

**<講演抄録>22. ラット顎関節円板におけるデコリンの加齢的变化に関する免疫組織化学的研究(東日本歯学会第16回学術大会(平成10年度総会))**

著者名(日)	桑原 幹夫, 溝口 到, 坂倉 康則, 矢嶋 敏彦
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	17
号	1
ページ	166-167
発行年	1998-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008335/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008335/</a>

ろ、ハイドロキシアパタイト上への結晶沈着に匹敵する値が得られた。

《結論》象牙質内において、ホスホホリンは1型コラーゲンに共有結合しているもののみ石灰化誘導活性を有しており、1型コラーゲンやハイドロキシアパタイトに吸

着している遊離型ものは石灰化成長を制御することが示唆された。さらに、共有結合型ホスホホリンはハイドロキシアパタイトに匹敵する石灰化誘導能を有することが明らかになり、ホスホホリンの臨床応用の可能性が示唆された。

## 21. 老齢ラット頭部骨膜下におけるBMP/コラーゲン複合物による骨増生

○村田 勝, 牧 富弥代, 柴田 敏之,  
有末 眞

(北海道医療大学歯学部口腔外科学第二講座)

《目的》骨形成タンパク質 (BMP) を用いた頭部骨膜下骨増生実験の担体として、従来非吸収材料が使用されてきた。今回、吸収性であるコラーゲンに注目し、アテロコラーゲン溶液を凍結乾燥して加圧することで一定の形状が得られることと操作性に優れていることに着目して、BMPの担体として使用した。実験動物としては老齢期ラットを用い、挙上部の骨形成過程と担体コラーゲンの吸収変化を形態学的に検討した。

### 《材料と方法》

1. BMPと担体の複合化 ウシ脱灰骨基質抽出液を限外濾過と透析操作後に沈殿物を回収した。次にHeparin-SepharoseカラムとSephacryl S-200ゲル濾過カラムを用いて、分子量16kDaから35kDa相当の溶出画分を分取し、BMP部分精製物とした。BMP(300 $\mu$ g)を含む0.1% TFA溶液と0.3% I型アテロコラーゲン酸性溶液 (3.3 ml) を滅菌チューブ内に加えて混和後凍結乾燥した。対照として、コラーゲン酸性溶液 (3.3ml) のみを凍結乾燥した。埋入前にステンレス棒を用いて円柱状に加圧整形した。2. 埋入観察方法 全身麻酔下で18カ月齢のウイ

スター系雄性ラット頭部骨膜下の矢状縫合部に埋入物を挿入した。1, 2, 3, 8週後に摘出し、試料は固定脱灰後、ヘマトキシリン-エオジン染色を施して光学顕微鏡で観察した。

《結果》BMP/コラーゲン群において、1週後に骨芽細胞と類骨様基質の産生が認められた。2週後に梁状の線維性骨形成が進行し、3週後には全体的に骨梁の連続性が増加して既存骨と結合していた。担体コラーゲン線維は大部分吸収されたが、モザイク様骨基質内にエオジン好染性で線維状の担体コラーゲンが封入されていた。8週後には脂肪髄を伴う緻密骨に改造された。一方、コラーゲン単独群においては、全期間を通じて骨・軟骨形成は全く認められず、コラーゲン線維は密に配列して重積し、間葉系細胞の担体内への侵入は極めて乏しかった。コラーゲンと頭蓋骨の界面には数層の線維性組織の侵入による被包化が観察された。

《結論》BMP/コラーゲン複合物は骨誘導能を有する優れた吸収性挙上移植材であり、高齢者への応用の可能性が示唆された。

## 22. ラット顎関節円板におけるデコリンの加齢的变化に関する免疫組織化学的研究

○桑原 幹夫, 溝口 到, 坂倉 康則,  
矢嶋 敏彦

(北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座, 北海道医療大学歯学部口腔解剖学第一講座)

《目的》デコリンは、結合組織に広く分布している小型のプロテオグリカンであり、種々の細胞外基質や成長因子と結合能を有し、細胞増殖、基質形成、組織の機械的特性等に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では、成長期ラット顎関節円板におけるデコリンの加齢に伴う局在の変化を免疫組織化学的手法を用い検

