

22. Staurosporineで誘発された口腔扁平上皮癌細胞株のアポトーシスの遺伝子発現変化について(一般講演)(東日本歯学会第14回学術大会(平成8年度総会))

著者名(日)	安彦 善裕, 荒井 滋朗, 斎藤 正人, 澤木 健, 定岡 敏之, 菅野 秀俊, 賀来 亨
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	15
号	1
ページ	48-49
発行年	1996-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008137/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008137/</a>

経路の解明を試みた。

【方法と結果】細胞は、舌扁平上皮癌細胞から得られた高浸潤性SAS-H1と低浸潤性SAS-L1を用いて以下の実験を行った。1) 浸潤能：肺血管内皮細胞層下への潜り込みを指標にした浸潤性の検討から、rhTGF- $\beta$ 1処理を行った高浸潤性SAS-H1のみ浸潤性が促進された。2) 細胞運動：金コロイドによるphaokinetic tractアッセイにより、rhTGF- $\beta$ 1処理を行った高浸潤性SAS-H1は約2倍運動性が促進されたが、低浸潤性SAS-L1では変化がみられなかった。3) TGF- $\beta$ 1の細胞内シグナル経路：Aキナーゼ阻害剤 (KT-5720) またはCキナーゼ阻害剤

(KT-5720) またはCキナーゼ (calphostin C)、およびチロシンキナーゼ阻害剤 (2,5-Mec) で前処理した後、rhTGF- $\beta$ 1処理を行い運動能の変化を検討中した結果、Calphostin C処理と2,5-Mec処理において有意に高浸潤性SAS-H1の運動性が抑制された。一方、KT-5720処理では、運動性に変化がみられなかった。

【結論】高浸潤性SAS-H1はTGF- $\beta$ 1により浸潤性がさらに亢進し、これは運動性の促進に起因することが示唆された。さらに、TGF- $\beta$ 1の運動性シグナルはCキナーゼとチロシンキナーゼを介する経路が重要であることが推測された。

## 21. 扁平上皮癌、術前照射症例における病理組織学的評価と予後について

細川洋一郎, 金子 昌幸  
(歯科放射線学講座)

術前照射を施行した手術摘出標本を検討し、術前照射の治療効果と予後の関係について分析したので報告する。

### (対象および方法)

対象は1988年1月より1993年12月まで、北海道大学放射線科にて、口腔扁平上皮癌の診断のもとに、術前照射を施行した58名(男:女=42:16, 平均年齢60.1歳)である。原発部位は舌23名, 頬粘膜7名, 口腔底9名, 口蓋1名, 歯肉13名, 臼後部5名, StageはIが1名, IIが18名, IIIが14名, IVが25名であった。術前照射はコバルト60を使用し, 1日1回2.5Gy, 週4回の治療で, 総線量40Gyの治療がなされた。その後施行した, 根治手術の摘出物を, 中心部を含む3断面で手術標本を作成した。この病理標本を鏡検し, 下里分類に分類後, 全例を放射線治療有効例 (gradeIII-IV), 放射線治療無効例 (grade

I-IIb) に分け検討した。治療成績はKaplan-Meierを用い, Cox-Mantel testおよびLogrank testにより危険率5%で検定を行った。

### (結果と考察)

放射線治療有効例は25例, 放射線治療無効例は33例であった。両群間で初診時の性差, T stage, Stageに偏りは見られなかった。3年の成績に於てLocal control rateは両群に差はみられないが, loco-regional control rate, disease free rateは無効例で低い傾向がみられ, survival rateは無効群が有意に低い値をとった。また, 死因を分析したところ, 術前照射の無効例は頸部リンパ節転移につづく遠隔転移にて死亡している症例が多かった。以上より, 術前照射の組織効果不良な症例においては, 手術後, 頸部リンパ節の注意深いfollowが必要であると考えられる。

## 22. Staurosporineで誘発された口腔扁平上皮癌細胞株のアポトーシスの遺伝子発現変化について

○安彦 善裕, 荒井 滋朗, 斎藤 正人  
澤木 健, 定岡 敏之, 菅野 秀俊  
賀来 亨  
(口腔病理学講座)

昨年の本学会において, 口腔扁平上皮癌細胞株をスタウロスポリンが, 速やかで劇的なアポトーシスを誘発することについて報告した。今回われわれは, このアポトーシスに関与している遺伝子mRNAの発現をRT-PCR

