

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<sup>1)</sup>, 奥村 一彦<sup>2)</sup>, 小西 亮<sup>2)</sup>,  
柴田 敏之<sup>1)</sup>, 有末 眞<sup>1)</sup>

(口腔外科学第二講座<sup>1)</sup>, 口腔外科学第一講座<sup>2)</sup>)

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・転移径質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の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

ンコート上にて20分、2時間、4時間インキュベーションし免疫蛍光染色、ウェスタンブロット法による検討を行いました。

(結果)

1. フェイクの発現はFN-コート、ノンコート、また時間依存的に発現量に大きな差は認められない。
2. パキシリンは、FN-コートにおいて細胞接着直後に著明な発現が観察され、伸展にしたがい減少する傾向にある。
3. 125kD付近のホスホチロシンはFNコートにおいて

細胞接着直後から発現が認められ、伸展に伴い増加する傾向にある。

4. ノンコート上ではパキシリン発現はFNコートに比べ弱く又一定であり、ホスホチロシンはFNコートに遅れて発現の増加が認められた。

(結論)

- ・ヒト歯肉由来線維芽細胞のFN基質上への初期接着時にパキシリンの著明な発現が誘導される。
- ・フォーカルコンタクトのターンオーバーにフェイクのチロシンリン酸化の関与が示唆された。

## 25. Salivary duct carcinomaと

### Polymorphous low-grade adenocarcinomaの病理組織学的検討

○齊藤 正人, 安彦 善裕, 大内 知之,  
蔵口 潤, 中畑 潜, 澤木 健,  
山口 勝, 矢上 了子, 賀来 亨  
(口腔病理学講座)

Salivary duct carcinoma (以下SDC) と Polymorphous lowgrade adenocarcinoma (以下PLGA) は唾液腺原発の悪性腫瘍で、その発生頻度は極めて稀である。両腫瘍は1972年のWHOの分類で、Other type of carcinomaのなかのadenocarcinomaの一亜型として扱われていたが、その後両者の発生部位および予後当に大きな違いがあることが判明してきたため、1991年の新分類ではそれぞれ独立した診断名に改訂された。

今回我々は、SDCとPLGAの病理組織学および免疫組織学的に両腫瘍を比較検討し、その組織学的診断意義について考察した。

材料は本学口腔外科にて切除された耳下腺由来のSDC1例と札幌医大口腔外科にて切除された口底部由来のPLGA1例を用い、H.E.染色及び各種抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。

SDCは大多数の患者が3年以内に死亡する高悪性度

の癌といわれているが、一方のPLGAは予後が良く、再発、転移も少ないと報告されている。本症例でもSDCは浸潤傾向が強く高度の細胞異型を有する上皮細胞の増殖がみられたのに対し、PLGAは浸潤傾向が弱く細胞異型も軽微な上皮細胞の増殖が認められた。

従来、唾液腺腫瘍の多くは介在部導管由来と言われていたことから、Vimentin, S-100, Muscle actinを用いた免疫組織化学的検討で腫瘍性筋上皮に関する検索が比較的広く行われている。本検索においてSDCはVimentin, S-100, Muscle actinが陰性であるのに対し、PLGAはいずれも陽性であった。本症例のSDCとPLGAの染色結果の違いは発生部位の違いを示唆するものであり、SDCは筋上皮細胞の関与がない排泄管導管、PLGAは筋上皮細胞が関与している介在部導管由来であることが示唆された。

## 26. 歯科治療時におけるモニター監視の検討

○渡辺 一史, 河合 拓郎, 工藤 勝,  
國分 正廣, 新家 昇  
(歯科麻酔学講座)

1993年一月から1995年12月までの3年間に歯科麻酔科外来においてモニター監視下に歯科治療を行った122症

例について検討した。合併疾患を有する患者、すなわち有病者の全身管理を依頼された症例は59例で、それ以外