

30. ハムスター舌の化学的発癌におけるギャップ結合蛋白 (connexin) の発現変化と異常について

斎藤 正人, 西村 学子, 芳賀 宏
岡本 智博, 西山 鉄, 定岡 敏之
安彦 善裕, 賀来 亨
(口腔病理)

【目的】近年、腫瘍細胞における細胞増殖、分化コントロールの異常メカニズムとして、ギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションの異常が想定されており、種々の発癌実験で明らかにされている。我々は①発癌過程においてギャップ結合蛋白であるコネクシン (Cx) の発現変化を検索する。②扁平上皮癌において分化マーカーとCxの発現を比較し、癌組織内での分化状態とCxの関係を明らかにする。③癌細胞内でのCxの局在を明らかにする。以上のことを目的として前回の歯学会で発表したハムスター正常舌粘膜での結果とハムスター舌発癌実験にて得た腫瘍組織を用いてCxの発現、局在の変化を検討した。

【方法】舌発癌には7週齢ゴールデンハムスターを用い、1%DMBAアセトン溶液を週2から3回、32週間塗布した。発生した腫瘍は、凍結切片を作成しCx26, Cx43およびtransglutaminaseの抗体にて免疫染色を行い検討し

た。また正常ハムスター舌粘膜の新たな検索として、western blotを行った。

【結果】正常に比べパピローマではCx26, Cx43の発現が上昇するが、扁平上皮癌ではCx43の発現は変化しないものの、Cx26は高分化から低分化へと分化度が低下するにしがい発現の減少が認められた。さらに、重層扁平上皮の分化マーカーのtransglutaminaseと同一部位にCx26の陽性像がみられ、癌化した状態でも、より分化度の高い部位にCx26が存在することが確認された。Cx26は癌化過程においてその分化度をよく反映しており、ギャップ結合蛋白のなかでもより癌抑制遺伝子としての性格が強いとされているCx26発現低下が扁平上皮癌の悪性度と関係していることが確認された。また、細胞内のCx局在は正常では膜表面に点状に存在しているが、癌細胞では核周辺にCxの局在が認められ細胞間コミュニケーションの低下が示唆された。

31. フタ歯根膜からマラッセ上皮の単離とその特性について

西村 学子, 安彦 善裕, 斎藤 正人
岡本 智博, 三科 卓見, 長江 俊一
西山 鉄, 中畑 潜, 賀来 亨
(口腔病理)

【目的】

マラッセ上皮遺残は、歯根膜中に存在し、正常時は分裂増殖することはない、歯根膜の恒常性の維持等に関与していることが示唆されているが、一旦炎症等の刺激が加わると分裂増殖して、歯根嚢胞の形成、あるいはある種の歯原性腫瘍も本上皮由来であるとの説がある。しかし、マラッセ上皮の特性について詳細に検索した報告はわずかであり、その本態についていまだ不明な点が少ない。本研究の目的は、*in vitro*においてマラッセ上皮細胞を単離し、その特性について検索することにある。

【材料と方法】

生後6ヵ月のブタ小白歯の歯根膜からout growth法にて細胞を培養し、Ca²⁺濃度を調整した1ディスパーゼにより上皮様細胞の単離を行った。得られた上皮細胞は、

Ca²⁺濃度を変えて培養し、電顕および免疫組織化学的に検索した。

【結果と考察】

歯根膜から得られた上皮様細胞は、多角形に伸長し、上皮様敷石状に配列して増殖し、電顕による観察では、細胞質内にトノフィラメント構造を認め、細胞間にはデスモゾーム結合がみられた。また、それらは高カルシウムでの細胞に多い傾向にあった。カルシウム濃度を調整した場合の細胞は、低カルシウム状態では高径が高い細胞が単層に配列しているのに対し高カルシウム状態では高径の低い扁平な細胞が3〜4層に重層していた。また、免疫組織化学染色では抗ケラチン抗体AE-1, AE-3とも陽性反応を示した。以上のことから本細胞は歯根膜由来の上皮細胞、すなわちマラッセ上皮細胞であることが確

認され、 Ca^{2+} 濃度の調整等により上皮の分化増殖を制御することができたこの細胞は現在16代目まで継代されて

おり、マラッセ上皮の本態を解明するための*in vitro*における有用なモデルとなることが示唆された。