

培養肝癌細胞の表層における Mg-ATPase 活性とその細胞密度依存性の変化について

木村資亜利 (東工大・総合理工・生命化), 大西孝之 (東工大・理・生物)

Contact-mediated changes in Mg-ATPase activity at the surface of primary cultured hepatoma cells

細胞表層の ATPase 活性については、神経細胞 (Stefanovic *et al.*) や腫瘍細胞 (Ronquist *et al.*) の培養系でその存在がほぼ確認されており、膜の外側に活性があることから ecto-ATPase とも呼ばれている。我々はラット培養肝癌細胞 (AH66) を用いて、その細胞表層の ATPase 活性を測定した。

この酵素は 10mM の PCMB (*p*-chloromercuric benzoate) でその活性が約 80% 抑制され、1mM および 10mM の ouabain では全く阻害されず、また Ca イオンによって活性が促進されることもなかったことから、Mg-ATPase であると推定される。

この ATPase の特徴は、培養日数の経過に伴ってその単位細胞数あたりの活性が上がることで、このことから細胞密度と表層 ATPase との関係が示唆された。そこで磷酸鉛法 (Sugár による変法, 1972) によって ATPase 活性部位を組織化学的に観察したところ、この酵素が細胞どうしの接触面で特に強い活性を示すことがわかった。したがって、細胞密度が低く細胞どうしの接触が少ない状態では活性は低くなる。また AH66 細胞は正常細胞と異なり、培養系で単層を形成したのちも接触阻害を起こすことなく増殖し続けるが、その状態での接触面における ATPase 活性は一層強くなる。ここで用いた磷酸鉛法は Mg-ATPase に特異的な ATPase 検出法であり、接触面に現われる活性はやはり PCMB で抑えられる。

以上の結果から、AH66 細胞の表層 Mg-ATPase 活性は、癌細胞に接触阻害が起こらないという事実と何らかの関連をもつものと考えられる。

cAMP 処理をした培養肝癌細胞の細胞表層 ATPase 活性の変化について

大西孝之, 伴三千代 (東工大・理・生物) 山口和子, 犬塚孝子 (日女大・生物)

Changes on Mg-ATPase activity at the outer surface of cAMP-treated ascites hepatoma cells

初代培養した腹水肝癌細胞 AH66 は互いに接触すると、その接触面で Mg-ATPase 活性が著しく増大することが木村によって見出され、そしてこれが癌細胞において contact inhibition が欠如していることと、なんらかの関係があるのではないかと示唆された。

そこで、このような AH66 細胞に cAMP を加えると、contact inhibition が出現するかどうか、そしてさらに細胞どうしの接触面の Mg-ATPase 活性が cAMP の存在によってどう変化するかを組織化学的に調べた。

1mM (But)₂ cAMP と 1mM テオフィリンとで連続処理をした場合、飽和密度である 20×10^4 細胞 / cm² で細胞の増殖はほぼ完全に停止した。ついで (But)₂ cAMP と テオフィリン とを除くと直ちに増殖を再開するのがみられた。

細胞の形態は、cAMP 処理のものはより扁平にそして大きくなり、細胞どうしの接触面が不明瞭となる傾向がある。

一方、Mg-ATPase 活性は培養日数の増加につれ、細胞どうしの接触が密になるほど接触面での活性は著しく強くなった。cAMP で処理したものは、接触面の Mg-ATPase 活性は顕著に低下していた。cAMP を除くと 24 時間で Mg-ATPase 活性は再び上昇した。

島を形成している AH7974 を培養し島内の細胞どうしの接触面の Mg-ATPase 活性を調べたところ、活性は局所的な差はあるものの、一般に極めて低かった。

以上のことから、細胞表層の Mg-ATPase は contact inhibition と直接あるいは間接的になんらかの関係があるものと推測する。