

周囲炎と診断された患者の歯肉を歯周外科時または抜歯時に採取した。採取したsampleは、直ちに液体窒素にて凍結し、連続切片を作成した。切片は直ちに、gelatin film上に貼付し、37°C12時間incubationした。染色液で染色した後、検鏡を行った。その結果、基底細胞部、血管周囲部にgelatinase活性が観られた。

また、炎症の著名な部分では、染色像の弱いところが観察されgelatinase活性が強いことが示唆された。今後、臨床的データとTcell, Bcellなどの組織学的な歯周疾患の炎症の進行状況などを総合的に判定し、歯周疾患の進行過程における活性型gelatinaseの役割について詳細に検討していく予定である。

23. 口腔癌および正常上皮細胞のin vitroにおけるBMP遺伝子の発現について

○三田村治郎, 中畑 潜, 澤木 健,
永山 裕, 山田 幸宏, 岡本 智博,
安彦 善裕, 賀来 亨
(口腔病理学講座)

【目的】BMPは骨形成を誘導する因子として広く知られているが、骨芽細胞以外にも骨を誘導しうる様々な細胞で発現のあることが報告されてきている。しかしながら、type 2～8まで存在するBMPの詳細な発現様式については不明な点が多い。本研究では、口腔癌由来細胞株と正常上皮細胞のBMPの発現様式についてRT-PCR法により検索したので報告する。

【材料および方法】細胞には、ヒト口腔癌由来細胞株としてSAS(舌SCC由来), Ca9-22(歯肉SCC由来), HSC-4(SCC頸部リンパ節転移部由来), BS(口腔底Basaloid squamous Ca由来), HSG(唾液腺癌由来), ヒト正常上皮由来細胞として, OE(口腔上皮由来細胞), NHEK(胎児表皮由来細胞)を, さらに骨芽細胞様細胞株K1ku(ヒト骨肉腫由来)を用いた。口腔癌由来細胞株と, 骨芽細胞様細胞株は10%PBS含有DMEMで培養を行い, 正

常上皮細胞は無血清培地(Ca²⁺濃度0.04mM)とこれに最終濃度1.8mMになるようにCa²⁺を添加したもので培養を行った。細胞からそれぞれtotal RNAを抽出し, oligo(dT)による逆転写の後, BMP 1～7のprimerを用いPCRによるcDNAの増幅を行った。

【結果および考察】骨芽細胞様細胞株K1kuはBMP 1～7すべてのmRNAの発現が確認された。BMP-1, 2, 4, 5はすべての上皮細胞で発現が認められたものの, BMP-3の発現はいずれにおいても確認されなかった。また, BMP-6はHSGでのみ発現が確認された。正常上皮細胞はCa²⁺濃度を上げることによりBMP-4, 5のup-regulationが観察された。以上のことからBMPは正常, 癌を問わず上皮細胞で広く発現していることが示唆された。

24 口腔癌細胞における細胞内TNFのTNF抵抗因子としての役割

○萩野 司, 金澤 正昭
(口腔外科学第一講座)

【目的】TNF(腫瘍壊死因子)は、標的細胞表面の受容体に結合し、腫瘍細胞障害性をはじめとした多彩な生物学的活性を発揮するサイトカインである。これまで各種培養細胞を用いた実験から、細胞内のTNF(endogenous TNF)が、TNFの細胞傷害作用に関与する活性酸素の消去系であるMnSODを誘導し、TNFの細胞傷害性に対する防御因子として働くことが報告されている。そこで本研究では、口腔癌細胞においてもendogenous TNF及びMnSODがTNF感受性規定因子として働いているか否

かについて検討した。**【方法】**対象として4種の口腔癌細胞株(T T, HSC-3, Ca 9-22, SAS細胞)を用いた。細胞傷害性はdye-uptake法で調べ、MnSOD活性はOberleyらの方法に準じ、NBT法により測定した。非分泌型TNF発現ベクター(pHNFΔpro)遺伝子導入はlipofection法で行った。**【結果】**(1)細胞のTNF感受性には細胞間で差異が認められ、T T>HSC-3>Ca9-22>SASの順に、TNFに対する感受性が高かった。最も低感受性であるSAS細胞のMnSOD活性(11.7U/mg protein)は、最