

浮遊した細胞を別々に収集し、AGPC法によりtotal RNAの抽出を行った。抽出されたtotal RNAからoligo (dT)をtemplate primerとしてcDNAを作製した。PCRのprimerには、c-myc, c-myb, c-fos, c-jun, TGF-B, TNF-R, IL-1a, NF-kB, を用いた。

「結果及び考察」

今回用いた細胞SASは、通常の培養条件において、今回検索したmRNAすべての発現が確認されたので、これ

を基準にup-regulation, down-regulationの評価を行った。スタウロスポリンによるアポトーシスでは、c-mycのdown regulationとc-fosのup-regulationが認められた。c-junが浮遊細胞、すなわち完全にアポトーシスになった状態でup-regulationとしたことを考えあわせると、スタウロスポリンによるアポトーシスには、c-fosとc-junの発現増強と同時に起こったc-mycの発現低下による核内転写活性の異常が関与しているものと思われた。

23. 口腔扁平上皮癌細胞のHGF/SFによる浸潤シグナルの検討

北所 弘行¹⁾, 奥村 一彦²⁾, 小西 亮²⁾,
柴田 敏之¹⁾, 有末 眞¹⁾

(口腔外科学第二講座¹⁾, 口腔外科学第一講座²⁾)

癌細胞とその周囲環境を構成する宿主細胞との間には、様々なサイトカインや細胞外基質を介して浸潤・転移径路に影響を与えることが知られている。最近、宿主側の線維芽細胞がHepatocyte growth factor/Scatter factor (HGF/SF)を分泌してパラクリン的に癌細胞の浸潤を促進することが明らかとなった。我々は、HGF/SFによる口腔扁平上皮癌細胞の浸潤能の促進作用について、基質接着性や細胞運動性の変化を検討し、併せて浸潤シグナル経路について解析した。

【方法と結果】

1) ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (SAS, Ca9-22, HSC-3)を用いて、無血清培養下でrhHGF24時間処理を行った細胞を肺血管内皮細胞層下への潜り込みを指標にした浸潤能の検討から、いずれの癌細胞も1.5~2倍の浸潤性の促進が認められた。また、trans-well chamberを用いたMatrigelへの浸潤能では、SAS細胞のみHGFによる促進

がみられた。2) 基質接着性を検討したところ、HGFによる接着性の変化は認められなかった。3) phagokinetic tract assayによる運動能の測定では、HGFにより1.5倍の促進が観察された。4) HGFによる増殖性の変化は認められなかった。5) C3酵素存在下で培養した癌細胞にHGF処理を行うと、運動能の促進が完全に阻害された。6) HGFによる細胞内蛋白のチロシンリン酸化を検討したところ、FAKが一過性にリン酸化亢進することが認められた。

【結論】

HGF/SFによる口腔扁平上皮癌の浸潤性の亢進は、HGF/SFによる細胞運動能の促進によることが示され、その浸潤シグナルには低分子量G蛋白であるrhoを介したFAKのチロシンリン酸化が関与することが示唆された。

24. 線維芽細胞の接着・伸展におけるFocal contact構成蛋白の役割

荒井 滋朗, 安彦 善裕, 齊藤 正人,
岡本 智博, 神田 昌巳, 芳賀 宏
賀来 亨

(口腔病理学講座)

基質の表面形態や蛋白などが細胞の形態、増殖傾向などに影響を及ぼすことが古くから知られていますが、そのメカニズムについては不明なところが少なくない。

我々はヒト歯肉由来線維芽細胞を用いてFocal contactに局在する蛋白質であるFocal adhesion kinase

Paxillin及びチロシンリン酸化について検討した。

【方法】

細胞はヒト歯肉線維芽細胞を用い、実験に際し0.2%トリプシン溶液にて、細胞浮遊液を製作し血清を含有しない無血清DMEMにてフィブロネクチンコートおよびノ