viability was due to apoptosis, we looked for nuclear fragmentation and condensation of Saos-2 cells. To further characterize prilocaine-induced apoptosis in Saos-2 cells, the extracted DNA analyzed by agarose gel electrophoresis. In prilocaine-treated cells, DNA fragmentation pattern forming a ladder of multiples of 185-200 bp was observed. DNA ladder formation also was observed in MG63 and MC3T3-E1 cells treated with 5 mM prilocaine. Cycloheximide increased the cell viability of prilocaine-treated cells in a dose-dependent manner up to 20 μ M. Cycloheximide inhibited the prilocaine induced DNA ladder formation in a dose-dependent fashion.

47. 抗癌剤誘導アポトーシス細胞における AgNORs の変化

○鬼頭 慎司¹・森本 泰宏¹・大庭 健¹・小林 繁²・羽地 達次²

¹九歯大・歯放, ²九歯大・口解1

細胞にアポトーシスが起こる時、クロマチンは凝縮、断片化して DNA ラダーを形成する。ところがアポトーシス細胞の核内蛋白の変化については未知の部分が多い。今回抗癌剤により細胞にアポトーシスを誘導し、核内蛋白の変化を AgNORs protein を指標にして観察した。ヒト顎下腺癌由来 HSG 細胞をカバーガラス上で培養し、抗癌剤 (DXR, CDDP, MMC) を用いてアポトーシスを誘導した。細胞を固定後、ヘキスト、鍍銀二重染色により、細胞化学的検討を行った。蛋白解析のため培養細胞から蛋白溶液を調製し、SDS-PAGE 電気泳動法により分離し、PVDF 膜に転写後、鍍銀染色を施した。三種類の抗癌剤は HSG 細胞にアポトーシスを誘導した。三種の抗癌剤により誘導されたアポトーシス細胞の核内から AgNORs protein は消失した。Western Blot 変法による解析により、110 kDa の核内 AgNOR proteins はアポトーシス細胞から消失した。アポトーシス細胞では分子量 80 kDa の鍍銀陽性反応を示す蛋白が出現した。110 kDa の蛋白は nucleolin と考えられるのでアポトーシスにより nucleolin は分解されて 80 kDa に変化すると考えられる。

AgNORs in apoptotic cells induced by anticancer agents

Shinji Kito¹, Yasuhiro Morimoto¹, Takeshi Ohba¹, Shigeru Kobayashi² and Tatsuji Haneji² (¹Department of Dental Radiology and ²First Department of Oral Anatomy, Kyushu Dental College)

We investigated whether anticancer drugs induce apoptotic cell death in oral cancer cells including carcinomas and sarcomas. Apoptosis was induced by the treatment of the human submandibular gland cell line, HSG cells, with 1 mM CDDP, 1 mM MMC, and 1 mM. Appearance of AgNORs in anticancer drugs-induced apoptotic cells was analyzed by the double staining with Hoechst 33342 and silver nitrate. Proteins prepared from HSG cells treated with these anticancer drugs were prepared and subjected to SDS-PAGE followed by transferring to transfer membranes and stained with silver nitrate.

AgNORs, visible as dots in the nucleus of the control cells, disappeared from the apoptotic nuclei in HSG cells. Two major bands, 110 kDa and 37 kDa, were detected in the proteins obtained from the control cells. However, the levels of an 80 kDa Ag-NOR protein increased and the 110 kDa protein level was decreased in the proteins prepared from anticancer drugs-induced apoptotic cells. The reaction intensity of a 37 kDa protein did not change in apoptotic cells. In the apoptotic cells induced by anticancer drugs, the AgNORs and Ag-NOR proteins were changed. Cleavage of 110 kDa Ag-NOR proteins into 80 kDa proteins is associated with the apoptotic pathways.

48. チタン表面における focal adhesion の形成

○城戸 寛史¹・中村 恵子²・平戸 理恵²・守川 雅男²・中牟田信明³・羽次 達次³

¹福歯大・口腔インプラント科, ²九歯大・補綴1, ³九歯大・口解1

インプラントの表面性状が、いわゆる骨結合の達成速度や結合強さに影響をおよぼすことは、多くの臨床的、基礎的研究によって報告されており、インプラント表面に一定の荒さがある方が骨結合を得られやすいことが明らかに