討した。

《方法》実験動物には、生後0, 2, 4, 8, 16週齢のWistar系雄性ラットを用いた。4%paraformaldehyde in 0.1M phosphate bufferで灌流固定後、顎関節部を摘出し、さらに同固定液を用い4°Cで一晩浸漬固定した。洗浄後、10%EDTA溶液で脱灰し、6 $\mu$ mの矢状断

パラフィン切片を作製した。免疫染色は、モノクローナル抗牛デコリン抗体(3B3)を用い、peroxidase antiperoxidase (PAP) 法にて行った。

《結果》0週、および2週齢では、デコリン抗体に対する弱い反応が円板、および結合部にわたってみられ領域差は顕著でなかった。4週齢では、反応性が全体的に強くなり、特に、前方結合部と後方結合部で強い反応が認められた。8週齢では、中央狭窄部と後方肥厚部の中央部での反応性が弱く、前方と後方結合部で中等度の、前

方肥厚部と結合部間で強い反応がみられ、領域による反応性の差が顕著であった。16週齢では、8週齢と同様の領域差が存在したが、さらに反応性の亢進がみられた。

《結語》ラットの顎関節円板におけるデコリンの局在は、加齢に伴い増加傾向を示し、また、その領域差が顕著になることが明らかとなった。これらの変化は、顎関節に生ずる複雑な生力学的力を反映していることが示唆された。

### 23. 唾液腺腫瘍の腺管構造部の三次元的観察

○定岡 敏之, 西村 学子, 大内 知之,  
安彦 善裕, 坂倉 康則\*, 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解剖学第一講座)

《緒言》唾液腺組織は、腫瘍化した場合様々な像を呈することが知られており、細分化された診断名を、ルーティンの病理診断の方法のみでは、確定することの困難なことが多い。確定診断のために、これまで組織化学、免疫組織化学的染色、および電子顕微鏡による観察などが行われてきたが、いずれも一切片による2次元観察のみであり、3次元的に腫瘍の構造物を観察した報告はみられない。唾液腺は、文字どおり腺組織であることから、腫瘍化したものに腺管様構造物のみみられることが多いが、その形態も様々である。本研究では、唾液腺腫瘍の腺管様構造物の3次元構造を明らかにするため、主に共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。

《材料および方法》材料には、pleomorphic adenoma (PA) とsalivary duct carcinoma (SDC) と診断された症例の切り出し時の残組織を用いた。いずれもマイク

ロスライサーによる100 $\mu$ m切片を作製の後、Triton Xによる処理を行った。1次抗体として抗ケラチン抗体(DAKO社製)を用い、4 $^{\circ}$ Cで5日間インキュベーションを行い、PBSによる洗浄の後、FITC標識2次抗体で2日間インキュベーションを行った。その後、速やかに切片を共焦点レーザー顕微鏡により観察した。

《結果および考察》PAでは2層性構造を示す腺管様構造物は、隣接するもの同士の吻合が観察された。SDCのintraductal proliferationを示す腺管様構造物には吻合がほとんど確認されず、充実性の腫瘍胞巣中に腺管が孤立して存在していることが示唆された。

以上のことから、共焦点レーザー顕微鏡による3次元観察は免疫組織化学や電子顕微鏡と並んで、唾液腺腫瘍の診断の一助になるものと考えられた。

### 24. Superoxideによるマウス・マクロファージ細胞株J774.1の運動能亢進はPKCを介する

○中村 公則, 田中 真樹, 萩野 司,  
奥村 一彦, 金澤 正昭

(北海道医療大学歯学部口腔外科学第一講座)

《目的》マクロファージ(M $\phi$ )は、様々な刺激により活性化しSuperoxide (O $_2^-$ )を含む活性酸素を産生する。われわれは、癌細胞の運動能がO $_2^-$ によって促進されることをすでに報告した(Cancer Res., 1995)。そこで、M $\phi$ 自身の細胞運動能もO $_2^-$ により促進されることの仮説を立て、O $_2^-$ による運動促進機序を検討した。

《方法》細胞は、マウス由来M $\phi$ 細胞株J774.1を用いた。M $\phi$ の活性化はPMA (1 mg/ml) で刺激し、O $_2^-$ はHypoxanthineとXanthine oxidaseにより産生させた。O $_2^-$ 産生量はcytochrome C法により測定した。細胞運動能は金コロイドを用いたPhagokinetic track assayにより評価した。Protein kinase C(PKC)活性は、Amersham