

# マイクロアレイを用いたブタマラッセ上皮特異的遺伝子単離の試み(東日本歯学会第23回学術大会 一般講演抄録)

著者名(日)	倉重 圭史, 安彦 善裕, 齋藤 正人, 西村 学子, 山崎 真美, 竹嶋 麻衣子, 中村 寿実子, 荒川 俊哉, 田隈 泰信, 五十嵐 清治, 賀来 亨
雑誌名	北海道医療大学歯学雑誌
巻	24
号	1
ページ	111
発行年	2005-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00009903/">http://id.nii.ac.jp/1145/00009903/</a>

(ICLS) コースを歯科医師用にアレンジした。歯科診療中の意識消失、呼吸・循環なしでの対処法について、シミュレーターを用いた研修計画を立案した。第一回目のコースは患者急変に対する最初の10分間の蘇生処置を行動目標として、2004年3月20日(日)に開催し、6名が受講した。インストラクターは歯科麻酔科医(歯科麻酔学会指導医と認定医、救急医学会ACLS基礎コース受講済)が務め、自動体外式除細動器(AED)を用いた一次救命処置(BLS)、気道確保・気管挿管、生体情報モニターの使用、静脈確保、治療薬静注のスキルをトレーニングした後、歯科救急シナリオでのチーム医療を実践した。研修の最後にはシナリオによる実技試験を個別に実施した。なお、実技テストにおいて、意識なしの発見から人(応援者)と器材(救急カート、心電図モニタ、自動体外式除細動器:AED)の要請に16秒以上、心臓マッサージ開始まで91秒以上、発見からAED開始まで181秒以上の受講者は、CP(Critical Problem)と評価して再試験を実施した。

**【結果および考察】**受講者全員がCPに抵触し、再試験を必要とした(表)。今後は定期的にコースを開催することで研修内容の充実

化と定着を図り、コメディカルとの連携による早急な普及が必須と考える。また、将来的には外部評価者を迎えたコース開催が必要である。

	修了試験	再試験
人と器材を集める 目標:15秒以内	27.0±10.8秒 (12.6~41.9秒)	22.6±5.9秒 (17.1~29.9秒)
発見から心臓マッサージ開始まで 目標:60秒以内	109.6±17.2秒 (91.0~130.8秒)	104.4±15.2秒 (87.0~123.5秒)
発見からAED開始まで 目標:180秒以内	299.6±5.0秒 (295.0~306.4秒)	270.0±42.1秒 (238.0~330.8秒)

mean±S.D. (最小~最大)

**【結語】**平成16年度、受講者6名、インストラクター2名、タスク1名で、独自にBLSとACLS研修を開始した。第1回研修の修了実技試験では受講者全員がCP(Critical Problem)に抵触した。受講者全員が研修の継続を希望し、当専門外来でのBLSとACLS研修が定例化された。

### マイクロアレイを用いたブタマラッセ上皮特異的遺伝子単離の試み

○倉重 圭史\*, 安彦 善裕\*, 齋藤 正人\*\*, 西村 学子\*, 山崎 真美\*, 竹嶋麻衣子\*, 中村寿実子\*, 荒川 俊哉\*\*\*, 田隈 泰信\*\*\*, 五十嵐清治\*\*, 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小児歯科学講座, \*\*\*北海道医療大学口腔生化学講座

**【目的】**歯根膜中に存在するマラッセ上皮遺残は、歯周組織の再生を促進するといわれている物質を含むヘルトウィヒ上皮鞘が断裂したものである。マラッセ上皮遺残にも歯周組織再生に関与した成分が含まれているものと考えられるが、この細胞が発現している遺伝子については詳細な検索が行われていない。本研究では、口腔上皮とマラッセ上皮のmRNAの発現を比較することから、マラッセ上皮が発現している特異的な遺伝子の単離を行うことを目的とした。

**【方法】**マラッセ上皮(PLE)と口腔上皮(GE)を培養するために、生後6ヶ月齢のブタ小白歯を用いた。Nishimuraらの方法(Med. Electron Microsc. 1999)に従い単離を行い、それぞれ両者からoligoTM-d30(super)mRNA purification Kit RNによりmRNAを抽出した。cDNAを作製の後、GEをCy3に標識したものとPLEをCy5

に標識したものを2つ(test1,2)、反対にPLEをCy3、GEをCy5に標識したものを(test3)を用い、DNA microarray上でhybridizationを行った。それぞれの蛍光強度を数値化し、Cy3とCy5の発現強度の違いとその再現性から、それぞれに特異的に発現しているmRNAを同定した。同定されたmRNA発現の信頼性を確認するために、再度、両者の細胞からRNAを抽出し、定量的RT-PCR法を行った。

**【結果および考察】**test1,2,3の結果比較検討したところ、GEに特異的な遺伝子が5種類、PLEでは26種類の特異的な遺伝子があることが明らかになった。PLE特異的と判断された遺伝子の中には、既知の成長因子、転写因子などのもの以外に遺伝子情報のみで、機能の不明なものも含まれていた。今後の詳細な機能解析により新たな歯周組織再生誘導因子のみつかる可能性があるものと思われた。

### ラット耳下腺スライス標本および分離導管細胞を用いたカルシウム応答の検証

○設楽 彰子, 谷村 明彦, 根津 顕弘, 森田 貴雄, 東城 庸介  
北海道医療大学歯学部歯科薬理学講座

**【目的】**唾液腺の導管細胞はイオンの再吸収および分泌によって原唾液の組成を変化させる。我々は、ラット耳下腺導管細胞のCa<sup>2+</sup>情報伝達機構を明らかにするため、多光子レーザー顕微鏡を用いてエピネフリン(Epi)刺激による細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)の変化を検証した。

**【方法】**マイクロスライサーを用いてラット耳下腺から300μmの標本を作製した。分離耳下腺細胞は、細切した耳下腺をコラゲナーゼとヒアルロニダーゼで処理して調製した。これらのサンプルにCa<sup>2+</sup>蛍光指示薬であるfura-2/AMを取り込ませ、蛍光強度の変化を多光子レーザー顕微鏡にて観察した。

**【結果および考察】**耳下腺スライス標本を10 μM Epiで刺激すると

導管細胞の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇がみられた。[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇が始まるタイミングは個々の細胞でわずかにずれがあり、数個の細胞から始まったCa<sup>2+</sup>反応が導管全体へ広がる細胞間Ca<sup>2+</sup>ウェーブ様の反応も観察された。同様の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>変化は分離耳下腺導管細胞においてもみられた。また、高速測定により腺腔側から基底側へ向かってCa<sup>2+</sup>シグナルが伝播していく細胞内Ca<sup>2+</sup>ウェーブが観察された。これらの反応を定量的に検証したところ、1.0μM Epi刺激で全体の約80%の細胞が最大の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇を示した。そのうち約1/2は0.1μM Epiでは最大反応を示すEpi高感受性細胞であることがわかった。細胞外液のCa<sup>2+</sup>を除去しても同様の反応が観察されたことから、これらの反応は主に細胞内ストアからのCa<sup>2+</sup>放出反応であること