

14. 口腔癌細胞株SASから得られたsubcloneの細胞特性と浸潤能の検討

竹内 亨, 小西 亮, 奥村一彦
金澤正昭

(口腔外科1)

口腔癌細胞SASは、ヒト舌扁平上皮癌原発巣より樹立された細胞で、われわれはラット肺血管細胞によるin vitro invasion assayと、細胞から分泌される細胞外基質分解酵素の検討から、SASは高浸潤能性細胞の性格を有することを報告した。そこで、本細胞から浸潤能の異なるsubcloneを樹立することを試み、5つのsubcloneを得た。

今回、このsubcloneの細胞特性とその浸潤能について検討した。

【方法と結果】 1. ヒト扁平上皮癌細胞SASから限界希釈法により5つのsubcloneSAS-B7 SAS-C5 SAS-E6 SAS-E10 SAS-H1を得た。

2. ラット肺血管細胞をもちいたinvasion assayで浸潤能を検討した結果、高浸潤能性の細胞と低浸潤能性の細胞が得られ、高浸潤能性のSAS-C5は、低浸潤能性であるSAS-B7の約6倍の浸潤能を保有していた。

3. 細胞外マトリックス分解酵素である、タイプIVコラ

ゲナーゼ、ウロキナーゼ活性を検討した結果、各細胞にMMP-2, MMP-9, uPA産生がみとめられたが、MMP-2産生においてはsub-line中のSAS-B7 SAS-H1に増強が認められ、MMP-9においてはSAS-E6で増強が認められた。uPA産生においてはSAS-B7で低下が認められた。

4. SAS-C5, SAS-B7の形態を位相差顕微鏡で観察したところSAS-C5はSAS-B7に比べ突起をのびしている細胞が多く観察された。

5. 活性酵素をscavengeするSOD活性を検討したところSAS-C5では、Cu-Zn SODの低下がみられたがSAS-B7ではSAS-C5と比べ約5倍のCu-Zn SOD活性を有していることが明らかとなった。

【結果】 ヒト口腔扁平上皮細胞SASから浸潤能の異なる5つのsubcloneを得た。癌の浸潤・転移機構を解析する際、このsubcloneを用いることは有効とおもわれた。

15. 癌浸潤能におけるTGF- β のオートクリン作用と細胞外マトリックス分解酵素の産生

小西 亮
(口腔外科1)

癌の治療成績を左右する因子として、癌細胞の有する浸潤能や転移能が挙げられる。そこで、口腔癌細胞株を用いて癌細胞の浸潤能を検討し、その浸潤促進因子について検討を加えたので報告した。

【方法・結果】 (1)ヒト口腔扁平上皮癌細胞8株(SAS, T.T, OSC-19, OSC-20, HSC-2, HSC-3, HSC-4, Ca9-22)を用いて以下の実験を行った。(2)8株の浸潤能をラット肺血管内皮細胞を用いたin vitro monolayer invasion assayで検討した結果、高浸潤能のものと低浸潤能のものに分けられた。(3)癌細胞から分泌されるマトロプロテアーゼ活性をZymographにより検討した結果、64kDaと92kDaのタイプIVコラゲナーゼ活性がみられた。(4)高浸潤能のSASの培養上清で低浸潤能のT.Tを24時間処理後浸潤能を検討した結果、未処理のT.Tに比べ浸潤能は約2.3倍に促進した。(5)SASの浸潤能は抗TGF- β , 中和抗体処理により抑制された。(6)各細胞のTGF- β

産生量と活性フォームを¹²⁵I-TGF- β_1 radioreceptor assayにより検討した結果、高浸潤能の細胞は活性型TGF- β_1 を産生していた。(7)SAS, T.TのTGF- β_1 レセプターをaffinity label法により検索したところ、SAS, T.TともType I, TypeIIIレセプターを発現していた。(8)rhTGF- β_1 処理による浸潤能の影響を検討したところSAS, T.Tともに浸潤能が促進された。(9)低浸潤能性のT.Tにリポフェクション法によりTGF- β_1 cDNAを導入し浸潤能を検討した結果、浸潤能は2.3倍に促進した。(10)rhTGF- β_1 処理によりタイプIVコラゲナーゼの産生の増強が認められた。

【結語】 口腔扁平上皮癌細胞は活性型TGF- β_1 を産生し、浸潤能をオートクリン的に促進しており、活性型TGF- β_1 はタイプIVコラゲナーゼ活性の上昇を介して作用することが示唆された。