

<学会記録>5. 放射線および過酸化水素により誘導されるアポトーシスについて(東日本歯学会第19回学術大会 一般講演抄録)

著者名(日)	細川 洋一郎, 田中 力延, 金子 昌幸, 敦賀 英知, 入江 一元, 坂倉 康則, 矢嶋 俊彦
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	20
号	1
ページ	107
発行年	2001-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00008610/

ら限界希釈法によって得られたクローンを肺血管内皮細胞層下への癌細胞潜り込みを指標にした浸潤アッセイで選択した、高浸潤性クローンSAS-H1と低浸潤性クローンSAS-L1を用いた。方法は、タカラの蛍光ラベルdifferential display kitを用いて行った。すなわち、各クローンからTotal RNAを抽出し9種類のローダミンラベルされたdown streamプライマーと24種類のupstreamプライマーを用いて216通りの組み合わせを使用しPCR反応を行った。次に、変性ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、両者間で異なる発現を示すバンドをゲルから切り出し回収したcDNA断片をPCRで再増幅後、pUC18ベクターにつなぎ込みの検討を行った。ABI Genetic

Analyzer 310シーケンサーを用いてその塩基配列の決定を行った。

【結果と考察】RT-PCRで再現性を確認できた遺伝子として、1つは低浸潤性で強く発現していた390bpのcDNA断片でLIEG-1と名付け、もう一方は高浸潤性で強く発現していた288bpのcDNA断片でHIEG-1と名付けた。各々の塩基配列についてBLASTを用いたホモロジー検索を行ったところ、低浸潤性で強く発現するcDNA断片LIEG-1は1番染色体に存在するRP5-926E3のヒトDNAに100%一致する結果が得られた。一方、高浸潤性で発現が増強したHIEG-1遺伝子については相同性のある既存の遺伝子は得られなかった。

5. 放射線および過酸化水素により誘導されるアポトーシスについて

○細川洋一郎, 田中 力延, 金子 昌幸,
敦賀 英知*, 入江 一元*, 坂倉 康則*,
矢嶋 俊彦*

(北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座・*北海道医療大学歯学部解剖学第一講座)

【目的】放射線誘発アポトーシスにおいても、最終的にはカスパーゼによりエンドヌクレアーゼが活性化され、DNA切断化がおこり細胞死にいたるとするのが定説になってきている。しかし、放射線のfirst targetおよび初期反応の作用機序は不明である。我々はアポトーシス発生原因とされているOHラジカル量をESRで測定したところ、放射線照射の場合と過酸化水素の場合では、その量に違いのあることに気がついた。これは両刺激の作用場所および初期課程が異なる可能性を伺わせる。そこで今回、両刺激によって誘導されるアポトーシスにおいて、発現する蛋白の違いに注目し、検討を行った。

【材料と方法】細胞はHL60細胞(ヒト骨髄性白血病細胞)を使用した。この細胞に放射線4Gy照射または100μMの過酸化水素を暴露させ、その後の細胞死、DNA断片化、蛋白の発現について経時的に観察した。

【結果と考察】p53positive controlであるMolt-4と比較したところ、放射線照射および過酸化水素によって誘導されるアポトーシスでも、HL60はp53の発現がみられなかった。HL60は放射線照射および過酸化水素暴露後、6時間までにDNA断片化を起こした。この極大期に、Western blotでカスパーゼ3およびその基質であるPARPが活性化されるのが観察された。また放射線照射においてはp21が発現し、Bax, cytochrome CおよびFas抗原(CD95)が発現していたのに対し、過酸化水素暴露ではFas抗原はみられたもののp21の発現はみられなかった。以上の結果から、p53欠損株であるHL60でもミトコンドリアを介した系でアポトーシスを起こしている可能性が考えられる一方、放射線照射と過酸化水素暴露では系に違いのある可能性が示唆された。

6. *Porphyromonas gingivalis*のrgp A遺伝子産物のHGP44の共凝集への関与について

○鎌口 有秀, 鈴木真由美, 宮川 博史,
馬場 久衛
(北海道医療大学歯学部口腔細菌学講座)

【目的】成人性歯周病の主要原因細菌の1つである*Porphyromonas gingivalis*の歯周局所への付着機構の1つ

として既に付着している細菌に結合することによりその目的を達成する可能性が考えられており、この現象は試