

**<講演>3. 蛍光色素fura-2による耳下腺細胞内
Ca²⁺濃度の測定(東日本学園大学歯学会第8回学
術大会(平成2年度総会))**

| | |
|--------|---|
| 著者名(日) | 谷村 明彦, 松井 聡子, 東城 庸介, 松本 仁人 |
| 雑誌名 | 東日本歯学雑誌 |
| 巻 | 9 |
| 号 | 1 |
| ページ | 50 |
| 発行年 | 1990-06-30 |
| URL | http://id.nii.ac.jp/1145/00007519/ |

使って、10種の糖質について測定した。また、唾液中のミュータンスレンサ球菌数をミイティス・サリバリウス・バシトラシン (MSB) 培地で算定した。さらに、ミュータンスレンサ球菌の8標準株を使って、その10倍段階希釈菌液の糖発酵性についても同システムで測定した。

結果および考察 混合唾液のマンニトールとソルビトールの発酵陽性率は、唾液中のミュータンスレンサ球菌数の増加に従って有意に高くなっていった (マンニトール、

$X^2=23.2$, $P<0.001$; ソルビトール, $X^2=25.7$, $P<0.001$)。ミュータンスレンサ球菌数 $10^{5.0}$ CFU/ml以上のすべての混合唾液検体 ($n=12$) がマンニトールとソルビトールの発酵陽性を示した。標準株では、菌数 $>10^{5.0}$ から $10^{6.6}$ CFU/mlの菌液がマンニトールの発酵陽性を、さらに、菌数 $>10^{6.0}$ から $>10^{7.6}$ CFU/mlの菌液がソルビトールの発酵陽性を示した。これらの結果から、混合唾液中のマンニトールやソルビトールの発酵性とミュータンスレンサ球菌数の関連が示唆された。

3. 蛍光色素 fura-2による耳下腺細胞内 Ca^{2+} 濃度の測定

谷村明彦, 松井聡子, 東城庸介
松本仁人 (歯科薬理)

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は細胞内セカンドメッセンジャーとして様々な細胞機能の調節に関与していることが明らかになってきた。細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変動を測定することは Ca^{2+} による細胞内情報伝達系のメカニズムを知る上で特に重要である。1985年に R. Y. Tsien らによって Ca^{2+} 感受性蛍光色素 fura-2が開発され、現在、この色素を用いた $[Ca^{2+}]_i$ の測定が広く行われている。我々は、今回、fura-2によるラット耳下腺細胞の $[Ca^{2+}]_i$ の測定を試みたので報告する。耳下腺を細切し、トリプシンとコラゲナーゼの併用処理により遊離耳下腺細胞を調整した。さらに、fura-2/AM を 2μ Mになるように添加し、45-60分間のインキュベーションにより細胞内に fura-2を取り込ませた。こうして調整した細胞 suspension に340nm と380nm の励起光をあて、蛍光強

度の比から $[Ca^{2+}]_i$ を算出した。無刺激時の $[Ca^{2+}]_i$ は約80nMであった。水・イオン分泌を主に促進する 10μ Mカルバコール (ムスカリン受容体刺激薬) を作用させたところ、数秒以内にピーク (約300nM) に達する急速な $[Ca^{2+}]_i$ の上昇がみられた。カルバコール刺激ほど顕著ではないが、フェニレフリン (α -アドレナリン受容体刺激薬) もまた急速な $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を引き起こした。しかし、アミラーゼ分泌を主に促進する 1μ Mのイソプロテレンオール (β -アドレナリン受容体刺激薬) を作用させたところ、 $[Ca^{2+}]_i$ はほとんど変化しなかった。以上の結果は、耳下腺での水・イオン分泌の主要なセカンドメッセンジャーは Ca^{2+} であるが、アミラーゼ分泌の場合は Ca^{2+} よりむしろ cAMP が重要であるという考えを支持する。

4. ヒト唾液ムチン分画中の微量脂肪酸について 第3報：唾液中の脂肪酸結合性タンパク質について

石塚祐司, 市田篤郎
(口腔生化)

前々回、並びに前回の本学会で我々はヒト混合唾液のムチン分画中に脂肪酸が検出されること、及びラットに経静脈的に投与した ^{14}C パルミテートが、ピロカルピン刺激により採取される唾液のタンパク質に結合して出現することを示した。

ラット唾液中に出現する ^{14}C 脂肪酸結合タンパク質は、SDS-PAGE で35K dalton 及び40K dalton と推定され、ラット血清アルブミンの60K dalton とは一致して

いなかった。

また、唾液中にアポEの出現する可能性を想定して、濃縮ヒト唾液について抗ヒトアポA₁, A₂, B, C₂, C₃及びEを用いる免疫泳動を試みたが、ヒト唾液ではこれらのいずれについても沈降線を示す事は出来なかった。

唾液中にみられる脂質結合タンパク質は、現在までの実験では血清由来のものとは異なるものと考えられる。