

## <学会記録II>3 . 各種ディフェンシンペプチドの口腔扁平上皮癌細胞株への影響(東日本歯学会第21回学術大会一般講演抄録)

|        |   |
|--------|---|
| 著者名(日) | 西村 学子, 安彦 善裕, 山崎 真美, 草野 薫, 荒川 俊哉, 田隈 泰信, 賀来 亨                                       |
| 雑誌名    | 東日本歯学雑誌   |
| 巻      | 22  |
| 号      | 1   |
| ページ    | 96  |
| 発行年    | 2003-06-30  |
| URL    | <a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008794/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008794/</a> |

における*P. gingivalis*のタンパク質発現にquorum sensingが関与するかは不明である。今回は*P. gingivalis*の親株および*luxS*変異株における菌体タンパク質をプロテオーム的に解析し若干の検討を行った。

【方法】*P. gingivalis* ATCC33277の*luxS*遺伝子にエリスロマイシン耐性遺伝子を挿入し変異株を作製した。親株と変異株を培養後、菌体の2次元電気泳動を行った。スポットボリュームに差異のみられたもののアミノ酸シーケンスを行い、データベースより物質を特定した。

【結果および考察】親株と*luxS*変異株の菌体の2次元電気泳動の結果、親株の方がスポットボリュームが大きいスポットはarginine-specific cystein proteinase (RGP)であり、変異株の方が大きいのはNAD-specific glutamate dehydrogenase, alanine dehydrogenaseであった。また、菌体のRGP活性も親株の方が強い傾向がみられた。以上のことより*luxS*遺伝子が関与するAI-2が*P. gingivalis*のRGP産生に若干影響している可能性が示唆された。(会員外共同研究者：相根義昌(東京農大))

### 3. 各種ディフェンシンペプチドの口腔扁平上皮癌細胞株への影響

○西村 学子\*, 安彦 善裕\*, 山崎 真美\*, 草野 薫\*, 荒川 俊哉\*\*, 田隈 泰信\*\*, 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生化学講座)

【目的】抗細菌ペプチドは、生体を細菌感染から防御するための重要な働きを担っている。その一つであるディフェンシンは $\alpha$  (HNPs) と $\beta$  (hBDs) に分けられ、前者は主として好中球、後者は様々な上皮細胞での発現が確認されている。HNPsは、細菌への毒性以外に高濃度ではある種の真核細胞にも毒性を示すとの報告がある。今回われわれは、HNPsとhBDsが口腔上皮細胞に与える影響について検討した。

【方法】細胞は正常口腔上皮および扁平上皮癌細胞株(SCC-9, SAS, Ca-9, HSC-4, KB, BSC-OF)を用いた。それぞれの細胞は無血清DMEM培地にHNP-1, hBD-1, -2を各0~50ug/ml濃度で添加し24時間および48時間後の細胞増殖率をdirect cell count法, BrdU incorporation, さらにXTTおよびDNA fragmentationによ

る細胞毒性についても検索した。また、細胞増殖効果のみられたものについては、それがEGF receptorやMAP kinaseを介したものであるか否かを検索するために、EGF receptor inhibitor tryphostin AG1478を10uM濃度, MAP kinase inhibitor UO126を25uM濃度でそれぞれ添加して細胞増殖効果を検討した。

【結果および考察】HNP-1およびhBDsは濃度依存的に細胞増殖傾向を示し、特にHNP-1が10ug/mlで有意な結果を得た。また、MAP kinase inhibitorを添加したものでは有意な増殖抑制効果を認めた。以上のことから、ディフェンシンの $\alpha$ ,  $\beta$ いずれにおいても、低濃度では口腔扁平上皮癌細胞株の増殖促進効果があり、それにはMAP kinaseの系が関与していることが示唆された。

### 4. バイオインフォーマティクスにより存在が予想された新規 $\beta$ ディフェンシンの諸臓器での発現

○山崎 真美\*, 安彦 善裕\*, 西村 学子\*, 草野 薫\*, 荒川 俊哉\*\*, 田隈 泰信\*\*, 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生化学講座)

【目的】 $\beta$ ディフェンシン(hBD)は主として上皮細胞が分泌する抗細菌性タンパクであり、ヒトではこれまでに6種類のタイプが単離されてきている。最近のcomputational searchにより31種類のhBDの存在していることが予想された(PNAS, 2002)。今回われわれは、この中でNCBIにmRNAの情報が公開されているものの、全身諸臓器での発現、およびそれらのサイトカイン等による誘導性について検索した。

【方法】材料には全身諸臓器から得られたcDNA (Multiple Tissues cDNA, Clontech社)および、皮膚、口腔上皮のケラチンサイトから得られたcDNAを用いた。NCBIから予想されるmRNAの情報を引き出し、hBD-18, -19, -20, -22, -23, -25, -26, -27, -29に対するprimerをデザインしてRT-PCR法およびLightCycler™による定量的PCR法を行った。また、ケラチンサイトでの発現の観察されたものについては、皮膚、口腔上皮由