

373

ヒト肺癌細胞培養液からの腫瘍抗原の分離
について

獨協医科大学胸部外科 *生化学

○安田真一,*大江正人, 嶋田晃一郎
堀江昌平

肺癌患者の診断や経過の観察，免疫学的治療等の広範囲での利用を考える場合，肺癌関連抗原(LTAA)の使用は有力な手段となると考えられる。この方面の研究は従来手術切除組織が材料に使用されてきたが，材料由来の種々の問題や得られる組織の量に限度があったり，同一材料で十分に研究がなされたとはいえない。今回，我々はこれらの問題を満たすということから，ヒト肺癌細胞培養上清からLTAAが分離できるのではないかと考えて検討を行っているので，その成績を報告する。

腫瘍細胞はヒト肺癌細胞で組織型は腺癌である。培養液は10%牛胎児血清(FBS)添加RPMI 1640(RPMI)およびFBS無添加DM170培地を用いた。細胞はRPMI中にてsubcultureしたものを大量培養に移し，DMにて培養しConfluentにした培養上清を採集し，これを遠心した後，透折したものを凍結乾燥したものをLTAAとした。活性の測定はBalb/cマウスに癌細胞 2×10^6 を2週間間隔で3回免疫した後3日目の脾臓よりリンパ球(Ly)を分離しマイクロプレートにウェル当たり 2×10^5 分注しそこにLTAAを種々の濃度を加えCO₂インキュベーター中で4日間培養後³H-thymidine(TdR)を添加し20時間培養して，LyへのTdRの取り込みを測定した。LTAAの精製は，Sephadex G-200カラムクロマトグラフィー(S-G)高速流体クロマトグラフィー(HPLC) SDSで行った。

LTAAは $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度にて癌細胞を免疫したマウスのLyを刺激したが非免疫正常マウスのLyに対しては全く刺激しなかった。S+GによるLTAA分画はvoid volume後のtube番号70本目とtube 115本目にピークとするピークに分離した。

目下このピークをさらにHPLC, SDSにて分画する一方，ここで得られたLTAAを用いてkiller細胞が誘導できるか肺癌患者のLyの刺激能および組織型に特異的かということについて検討中である。

374

ヒト肺癌培養細胞に対する温熱療法

—効果増強を目的とした制癌剤投与時期の検討—
長崎大学第1外科

清水輝久, 田川 泰, 福田 豊, 石橋経久,
綾部公懿, 三浦敏夫, 富田正雄

(目的) 近年，癌に対する温熱療法が注目され臨床的にも応用されつつある。温熱療法の効果を高める目的で，制癌剤が併用されるが，その有効な投与時期を検討した報告は少ない。我々はヒト癌培養細胞を加温し，制癌剤を投与時期を変えて接触させ，その効果増強について検討した。

(材料及び方法) PC-1を35mm径のプラスチックシャーレに 5×10^5 個植込み，増殖用培地にはRPMI1640にFCSを10%加えて用いた。37℃，5%CO₂にて24時間培養後，43℃で1時間培養し，37℃に再び移動し，3日間培養を行つた。Adriamycin, Bleomycinを加温2時間前，加温中，加温2時間後，各々1時間接触させ，3日間のgrowth curveを作製した。さらに細胞を固定後，Flow cytometry(FACS-IV)を用い，two step acridine orange法にてDNA, RNA量の変動を検討した。

(結果) ADM $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ，BLM $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 投与にて，3日後の細胞数を比較すると，加温後制癌剤接触群では加温単独群に比べADM:22.8%，BLM:44.6%と軽度の増殖抑制が認められた。一方，加温中接触群ではADM:59.5%，BLM:62.8%と最も抑制効果が高かつた。加温前接触群ではADM:27.8%，BLM:54.7%と中等度の抑制が認められた。Flow cytometryにて，DNA量(green fluorescence)を検討すると，加温単独群では2C(G₁期)をpeakとする二峰性のhistogramを呈するのに対し，増殖抑制効果が最も高かつた加温中接触群では，1日目の細胞において，ADM投与群，BLM投与群共に4C(G₂+M期)へのaccumulationがみられた。尚，加温後接触群では，加温単独群とほぼ同様のhistogramを呈した。又，主としてRNA(red fluorescence)をみると，加温単独群では，単峰性の高いpeakを持つたhistogramを呈するのに対し，加温中接触群ではADM接触群，BLM接触群共にpeakが右方に偏位した低くなだらかなhistogramを呈した。

(まとめ) ①ヒト肺癌培養細胞を43℃1時間加温し，加温前，中，後に各々制癌剤を1時間接触させると，増殖抑制効果はADM $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ，BLM $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 接触群共に加温中，前，後接触群の順に強かつた。

②Flow cytometryによりDNA, RNA histogramをみると，増殖抑制効果の強い群程，加温単独群に比べ，DNA, RNA histogram共に変化が著明であつた。