

# ヒト好中球由来hCAP18/LL-37遺伝子導入による抗菌ペプチド産生と抗癌効果(北海道医療大学歯学会第25回学術大会 一般講演抄録)

著者名(日)	奥村 一彦, 平 博彦, 村岡 勝美, 河東 秀貴
雑誌名	北海道医療大学歯学雑誌
巻	26
号	1
ページ	50
発行年	2007-06
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00010018/">http://id.nii.ac.jp/1145/00010018/</a>

### ラット頭部骨膜上における傾斜機能アパタイト/BMP-2を用いた硬組織誘導

○日野 純\*, 村田 勝\*, 赤澤敏之\*\*, 田崎純一\*, 有末 眞\*

\*北海道医療大学歯学部口腔外科学第二講座

\*\*北海道立工業試験場材料技術部材料化学科

**【目的】**ラット頭部骨膜上における傾斜機能アパタイト/BMP-2の硬組織誘導能とfg-HAp吸収性の評価および骨膜の組織学的観察。

**【方法】**傾斜機能を付与した新規材料である吸収性ハイドロキシアパタイト (fg-HAp) ブロック (3×3×3 mm) にrhBMP-2 (5 μg) を添加したものを、全身麻酔下でWistar系ラット (雄性, 4週齢) の頭部骨膜上 (非切開群および線状切開群) に埋植した。1・2・4週後に屠殺し、頭頂骨ごと一塊として摘出し、硬組織誘導能とfg-HAp吸収性の評価および骨膜の組織学的観察を行った。

**【結果および考察】**fg-HAp単独群では、fg-HAp骨格内部へ体液が浸透し、崩壊と吸収により断片化して、全体的に膨隆度が低くなっ

ていた。また、硬組織の形成は認めなかった。fg-HAp/BMP-2群では、単独群と同様に骨格内部へ体液が浸透し、崩壊と吸収により断片化していたが、膨隆度は比較的維持されていた。また、埋植部周囲から骨・軟骨の形成が始まり、非切開群では既存骨との間には骨膜を含む軟組織が介在し、線状切開群では切開部を中心とした既存骨と新生骨との連続性がみられた。また、切開群の方がfg-HApの吸収が早く、硬組織形成も速やかに進行した。

**【結論】**非切開群では硬組織形成が骨膜を貫通せずに起こり、切開群では切開部を中心とした骨の連続性を認めた。このことから、骨膜の硬組織形成における境界膜組織としての恒常性維持機構の関与が考えられた。

### ヒト好中球由来hCAP18/LL-37遺伝子導入による抗菌ペプチド産生と抗癌効果

○奥村一彦<sup>1</sup>, 平 博彦<sup>2</sup>, 村岡勝美<sup>2</sup>, 河東秀貴<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部口腔外科学第一講座, <sup>2</sup>口腔外科学第二講座

**【目的】**自然免疫に関与する抗菌ペプチドによる感染症および癌治療の開発に向けて、すでに私たちは、ヒト好中球由来hCAP18合成ペプチドを用いて癌細胞のアポトーシス誘導による抗癌効果を報告してきた。そこで、ヒトhCAP18/LL-37をコードするCAMP遺伝子を癌細胞に導入し、hCAP18合成ペプチドの影響と細胞形質の変化について検討した。

**【方法】**細胞：ヒト口腔扁平上皮癌細胞SAS-H1とヒト二倍体上皮細胞HaCaTを用いた。遺伝子導入：HaCaTに活性型ビタミンD3処理を行い、hCAP18/LL-37をコードするCAMP mRNAを発現させ、本細胞からRT-PCR法を用いてCAMP cDNAを得た。得られたcDNAはGateway system (Invitrogen) によるpENTR11エンターベクターへ挿入し、その後リコンビネーションによりpcDNA3.2/V5-DESTへ移入し発現ベクターを作製した。本発現ベクターを電気穿孔法により、SAS-H1へ導入し、その後G418で選択しCAMP遺伝子高発現安定株を樹立した。CAMP mRNA発現：CAMP高発現安定株におけるCAMP mRNA発現を、定量PCRにより検討した。hCAP18/LL-37蛋白質の発現：抗ウサギhCAP18/LL-37抗体によるウエスタンブロット法により、CAMP遺伝子高発現安定株での産生、および培養上清中のhCAP18/LL-37発現を検討した。抗菌

活性：CAMP遺伝子高発現安定株から得られた培養上清によるS. mutans BHT, S. mutans Ingbrittに対する抗菌活性を検討した。細胞増殖性：hCAP18合成ペプチド未処理、または処理細胞についてMTT法により細胞増殖性を検討した。

**【結果および考察】**1. 電気穿孔によりCAMP遺伝子をSAS-H1へ導入し、G418濃度350 μg/mlで4つの高発現安定株が得られた。2. CAMP遺伝子高発現安定株は、定量PCR解析により、CAMP mRNA発現量に比例してhCAP18/LL-37蛋白質の発現が亢進していた。3. 培養上清をアセトン濃縮して、特異抗体によるウエスタンブロットによりhCAP18/LL-37蛋白質を確認し、本上清が抗菌活性を有することが示された。4. hCAP18合成ペプチドSAS-H1に対して抗腫瘍効果を有しているが、CAMP遺伝子高発現安定株では、ペプチドによる抗腫瘍効果が低下していた。また、SAS-H1とCAMP遺伝子高発現安定株の細胞増殖性を検討したところ、変化を認めなかった。以上の結果から、CAMP遺伝子導入細胞で産生分泌されるhCAP18蛋白質が抗菌活性を有しており、上皮細胞に遺伝子を発現させることによる感染防御機能の強化が示唆された。さらに、ペプチドによる抗腫瘍効果は、細胞のCAMP遺伝子発現の有無により制御されている可能性が示された。

### 耳下腺部多発性腫瘍の画像所見を呈した一例

○堅田 勉

北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座

**【目的】**右側耳下腺部に発生した多発性の病変を経験したので画像所見について報告する。

**【症例】**患者77歳 男性

主訴：右側耳前部の腫脹

現病歴：数日前から右側耳前部の腫瘍を自覚したため、近内科医受診し、某病院皮膚科への紹介を受ける。同皮膚科より口腔外科の受