

一 般 演 題 抄 錄

5. ^{31}P -NMR における磁気刺激後の筋収縮の高エネルギーリン酸化状態の変化

千葉 惇 小林 肇 仲西宏元 秩父志行

近畿大学医学部第1生理学教室

カエル縫工筋を用い、電気刺激と磁気刺激による筋収縮後の同じ負荷による仕事量について高エネルギーリン酸化状態を調べた。

ウレタン麻酔後、ウシガエルの縫工筋を摘出し、約30分間、95%と5% CO_2 を通気したリンガー液に浸した後に用いた。筋を収縮させるには、直接筋を通電刺激する場合、神経刺激する場合、そして磁気刺激の3つを用いた。5回の刺激を1トレインとし、縫工筋に5g, 10g, 20gの重量負荷を加え、3mmの収縮高になるようにした。磁気刺激は、マグスティム M200 (Magstim 社) で直径、70mmの8字コイルを用い、コイルの交差部直下に標本を置いた。各標本への刺激は2Hz、5秒おきとした。NMRにはJEOL-GX400(日本電子)を用い、 ^{31}P を161.7MHzで、観測パルス角45°、パルス繰り返し時間は2秒で、60回の積算を行った。測定は水温10°Cで行った。コントロール群では少なくとも3時間は筋の高エネルギー

リン酸化物の濃度、糖リン酸(SP)、無機リン酸(Pi)、クレアチンリン酸(CrP)、ATP ($\gamma\alpha\beta$) が無変化であった。10gの重量負荷より各刺激条件で差が生じた。20gの重量負荷の場合には、5回のトレイン刺激後、筋の直接電気刺激では、CrPの半減とPiの250%の濃度上昇が観察され、細胞内pHも6.95と酸性へシフトした。神経刺激では30%のCrPの減少、150%のPiの上昇、そしてpHも7.10へと低下した。しかしながら、磁気刺激においては、10%のCrPの減少と110%のPiの上昇しか認められず、また細胞内pHはほとんどpH7.35で変化なかった。

磁気刺激による筋収縮では、直接、筋への電気刺激や神経刺激による筋収縮よりも、筋内の高エネルギーリン酸化物が保持されており、そして筋収縮が引き起こされると思われる。

6. 温熱下での腫瘍細胞によるウロキナーゼレセプター発現の解析

池田昌人 市川 勉 深尾偉晴 上嶋 繁 水野 琢 松尾 理

近畿大学医学部第2生理学教室

目 的

腫瘍細胞の熱抵抗性と細胞性線溶の中心的因子であるウロキナーゼレセプター (u-PAR) の発現との関係を明らかにする目的で正常細胞との比較検討を行なった。

方 法

正常細胞はヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、腫瘍細胞はヒト悪性黒色腫細胞 (melanoma)、ヒト骨肉腫細胞 (NY)、ヒト好転移性肺腺癌細胞 (HAL-8) およびヒト線維肉腫細胞 (HT-1080) を用い、10%ウシ胎児血清含培地にて37°Cで培養し、単層を形成させた。昨年度の本学会ですでに報告したようにHUVECは無血清培地でも42°Cで2時間は生存率100%であるのに対してこれらの腫瘍細胞は同条件下で生存率が有意に低下する。そこで、42°C、2時間培養後の培養上清液中のプラスミノゲンアクチベータ (PA) をエンザイモグラフィ法で、u-PARの発現程度は細胞から抽出したRNA中のu-PAR mRNAをノーザンプロット法にて解析、定量した。

結果と考察

HUVECでは42°C、2時間まで時間依存的にウロキナーゼ (u-PA) および組織性PA (t-PA) の分泌が37°C培養に比べ増加した。しかし、腫瘍細胞株ではいずれも分泌PAのタイプおよび量に変化はなかった。HUVECでは42°C、2時間でu-PAR mRNAが2倍以上に増加したのに対して、HT-1080では著減し、HAL-8でもわずかに減少した。NYおよびmelanomaでは37°Cでも42°Cでもu-PAR mRNA発現自体がきわめて低く変化が検出できなかった。HT-1080は今回検討した腫瘍細胞株の中でもっとも生存率が高かったことから、HT-1080に対して熱刺激は細胞生存率を低下させるよりもむしろu-PAR発現に強い抑制効果を示した。このことはu-PAR発現によるHT-1080の浸潤/転移機構に阻害的に作用することが予想される。以上から正常細胞では熱刺激 (42°C、2時間) は生存率を変えることなく選択的にu-PARを増加させるが、腫瘍細胞の中にはu-PARを減少させるものがあり、u-PARを中心とする細胞性線溶による生物反応に正常細胞と腫瘍細胞との差異が反映されると思われる。