

## 18.X線光電子分光法(ESCA)を用いた生体由来リン酸カルシウムの構造解析(一般講演)(東日本歯学会第15回学術大会(平成9年度総会))

著者名(日)	山田 幸治, 大野 弘機, 遠藤 一彦, 荒木 吉馬, 川島 功, 山根 由朗, 川上 智史, 松田 浩一
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	16
号	1
ページ	156-157
発行年	1997-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008232/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008232/</a>

## 17. 咀嚼機能の客観的評価法に関する研究

### —正常有歯顎者におけるタッピング運動時の下顎運動経路と咀嚼筋活動—

○木花 八友, 平井 敏博, 石島 勉,  
越野 寿, 小西 洋次, 横山 雄一,  
笠嶋 茂樹, 服部 真幸

(歯科補綴学第1講座)

顎口腔系の健全性と正常な機能の維持が高齢者のQOLを確保するための基本的因子であることの報告が多くなされており、咬合・咀嚼機能の維持が重要視されている。さらに、確実なインフォームド・コンセントの必要性が強調されており、咬合治療や義歯補綴治療を行う場合においても、その効果と限界を患者に対して十分に説明する義務が生じている。このためには、咬合・咀嚼機能を客観的に評価し得る方法と基準の確立が不可欠であり、顎口腔系を歯(顎粘膜)、筋、顎関節、中枢神経系(大脳皮質、脳幹など)からなる「機能的咬合(咀嚼系)」として捉えなければならない。

本研究においては、咀嚼機能に関与する生物学的因子の一つである患者自身の有する神経筋制御能力の客観的評価法を確立するために、顎口腔系に自覚的および他覚的な異常の認められない正常有歯顎者を被験者として、ファンクションジェネレータにより2 Hzに規制した音

刺激に対して可及的に同調した下顎タッピング運動を行わせ、三次元的な下顎運動軌跡と咀嚼筋筋電図を記録し、下顎運動の巧緻性を評価するために有効なパラメータについて検討した。

本研究結果から、正常者においては下顎運動周期時間と側頭筋筋活動周期時間の被験者間のバラツキが著しく小さいこと、第1ストロークから第10ストロークまでの周期時間ストロークごとによる変動は小さいことが判明した。さらに、50 $\mu$ mの垂直的咬合干渉を付与した実験用クラウンを装着した患者の咬合接触状態を厚さが25 $\mu$ m咬合紙とテンタルプレスケールによる咬合診査法と、今回の下顎運動軌跡と咀嚼筋筋電図によるそれとを比較したところ、本法の臨床的有用性が示唆された。また、本法が下顎運動制御能の評価の一助となり得ることが示唆された。

## 18. X線光電子分光法(ESCA)を用いた生体由来リン酸カルシウムの構造解析

○山田 幸治<sup>1)</sup>, 大野 弘機<sup>1)</sup>, 遠藤 一彦<sup>1)</sup>,  
荒木 吉馬<sup>1)</sup>, 川島 功<sup>1)</sup>, 山根 由朗<sup>1)</sup>,  
川上 智史<sup>2)</sup>, 松田 浩一<sup>2)</sup>,

(歯科理工学講座<sup>1)</sup>, 歯科保存学第二講座<sup>2)</sup>)

歯の形成過程、崩壊過程、再石灰化過程およびフッ素の取り込み過程において、歯質表面におけるリン酸カルシウムの化学状態はダイナミックに変化している。歯質表面におけるリン酸カルシウムの分析には、固体表面の化学組成と各元素の状態分析が可能であるX線光電子分光法(ESCA)を適用することが極めて有効である。

本研究では、ESCAを用いて歯質表面を分析する際に必要となる各リン酸カルシウム標準試料のスペクトルをテターヘース化することを目的とした。今回は、その第一歩として、サンプリング法の違いにより、リン酸カルシウム標準試料の組成や化学状態が影響を受けるか否かを詳細に検討した。標準試料には、エナメル質アパタ

イトと構造上同形の天然産フッ素リン灰石( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ )と塩素リン灰石( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ )を用いた。各試料は、X線回折法を用いて、それぞれフッ素リン灰石、塩素リン灰石であることを確認した。ESCAを用いた分析は、各リン灰石ブロック試料の(1)大気中における劈開面、(2)アルゴン雰囲気中における劈開面、および(3)研磨用ディスクに擦り付けた微粉末について行った。

得られたESCAスペクトルからフッ素リン灰石のCa、PおよびFの相対濃度を求めたところ、いずれのサンプリング法で作製した試料においても、化学量論的な組成にほぼ一致した結果が得られた。塩素リン灰石の定量値は、不純物の影響により、わずかにPの濃度が高く、

