

マラッセ上皮細胞を用いた。細菌感染を想定して、Lipopolysaccharide (LPS)を1,10,100,1000ng/ml培養液に添加したものと、添加していないものをコントロールとして用いた。炎症性サイトカインとして、IL-6,IL-8, GM-CSFのmRNAの発現を観察するために、RT-PCR法を行った。各々の細胞からtotal RNAを抽出し、Oligo (dT)プライマーによりcDNAを作製した後、各々に特異的なプライマーを用い、一部は通常のThermal cyclerによる増幅を行い、他はLightCyclerにより定量的

PCR法を行った。いずれも、internal controlとしてG3 PDHを用いたものも合わせて行った。

【結果および考察】LPSを添加しない、通常の培養条件で、いずれのサイトカインの発現も観察された。LPSを添加し、各々の発現の変化を定量的に観察すると、IL-8とGM-CSFの発現の上昇がLPS濃度依存性に観察された。以上の結果から、歯根嚢胞の裏装上皮となりうるマラッセ上皮から炎症性サイトカインが分泌され、その一部は細菌感染によって刺激されることが示唆された。

3. 口腔上皮性疾患における β ディフェンシン2のタンパクおよびmRNAの発現

○草野 薫, 安彦 善裕, 荒川 俊哉*,
西村 学子**, 田隈 泰信*, 溝口 到***,
賀来 亨

(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座・*北海道医療大学歯学部口腔生化学講座・

北海道医療大学歯学部附属病院中央検査部・*北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座)

【目的】 β ディフェンシン2 (hBD-2)は、口腔上皮細胞でも発現している抗細菌性ペプチドであり、in vitroでの実験で、細菌や炎症性サイトカインにより発現の変動することが明かになってきている。しかしながら、in vivoでの局在様式は明らかにされていない。本研究では、角化の程度が異なる様々な部位の正常口腔上皮および様々な口腔上皮性疾患におけるhBD-2の発現をタンパクおよびmRNAレベルで明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】材料には、口腔原発の扁平上皮癌(SCC)、白板症、扁平苔癬、およびそれらの周囲の正常組織を用いた。hBD-2のタンパクの局在を明らかにするため、抗ヒトhBD-2抗体を1次抗体とした免疫組織化学染色を行った。また、hBD-2 mRNAの局在を明らかにす

るため、hBD-2 cDNAからDIG標識RNAプローブを作製し、in situ hybridizationを行った。

【結果と考察】hBD-2のタンパクの局在は、正常口腔上皮では口蓋部などの角化したところの角質層では弱陽性、SCCの角質球や白板症の過角化の部分では強陽性を示していた。これに対して、hBD-2 mRNAは口腔底や頬粘膜などの非角化上皮では上皮層上層に著明な発現がみられたが、正常の角化上皮および白板症の過角化上皮では発現がわずかであった。以上のことから、hBD-2タンパクは角質層に貯留することによってその機能を発揮し、非角化部では貯留する場がないことから、mRNAの発現強くなっているものと考えられた。

4. 口腔扁平上皮癌の浸潤転移関連遺伝子の探索

○木下 隆二, 奥村 一彦, 萩野 司,
荒川 俊哉*, 岡崎 有志, 田隈 泰信*,
金澤 正昭

(北海道医療大学歯学部口腔外科第一講座・*北海道医療大学歯学部口腔生化学講座)

【目的】口腔癌の治療は近年の治療技術により局所制御率は向上したが、一方、舌癌をはじめとして所属リンパ節転移や遠隔転移により予後不良となる例もみられ、治療に苦慮することがある。そこで、早期に浸潤転移が予測できるようなマーカー、および転移制御に向けての治

療の確立が急務と考えられる。そこで、舌原発扁平上皮癌細胞を用いて、Differential Display法により浸潤性に差のある癌細胞間で発現しているmRNAの差異を検索し、浸潤転移を制御する遺伝子の探索を試みた。

【材料と方法】ヒト舌原発癌から樹立されたSAS細胞か