Osaka University Knowledge Archive

Title	放射線照射後のヒト肺癌由来A0I細胞の細胞線溶の検討-転移・浸潤に関するuPAの変化-
Author(s)	伊藤, 要子; 中津川, 重一; 小栗, 隆 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1996, 56(11), p. 747-749
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18562
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

研究速報

放射線照射後のヒト肺癌由来AOI細胞の細胞線溶の検討
ー転移・浸潤に関与するuPAの変化ー

伊藤　要子[1)]　中津川重一[2)]　小栗　隆[3)]　宮田　伸樹[1)]

1)愛知医科大学放射線医学教室　2)一宮市民病院放射線科　3)愛知医科大学第二内科学教室

Increase of Cellular Fibrinolysis in Human Lung Cancer Cell Line by Radiation: Relationship between Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) and metastasis and invasion

Youko H. Itoh[1)], Shigekazu Nakatsugawa[2)], Takashi Oguri[3)] and Nobuki Miyata[1)]

It is well known that urokinase-type plasminogen activator (uPA) activates fibrinolysis of tumor cells and accelerates their metastasis and invasion. Human adenosquamous cell line, AOI cells, were stimulated to produce and accumulate of uPA by radiation. In AOI cells, there was relationship between uPA production and accumulation and the radiation doses. It was suggested that radiation had the possibility to accelerate the metastasis and invasion by increasing the production and accumulation of uPA from cancer cells.

Research Code No. : *400*

Key words : *Urokinase-type plasminogen activator (uPA), Cellular fibrinolysis, Metastasis, AOI tumor cells*

Received Feb. 7, 1995; revision accepted Jun. 28, 1996

1) Department of Radiology, Aichi Medical University
2) Department of Radiology, Ichinomiya City Hospital
3) Second Department of Internal Medicine, Aichi Medical University

はじめに

癌細胞は，自らが転移・浸潤するためウロキナーゼタイププラスミノーゲンアクチベーター(uPA)などのプラスミノーゲンアクチベーター(PA)を産生し，プラスミノゲンをプラスミンに活性化する．このプラスミンはコラーゲナーゼなどのメタロプロテイナーゼ(MMP)を活性化し，細胞外マトリックスを分解することにより転移・浸潤に至らしめる．特に，転移・浸潤能の高い癌細胞はuPAの産生が多い[1)]と報告されている．しかし，放射線治療や温熱治療後のuPA, MMPについては殆ど検討されていない．

ヒト肺癌より樹立したAOI腫瘍細胞は，ヌードマウスに皮内移植後，肺・肝・リンパ節に自然多発転移することが知られている[2),3)]．そこで，AOI腫瘍細胞を放射線照射または温熱処理し，そのuPA産生に及ぼす影響を検討し，放射線照射後，転移・浸潤が増強され得るか否かを基礎的に実証することを目的とした．その結果，照射により転移・浸潤がより増強され得る可能性が示されたので報告する．

実験材料および方法

1．AOI腫瘍細胞の培養

ヒトの肺癌(adenosquamous cell carcinoma)より樹立したAOI腫瘍細胞[2),3)]をヌードマウスに皮内移植後，移植腫瘍から得た細胞をin vitroで継代培養し，その第3～5継代のAOI腫瘍細胞を使用した．AOI腫瘍細胞10^4個を35mmシャーレ(ファルコン)に播種し，37℃のCO_2インキュベーターで培養した．培養液は，10%FCS含有αMEMを使用した．

2．AOI腫瘍細胞の放射線照射

AOI腫瘍細胞の対数増殖期にあたる培養4日後放射線を照射した．^{60}Co γ線を各々10，20，30Gy照射後，培養液を変え，さらに6日間培養した．照射条件はSCD; 80cm, Field size; 25 × 25cm, Out put; 38.22cGy/minで行った．

3．AOI腫瘍細胞の温熱処理

AOI腫瘍細胞の対数増殖期にあたる培養4日後，43，46℃に調整した恒温槽で1時間加温した．加温終了後，培養液を変えてさらに6日間培養した．なお，対照群において

も培養4日後同様に培養液を交換した．

4．uPAの定量

毎日各群3枚のシャーレをインキュベーターから取り出し培養液を採取し，10,000rpm，4℃，5分間遠心後その上清を−40℃で測定まで保存した．uPA測定は，ELISA法（Tint Elitze uPA: Bio-pool）にて抗原量を測定した．細胞については，トリプシンEDTA溶液で細胞を剥し，細胞数を計測した．

