

## 26. ラットにおける癌抑制遺伝子p53の機能的変異検出法の開発(一般講演)(東日本歯学会第15回学術大会(平成9年度総会))

著者名(日)	中田 大地, 柴田 敏之, 中井 一元, 永易 裕樹, 加藤 元康, 河野 峰, 有末 眞
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	16
号	1
ページ	160-161
発行年	1997-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008240/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008240/</a>

も高感受性のT T細胞のそれ (3.9U/mg protein) に比べ高値を示した。(2)T T細胞にpTNF $\Delta$ proを遺伝子導入した結果、得られたクローンのMnSOD活性は上昇し、

TNFに抵抗性となった。【結語】口腔癌細胞株において、細胞内TNFの発現およびMnSOD活性が、TNF感受性規定因子として働くことが示唆された。

## 25. 内皮細胞間の機能装飾はヒト口腔癌細胞の浸潤を抑制する

○永易 裕樹, 河野 峰, 北所 弘行,  
加藤 元康, 柴田 敏之, 有末 眞  
(口腔外科学第二講座)

癌の転移成立過程において、癌細胞が内皮細胞下に浸潤することは、重要な段階の一つと考えられている。これまで、我々は、肝臓疾患用剤Malotilate (MT) が内皮細胞に作用し、転移抑制効果を示すことを動物実験において明らかにしてきた。そこで、今回、ヒト口腔扁平上皮癌細胞における浸潤抑制効果とその作用機序について検討した。

その結果、MTは、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株5系の増殖能には変化を及ぼさなかった。ラット肺由来血管内皮細胞 (RLE) を用いたin vitro invasion assayにおいて、癌細胞側をMT処理した場合、浸潤能に変化を認めなかったが、内皮細胞側をMT処理したとき、癌細胞株3系で有意な浸潤抑制効果が認められ、他の2系でも抑制傾

向が認められた。MT処理RLEにおいて、Permeabilityの有為な低下ならびにDye transfer法で細胞間色素移行率の増大が観察された。また、ウエスタンブロッティング法によりギャップ構成タンパクであるコネキシン43の発現を検索したところ、MT処理時間に依存して6時間以降よりコネキシン43の発現の増加が認められた。さらにMT処理濃度に応じ、濃度の増大に伴いRLEにおけるコネキシン43の発現が増強されていた。

以上のことよりMTは、内皮細胞間の細胞間結合装置の発達を促し、細胞間結合力を上昇させ、癌細胞の内皮細胞間の通過を妨げることにより、浸潤抑制効果を発揮すると考えられた。

## 26. ラットにおける癌抑制遺伝子p53の機能的変異検出法の開発

○中田 大地, 柴田 敏之, 中井 一元,  
永易 裕樹, 加藤 元康, 河野 峰,  
有末 眞  
(口腔外科学第二講座)

【目的】癌抑制遺伝子p53はヒト口腔癌をはじめ、各種癌で高頻度に変異を起し、その悪性化進展に関与することが知られている。この遺伝子の変異を塩基配列を決定することなしに酵母を用いて簡単・迅速・多数の試料を検出する方法 (Yeast functional assay) が開発された。この方法は従来の化学的な変異検出法や免疫化学的方法に比べ生物学的に意味のある機能的変異を検出できる優れた方法である。現在この方法はヒトの系においてのみ使用可能である。今回、我々はこれを応用し実験動物で発癌および悪性化進展の解析等を行うためラットp53遺伝子のYeast functional assayの開発とその有用性について検討を行った。

【方法と結果】正常ラット (WKA) の肝臓からRNAを

抽出し、RT-PCR法により得られたp53cDNAを酵母内ヒトp53発現ベクターpLS72のヒトp53cDNAと置換し、ラットp53発現ベクターpLSRP53を作製した。このベクターからp53のDNA結合ドメインをコードする部分を除去し線状化した後、これをラット各種細胞よりRT-PCR法により得られたp53cDNAとともに酵母に導入し、相同組換えを起こさせた。この結果、発現するp53蛋白が酵母染色体上のp53確認DNA配列に結合し下流のADE2遺伝子の転写を活性化するかどうかをコロニー色 (赤: 変異型p53/白: 野生型p53) で判定するシステムを確立した。この方法により、ラットの正常組織のp53の変異を検定したところ90%以上が、白コロニーを呈した。一方、癌細胞および人為的変異を導入したp53PCR産物

