

E - P 32

SV40 遺伝子導入による不死化肝細胞の確立とその細胞生物学的特性

宇都宮洋才¹、竹腰進¹、佐藤慎吉¹、猪口貞樹²、広瀬亜紀子¹、渡辺慶一¹

(東海大・医・病理¹、救急医学²)

ラットへのDAB(3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene)投与により前癌病変と思われる過形成性結節(HN)が生ずる。このHNでは脂質過酸化の防御酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-P0)が殆ど消失している。このGSH-P0の消失の原因を明らかにし、癌化と脂質過酸化およびその防御系との関連の追求を行っているが、HNは顕微鏡サイズのものも多く、生化学的、分子生物学的検索に向いた均一な細胞群が得にくい。そこで、培養細胞系でHNと類似した細胞群を得るため、SV40 遺伝子の初代培養肝細胞への導入による不死化細胞系の確立と、HN細胞群との類似性、相同性の確認を試みた。〔観察方法および結果〕ウイスターラットの肝臓よりコラゲナーゼ細胞分散法にて初代肝細胞を培養し、3日後にSV40 遺伝子を導入、ほぼ6カ月で不死化細胞が確立された。この培養細胞群について、GSH-P0の免疫組織化学的、生化学的観察を行った。その結果、SV40 遺伝子導入による不死化細胞ではGSH-P0は免疫組織化学的にも、生化学的にも陰性であった。SV40 遺伝子導入不死化細胞は少なくとも脂質過酸化の防御系に関してはHNと類似していることが判明した。

E - P 33

ヒト口腔扁平上皮癌細胞樹立株 (KOSC-2, KOSC-3) およびp53癌抑制遺伝子導入株における組織細胞学的特徴

稲垣俊郎^{1,2}、高橋 玲³、阿部則雄¹、藤田昌幸¹、松割聡²、島田桂吉²、前田 盛¹

(神戸大・医・第2病理¹、口腔外科²、京大・医・第2病理³)

〔目的〕 抗生剤 Geneticin による宿主線維芽細胞の選択剥離で樹立した、p53および c-myc 異常の異なる口腔内原発の2つの扁平上皮癌細胞株およびp53導入株について、組織細胞学的特徴を検討する。〔方法〕 2つの樹立細胞株に関して、細胞生物学的特徴、光顕、電顕による形態学的特徴および上皮系マーカーを検討した。遺伝子検索として、直接シーケンス法によるp53点突然変異の有無および蛋白の発現を検討した。さらに、リン酸カルシウム共沈法により、正常型あるいは変異型p53遺伝子の導入を行い、ネオマイシン耐性を用いて安定化導入細胞クローンを単離し、親株あるいはベクター導入細胞と比較した。〔結果〕 形態学的特徴は、小型多稜形または大型楕円形で、ともに敷石上に配列で、pile upする傾向が見られた。また、電顕像では、細胞質や膜には扁平上皮の特徴が確認された。KOSC-3においてはp53 exon 7 コドン 248にC→Tの点突然変異を有し、p53のCM-1抗体にて陽性所見が見られた。〔結論〕 樹立細胞株およびp53遺伝子導入株に関し、細胞生物学的特徴やその遺伝子発現に及ぼす影響に差が見られた。