結　果

1．放射線照射後のAOI腫瘍細胞の増殖

Fig.1上段に示した如く，10Gy照射でAOI腫瘍細胞の増殖は1/3〜1/5と強く抑制され，20，30Gy照射では1/5〜1/10とさらに抑制された．

2．温熱処理後のAOI腫瘍細胞の増殖

AOI腫瘍細胞の増殖は43，46℃で温度依存的に抑制されたが，上段の放射線照射程強い抑制ではなかった．

3．放射線照射後のAOI腫瘍細胞が産生したuPAの培養液中の蓄積量

非照射の対照群では，培養6日後uPAの蓄積ピークを認めた．照射群では照射線量の増加に伴いuPAの蓄積ピークは遅れたが，uPA蓄積量は増加していた．すなわち，10Gy照射群では培養6日後，20Gyでは7日後，30Gyでは8日後とuPAの蓄積ピークは遅くなった．しかし，uPA蓄積量は，細胞数を考慮するとほぼ照射線量に相関して増加した（Fig.2）．

4．温熱処理後のAOI腫瘍細胞が産生したuPAの培養液中の蓄積量

非加温の対照群と比べ43，46℃加温では，加温温度の上昇に伴いAOI腫瘍細胞のuPAの蓄積は抑制された．

各測定は3枚シャーレを使用し，グラフはその平均値と標準偏差を示した．

考　察

AOI腫瘍細胞は，ヌードマウスへの移植実験で非常に転移能に富んでいることが既に報告されている[2),3)]．特に，転移・浸潤能の高い腫瘍ではuPA産生が高く，uPAレセプターを発現していることが多い[1)]．われわれは既に，子宮癌において正常では組織プラズミノゲンアクチベーター（tPA）産生が主であったのが，癌のステージ，浸潤度に伴いuPAが増加してくることをELISA法による抗原量，フィブリンオートグラフィーによる活性から証明した[4)]．臨床的にも胃癌[1)]をはじめ多くの癌でuPAの産生が認められ，予後不良の指標[5)]となっている．しかし，放射線照射後および温熱治療後のuPA産生については殆ど検討されていない．

放射線照射後，転移・浸潤が促進されたという報告・実証は殆どないが，放射線が有効でなかった症例において転移・浸潤の増強を経験的に認めているとの私信もある．特に，AOI腫瘍細胞移植ヌードマウスにおいては，実際に放射線照射により転移が促進されている．しかし，これらに対

