

18. 8-ヒドロキシグアニン修復機構におけるエタノールの影響

平野 雄¹ 平野 英保² 鶴留 洋輔¹
 大津山 祐子¹ 木戸 利恵¹ 葛西 宏¹

¹産業医科大学産業生態科学研究所職業性腫瘍学

²産業医科大学医学部生化学

健康を損なうことなく如何に飲酒を楽しむかは重要な問題である。我々は以前ラットを用いてエタノール単独ではDNA損傷のレベルを上昇させないが、オートクレイブ食を同時に与えるとDNA損傷の生成レベルが上昇することを見出した。今回、我々は低濃度（12%）のエタノールを発癌物質（3'-Methyl-DAB）投与マウスに与え、酸化的DNA損傷のひとつである8-ヒドロキシグアニンの生成レベルおよびその修復活性の変動を測定し、飲酒の影響を検討したので報告する。3週齢dYマウスをAからFの6群に分けた。A群は無処置群、B群は飼育2ヶ月後から3'-Methyl-DAB飼料を8ヶ月間与えた群、C群は全経過を通じて12%エタノールを与えた群、D群は全経過を通じて12%エタノールを与えると共にエタノールより2ヶ月遅れて肝発癌物質である3'-Methyl-DABを0.06%含んだ飼料を8ヶ月間与えた群、E群はエタノールを6ヶ月間与えた後、通常の飲料水を4ヶ月間与え、飼育2ヶ月後から8ヶ月間3'-Methyl-DAB飼料を与えた群、F群は飼育2ヶ月後から3'-Methyl-DAB飼料を8ヶ月間与え、飼育6ヶ月後からエタノールを4ヶ月間与えた群である。全行程が終了した時点でマウスを屠殺し、肝臓を取り出し、DNA中の8-ヒドロキシグアニン、その修復活性、およびOGG1mRNAレベルの測定を行なった。その結果、8-ヒドロキシグアニンはコントロール群に比べ、3'-Methyl-DAB単独投与群で有意に上昇したが、12%エタノール単独投与では変化を認めなかった。3'-Methyl-DAB投与に先だって12%エタノールを投与した2群（D,E）では8-ヒドロキシグアニンはコントロールより高まっていたものの、3'-Methyl-DAB単独投与よりは有意に低く抑えられていた。エタノールを3'-Methyl-DAB投与に加えて後半から投与開始した群では抑制効果は見られなかった。また、修復活性は3'-Methyl-DAB投与により上昇したが、エタノールの明らかな影響は認められなかった。しかし、OGG1mRNAの発現はE群で強く誘導されていた。以上より、エタノールをあらかじめ投与すると発癌物質による酸化的DNA損傷の程度が有意に抑えられることが示され、この抑制作用にはOGG1の発現が関与している可能性が示唆された。

19. マウスIL-2分泌recombinant BCG

—膀胱癌細胞に対する抗腫瘍エフェクターの解析—

山田 博^{1,3} 松本 莊吉² 内藤 真理子²
 大原 直也² 山田 毅² 松本 哲朗²
 山下 優毅²

¹産業医科大学医学部泌尿器科学

²長崎大学歯学部口腔細菌学

³産業医科大学医学部免疫学

【目的】表在性膀胱癌及び上皮内癌に対し、BCG膀胱内注入療法は有効な治療法であるが、生菌による重篤な副作用も確認されており、BCGの減量もしくは他剤による検討が行われている。そこで我々はBCG主要分泌蛋白であるα抗原の signal sequence をもちいてマウスIL-2分泌recombinant BCG (rBCG) を作成した。また、その抗腫瘍因子をマウス膀胱癌を用いてin vitroにて検討した。

【方法】PCRにて増幅したマウス IL-2 遺伝子を pBluescript II SK(+) vector に繋ぎ、大腸菌に形質転換した。IL-2遺伝子を vector より取り出しsequenceによりDNA配列に異常のないことを確認した後、α抗原（*Mycobacterium kansasii* 由来）及びα抗原の signal sequence を繋ぎ、大腸菌—BCGのshuttle plasmid vectorであるpSO246に接続した。十分量のshuttle plasmid vector は大腸菌にて精製し electroporation 法にてBCGを形質転換した。本 vector の有無はKm耐性で分別した。7H10寒天培地（Km+）にて3週間培養し single colony をSauton 液体培地に継代し3週間培養した。その後培地中の蛋白を精製し活性を調べた。ThioglycolateをC3H/HeNマウス腹腔内に投与し3日後に腹腔内浸出細胞を採取し、BCGおよびrBCGにて24時間刺激したものを effector cell として用いた。Target cell としてMBT-2マウス膀胱癌細胞を用いた。

【結果と結論】rBCGはin vitroの培養でIL-2を産生しその活性も認めた。rBCG刺激によるマクロファージのNO産生はBCGの約1.4倍、膀胱癌細胞に対する抗腫瘍作用も約2倍の効果を認めた。本IL-2分泌のrBCGが優れた抗腫瘍治療薬になる可能性があると考えられた。