

<講演抄録>30. ラット耳下腺腺房細胞におけるカルシウムウエーブの画像分析(東日本歯学会第16回学術大会(平成10年度総会))

| | |
|--------|---|
| 著者名(日) | 東城 庸介, 谷村 明彦, 松本 仁人 |
| 雑誌名 | 東日本歯学雑誌 |
| 巻 | 17 |
| 号 | 1 |
| ページ | 170-171 |
| 発行年 | 1998-06-30 |
| URL | http://id.nii.ac.jp/1145/00008343/ |

プリン添加)を上顎切歯根尖相当部へ電動注射器を用いて行った。採血・測定は局所麻酔注射直前・注射直後・注射後1分・注射後3分および注射後5分に行った。採血した試料は遠心分離後、その上清液を除タンパクし、カテコールアミンに結合するジフェニルエチレンジアミンでラベルした。この後高速液体クロマトグラフィーにて血漿カテコールアミン濃度を測定した。

《結果および考察》局所麻酔注射直前と比較して大腿動脈中ノルエピネフリン濃度は注射後5分後に111%上昇、

エピネフリン濃度は注射後5分後に201%上昇した。一方、電気刺激直後上昇する副腎静脈中ノルエピネフリン・エピネフリン濃度は注射後共に上昇しなかった。以上より大腿動脈血中ノルエピネフリン濃度上昇は副腎髄質から分泌されるノルエピネフリンは関与しなかった。大腿動脈血中エピネフリン濃度上昇は局所麻酔薬添加エピネフリンが考えられた。したがって口腔領域への注射操作という侵害刺激で交感神経—副腎髄質系に影響を与えないと推察された。

29. ラット咀嚼筋の発育に及ぼす飼料の性状の影響

○石井 久淑, 太田 勲, 山根 美子,
猪股孝四郎
(北海道医療大学歯学部口腔生理学講座)

《目的》ラット咀嚼筋の発育が飼料の性状によりどのような影響を受けるかについて検討した。

《方法》材料としてラット(Wistar系, ♂, 5~10週齢)の咬筋を用いた。固型飼料群と粉末飼料群に分けた後、各週齢における両群のラットの咬筋湿重量と咬筋の筋線維の直径ならびに筋線維あたりの毛細血管数(C/F ratio)を画像解析ソフト(Quantimet 600)を用いて測定した。

《結果と考察》体重は全週齢を通じて固型飼料群と粉末飼料群の間に有意な差は認められなかった。粉末飼料群の咬筋湿重量は、各週齢において固型飼料群に対して平均15%低い値を示した。咬筋の筋線維の直径は、固型飼料群および粉末飼料群とともに週齢とともに増加したが、粉末飼料群の増加の程度は固型飼料群に対して緩や

かであり、粉末飼料群の筋線維の直径は、各週齢において固型飼料群に対して平均10%低い値を示した。また、粉末飼料群の酸化酵素活性(SDH活性)は、いずれの週齢においても固型飼料群のC/F ratioは、5週齢で平均1.24、7週齢では平均1.72と有意に増加したが、7週齢以降はほとんど変化が認められなかった。一方、粉末飼料群のC/F ratioは、全週齢を通じてほとんど変化なくいずれの週齢においても固型飼料群に対して有意に低い値を示した。

以上より、ラット咬筋の発育は、栄養素の供給ならびにガス交換の役割を担う毛細血管数の増加が重要であり、咬筋の筋線維と毛細血管網との関係は、飼料の性状に影響されることが示された。

30. ラット耳下腺腺房細胞におけるカルシウムウエーブの画像分析

○東城 庸介, 谷村 明彦, 松本 仁人
(北海道医療大学歯学部歯科薬理学講座)

カルシウムイオン(Ca^{2+})は唾液分泌(水分分泌)を制御する最も重要な細胞内メッセンジャーである。水分分泌を刺激するアゴニストはいずれもイノシトール1, 4, 5-三リン酸(IP_3)を介して細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位(Ca^{2+} ストア)からの Ca^{2+} 動員(Ca^{2+} 遊離)を引き起こす。本実験では、ラットの耳下腺腺房細胞における Ca^{2+} 動員がどの部位で始まり、どのように細胞全体に広がるかを画像解析システムを用いて調べた。

酵素処理により調整した耳下腺腺房細胞に Ca^{2+} 蛍光指示薬であるFura-2あるいはFluo-3を取り込ませ、細胞をカバーガラス上に固着した後、細胞内カルシウム測光システム(浜松ホトニクス社製アロガスHiSCA)および共焦点レーザー顕微鏡を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_i$)の変化を観察した。10 μ Mカルバコール(ムスカリン受容体アゴニスト)で細胞を刺激すると、0.5秒以内に腺腔膜の近傍で $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が始まり、すみやか

に細胞全体に広がった。カルシウム波動（ウエーブ）と呼ばれるこの $[Ca^{2+}]_i$ 上昇の広がりには細胞外液の Ca^{2+} を除いても見られることから、細胞内ストアからの Ca^{2+} 動員を介して惹起されるものと思われる。低濃度 (0.25-0.5 μM) のカルバコールで刺激すると、腺腔側領域で $[Ca^{2+}]_i$ の大きな上昇が見られたが、基底側領域での上

昇はそれに比べて小さかった。

本実験は、 Ca^{2+} 動員が腺腔側で始まり、カルシウムウエーブとして細胞全体に広がることを明確に示した。ウエーブのメカニズムは未だ不明であるが、 Ca^{2+} ストアの IP_3 感受性に部域差が存在することがウエーブの発生に関係しているのかも知れない。

31. 熱ストレスによる細胞増殖抑制時のCDKIの発現変化

○三田村治郎, 安彦 義裕, 荒井 滋朗,
西村 学子, 賀来 亨
(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座)

《目的》様々な培養条件下で細胞周期の停止の際には、cyclin dependent kinase inhibitor (CDKI) が関与していると言われているが、熱ストレスの増殖抑制への関与については不明な点が多い。本研究では、これらを明らかにするために *in vitro* で細胞に熱ストレスを付与し、この時の細胞増殖抑制効果を検索し、同時にCDKIの発現、特にp21/waf-1及びp27/kip-1の発現の変化について検討した。

《方法》細胞には口腔扁平上皮癌細胞株SAS及びTTを用いた。40°C~44°C90分熱ストレスを付与した後、細胞の増殖曲線を作製し、位相差顕微鏡と電子顕微鏡による

形態的变化の観察を行った。さらに経時的に、m-RNAを抽出し、p21/waf-1及びp27/kip-1 primerとしたRT-PCR法を行った。

《結果と考察》いずれの細胞も42°C以上で細胞増殖効果が認められた。43°Cでは一部にapoptosisの細胞が確認されたが44°C以上では多くはnecrosisの細胞となっていた。42°C~43°Cでの細胞増殖抑制時に、いずれのCDKIも一過性の発現の上昇が観察された。以上の結果から熱ストレスによる細胞増殖の抑制効果にはCDKIが関与していることが示唆された。