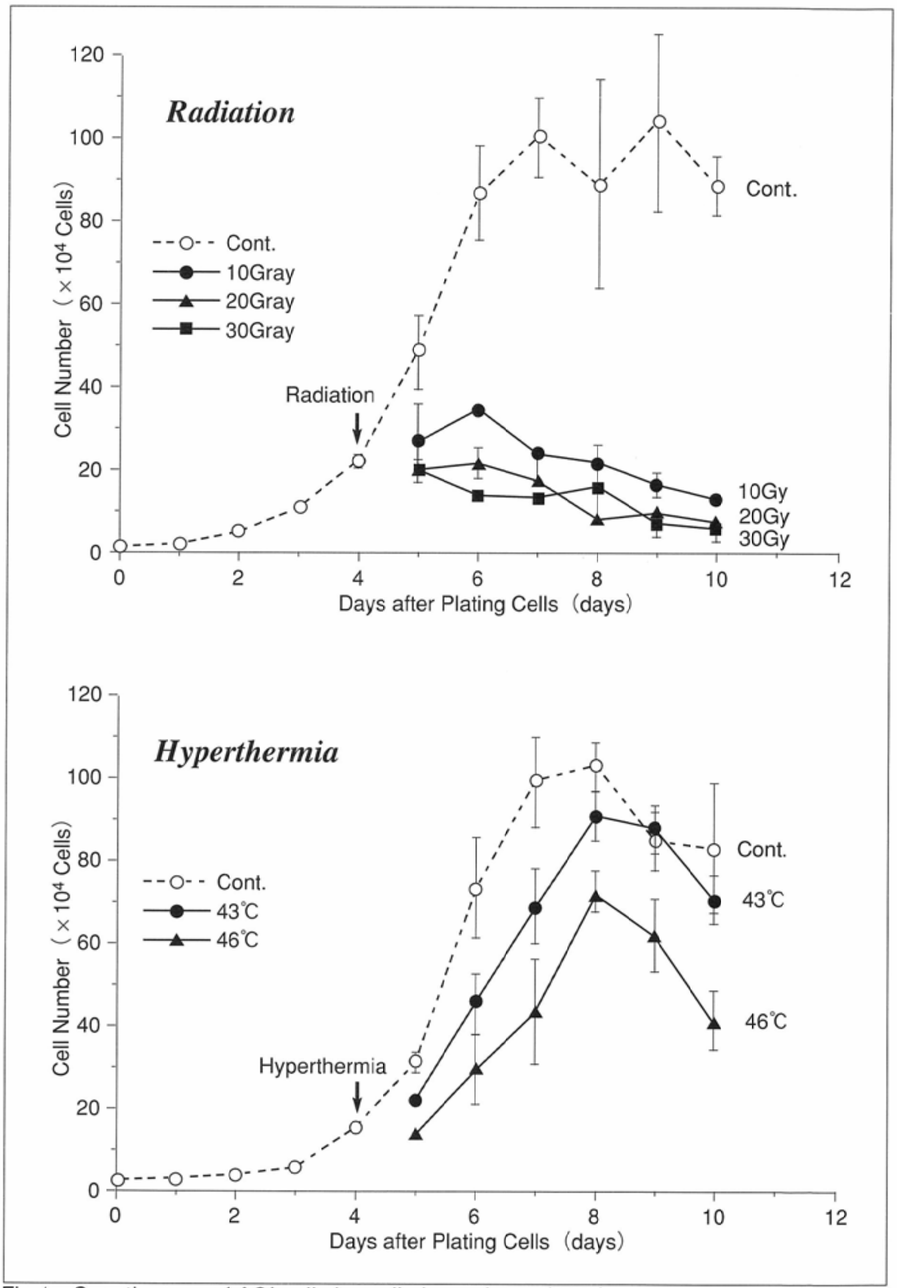

Fig.1　Growth curve of AOI cells by radiation or hyperthermia

する理論的・生化学的裏付けは全くなく，放射線照射が原因か否かは不明であった．しかし，本研究のヒト肺癌由来AOI腫瘍細胞では，放射線照射により転移・浸潤に関与するuPAが明かに増加しており，照射により転移・浸潤が促進される可能性が示された．また，培養液中のuPAが6日目以降減少するのは，細胞表面にあるuPAレセプターと結合したままでいるのか，または結合後細胞内に取り込まれるためと考えられる[6]．よって，放射線治療が奏功せず転移が増強されたような症例においては，uPAなどの細胞線溶またはコラーゲナーゼなどの細胞外マトリックス酵素が活性化されている恐れがあり，従来と異なる側面から転移の抑制を考える必要があると思われた．

まとめ

ヒト肺癌由来AOI腫瘍細胞は放射線照射後，癌の転移・浸潤に関与するuPAの蓄積を照射線量に相関して増加させた．よって，放射線が奏功しない悪性腫瘍においては，放射線照射によりuPAなどのPAやMMPの産生が増強され転移・浸潤が促進される可能性が示された．

