

2. DMBA 頬嚢癌形成過程における GGT 陽性巣について

舘山美樹, 中出 修, 江戸 稔,
賀来 亨, 奥山富三 (口腔病理)

γ -glutamyl transpeptidase(以下GGT)は細胞膜に局在し glutamyl 基を γ -glutamyl peptide から他のpeptide あるいはアミノ酸に転化する反応を触媒する酵素で、生体内の各臓器に広く分布している。また、GGTは胎児性蛋白として注目されており、実験肝癌の解析に重要なマーカーとして知られている。その他、皮膚、口腔粘膜、大腸などの実験的に形成された癌についても GGT 活性の高いことが報告され、Solt は発癌剤 DMBA ミネラルオイル溶液をハムスター頬嚢に塗布することにより、組織化学的染色により、GGT 陽性巣の出現することを報告している。

今回、われわれは、ハムスター頬嚢に 0.5%DMBA ミネラルオイル溶液を塗布し、その promoter として知られている TPA アセトン溶液を DMBA 塗布中止後引き続き塗布し、組織化学的に GGT 陽性巣の経時的变化を検索し、TPA の GGT 陽性巣に対する効果の有無について考察を行った。

実験動物は生後約2カ月の雄ハムスターで発癌剤を0.5% DMBA ミネラルオイル溶液とし、DMBA を週2回頬嚢粘膜に5週まで、計10回、塗布し、以後 promoter

として知られている TPA を塗布した。頬嚢粘膜上皮のみを剝離し、Rutenbergらの方法に準じて GGT の組織化学染色を行った。

頬嚢の GGT 陽性巣の数および直径は発癌剤の塗布回数が増すに従い、数の増加および直径の増加が認められるが、DMBA 塗布中止後 TPA 塗布群、無処置群ともに陽性巣の数の減少、直径の減少が認められ、皮膚癌実験における promoter として知られている TPA は頬嚢における GGT 陽性巣の数、大きさには影響は認められなかった。

質 問 倉橋昌司 (口腔生理)

TPA 塗布中止後、GGT 陽性巣のかなり早い減少が認められたが、このことは GGT 蛋白の代謝回転がかなり速いことを反映しているのでしょうか。

回 答 賀来 亨 (口腔病理)

肝癌形成過程においても発癌剤を中止することにより、急速に GGT 陽性巣が減少します。肝癌実験においては、偏倚した細胞が正常に戻ることににより GGT 活性の消失すると考えられています。おそらく、同じ現象がおこっているものと思われます。

3. 唾液LDHアイソザイムにみられる異常パターンについて

柏原芽美, 田隈泰信, 市田篤郎
(口腔生化)

免疫グロブリン結合酵素あるいは異常 LDH とされるものが、組織破壊が著明であるような重症患者血清中に出現することが知られているが、その成因については明らかではない。

ヒト唾液の LDH アイソザイムは、骨格筋型で大部分の活性は LD_{3,4,5} にみられる。正常人より得た全唾液および耳下腺唾液を、ミニコンを用いて 4℃ のコールドルーム内で、約20倍から 100 倍に濃縮した後、アガロースフィルム上で泳動して LDH 染色を行い、インキュベーターレイの中にフィルムを入れ 37℃ で 30 分間反応させた。その結果、血清と比較すると、全唾液では明らかに LD₃ の後方に extra band をつくっているのが認められた。耳下腺唾液においては明らかではなかった。

以上の実験をもとに、DAKO 社製抗ヒト IgA 及び抗

ヒト IgG を用いて免疫固定法を行った。採取した全唾液を前実験同様、濃縮、ついで泳動した。この時、脱蛋白の程度を目安として微量の BPB をこの試料に添加した。泳動終了後に抗ヒト IgA 及び抗ヒト IgG を充分浸み込ませた適当な大きさに切ったセルロースアセテート膜をフィルム上にのせ、120 分間固定反応を行った。後、脱蛋白用緩衝液に入れ、冷蔵庫内に静置。この脱蛋白時間としては、18時間が適当な成績を示した。

抗ヒト IgA 及び抗ヒト IgG を共に 2 倍、4 倍、8 倍に希釈したものと、全唾液を 50 倍に濃縮したのものについて行ったところ活性の固定が認められた。特に、2 倍希釈した抗ヒト IgA との反応が明瞭な活性が認められた。

