

## [学会記録Ⅱ]

## 東日本歯学会第23回学術大会 一般講演抄録

## レーザーマイクロダイセクション法による味蕾NeuroDの検出

○鈴木 裕子\*, 武田 正子\*, 溝口 到\*\*

\*北海道医療大学歯学部口腔解剖Ⅱ講座, \*\*北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座

【目的】レーザーマイクロダイセクション装置（ライカASLMD）を用い、味蕾よりRNAの抽出を試みた。

【方法】マウス舌有郭乳頭の凍結切片を作製し、味蕾をレーザーで上皮より切り取った。回収した微量サンプルからAGPC法にてRNAを抽出しRT-PCR法によりNeuroDの発現を調べた。

【結果および考察】塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子は神経細胞の分化決定と促進に働く。その一つであるNeuroDは嗅上皮では嗅細胞の前駆細胞と未熟嗅細胞に発現し、樹状突起と軸索の伸長を促進させる。Mash1, Neurogenin1は前駆細胞に発現し分化決定因子として働き、これらのKOマウスではNeuroDは発現せず、嗅細胞への分化がストップする。一方、味蕾では基底細胞からⅠ、Ⅱ、Ⅲの各細胞型がそれぞれ分化すると推測されているが、前

駆細胞に相当する基底細胞にこれらの転写因子は発現しない。神経終末との間にシナプス構造を有するⅢ型細胞にはMash1が発現することが報告されている。Ⅱ型細胞はシナプスを持たないが、味覚受容体が発現することがわかってきた。われわれは主に免疫組織化学によりⅡ型細胞にNeuroDが発現することを示し、上皮由来である味蕾はパラニューロンの性質を持つため、神経組織である嗅上皮と同様、NeuroDが分化に働くと考えたがin situ hybridization法では検出できなかった（Suzuki et al., Cell Tissue Res., 307: 423-428, 2002）。窒素UVレーザーにより、組織の損傷なく微小部分を切り抜くことができるマイクロダイセクションで味蕾を切り抜き、味蕾約10個分の組織からRNAを抽出し、PCR（50 cycle）によりNeuroDの発現を確認することができた。

## 口腔がんおよび前がん病変におけるp15, p16のCpG islandメチレーションについて

○竹嶋麻衣子\*, 安彦 善裕\*, 西村 学子\*, 山崎 真美\*, 倉重 圭史\*, 中村寿実子\*, 草野 薫\*\*\*\*\*, 永易 裕樹\*\*\*\*\*, 荒川 俊哉\*\*, 田隈 泰信\*\*, 太田 亨\*\*\*, 千葉 逸郎\*\*\*\*, 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, \*\*\*北海道医療大学個体差健康科学研究所, \*\*\*\*北海道医療大学歯学部口腔衛生学講座, \*\*\*\*\*北海道医療大学歯学部口腔外科学講座

【目的】がんにもみられるエピジェネティックな変化の一つにCpG islandのメチル化がある。癌抑制遺伝子であるp15, p16のCpG islandに高メチル化があることで、これらの機能が抑制され、発がんに関与するとの報告がある。口腔がん、および前がん病変でのp15, p16 CpG islandのメチル化については未だ不明な点が多い。本研究では、Sri Lankaでのbetel-quid chewerにみられた口腔がん、および口腔前がん病変でのp15, p16 CpG islandのメチル化の有無について検索した。

【方法】上皮異形成でmild dysplasia (MD), severe dysplasia (SD) と診断されたものと口腔扁平上皮癌 (OSCC) の症例を用いた。通法

に従いパラフィン切片を作製し、病変部からDNAを抽出した。P15, p16のメチル化の検索はMSP法（Herman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996）により行った。

【結果および考察】MD, SD, およびOSCCの一部にp15, p16 CpG islandのメチル化が認められたが、正常粘膜では認められなかった。また、p16のメチル化は病変間の頻度に有意差は認められなかったが、p15では、SDで有意に高頻度のメチル化がみられた。以上のことから、betel-quid chewerの口腔がんの発生にp15, p16 CpG islandのメチル化の関与することが示唆された。