

一 般 講 演

1. EGFがヒト口腔癌細胞の浸潤転移能におよぼす影響

口腔外科第二講座
河野 峰

(目的)我々は、SHRラット自然発生乳癌細胞(SST-2)から分離された造腫瘍性、転移能の著しく低下した、ER-1細胞がEGF処理によりその浸潤能がin vitro, in vivoにおいて有意に促進される現象を報告した。そこで、今回、ヒト口腔癌細胞を用い、EGFが癌細胞の浸潤能獲得に及ぼす影響を検討した。

(方法・結果)ヒト口腔癌培養株6系を用いEGF(1, 10, 100ng/ml)処理し、各々のcell lineのgrowthに及ぼす影響を検索した。その結果、1系を除いて他の5系に有意な増殖の抑制が認められた。金コロイドを用いたPhago-kinetics track assayについては、EGF処理により6系全てにおいてrandom motilityが有意に促進されていた。次に、単層培養したラット内皮細胞(RLE)上に口腔癌細胞を重層培養して、RLE下に潜り込んだコロニー数を計測するin vitro invasion assayを行った。その結果EGF(10mg/ml) 24時間処理により、2系に有意な浸潤

能の促進が認められ、他の4系においても促進傾向を認めた。また細胞外基質(ECM)分解酵素Type IV collagenase, uro-Kinase-Plasminogen activator(u-PA)の産生をZymographyにて検索したところ、EGF(10ng/ml) 24時間処理により6系中3系に、Type IV collagenaseの産生の明らかな増強を認めた。u-PAは、6系全てにおいて増強されていた。また、口腔癌培養株を転移株と原発株に分けて比較すると、転移株は原発株に比べ基本的にin vitro invasion能、ECM分解酵素産生能が高い傾向を示していた。

(考察)以上の結果は、EGFが、ヒト口腔癌のrandom motility, invasionの増強及びType IV collagenase, u-PAの産生を促進することを示し、EGFが生体においても口腔癌の浸潤に促進的に関与している可能性が示唆された。

2. 自然発症肝炎・肝癌ラット(LECラット)における着色歯の検索 第2報: 実験的黄疸ラットとの比較

口腔外科学第二講座
渡辺 一史

これまで、われわれは自然発症肝炎ラット(LECラット)に高度の黄疸を伴う肝炎発症後、2~3週経過した時点で緑色を呈する切歯が萌出する現象を観察し、これが黄疸時のビリルビンによる着色である可能性を報告してきた。そこで今回、このLECラットの自然発症黄疸に伴う着色歯の成因、機序を検討するために、LECラットの着色歯と正常LECラットの胆管結紮黄疸によって生じる着色歯との比較検討を行った。

LECラットのクローズドコロニーよりLECラットとともに分離独立された肝炎の自然発症を全く認めないLEAラット14匹の総胆管を結紮し、その後経日的に血清ビリルビン値を測定し、結紮後3週目に屠殺し、下顎骨の摘出を行った。その結果、血清ビリルビン値は結紮後3日目より著名な高値を示し、その後ゆるやかに上昇し、

5日目に一定のピークに達した後、下降した。また、1匹だけ総ビリルビン値が15.37mg/dl、直接ビリルビン値が12.58mg/dlと突出した値を示したラットがいた。歯の観察の結果、着色歯はこのラットのみに認められた。着色は象牙質内に歯髄を取囲むように環状に認められ、その部位は血清ビリルビン値が高かった時期に形成された部位に一致していた。この着色環はLECラットで認められたものと同様のものと考えられた。しかし、LECラットで認められたような象牙細管の走行の乱れ等は、ほとんど観察されなかった。

今回の結果より着色歯は直接ビリルビンの上昇のみでも起こりうることを示され、この直接ビリルビン値はLECラットで着色歯の萌出がみられる場合の値とほぼ一致している可能性が示唆された。また、血清総ビリル

