

## 8. In vitroにおける歯肉由来線維芽細胞のTitanium上での Fibronectin局在に関する免疫電子顕微鏡的観察

安彦善裕, 賀来 亨  
(口腔病理)

歯科インプラント, 特にOsseointegrationを期待したTitanium (Ti) を材料としたものでは, その組織界面は主に骨組織ならびに上皮と結合組織の粘膜組織からなっている。この線維芽細胞の付着には接着蛋白のひとつであるFibronectin (FN) の関与が広く知られているが, 実際にその減少をとらえた報告は未だみられない。

今回われわれは, in vitroでTi上での線維芽細胞のFNの局在を免疫電顕的にとらえることを試みたので, その概要について報告する。

**【材料および方法】** 細胞はBrunetteの方法に従いヒト歯肉より単離した線維芽細胞を用い, 5% calf serumを含んだ $\alpha$ -MEMにより, 50nm以下の厚さで表面をTiで覆った表面滑沢なエポキシ上で通法に従い培養した。固定の後, FNを1次抗体とし, 1nm金コロイドを標識した血清を2次抗体としてpre-embedding methodによる免疫染色を行った。その後, 銀増感を行いエボン812にて包埋し細胞付着に対して縦断面方向にエポテック, Tiと共

に超薄切片を作成して透過電顕により観察した。さらに, 細胞の一部は同様の培養液と, 血清からFNを除去した培養液にて, Tiで表面を覆った滑沢なものと規則正しい平行な溝を付与したシリコン上で培養された。固定の後, 同様にFNを1次抗体とし免疫染色を行った。銀増感を施し, 通法に従い脱水, 乾燥の後, 走査電顕により観察した。

**【結果および考察】** 透過電顕で観察するとFNは高電子密度の銀粒子の集族としてTiと細胞の間に観察され, これらの接着にFNが関与していることが確認できた。FNを除いた血清で培養したと思われるFNを除いた血清で培養したものを走査電顕で観察すると, 細胞が分泌したと思われるFNが顆粒状, あるいは線状を呈し細胞の動きに沿ってTi上に存在しており, 他の細胞の接着に影響をおよぼす可能性が示唆された。また, これらの溝により制御され, 種々の細胞のcontact guidanceを助けうるものと思われた。

## 9. 自然発症肝炎・肝癌ラット (LECラット) における着色歯の検索 第2報: 実験的黄疸ラットとの比較

渡辺一史, 村瀬博文, 加藤元康  
永易裕樹, 窪田正樹, 大森一幸  
小田浩範, 柴田敏之, 有末 眞  
(口腔外科2)

これまで, われわれは自然発症肝炎ラット (LECラット) に高度の黄疸を伴う肝炎発症後, 2~3週経過した時点で緑色を呈する切歯が萌出する現象を観察し, これが黄疸時のビリルビンによる着色である可能性を報告してきた。そこで今回, このLECラットの着色歯と正常LEAラットの胆管結紮後黄疸によって生じる着色歯との比較検討を行った。

LEラットのクローズドコロニーよりLECラットとともに分離独立された肝炎の自然発症を全く認めないLEAラット14匹の総胆管を結紮し, その後経日的に血清ビリルビン値を測定し, 結紮後3週間目に屠殺し, 下顎骨の摘出を行った。その結果, 血清ビリルビン値は結紮後3日目より著名な高値を示し, その後ゆるやかに上昇

し, 5日目に一定のピークに達した後, 下降した。また, 1匹だけ総ビリルビン値が15.37mg/dl, 直接ビリルビン値が12.58mg/dlと突出した値を示したラットがいた。歯の観察の結果, 着色歯はこのラットのみ認められた。着色は象牙質内に歯髄を取囲むように環状に認められ, その部位は血清ビリルビン値が高かった時期に形成された部位に一致していた。この着色環はLECラットで認められたものと同様のものと考えられた。しかし, LECラットで認められたような象牙細管の走行の乱れ等は, ほとんど観察されなかった。

今回の結果より着色歯は直接ビリルビンの上昇のみでも起こりうることを示され, この直接ビリルビン値はLECラットで着色歯の萌出がみられる場合の値とほぼ