さらに異常バンドの性状を明確に知るために薄層ゲルクロマトグラフィーにより検討している。現時点では、

4倍希釈した抗ヒトIgAと全唾液との反応が確認できたが、まだ充分ではないので、今後検討・追求を続けていきたい。

質問 倉橋昌司 (口腔生理)

唾液LDH アイソザイムが骨格筋型であるのは、特に骨格筋型アイソザイムの分子量が小さいというようなことによるのでしょうか。

回答 市田篤郎 (口腔生化)

LDHはすべての細胞に存在しますが唾液中のものは血清などのものと明らかに違いますので Origin は不明ですが唾液本来のものと考えます。尚、IgAとcomplexを作る理由は不明ですが組織破壊なしにみられる点に興味をもたれると思います。

4. 唾液と血清とのHB抗原タイターについて

野崎 満, 板本充志, 市田篤郎
(附属病院検査部)

唾液がHB感染源となりうることについては古くより論じられているが、HB抗原が唾液腺の分泌機構及び唾液腺細胞間を通過して出現するのか、或いは微細出血によって出てくるのかについては議論があるが、定量的検討はあまりなされておらず、明らかでない。

われわれは唾液中の微量濃度のヘモグロビンを測定した唾液HB抗原タイター、又はカットオフインデックス、及び血清HB抗原タイター値を比較して次の成績を得た。

1) 血清HB陽性者の約40~60%が唾液中でもHB抗原陽性として検出された。

2) 血液中のヘモグロビンの検出はかならずしも唾液陽性とは一致しない。

3) 血清HBタイターと唾液中のRIAによるカットオフインデックスとの間には高い相関が認められた。すなわち血清HB抗原タイターの高値の例ほど唾液での出現は強まる。

4) 唾液ヘモグロビン濃度と血清HBタイターとの積VS唾液カットオフインデックスとの間には有意の相関が認められた。

5. 咬合圧刺激がヒト両側耳下腺唾液分泌に及ぼす影響

星 和明, 倉橋昌司, 吉田昌江,
高桑光代, 猪股孝四郎 (口腔生理)

咀嚼運動に伴う種々の咀嚼刺激の中で、咬合圧刺激がヒト耳下腺唾液分泌に及ぼす影響を明らかにする目的で、片側性に咬合圧刺激を加え、両側より耳下腺唾液を同時に採取し、咬合圧変化に伴う左右耳下腺の唾液分泌量変化を検討した。

実験では咬合圧刺激を安定的に、また定量的に加えるために、被験者ごとに上下顎臼歯部咬合面それぞれに金属製のBite tableを作製し、この間に咬合力計(日本光電社製MPM2401)を介在させた。そしてBite tableと咬合力計による咬合挙上量は上下顎第1大臼歯間で6~7mmとなった。咬合圧刺激は5kgから最大咬合力までの種々の咬合力で、1分間あたり80回の割合で、繰り返し行わせ記録した。また耳下腺唾液は自作のCurby Cupを両側の耳下腺開口部に吸引装着し、分離採取を行い、猪股らが考案したStrain gauge応用による唾液分泌量測定装置を用いて、両側耳下腺よりの唾液分泌量を経時

的に記録した。

その結果、咬合圧の増加にはほぼ比例して耳下腺唾液分泌量は増加した。しかしながら、いかなる咬合圧の場合も、刺激側の耳下腺唾液分泌量は非刺激側の耳下腺唾液分泌量に比較して有意に大きかった。

以上の結果は、咀嚼に伴う咬合圧刺激も生理的に有効な耳下腺唾液分泌刺激であり、また片側性に与えられた咬合圧刺激は同側の耳下腺唾液分泌に対して、より有効な刺激となり得ることを示した。

質問 額賀康之 (口外・I)

唾液分泌における咬合圧刺激受容器は、歯根膜なのか咬筋によるものか。

総義歯着用患者においては如何か。

回答 星 和明 (口腔生理)

① 予備実験として、実験と同様な方法で咬合圧刺激を加え、左右の咬筋及び側頭筋のEMGを行いました。