法による検索を行った。

【材料及び方法】細胞には口腔扁平上皮癌細胞株SASを用い, 5 $\mu$ Mスタウロスポリンを添加したものと, 血清除去によるアポトーシスにおいて培養皿に残存した細胞と

浮遊した細胞を別々に収集し、AGPC法によりtotal RNAの抽出を行った。抽出されたtotal RNAからoligo (dT)をtemplate primerとしてcDNAを作製した。PCRのprimerには、c-myc, c-myb, c-fos, c-jun, TGF-B, TNF-R, IL-1a, NF-kB, を用いた。

#### 「結果及び考察」

今回用いた細胞SASは、通常の培養条件において、今回検索したmRNAすべての発現が確認されたので、これ

を基準にup-regulation, down-regulationの評価を行った。スタウロスポリンによるアポトーシスでは、c-mycのdown regulationとc-fosのup-regulationが認められた。c-junが浮遊細胞、すなわち完全にアポトーシスになった状態でup-regulationとしたことを考えあわせると、スタウロスポリンによるアポトーシスには、c-fosとc-junの発現増強と同時に起こったc-mycの発現低下による核内転写活性の異常が関与しているものと思われた。

### 23. 口腔扁平上皮癌細胞のHGF/SFによる浸潤シグナルの検討

北所 弘行<sup>1)</sup>, 奥村 一彦<sup>2)</sup>, 小西 亮<sup>2)</sup>,  
柴田 敏之<sup>1)</sup>, 有末 眞<sup>1)</sup>

(口腔外科学第二講座<sup>1)</sup>, 口腔外科学第一講座<sup>2)</sup>)

癌細胞とその周囲環境を構成する宿主細胞との間には、様々なサイトカインや細胞外基質を介して浸潤・転移径質に影響を与えることが知られている。最近、宿主側の線維芽細胞がHepatocyte growth factor/Scatter factor (HGF/SF)を分泌してパラクリンの癌細胞の浸潤を促進することが明らかとなった。我々は、HGF/SFによる口腔扁平上皮癌細胞の浸潤能の促進作用について、基質接着性や細胞運動性の変化を検討し、併せて浸潤シグナル経路について解析した。

#### 【方法と結果】

1) ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (SAS, Ca9-22, HSC-3)を用いて、無血清培養下でrhHGF24時間処理を行った細胞を肺血管内皮細胞層下への潜り込みを指標にした浸潤能の検討から、いずれの癌細胞も1.5~2倍の浸潤性の促進が認められた。また、trans-well chamberを用いたMatrigelへの浸潤能では、SAS細胞のみHGFによる促進

がみられた。2) 基質接着性を検討したところ、HGFによる接着性の変化は認められなかった。3) phagokinetic tract assayによる運動能の測定では、HGFにより1.5倍の促進が観察された。4) HGFによる増殖性の変化は認められなかった。5) C3酵素存在下で培養した癌細胞にHGF処理を行うと、運動能の促進が完全に阻害された。6) HGFによる細胞内蛋白のチロシンリン酸化を検討したところ、FAKが一過性にリン酸化亢進することが認められた。

#### 【結論】

HGF/SFによる口腔扁平上皮癌の浸潤性の亢進は、HGF/SFによる細胞運動能の促進によることが示され、その浸潤シグナルには低分子量G蛋白であるrhoを介したFAKのチロシンリン酸化が関与することが示唆された。

### 24. 線維芽細胞の接着・伸展におけるFocal contact構成蛋白の役割

荒井 滋朗, 安彦 善裕, 齊藤 正人,  
岡本 智博, 神田 昌巳, 芳賀 宏  
賀来 亨

(口腔病理学講座)

基質の表面形態や蛋白などが細胞の形態、増殖傾向などに影響を及ぼすことが古くから知られていますが、そのメカニズムについては不明なところが少なくない。

我々はヒト歯肉由来線維芽細胞を用いてFocal contactに局在する蛋白質であるFocal adhesion kinase

Paxillin及びチロシンリン酸化について検討した。

#### 【方法】

細胞はヒト歯肉線維芽細胞を用い、実験に際し0.2%トリプシン溶液にて、細胞浮遊液を製作し血清を含有しない無血清DMEMにてフィブロネクチンコートおよびノ