

**37. 癌の浸潤・転移マーカーとしての細胞内SOD(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)	田中 真樹
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	15
号	1
ページ	56-57
発行年	1996-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008152/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008152/</a>

アルデヒド固定液による灌流固定後、ラット脳を全摘出し、後固定の後、マイクロスライサーにて厚さ50 $\mu$ mの薄切切片を作成した。

免疫組織化学的技法として、酵素抗体法を用いた。すなわち、内因性ペルオキシダーゼ活性阻止後、ヤギ正常血清と反応させ、一次抗体として1000倍希釈の *Cholin Acetyl Transferase* 抗体を、二次抗体としてビオチン標本第二抗体を、さらに、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン用い、ジアミノベンジジン溶液によって発色させ、光学顕微鏡により、縦0.865mm×横0.58mmの範囲のコリン作動性ニューロン数をカウントした。なお、ラ

ット1匹について、それぞれ6枚づつ連続切片における総数をカウントし、各群6匹の平均値を求めた。

【結果と考察】 対照群、粉末飼料群、臼歯切除群におけるコリン作動性ニューロン数は各々81.5個、66.3個、53.8個であり、対照群に対して他の2群においては、統計学的に有意な数の減少が認められた。

この結果から、飼育飼料形態の変更と臼歯部における咬合接触関係に喪失が求心性情報を変化させ、対核帯核のコリン作動性ニューロンに影響を及ぼしたことが示唆された。

### 36. 家兎歯周囲組織に対するCO<sub>2</sub>レーザーの影響

有路 博彦<sup>1)</sup>、福田 恵<sup>2)</sup>、西村 学子<sup>1)</sup>、  
齊藤 正人<sup>1)</sup>、蔵口 潤<sup>1)</sup>、中出 修<sup>1)</sup>、  
高橋 香苗<sup>1)</sup>、山口 勝<sup>1)</sup>、永山 裕<sup>1)</sup>、  
西山 鉄<sup>1)</sup>、賀来 亨<sup>1)</sup>  
(口腔病理学講座<sup>1)</sup>、歯科放射線学講座<sup>2)</sup>)

医療分野でのレーザーの応用はCO<sub>2</sub>レーザー、Nd-YAGレーザーなどによる組織の除去、切開・凝固などの応用がなされ、また歯科領域ではその特殊性から低出力・高出力レーザーなどにより、う蝕予防、窩洞形成、歯髄処理の他、歯肉切除、歯周ポケット内への照射など歯周疾患への応用といった、広い範囲での試みがなされている。これまでに機械的に歯周組織に欠損を作成し、その治癒過程を検討した報告はあるが、レーザーによる歯根膜、歯槽骨を含む歯周組織に対する修復過程の報告は少ない。今回、われわれは家兎の臼歯部の粘膜骨膜弁を形成し、歯科用CO<sub>2</sub>レーザー照射により歯槽骨、歯根膜、セメント質を含む歯周組織および歯牙に欠損を与え、その修復過程を組織学的に検討した。

#### (材料および方法)

動物は体重3kgの雄家兎を使用した。CO<sub>2</sub>レーザー装置はSaltec社製の歯科用CO<sub>2</sub>レーザー、LASERSATを使

用した。この装置は、チップ先端から3mm～1cmの部位では最大パワーの連続照射で約700度に達すると言われている。実験部位は家兎臼歯部に粘膜骨膜弁を形成し、臼歯部歯根部相当で、歯槽骨頂より約2mm下付近に処置を行なった。CO<sub>2</sub>レーザー照射群では、5W、10秒での照射を行った。コントロール群の創傷形成には#10の歯科用ラウンド・バーを使用した。照射1時間後さらに1週より4週までを組織学的に検索した。

#### (結果および考察)

レーザーでは歯根膜の変化として壊死、好中球浸潤が強いが、肉芽組織の反応は少なく、また、歯槽骨の変化は腐骨形成が著明で、骨新生は遅延していた。

以上よりCO<sub>2</sub>レーザー照射群では、治癒が遅延し、創部に生じた炭化物がその原因となっていることが推測され、CO<sub>2</sub>レーザーの使用に当たっては、その特性を十分に把握した上で用いることが必要と思われる。

### 37. 癌の浸潤・転移マーカーとしての細胞内SOD

田中 真樹  
(口腔外科第一講座)

