

2. DMBA 頬嚢癌形成過程における GGT 陽性巣について

舘山美樹, 中出 修, 江戸 稔,
賀来 亨, 奥山富三 (口腔病理)

γ -glutamyl transpeptidase(以下GGT)は細胞膜に局在し glutamyl 基を γ -glutamyl peptide から他のpeptide あるいはアミノ酸に転化する反応を触媒する酵素で、生体内の各臓器に広く分布している。また、GGTは胎児性蛋白として注目されており、実験肝癌の解析に重要なマーカーとして知られている。その他、皮膚、口腔粘膜、大腸などの実験的に形成された癌についても GGT 活性の高いことが報告され、Solt は発癌剤 DMBA ミネラルオイル溶液をハムスター頬嚢に塗布することにより、組織化学的染色により、GGT 陽性巣の出現することを報告している。

今回、われわれは、ハムスター頬嚢に 0.5%DMBA ミネラルオイル溶液を塗布し、その promoter として知られている TPA アセトン溶液を DMBA 塗布中止後引き続き塗布し、組織化学的に GGT 陽性巣の経時的变化を検索し、TPA の GGT 陽性巣に対する効果の有無について考察を行った。

実験動物は生後約2カ月の雄ハムスターで発癌剤を0.5% DMBA ミネラルオイル溶液とし、DMBA を週2回頬嚢粘膜に5週まで、計10回、塗布し、以後 promoter

として知られている TPA を塗布した。頬嚢粘膜上皮のみを剝離し、Rutenbergらの方法に準じて GGT の組織化学染色を行った。

頬嚢の GGT 陽性巣の数および直径は発癌剤の塗布回数が増すに従い、数の増加および直径の増加が認められるが、DMBA 塗布中止後 TPA 塗布群、無処置群ともに陽性巣の数の減少、直径の減少が認められ、皮膚癌実験における promoter として知られている TPA は頬嚢における GGT 陽性巣の数、大きさには影響は認められなかった。

質 問 倉橋昌司 (口腔生理)

TPA 塗布中止後、GGT 陽性巣のかなり早い減少が認められたが、このことは GGT 蛋白の代謝回転がかなり速いことを反映しているのでしょうか。

回 答 賀来 亨 (口腔病理)

肝癌形成過程においても発癌剤を中止することにより、急速に GGT 陽性巣が減少します。肝癌実験においては、偏倚した細胞が正常に戻ることににより GGT 活性の消失すると考えられています。おそらく、同じ現象がおこっているものと思われます。

3. 唾液 LDH アイソザイムにみられる異常パターンについて

柏原芽美, 田隈泰信, 市田篤郎
(口腔生化)

免疫グロブリン結合酵素あるいは異常 LDH とされるものが、組織破壊が著明であるような重症患者血清中に出現することが知られているが、その成因については明らかではない。

ヒト唾液の LDH アイソザイムは、骨格筋型で大部分の活性は LD_{3,4,5} にみられる。正常人より得た全唾液および耳下腺唾液を、ミニコンを用いて 4℃ のコールドルーム内で、約20倍から 100 倍に濃縮した後、アガロースフィルム上で泳動して LDH 染色を行い、インキュベーターレイの中にフィルムを入れ 37℃ で 30 分間反応させた。その結果、血清と比較すると、全唾液では明らかに LD₃ の後方に extra band をつくっているのが認められた。耳下腺唾液においては明らかではなかった。

以上の実験をもとに、DAKO 社製抗ヒト IgA 及び抗

ヒト IgG を用いて免疫固定法を行った。採取した全唾液を前実験同様、濃縮、ついで泳動した。この時、脱蛋白の程度を目安として微量の BPB をこの試料に添加した。泳動終了後に抗ヒト IgA 及び抗ヒト IgG を充分浸み込ませた適当な大きさに切ったセルロースアセテート膜をフィルム上にのせ、120 分間固定反応を行った。後、脱蛋白用緩衝液に入れ、冷蔵庫内に静置。この脱蛋白時間としては、18時間が適当な成績を示した。

抗ヒト IgA 及び抗ヒト IgG を共に 2 倍、4 倍、8 倍に希釈したものと、全唾液を 50 倍に濃縮したのものについて行ったところ活性の固定が認められた。特に、2 倍希釈した抗ヒト IgA との反応が明瞭な活性が認められた。

さらに異常バンドの性状を明確に知るために薄層ゲルクロマトグラフィーにより検討している。現時点では、