

<講演抄録>24. Superoxideによるマウス・マクロファージ細胞株J774.1の運動能亢進はPKCを介する(東日本歯学会第16回学術大会(平成10年度総会))

著者名(日)	中村 公則, 田中 真樹, 萩野 司, 奥村 一彦, 金澤 正昭
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	17
号	1
ページ	167-168
発行年	1998-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00008337/

パラフィン切片を作製した。免疫染色は、モノクローナル抗牛デコリン抗体 (3B3) を用い、peroxidase antiperoxidase (PAP) 法にて行った。

《結果》0週、および2週齢では、デコリン抗体に対する弱い反応が円板、および結合部にわたってみられ領域差は顕著でなかった。4週齢では、反応性が全体的に強くなり、特に、前方結合部と後方結合部で強い反応が認められた。8週齢では、中央狭窄部と後方肥厚部の中央部での反応性が弱く、前方と後方結合部で中等度の、前

方肥厚部と結合部間で強い反応がみられ、領域による反応性の差が顕著であった。16週齢では、8週齢と同様の領域差が存在したが、さらに反応性の亢進がみられた。

《結語》ラットの顎関節円板におけるデコリンの局在は、加齢に伴い増加傾向を示し、また、その領域差が顕著になることが明らかとなった。これらの変化は、顎関節に生ずる複雑な生力学的力を反映していることが示唆された。

23. 唾液腺腫瘍の腺管構造部の三次元的観察

○定岡 敏之, 西村 学子, 大内 知之,
安彦 善裕, 坂倉 康則*, 賀来 亨

(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座, *北海道医療大学歯学部口腔解剖学第一講座)

《緒言》唾液腺組織は、腫瘍化した場合様々な像を呈することが知られており、細分化された診断名を、ルーティンの病理診断の方法のみでは、確定することの困難なことが多い。確定診断のために、これまで組織化学、免疫組織化学的染色、および電子顕微鏡による観察などが行われてきたが、いずれも一切片による2次元観察のみであり、3次元的に腫瘍の構造物を観察した報告はみられない。唾液腺は、文字どおり腺組織であることから、腫瘍化したものに腺管様構造物のみみられることが多いが、その形態も様々である。本研究では、唾液腺腫瘍の腺管様構造物の3次元構造を明らかにするため、主に共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。

《材料および方法》材料には、pleomorphic adenoma (PA) とsalivary duct carcinoma (SDC) と診断された症例の切り出し時の残組織を用いた。いずれもマイク

ロスライサーによる100 μ m切片を作製の後、Triton Xによる処理を行った。1次抗体として抗ケラチン抗体 (DAKO社製) を用い、4 $^{\circ}$ Cで5日間インキュベーションを行い、PBSによる洗浄の後、FITC標識2次抗体で2日間インキュベーションを行った。その後、速やかに切片を共焦点レーザー顕微鏡により観察した。

《結果および考察》PAでは2層性構造を示す腺管様構造物は、隣接するもの同士の吻合が観察された。SDCのintraductal proliferationを示す腺管様構造物には吻合がほとんど確認されず、充実性の腫瘍胞巣中に腺管が孤立して存在していることが示唆された。

以上のことから、共焦点レーザー顕微鏡による3次元観察は免疫組織化学や電子顕微鏡と並んで、唾液腺腫瘍の診断の一助になるものと考えられた。

24. Superoxideによるマウス・マクロファージ細胞株J774.1の運動能亢進はPKCを介する

○中村 公則, 田中 真樹, 萩野 司,
奥村 一彦, 金澤 正昭

(北海道医療大学歯学部口腔外科学第一講座)

《目的》マクロファージ ($M\phi$) は、様々な刺激により活性化しSuperoxide (O_2^-) を含む活性酸素を産生する。われわれは、癌細胞の運動能が O_2^- によって促進されることをすでに報告した (Cancer Res., 1995)。そこで、 $M\phi$ 自身の細胞運動能も O_2^- により促進されることの仮説を立て、 O_2^- による運動促進機序を検討した。

《方法》細胞は、マウス由来 $M\phi$ 細胞株J774.1を用いた。 $M\phi$ の活性化はPMA (1 mg/ml) で刺激し、 O_2^- はHypoxanthineとXanthine oxidaseにより産生させた。 O_2^- 産生量はcytochrome C法により測定した。細胞運動能は金コロイドを用いたPhagokinetic track assayにより評価した。Protein kinase C (PKC) 活性は、Amersham