我々は、現在までに癌の血行性転移において好中球や単球から産出されるsuperoxide転移性を増強することを

みいだし、組み替え型ヒトCu-Zn superoxide dismutase (Cu-Zn SOD)投与によって著明な転移抑制が認められ

ることを報告してきた。そこで、癌細胞内に存在する *superoxide* スカベンジャーである *SOD* 活性の差異が浸潤・転移能を規定する可能性が示唆されることから、浸潤・転移マーカーとしての有用性を検討した。

【方法と結果】 1) *METH A*由来低転移クローン (*ML-01*)と高転移クローン (*MH-02*)を用いて、細胞内 *SOD*活性を *NBT*法により測定した。その結果、*ML-01*は *ML-02*の約3倍の活性を有していた。2) 舌扁平上皮癌細胞 *SAS*から限界希釈法によりクローニングしたものを、肺血管内皮細胞層に対する浸潤性により選択された浸潤性の異なるクローンについて、細胞内 *SOD*活性を検

討したところ最も浸潤性の低いクローン (*SAS-L1*)は最も高い浸潤性を有するクローン (*SAS-H1*)の約4倍の活性を示した。また、浸潤性が高まると共に細胞内 *SOD*活性は低くなる傾向がみられた。3) *SAS-L1*に *CU-Zn SOD*のアンチセンス *c-DNA*を導入し、細胞内 *SOD*活性が約1/4低下したものでは、浸潤性が約6倍また、運動性は約5倍に亢進した。

【結論】 腫瘍細胞内の *SOD*活性は、浸潤性を規定する因子であることが想定された。そこで、細胞内 *SOD*活性の測定は、癌の浸潤・転移性を判断する有用なマーカーとなり得ることが示唆された。

### 38. 水晶振動子微小秤量法を用いた細胞動態モニタリングの試み

○遠藤 一彦<sup>1)</sup>, 安彦 善裕<sup>2)</sup>, 荒木 吉馬<sup>1)</sup>,  
川島 功<sup>1)</sup>, 山根 由朗<sup>1)</sup>, 大野 弘機<sup>1)</sup>,  
賀来 亨<sup>2)</sup>  
(歯科理工学講座<sup>1)</sup>, 口腔病理学講座<sup>2)</sup>)

【目的】 水晶振動子微小秤量装置 (*QCM*)は、水晶振動子の共振周波数変化からナノグラムオーダー ( $10^{-9}$ )の質量変化を測定する装置であり、溶液中での測定が可能であるという特徴を有する。本研究では、*QCM*を用いて、水晶振動子上に蒸着された金属上への細胞の付着ならびにその後の増殖過程を実時間でモニタリングするシステムを構築し、その適用性を検討することを目的とした。

【材料と方法】 実験には、金を蒸着した共振周波数6 *MHz*の水晶振動子を用いた。水晶振動子を装着したセル内に培養液を8 *ml*入れ、共振周波数が一定となった時点で骨芽細胞 (*MC3T3-E1*)を  $2 \times 10^5$  *cells/ml*となるように加えた。

【結果と考察】 細胞の金薄膜上への付着による質量変

化にともなって、水晶振動子の共振周波数は減少し、細胞添加3時間後に約250 *Hz*に達した。細胞添加3時間から7時間後まで、共振周波数は、細胞の伸展にともなって約50 *Hz*増加した。その後、共振周波数は、細胞タンパク質の増加にともなって24時間後までは緩やかに減少し、細胞分裂の開始とともに指数関数的に減少した。

以上の結果より、*QCM*を用いて、細胞の付着、伸展およびその後の増殖挙動を実時間でモニタリングできることが明らかとなった。本手法は、足場依存性細胞の分裂増殖あるいは致死過程を実時間で追跡できるため、材料の生体適合性を迅速かつ定量的に評価する手法として有用と考えられる。また、環境の変化にともなう細胞動態の実時間計測にも応用可能と考えられる。

### 39. 全顎的に見られた多発性埋伏奇形歯の1例について

○蔵口 潤<sup>1)</sup>, 大内 知之<sup>1)</sup>, 小山 宏樹<sup>1)</sup>,  
福田 恵<sup>2)</sup>, 神田 昌巳<sup>1)</sup>, 菅野 秀俊<sup>1)</sup>,  
西村 学子<sup>1)</sup>, 有路 博彦<sup>1)</sup>, 中出 修<sup>1)</sup>  
賀来 亨<sup>1)</sup>  
(口腔病理学講座<sup>1)</sup>, 歯科放射線学講座<sup>2)</sup>)

歯牙の原基は、胎生の早期に形成を開始し、その後、かなりの期間を要し、硬組織の形成が完了される。この

間に種々の因子により発育が障害されると、形態や位置に異常が生じると考えられている。