

12. EGFがヒト口腔癌細胞の浸潤転移能におよぼす影響

河野 峰, 永易裕樹, 加藤元康
柴田敏之, 有末 眞, 村瀬博文
(口腔外科 2)

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生, 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。

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 下に潜み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 TypeIV collagenase, urokinase-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, TypeIV 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。

以上の結果より, EGFが, ヒト口腔癌のrandom motility, invasionの増強及びTypeIV 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。

13. 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

加藤元康, 永易裕樹, 河野 峰
柴田敏之, 有末 眞, 村瀬博文
(口腔外科 2)

【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る。我々は, マウス線維肉腫 (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こすことを報告した。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日間腹腔内投与した。次いでC57BL/6マウスにQR-32細胞 (2×10^6 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で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 (PGE₂) 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に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色を行い, その存在様式を検討した。

【結果】 以上より, ゼラチンスポンジ存在下で増殖してきた退縮QR-32癌細胞の悪性化の進展は, 次硝酸ビスマス経口投与およびPSK腹腔内投与より誘導される内因性活性酵素scavengerにより抑制されることが示唆された。