Clの濃度が低い結果となった。しかし、各サンプリング法の間で、定量値に大きな差はなかった。いずれの試料においてもサンプリング法によりスペクトルの結合エネルギーの値に違いは認められなかった。これらの結果か

ら、今回検討したサンプリング法により、リン酸カルシウムの化学状態は変化せず、定量性もサンプリング法の違いにより影響されないことが明らかとなった。

### 19. 共焦点レーザー顕微鏡によるヒト耳下腺培養細胞 (HSY cell) の細胞内カルシウム貯蔵部位のイメージング

○谷村 明彦<sup>1)</sup>, 東城 庸介<sup>1)</sup>, 松本 仁人<sup>1)</sup>,  
矢嶋 俊彦<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>歯科薬理学講座<sup>1)</sup>, <sup>2)</sup>口腔解剖学第一講座<sup>2)</sup>)

様々な細胞機能の調節にカルシウムが関与する事が知られている。受容体刺激などによって生成されるイノシトール3リン酸(IP<sub>3</sub>)は、細胞内Ca<sup>2+</sup>貯蔵部位(Ca<sup>2+</sup>ストア)のCa<sup>2+</sup>チャンネルを開きCa<sup>2+</sup>を細胞質に放出する。細胞内でCa<sup>2+</sup>ストアとして機能するオルガネラは小胞体であると考えられているが、機能的、形態的に異なるタイプのCa<sup>2+</sup>ストアが存在する可能性も指摘されている。本研究ではHSY cellを用いて、オルガネラ内のCa<sup>2+</sup>濃度の変化を解析する事により、Ca<sup>2+</sup>ストアとして機能するオルガネラの形態を解析する方法を確立したので報告する。

カバーガラス上で培養したHSY cellにカルシウム感受性蛍光色素mag-fura-redを取り込ませた後、細胞膜をサポニン(70μg/ml)で穿孔し細胞質中の蛍光色素を除去した。穿孔細胞をIP<sub>3</sub>(10μM)で刺激し、オルガネラ

内のmag-fura-redの蛍光強度の変化を共焦点レーザー顕微鏡(TCS4D)を用いて解析した。

IP<sub>3</sub>は核膜腔と細胞質全体に分布する網状のオルガネラ内に取り込まれたmag-fura-redの蛍光強度を増加させた。Mag-fura-redはCa<sup>2+</sup>濃度の低下により蛍光強度が増加する色素である事から、これらのオルガネラはIP<sub>3</sub>によってCa<sup>2+</sup>を放出するCa<sup>2+</sup>ストアであると考えられた。この網状のオルガネラは、非特異的オルガネラ・プローブ(DiOC<sub>6</sub>)で染色されたが、MitoTracker-green(ミトコンドリア・プローブ)や、BODIPY-ceramide(ゴルジ体・プローブ)では染色されなかった。また電子顕微鏡による観察から、これが小胞体である事が明らかにされた。これらの結果からHSY cellでは核膜腔と小胞体全体がIP<sub>3</sub>感受性Ca<sup>2+</sup>ストアとして機能する事が明らかにされた。

### 20. 細胞外カルシウム濃度がヒト骨芽細胞のBMPsの遺伝子発現に及ぼす影響

○高橋 香苗, 中出 修, 賀来 亨  
(<sup>1)</sup>口腔病理学講座)

〈目的〉近年、細胞外カルシウムの上昇はヒト骨芽細胞の増殖を促進させ、その作用機序の一部はIGF-IIのup-regulationを介したものであることが報告されている。しかしながら、他の因子に及ぼす影響については未だ解明されていない。本研究は細胞外カルシウム濃度がヒト骨芽細胞のBMPs(Bone Morphogenetic Proteins)の遺伝子発現に及ぼす影響について調べた。

〈方法〉1. 細胞はヒト下顎骨由来正常骨芽細胞(HOB-M)を用いた。2. 細胞外カルシウム濃度の上昇(CaCl<sub>2</sub>・0~1.2mM)がHOB-Mの細胞増殖に及ぼす影響を [<sup>3</sup>H] thymidineの取り込みを指標とした細胞増

殖アッセイにより検索した。3. 同様に細胞外カルシウム濃度がHOB-Mの細胞アルカリフォスファターゼ(ALP)活性に及ぼす影響を濃度依存性に調べた。4. 同様に細胞外カルシウム濃度がHOB-MのBMPs(BMP-1~7)のmRNAの遺伝子発現に与える影響をRT-PCR法により、時間依存性(0, 5, 24h)に調べた。

〈結果〉1. 0.1~1.2mMの細胞外のCaの上昇は [<sup>3</sup>H] thymidineの取り込みを有意に増加させたがALP活性を刺激する効果は認められなかった。2. 細胞外のCaの上昇(最適濃度0.1~0.4mM)は0.5hおよび24hにおいてBMP-2, -4, -5のmRNAの発現を著しく増加させ