

547 凝固抑制蛋白 Calphobindin I (CPB I, Annexin V) の癌細胞組織因子活性 (PA) に与える影響について

秋田大

佐藤宏和, 軽部裕子, 大山則昭, 設楽芳宏, 真木正博

【目的】当教室が胎盤より精製した凝固抑制蛋白 CPB I は各種癌細胞内にも存在する。DICに移行しやすい急性前骨髄性白血病の樹立細胞株である HL-60 は、発癌 promoter である TPA の刺激により増殖を停止し、マクロファージ様細胞に変化する。今回我々は、この TPA 刺激による細胞全体の PA 変化及び細胞内 CPB I 濃度変化を検討し、さらに CPB I が癌病態において凝固抑制物質として機能しているか否かを検討した。【方法】10% FCS 加 RPMI 1640 にて継代培養した HL-60 を 24 well plate に  $0.5 \times 10^5$  cells/well ずつ蒔込み、 $0.01 \mu\text{M}$  の TPA にて 0, 4, 24, 48 および 72 時間刺激した。その後 PBS にて 2 回洗浄し、超音波処理した検体の PA を、第 X 因子活性化反応により発色基質 S 2222 を用いて定量した。また、超音波処理後の検体に CPB I の凝固抑制活性を阻害する精製家兎抗 CPB I ポリクローナル抗体を、 $0.2 \text{ mg/ml}$  となるように添加し、同様に PA を測定した。なお、PA は細胞  $10^6$  個当りの値を、Thromborel® S (Behring) 1 g に相当する量を 1 unit として換算した。一方、同様に刺激、洗浄した細胞を 5 mM EGTA, 0.1% Triton X-100 を含む Tris buffer にて超音波処理後、18,500 xg, 1 時間遠心した上清中の CPB I 濃度を Sandwich ELISA 法にて測定した。【成績】HL-60 の PA は刺激前の  $0.067 \text{ mU}/10^6$  cells より時間依存性に増加し、72 時間後には  $1.046 \text{ mU}/10^6$  となった。この活性は測定前の抗 CPB I 抗体添加により有意に上昇した。また、CPB I も TPA の刺激に応じて増加し、48 時間後には  $0.897 \mu\text{g}/10^6$  cells の最大値を示した。【結果】HL-60 の PA は TPA 刺激により上昇するが、同時に産生された CPB I がこの PA を抑制しており、PA は組織因子様物質の抗原量を正確には反映していないと考えられた。

548 J A R 細胞の hCG 分泌及び増殖における磁力線の影響

大阪府立成人病センター 婦人科

小野雅昭, 東 千尋, 稲垣 実, 尾崎公巳

【目的】電流に伴い空間には電流に 관련된 磁場が形成される。近年産業面における核融合、超電導及び医学面における MRI の臨床応用にもなっており、強力な磁力線に被爆する機会が増えつつある。しかしながら磁力線の生体に及ぼす影響については未だ解明されていない。今回我々は、磁場の生体に及ぼす影響を調べる目的で、絨毛癌細胞株 J A R の細胞増殖及び、HCG 産生に対する磁場の影響について検討を加えた。【方法】大阪大学通信工学科の協力のもと、細胞培養系に一定の静磁場を加える装置を開発した。J A R 細胞を 24 時間通常の培養装置にて培養後、細胞数を調整し、培養上清を交換して電磁波被爆培養系で更に 24 時間培養後、 $^3\text{H}$  標識チミジン を 8 時間パルスし、チミジンの細胞内への取りこみ及び培養上清の HCG 濃度を、Enzyme-immuno-assay 法により調べ電磁波非被爆培養系での値と比較検討した。

【成績】磁場強度を上げるに伴い、J A R 細胞の細胞増殖及び HCG 産生は抑制され、200 OmT の磁場においては、非被爆細胞培養系に比較して、細胞増殖において 10~30%、HCG 産生では 20~40% の抑制を認めた。細胞の viability は電磁波の非被爆、被爆のいずれにおいても 97% 以上で差は認めなかった。【結論】磁場の細胞に及ぼす影響については未解明であり、今後の研究課題であるが今回の我々の実験結果は、磁力線が細胞増殖のみならず、生理機能にも影響を及ぼすことを示唆するものであり、癌細胞のみならず各種の正常細胞においても、爆磁により生理機能が影響を受ける事が考えられる。