社製enzyme assay systemで測定した。

《結果と考察》 O_2^- 処理によりM ϕ の細胞運動能は、対照に比較してPMA処理(137%)と同等の142%と促進した。この運動促進は O_2^- スカベンジャーであるSuperoxide Dismutaseによって完全に阻害された。また、 O_2^- 処理によって細胞内PKC活性の上昇が認められ、PKC阻害

剤であるCarphostin C処理により濃度依存性に運動能制が観察された。以上のことから、局所炎症巣におけるM ϕ 由来の O_2^- が食菌作用に働くほかに、M ϕ 自身の細胞運動に関与している可能性が示唆された。さらに O_2^- による運動促進シグナルは、細胞内のPKCを介していることが明かとなった。

25. 尿酸のフリーラジカル消去能について

○佐藤 尚武, 竹林 義人, 堀川 孝明,
佐野 友昭, 大西 隆, 田中 力延,
金子 昌幸

(北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座)

尿酸のフリーラジカル(FR)消去能をESRスピントラッピング法で検索し、その消去機構を解明するため、(1)ヒポキサンチン・キサンチンオキシダーゼ系反応と放射線照射で生じるラジカルの確認、(2)尿酸の O_2^- ならびに $HO\cdot$ 消去能の有無の確認、(3)尿酸濃度の相違による O_2^- および $HO\cdot$ 消去能の変化を測定した。

O_2^- と $HO\cdot$ の検出はESRスピントラッピング法で行った。(2)で添加する尿酸濃度は10mMとし、(3)で添加する尿酸濃度は1, 2, 4, 6, 8, 10mMとし、対照にPBSを添加した。発生量と消去能は、ESRスペクトルから得られた相対信号強度(RSI)を求めて比較する方法をとった。

ヒポキサンチン・キサンチンオキシダーゼ系反応で生じるFRは、超微細結合定数 $AN=1.305mT$, $AH\beta=1.483mT$, $AH\gamma=0.133mT$, $g=2.0059$ が得られたこと

から O_2^- であると同定され、放射線照射によって生じるFRは $AN=1.488mT$, $AH\beta=1.483mT$, $g=2.0056$ が得られた $HO\cdot$ であると同定された。尿酸添加群と尿酸無添加群の比較では、尿酸添加群で明らかな O_2^- と $HO\cdot$ 発生量の低下が認められた。また、尿酸濃度の相違による O_2^- と $HO\cdot$ 発生量は、尿酸濃度の上昇に依存して低下していることが確認された。

以上から、尿酸は、 O_2^- と $HO\cdot$ 消去能を有し、その消去能は濃度依存性に増大すること、 O_2^- または $HO\cdot$ を一電子還元して非ラジカル化しながら自らは尿酸ラジカルになることが考えられた。これらは口腔内に分泌される唾液中でも同様の反応が成されていることを示すものであり、口腔領域においてもFRの消去に尿酸が重要な働きを成しているものと考えられた。

26. p21およびBAG-1の発現と放射線感受性について

○細川洋一郎, 福田 恵, 金子 昌幸
(北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座)

《目的》放射線照射による細胞死は、基本的にはアポトーシスによることが示されており、がん抑制遺伝子p53を介するアポトーシス誘発がその主な経路と考えられている。腫瘍細胞のp53が野性型ものは放射線感受性が高く、変異型p53を有する腫瘍は感受性が低いことが報告されているが、口腔扁平上皮がんの多くは変異型p53を有しており、このような腫瘍細胞のアポトーシスの発現にはp53を介さない経路の存在が考えられている。p21はcyclin/CDKを抑制することにより細胞周期

を制御し、アポトーシスとの密接な関連が報告されている。一方、BAG-1は広範な組織に発現していることが示されており、頭頸部がんではbcl-2にかわり、その発現量の差が放射線照射によるアポトーシスの抑制に働いている可能性が示唆されている。そこで我々は、p53変異株と思われる口腔扁平上皮癌由来細胞株を使用し、p21ならびにBAG-1の発現と放射線感受性について検討したので報告する。

《方法と結果》口腔扁平上皮がん細胞株7種(Ca9.22,