

も高感受性のT T細胞のそれ (3.9U/mg protein) に比べ高値を示した。(2)T T細胞にpTNF Δ proを遺伝子導入した結果、得られたクローンのMnSOD活性は上昇し、

TNFに抵抗性となった。【結語】口腔癌細胞株において、細胞内TNFの発現およびMnSOD活性が、TNF感受性規定因子として働くことが示唆された。

25. 内皮細胞間の機能装飾はヒト口腔癌細胞の浸潤を抑制する

○永易 裕樹, 河野 峰, 北所 弘行,
加藤 元康, 柴田 敏之, 有末 眞
(口腔外科学第二講座)

癌の転移成立過程において、癌細胞が内皮細胞下に浸潤することは、重要な段階の一つと考えられている。これまで、我々は、肝臓疾患用剤Malotilate (MT) が内皮細胞に作用し、転移抑制効果を示すことを動物実験において明らかにしてきた。そこで、今回、ヒト口腔扁平上皮癌細胞における浸潤抑制効果とその作用機序について検討した。

その結果、MTは、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株5系の増殖能には変化を及ぼさなかった。ラット肺由来血管内皮細胞 (RLE) を用いたin vitro invasion assayにおいて、癌細胞側をMT処理した場合、浸潤能に変化を認めなかったが、内皮細胞側をMT処理したとき、癌細胞株3系で有意な浸潤抑制効果が認められ、他の2系でも抑制傾

向が認められた。MT処理RLEにおいて、Permeabilityの有為な低下ならびにDye transfer法で細胞間色素移行率の増大が観察された。また、ウエスタンブロッティング法によりギャップ構成タンパクであるコネキシン43の発現を検索したところ、MT処理時間に依存して6時間以降よりコネキシン43の発現の増加が認められた。さらにMT処理濃度に応じ、濃度の増大に伴いRLEにおけるコネキシン43の発現が増強されていた。

以上のことよりMTは、内皮細胞間の細胞間結合装置の発達を促し、細胞間結合力を上昇させ、癌細胞の内皮細胞間の通過を妨げることにより、浸潤抑制効果を発揮すると考えられた。

26. ラットにおける癌抑制遺伝子p53の機能的変異検出法の開発

○中田 大地, 柴田 敏之, 中井 一元,
永易 裕樹, 加藤 元康, 河野 峰,
有末 眞
(口腔外科学第二講座)

【目的】癌抑制遺伝子p53はヒト口腔癌をはじめ、各種癌で高頻度に変異を起し、その悪性化進展に関与することが知られている。この遺伝子の変異を塩基配列を決定することなしに酵母を用いて簡単・迅速・多数の試料を検出する方法 (Yeast functional assay) が開発された。この方法は従来の化学的な変異検出法や免疫化学的方法に比べ生物学的に意味のある機能的変異を検出できる優れた方法である。現在この方法はヒトの系においてのみ使用可能である。今回、我々はこれを応用し実験動物で発癌および悪性化進展の解析等を行うためラットp53遺伝子のYeast functional assayの開発とその有用性について検討を行った。

【方法と結果】正常ラット (WKA) の肝臓からRNAを

抽出し、RT-PCR法により得られたp53cDNAを酵母内ヒトp53発現ベクターpLS72のヒトp53cDNAと置換し、ラットp53発現ベクターpLSRP53を作製した。このベクターからp53のDNA結合ドメインをコードする部分を除去し線状化した後、これをラット各種細胞よりRT-PCR法により得られたp53cDNAとともに酵母に導入し、相同組換えを起こさせた。この結果、発現するp53蛋白が酵母染色体上のp53確認DNA配列に結合し下流のADE2遺伝子の転写を活性化するかどうかをコロニー色 (赤：変異型p53/白：野生型p53) で判定するシステムを確立した。この方法により、ラットの正常組織のp53の変異を検定したところ90%以上が、白コロニーを呈した。一方、癌細胞および人為的変異を導入したp53PCR産物