日消外会誌　31（10）：2181，1998年

研究速報

アポトーシスによる膵癌細胞株のLe^{y}発現と血液凝固活性

橋本　幸彦　犬房　春彦　足立　俊之　船井　貞往
若野　司　中嶋　章浩　進藤　勝久　安富　正幸

はじめに：悪性腫瘍患者の末期ではDICなどの血液凝固異常がしばしば認められる．癌細胞がアポトーシスを生じると血液型関連糖鎖抗原であるLe^{y}が発現すること[1]が知られている．最近，我々はLe^{y}が腫瘍プロコアグラントの1つであるcancer cell-derived blood coagulating activity 1（CCA-1）のco-factorとして働くことを明らかにした[2]．ヒト膵臓癌由来細胞株MIAPaCa-IIに5-aza-2′-deoxycytidine（ADC）を反応させアポトーシスを誘導し，Le^{y}とアポトーシスの発現およびLe^{y}抑制に伴うCCA-1の血液凝固活性の変化を検討した．

材料および方法：ヒト膵臓癌由来細胞株MIAPaCa-IIを0.1から1.0μg/mlのADC存在下で1週間培養した．これらの細胞に抗Le^{y}抗体であるFS01抗体を反応させflow cytometry（FCM）を用いてLe^{y}発現を解析した．アポトーシスはFCMで得られたsub G_1 peakをLysis IIで解析し，全細胞に対するアポトーシス細胞の割合を計測した．またアポトーシスによるDNA fragmentationはヘキスト33258を用いて蛍光顕微鏡下でも観察した．血液凝固活性は2×10^5個/mlの細胞の正常血漿凝固時間をclot timer KC10Aを用いて測定し，細胞に1μgのFS01抗体を添加して凝固時間が遅延したものをLe^{y}依存の凝固活性とした．

結果：アポトーシス細胞の割合はcontrol群では11.6%であり，ADC濃度依存性に増加し，1.0μg/mlではコントロール群に比べて49.1%増加した．蛍光顕微鏡下でも同様に核分断細胞の増加が認められた．Le^{y}発現率はcontrolでは28.1%でありADC処理により32.4%まで発現率が増加した．FS01抗体による凝固活性の抑制ではADC濃度に依存して凝固時間の延長が認められた（**Table 1**）．

考察：Le^{y}とアポトーシスの関連は免疫組織学的に証明されているが，Le^{y}の生体内での機能は明らかではない．Yamadaら[1]はADC処理でコントロールに比べ3.5から4.0倍アポトーシスが増加したことを報告しており，今回の検討ではそれよりも低率であるもののMIAPaCa-IIのアポトーシスとLe^{y}発現はADC処理により増加した．ADC処理によりLe^{y}抗体による凝固抑制率が増加した．このことより癌細胞がアポトーシスを生じるとLe^{y}発現が増加しLe^{y}を介した凝固活性率が上昇することが明らかになった．したがって，癌末期における急速なDICの発症には癌のアポトーシスとLe^{y}発現を介したCCA-1などの腫瘍プロコアグラントの関与が示唆される．

Table 1　Effects of 5-aza-2′-deoxycytidine (ADC) on apoptosis, Le^y expression and procoagulant activity of MIA PaCa-2 cell line.

	control	ADC (μg/ml)			
		0.05	0.1	0.5	1.0
Apoptosis (%control)	100.0	54.2	122.0	137.8	149.1
Le^y expression (%cells)	28.1	28.5	30.9	32.4	28.2
		*			
Clotting time (sec : CCA-1unit)					
without FS01 mAb	225/0.0175	220/0.0175	218/0.0178	218/0.0178	217/0.0178
with FS01 mAb	220/0.0175	218/0.0178	236/0.0165	239/0.0163	256/0.0165
inhibition rate (CCA-1unit/%)	—	—	7	9	25.2

Data indicated are mean of 3 experiments.
*P＝0.0055 student t-test.
CCA-1 unit : 0.5ng/ml RVV clotting time ＝1 unit.

Key word: cancer cell-derived blood coagulating activity 1

文　献：1) Yamada T, Ohwada S, Saitoh F et al: Induction of Le^y antigen by 5-aza-2′ deoxycytidine in association with differentiation and apoptosis in human pancreatic cancer cells. Anticancer Res 16：735—740，1996　2) Suzuki M, Inufusa H, Yamamoto S et al: Ley glycolipid acts as a co-factor for tumor procoagulant activity. Int J Cancer 73：903—909，1997

Le^y Expression and Procoagulant Activity of Pancreas Cancer Cell Line MIAPaCa-II induced by Apoptosis

Yukihiko Hashimoto, Haruhiko Inufusa, Toshiyuki Adachi, Sadao Funai, Tsukasa Wakano, Akihiro Nakajima, Katsuhisa Shindo and Masayuki Yasutomi
The First Department of Surgery, Kinki University School of Medicine

＜1998年7月22日受理＞別刷請求先：犬房　春彦　〒589-8511　大阪狭山市大野東377－2　近畿大学医学部第1外科