

一 般 演 題 抄 錄

5. 温熱刺激による正常細胞と腫瘍細胞での線溶系因子の発現における差異

松原光宏 池田昌人 橋本隆宏 山本達之 市川 勉
井上敦夫 深尾偉晴 上嶋 繁 松尾 理

近畿大学医学部第2生理学教室

目 的

温熱療法による腫瘍細胞への殺傷効果の有効性を実験的に判定するために種類の異なる腫瘍細胞を用いて生存率および腫瘍の浸潤・転移に関与すると考えられる線溶系因子について解析した。

方 法

正常細胞にはヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を、腫瘍細胞にはヒト悪性黒色腫細胞 (melanoma), ヒト骨肉腫細胞 (NY), ヒト高転移性肺腺癌細胞 (HAL-8) およびヒト線維肉腫細胞 (HT-1080) を10%ウシ胎児血清含培地にて培養し、単層を形成させた状態で使用した。細胞は無血清培地にて37°C, 42°Cおよび45°Cで2時間培養し、経時的に生存率と細胞に発現される線溶系因子を測定した。生存率は総細胞数に占める生細胞数 (トリパンブルーで染色される死細胞数を差し引いた数) の割合で求めた。線溶系因子にはウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベータ (u-PA) の細胞性受容体 (u-PAR) の発現量を解析した。すなわち、細胞に結合している内因

性 u-PA を酸処理によって除去した後、外因性 u-PA を細胞に 4°C, 90分反応させ、新たに結合した u-PA の酵素活性 (合成基質法) として測定し、生存する細胞あたりの値として求めた。

結果と考察

正常細胞は42°C, 2時間での生存率はほぼ100%であり45°Cでは60%に低下した。一方, melanoma は42°Cで20%まで低下した。以上から正常細胞の生存率を変えることなくかつ腫瘍細胞に致死的效果を与える温度領域が42°C付近にあると思われた。しかしこの温熱刺激条件下でNY, HAL-8およびHT-1080 はそれぞれ生存率が50%, 60%および90%であり, 腫瘍の種類により熱耐性が異なっていた。u-PAR 発現量は37°Cの場合と比較すると正常細胞で200%, melanoma とNYが150%と250%, HAL-8 とHT-1080 が50%と20%であった。腫瘍細胞のu-PAR 高発現にu-PA 分泌が伴うと組織破壊や転移を亢進する可能性があるため、今後u-PA/u-PAR系と腫瘍の壊死との関係を検討したい。

6. 引き抜き損傷血管モデルにおける阻血時間が開存率に及ぼす影響

藤井俊一郎 上石 弘

近畿大学医学部付属病院形成外科

緒 言

切断指再接着術において、引き抜き損傷が加わった血管は、術後開存率が低いことが知られている。これまでラット大腿動脈に引き抜き損傷を加えた結果損傷後24時間以内に血管閉塞は生じないことがわかった。そこで今回、より臨床状況に近いモデルを作製するために血流阻血に着目し、血流再開までの時間が血管開存率にどのように影響するか検討した。

実験材料及び方法

実験 I

10週令雄のWistar/ST ラット (n=13) の大腿動脈を使用した。引き抜き損傷は、滑車を利用した70g 重り10回連続の落下力による垂直牽引を行い、内腔は走査電子顕微鏡を用いて観察した。

実験 II

実験 I のモデルが牽引により、離断せずまた閉塞しないことを確認し、血管クランプによる阻血時間を0時間, 6時間, 12時間, 24時間の4群 (各n=10) 設定し、血流再開後24時間の開存率を調査した。

結 果

実験 I

70g 10回の連続牽引による引き抜き損傷では全例離断せず、さらに損傷後24時間以内の開存率は100% (13/13) であった。電顕による観察では、広範囲に多発する亀裂を認め、その亀裂は内弾性板の断裂や中膜から剝離し管腔内に突出する形態的特徴を認めた。

実験 II

損傷後6時間までの阻血では、24時間後の開存率は100%であった。一方、12時間の阻血では20%、24時間では0%であった。

考 察

引き抜き損傷血管では、長時間の血流停止や停滞も血管閉塞の一要因として関与することが示唆された。したがって、臨床的に引き抜き損傷を受傷した血管は、可能な限り手術開始時間や、吻合操作を含めた手術時間の短縮が必要であると思われる。