

17.ESR-spin trapping methodによるfree radical 測定法の再評価(一般講演)(東日本学園大学歯学会 第11回学術大会(平成5年度総会))

著者名(日)	金子 昌幸
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	12
号	1
ページ	136
発行年	1993-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00007867/

16. In vivoにおける腫瘍関連抗原の表現変化

—Flow-cytometric analysis—

柴田敏之, 有末 眞, 村瀬博文
(口腔外科2)

ラット線維肉腫KMT-17およびその培養株の1クローンA3細胞は, 良好な増殖状態では腫瘍関連抗体(TAA)であるCE7抗原をsheddingし膜面にあまり表現されていない。しかし, in vitroにおいて培地に添加する牛胎児血清濃度を下げたり, 抗癌剤, 放射線処理を行い増殖を抑制すると膜面に表現され, A3細胞の抗原性が増強させる。今回in vivoにおける腫瘍増殖の抑制とCE7抗原の発現との関係をFlow cytometryを用いて観察した。

In vivo継代KMT-17 (1×10^5) をラットに皮下移植し移植後8~12日の5日間Bleomycin(BLM)5mg/kg/day腹腔内投与し, 13日目の腫瘍細胞を機械的に浮遊細胞として抗CE7モノクローナル抗体を用いて膜面のCE7抗原を検索した。その結果, 腫瘍増殖の抑制されたBLM投与群では, 未処置群に比べCE7抗原を強く表現していた。また, KMT-17 (1×10^6) 右下肢筋肉内移植し, 移

植5日目に腫瘍局所に10~60Gyの放射線照射を行った。照射後, 経時的に腫瘍組織を摘出し浮遊細胞としCE7抗原を検索した。CE7抗原を表現する細胞は, 30Gy照射後2, 3日目に多く出現していた。次にFriend Virus感染異物化FV-KMT-17細胞 (1×10^6) を皮下移植し, 移植5日目の増殖期の腫瘍組織と10日目の自然退縮期の腫瘍組織を摘出し, CE7抗原を表現する細胞の検索を行った。その結果, 増殖期の細胞にはCE7抗原はあまり表現されていなかったが, 退縮期の細胞には強く表現されていた。

以上の結果は, in vivoにおいてもin vitro同様腫瘍細胞の増殖の抑制によってCE7抗原が細胞膜面に表現されることを示している。また, この現象が, 抗癌剤投与, 放射線照射および異物化抗原に対する宿主免疫によって腫瘍の退縮したラットに強い特異的腫瘍免疫を誘導する一因と考えられた。

17. ESR-spin trapping methodによるfree radical測定法の再評価

金子昌幸
(歯科放射線)

【目的】 生体内で発生するfree radicalは極めて短寿命かつ不安定であり, 従来の方法では測定が困難であった。しかし, Janzenによって発表されたESR-spin trapping法は, 不安定なfree radicalを比較的安定なspin adductに変換し, 電子スピン装置でスペクトルを測定することを可能とした。生成したfreeパラメータからfree radicalの同定が可能であること, 非破壊的な分析が可能であること, 試料の形状や色調に影響されることがないこと, などの利点が挙げられる。

今回は, 各種free radicalの測定を行う前準備として,

種々の測定条件の再評価を行うことを目的とした。

【方法】 free radicalとしてはsuper oxide anionを用いることとし, Hypoxanthine-Xantin oxidase系の反応を利用した。測定項目は, Xantine-oxidase濃度による変化, DMPO濃度による変化, 時間による変化等についてである。

【結果】 Xantine oxidase濃度は0.1u/ml~0.4u/mlの間では, super oxide anionの発生量とほぼ比例関係が成立した。測定時間は反応開始後1分が最適であった。DMPO濃度は15 μ l以上でほぼ一定となった。