕1) KLE細胞はt-PAを産生・分泌していた。培養液中の基礎値は $6-12 \text{ ng}/10^6 \text{ cells}/24 \text{ hrs}$ であった。2) 細胞内伝達情報をmodulateする様々な物質(Insulin($49 \text{ mU}/\text{ml}$), T3(10^{-8} M , 10^{-6} M), PDGF($1 \text{ ng}/\text{ml}$), Hydrocortison(10^{-6} M), Retinoic acid(10^{-6} M), 8-bromo-cAMP(1.0 mM), IGF-I($500 \text{ ng}/\text{ml}$)を添加し, 24時間或いは48時間incubateしたが, これらの物質はt-PAの分泌に対して何らの影響を与えなかった。3) Phorbol ester(PMA)はt-PA分泌を濃度的依存に促進した($10^{-10} \text{ M} \sim 10^{-6} \text{ M}$)。4) PMA(10^{-8} M)は添加3時間後から有意のt-PA分泌促進作用を有し(2.5倍), 12~24時間後にピークとなり, その後徐々に減少した。5) 他のPhorbol esterの添加実験ではPDDは 10^{-8} M からコントロールに対して有意のt-PA分泌促進を示した(3.0倍 $P < 0.001$)。4 α -PDD, phorbol($10^{-9} \sim 10^{-7} \text{ M}$)はt-PAの分泌に対して何らの作用もなかった。6) CycloheximideおよびActinomycin DはPMAのt-PA分泌促進作用を阻止した。〔結論〕子宮内膜癌細胞株においてphorbol esterはt-PAの分泌をmodulateする。

360 婦人科癌細胞の組織立体構造形成とCADFERIN

慈恵医大

佐々木 寛, 多田聖郎, 清川貴子, 厚川裕志, 岸野喜保, 大村峯夫, 寺島芳輝

〔目的〕癌の浸潤転移とCADFERINとの関係は近年注目されているので, 婦人科癌細胞の凝集現象による立体構造形成にCADFERINがどのような働きをしているかの基礎的検討を行った。

〔方法〕ヒト婦人科癌由来培養細胞20種(うち, 卵巣癌5種, 子宮頸癌4種, 子宮体癌11種)を用いた。ヒト型E-CADFERIN(ECAD), P-CADFERIN(PCAD)のMONOCLONAL抗体を用いWESTERN BLOT法とDENSITOMETRYにより細胞当りのECADとPCADの量を測定した。同時に抗体による細胞凝集抑制効果を検討した。細胞凝集のモデルとしては, MULTICELLULAR SPHEROIDを用いた。また, 子宮体癌凍結組織切片の免疫組織化学により癌細胞遊離浸潤部位のECAD, PCADの局在性を確認した。〔成績〕培養細胞20種中10種がSPHEROID形成をし, ECAD抗体は, その形成を抑制した。しかしPCAD抗体は, 全くSPHEROID形成を抑制できなかった。各細胞のECAD, PCADの量は細胞 10^6 個当りの面積ビーク値で表わすと, SPHEROID形成細胞10種の平均値は, 28.9 ± 32.2 (ECAD), 37.6 ± 43.7 (PCAD)。一方SPHEROIDを形成しない細胞のそれは, 54.7 ± 75.4 (ECAD), 134.7 ± 93.0 (PCAD)であり両細胞群間に優位の差を認めた。ECADとPCAD比はSPHEROID形成群が0.77, 非形成群が0.41であり, ECADの量がPCADより多いとSPHEROID形成がみられた。組織切片の免疫染色では癌細胞の遊離浸潤部位の染色率が低い傾向を示した。〔結論〕E-CADFERINは, in vitroにおいて婦人科癌の組織立体構造形成に重要な役割を果たしており, 癌の浸潤, 転移形成にも関与する一つの鍵であることが推察された。