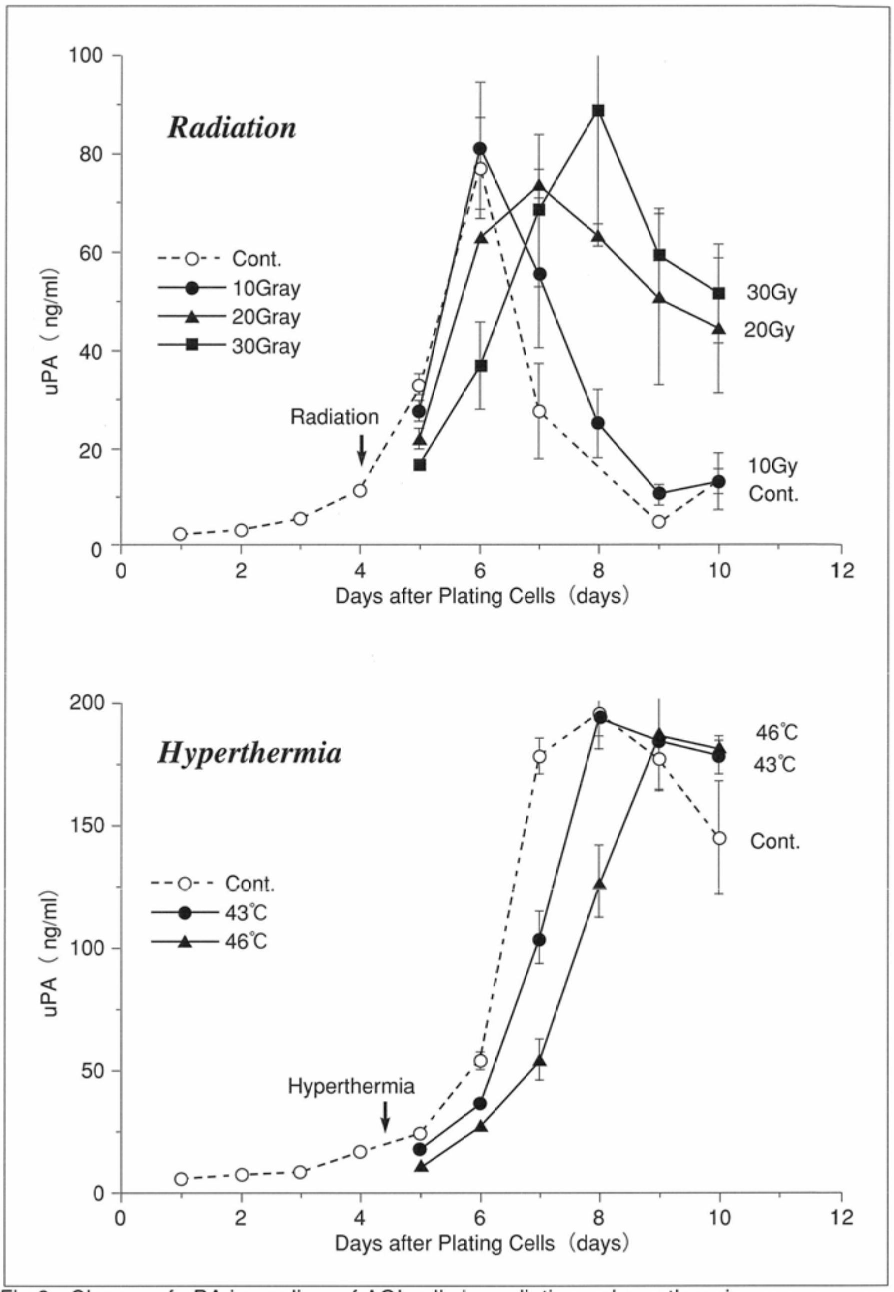

Fig.2　Change of uPA in medium of AOI cells by radiation or hyperthermia

文　献

1) Heiss MM, Babic R, Allgayer H, et al: Tumor associated proteolysis and prognosis; new functional risk factor system. J Clin Oncol 13: 2084-2093, 1995

2) Nakatsugawa S, Sugahara T: Differential action on cancer and normal tissueby adrenochrome monoaminoguanidine methanesulfonate and cytochrome C combined with radiotherapy. Int I Rad Oncol Biol Phys 29: 635-638, 1994

3) 中津川重一，村元秀行，石垣武男：低線量で転移抑制 Molecular Medicine　32：986-987, 1995

4) 伊藤要子，野崎宗春，澤口啓造，他：Fibrin Autography による子宮癌腫瘍マーカー（Plasminogen activator, Plasminogen activator inhibitor）の検出．日本産科婦人科学会雑誌　44：1277-1278, 1992

5) Hsu DW, Efird JT, Hedley WT: Prognostic role of urokinase-type plasminogen activator in human gliomas. Am J Pathol 147: 114-123,1995

6) Fibbi G, Serin U, Matucci A, et al: control of the chondrocyte fibrinolytic balance by the drug piroxican: Relevance to the osteoarthritic prosess. J Rheumatol 21: 2322-2328, 1994