日消外会誌　25（9）：2448，1992年

研究速報

大腸癌浸潤モデルにおける free radical scavenger の効果

野中　泰幸　　岩垣　博巳　　松原　長秀
木村　臣一　　淵本　定儀*　　折田　薫三

目的：癌の転移成立過程には，いくつかのステップが存在するが，腫瘍細胞の脈管内外への浸潤過程においては，内皮基底膜の破壊が重要である．近年，腫瘍細胞の転移・浸潤・増殖における活性酸素の関与について多くの知見が得られてきている．今回，われわれは，再構成基底膜を用いた in vitro chemoinvasion assay[3]により，腫瘍細胞の浸潤能に及ぼす radical scavenger の効果を検討した．

材料と方法：Superoxide anion（O_2^-），hydrogen peroxide（H_2O_2）および hydroxyl radical（•OH）の scavenger として，それぞれ，日本化薬(株)より供与された遺伝子組み替え型ヒト superoxide dismutase（r-hSOD,4,667U/mg），catalase（58,000U/mg），および千寿製薬（株）より供与されたアスコルビン酸と α-トコフェロールのリン酸エステル合剤である EPC-K_1を用いた．pore size 8μm の Transwell double chamber の上室側のフィルターに20μg の再構成基底膜（Matrigel）をコートし，上室に当科で確立した COLON26大腸癌細胞の高転移株である COLON26-M5細胞25×10^4個を入れ，これに r-hSOD, catalase, EPC-K_1をそれぞれ1mg/ml, 1,000U/ml, 0.01mg/ml の濃度で添加，下室には3T3 L1細胞の無血清培養上澄みを入れて，5時間インキュベーションした後，上室フィルター下面に浸潤した細胞を計測し，radical scavenger 無添加群と比較検討した．統計学的解析には Student の t 検定を用い，危険率5％以下を有意差ありと判定した．

結果：r-hSOD, EPC-K_1, r-hSOD＋catalase 添加の3群において，腫瘍細胞のフィルター下面への浸潤は，scavenger 無添加群に比べ，有意に抑制された（$p<0.05$）．catalase 単独添加群では，scavenger 無添加群に比べ有意な差は認められなかったが，抑制傾向がみられた（**Table 1**）．

Table 1　Effect of radical scavengers on the in vitro invasive capacity of tumor cells (n=6)

Scavengers	No. of cells/filter
Control	49.8±10.3
SOD (1mg/ml)	8.5±2.1*
Catalase (1000U/ml)	25.8±8.8
EPC-K_1 (0.01mg/ml)	12.5±2.2*
SOD (1mg/ml)＋Catalase (1000U/ml)	12.5±5.0*

*$p<0.05$ versus control.　　Mean±S.D.

考察：血行性転移成立には，原発巣より流血中に出た腫瘍細胞が標的臓器血管内に留まり，実質内に浸潤，増殖することが必要である．この転移過程においては，血管内皮基底膜が重要な障壁になると考えられている．最近では，腫瘍細胞の浸潤能にも活性酸素が関与し[1]，また腫瘍細胞自身も活性酸素を放出することが明らかになってきた[2]．今回の再構成基底膜を用いた chemoinvasion assay[3]において，r-hSOD, EPC-K_1, r-hSOD＋catalase 添加によって浸潤能が有意に抑制され，catalase 単独では有意な抑制効果が得られなかったことより，血管外浸潤における内皮基底膜破壊においても活性酸素の関与が考えられ，その中でも，H_2O_2よりも，むしろ O_2^-および•OH がより重要な役割を果していることが示唆される．

Key word: free radical scavenger

文献：1）Imamura F, Horai T, Mukai M et al: Potentiation of Invasive Capacity of Rat Ascites Hepatoma Cells by Adriamycin. Cancer Res 50：2018—2021, 1990　2）Szatrowski TP, Nathan CF: Production of Large Amounts of Hydrogen Peroxide by Human Tumor Cells. Cancer Res 51：794—798, 1991　3）Albini A, Iwamoto Y, Kleinman HK et al: A Rapid in Vitro Assay for Quantitating the Invasive Potential of Tumor Cells. Cancer Res 47：3239—3245, 1987

Effect of Free Radical Scavengers on the Invasive Capacity of Colon Cancer Cells.

First Department of Surgery, Okayama University Medical School, *Chuden Hospital.
Yasuyuki Nonaka, Hiromi Iwagaki, Nagahide Matsubara, Toshikazu Kimura, Sadanori Fuchimoto* and Kunzo Orita.

＜1992年7月6日受理＞別刷請求先：野中　泰幸　〒700 岡山市鹿田町2－5－1　岡山大学医学部第1外科