ビン値が10mg/dl前後に達するものが3匹いたが、いずれも着色歯は認められなかったことより、歯の着色が生

じるには血清ビリルビン値に閾値が存在する可能性も示唆された。

3. 増殖因子による癌細胞の浸潤転移能の促進とその抑制に関する研究

口腔外科学第二講座
永易 裕樹

(目的) これまで我々は、ラット乳癌細胞(SST-2)由来の退縮型癌細胞ER-1が、宿主反応細胞により増殖、浸潤型に変わることを報告してきた。今回、宿主反応細胞より産生される増殖因子のうちEGFがER-1細胞の増殖、浸潤、転移能獲得に及ぼす影響を検討した。また、肝炎治療剤Malotilateに転移抑制作用のあることを見出し、その機序解析も行ったので報告した。

(方法と結果) ラット肺由来内皮細胞(RLE)を用いたin vitro invasion assayでER-1細胞の浸潤能はEGFで24時間処理により有意に促進された。Transwellを用いたMigration assayでは、EGF処理ER-1細胞はRLEのconditioned mediaに対するchemoinvasivenessが促進された。次に無処理ER-1細胞を同系SHRラットの腹腔内に移植すると全例自然退縮するが、EGF24時間処理ER-1は、全例致命的増殖を示した。しかし、24時間処理によるER-1のin vivoの造腫瘍性、in vitro浸潤能の促進は一過性であり4日後には元の性格に戻っていた。一方、ER

-1細胞をEGF存在下で1ヵ月間培養すると造腫瘍性、浸潤能はその後2か月間安定していた。高転移株SST-2をi.v.する肺転移の系においてMalotilate経口投与は、その転移を有意に抑制した。また、in vitro invasion assayでもMalotilate処理RLEは、SST-2の浸潤を抑制した。Malotilate処理RLEを電顕的に観察すると、種々の細胞間結合装置の発達が促進されていた。

(結語) ER-1細胞はEGFによりRLEに対する浸潤能、chemoinvasivenessを促進し、造腫瘍性肺転移能も獲得することが示され、長期間EGF処理によりこの形質が固定化される可能性を示した。以上より宿主反応細胞から産生されるEGFが癌細胞の造腫瘍性、浸潤能などの悪性形質の獲得に強く関与する可能性を示唆した。一方、MalotilateでRLEの細胞間結合を高めるような微小環境を整えることが癌転移の抑制につながる可能性を示唆した。

4. 癌細胞の悪性化の進展における活性酵素関与とその抑制に関する研究

口腔外科第二講座
加藤 元康

(目的) 宿主反応細胞により産生される様々な因子は、創傷治癒に働く一方、癌細胞に対しては、浸潤、転移能という悪性形質獲得を促進していると考えられている。我々は、マウス繊維肉腫(BMT-11)由来の退縮型癌細胞(QR-32)がゼラチンスポンジとともに皮下移植することにより悪性化の進展を起すことを報告した。また、その要因としてゼラチンスポンジ誘発宿主反応細胞から放出される活性酵素が関与していることも報告してきた。そこで、内因性の活性酵素scavengerを誘導する次硝酸ビスマス(BSN)およびPSKを用い、この癌細胞の悪性化進展の抑制効果を検討した。

(方法と結果) ビスマス投与は連続経口投与とし、PSKは腫瘍移植前5日間腔内投与した。次いでC57BL/6マウ

スにQR-32細胞(2×10^5 個)をゼラチンスポンジ($10 \times 5 \times 3$ mm)とともに皮下移植し、増殖してきた腫瘍を各々培養株として樹立した。悪性化の進展は、これら培養株癌細胞の正常マウスの皮下増殖能と尾静脈内接種後の肺転移能およびin vitroにおけるProstaglandin E_2 (PGE_2)産出量などの増強を指標とし判定した。その結果、ゼラチンスポンジ存在下で増殖してきた腫瘍の悪性化の進展は、BSN投与群7系、PSK非投与群10系それぞれ全て(100%)の培養株で見られたのに対し、BSN投与群は、7系中2系(29%)、PSK投与群は、6系中3系(50%)と非投与群と比べ有意な抑制を示した。また、BSN、PSK投与ラットの腫瘍組織内および腫瘍周囲組織を抗SOD、Catalase、Metallothioneinの抗体を用いて免疫組織染