では、赤コロニーがそれぞれ90%以上検出された。また、赤コロニーからプラスミドを回収しp53の遺伝子変異を同定した。

【まとめ】本法はラットp53遺伝子の生物学的に意味のある機能的変異を簡単・迅速に検出する方法として有用である。

## 27. 静脈内鎮静法下で2%塩酸リドカイン（1/20万エピネフリン含有）により心室性期外収縮を認めた高齢歯科患者の1症例

○安孫子 勲, 工藤 勝, 大桶 華子,  
河野 峰, 河合 拓郎, 國分 正廣,  
新家 昇  
、 (歯科麻酔学講座)

今回、我々は循環器疾患をもつ高齢歯科患者の埋伏歯、残根歯の抜歯を静脈内鎮静法下で行い、1/20万エピネフリンを含有した局所麻酔の投与2分後より心室性期外収縮を発生した症例を経験したので報告する。

患者は77歳、男性、慎重163.6cm、体重70.4kg、71歳時に本態性高血圧、74歳時に狭心症、心筋梗塞で内科より内服治療を受けていた。

術前診査では血圧137/68mmHg、脈拍48回/mmと徐脈であるが、洞調律で、血圧はコントロールされていた。心電図（ST上昇、異常Q波、左室肥大）は陳旧性心筋梗塞様の所見を認めた。

入室1時間前に前投薬として抗不安薬のジアゼパム12mg（0.3mg/kg）を経口投与したので良好な鎮静状態で入室したが、心室期外収縮（5回/mm）を認めた。

ジアゼパム6mg（0.1mg/kg）を十分な鎮静を得るまで3分間かけて緩徐に静脈内投与し、局所麻酔薬として2%塩酸リドカイン（1/20万エピネフリン含有）8ml（エピネフリン量40μg）を5分間かけて投与した。その2分後に三段脈が4分間続いたが血圧に異常は認めなかった。不整脈治療の目的で塩酸リドカイン10mgを5回、計50mg静注した。三段脈は消失し、心室性期外収縮の散発化（11回/mm）を認めた。その後、一時的にSpO<sub>2</sub>（経

皮的動脈血酸素飽和度）が90%となった時には三段脈を認めるも、帰室時には消失し、散発的な心室性期外収縮を認めるのみとなった。帰室2時間後の心電図所見は術前と同様であった。

このように、循環器疾患をもつ高齢歯科患者では、文献的に安全であるとされているエピネフリン量40μg以内の使用でも不整脈を誘発した。

我々が麻酔管理を行った症例（平均年齢26歳、健康成人10名）で、止血目的に（1/8万、1/20万エピネフリン含有）2%塩酸リドカイン（エピネフリン量平均34μg）を投与した時、RPP（心拍数×収縮期血圧）が投与5分前に比べ5分後では平均12,306となり、12,000の要注意ラインに達していた。この結果から健康成人であってもエピネフリン量40μg以下で循環動態への変化が認められた。

このことから、循環器疾患をもつ高齢歯科患者への対応としては、局所麻酔中のエピネフリン量は30μg以下の使用が望ましいと考えられた。また、確実に効果の得られる前投薬や精神鎮静法を用い患者の交感神経緊張状態を軽減し、三段脈の原因と考えられる内因性エピネフリンの上昇を抑え、処置はモニター鑑視下で行うことが重要であると思われた。

## 28. 静脈確保部位の違いによる貼付用局所麻酔剤の効果

○大桶 華子, 工藤 勝, 安孫子 勲,  
河合 拓郎, 河野 峰, 國分 正廣,  
新家 昇  
(歯科麻酔学講座)

【目的】我々は痛みを与えない静脈路の確保を行うために、血管確保部位の違いによる貼付用局所麻酔剤（60%

塩酸リドカインテープ剤；商品名ペンレス®、以下リドカインテープ）の効果と比較検討した。