

## 12. 口腔組織発生時における核内DNA断片化の観察

安彦 善裕, 蔵口 潤, 大内 知之  
菅野 秀俊, 田嶋 久土, 岡本 智博  
澤木 健, 阿部 英二, 三浦 義隆  
賀来 亨

(口腔病理学)

細胞膜の破壊を初期変化とする壊死に対し、近年、核内DNAの断片化を特徴とする細胞死、アポトーシスが注目されてきている。アポトーシスの現象を検索する方法として電気泳動によるDNA ladderを観察する方法が用いられてきたが、最近、これをin situでより客観的に観察することが可能なDNA nick end labeling法が報告された。アポトーシスは、特に組織発生過程の様々な時期に、様々なところで観察され、組織の正常な形態形成、維持に不可欠なものといわれている。しかし、歯牙、歯周組織をはじめとする口腔組織のアポトーシスについては十分に検索されているとは言い難い。今回、われわれは口腔組織発生過程の組織にDNA nick end labeling法を応用することにより、in situで核内DNAの断片化を観察することからそれらのアポトーシスについて検討した。

**方法：**nick end labelingの応用に先立ちその有用性を、培養細胞でDNA ladderとの結果から確認した。nick

end labelingは、固定の後、蛋白分解酵素処理、内因性ペルオキシダーゼ除去の後、terminal deoxynucleotidyl transferaseとbiotin化標識、deoxyuridin triphosphateによりDNA断片を標識し、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを用いて、DAB反応によって検出した。この方法を、SD系ラットの様々な時期の胎児、臼歯部歯牙の萌出過程段階にある幼若ラット、さらに成熟ラットの組織切片に応用した。

**結果：**DNA ladderのみられた細胞にnick end labeling陽性のものがみられた。組織切片上の明らかな陽性反応は、正常口腔上皮の角質層直下部、口蓋癒合部の上皮、歯牙発生時の歯乳頭の一部、エナメル芽細胞の一部、萌出歯牙に圧迫された細胞などの核に観察された。

**考察：**以上の所見から、口腔の発生過程における正常な形態、および維持もアポトーシスが密接に関与していることが示唆された。

## 13. ヒト舌乳頭の加齢的变化

高橋 香苗, 蔵口 潤, 西山 鉄  
阿部 英二, 岡本 智博, 三科 卓見  
中出 修, 安彦 善裕, 賀来 亨  
佐藤 雅志<sup>1)</sup>

(口腔病理学, 多摩老人医療センター歯科口腔外科<sup>1)</sup>)

食物の摂取、嚥下、発音などの複雑な運動機能を果たす筋性臓器としての舌は加齢にともない、それらの機能低下を示すと言われ、一般に老人の口腔粘膜上皮は若年者のそれと比べて、明らかに薄くなると言われている。

われわれはこれまでに舌の組織構成成分について組織学的に加齢との関係について検討を行ってきた。今回、舌乳頭の糸状乳頭が残存している症例を萎縮とし、また糸状乳頭が消失している症例を平坦化とし、萎縮、平坦化の程度を悪性腫瘍により死亡した症例と他の疾患で死亡した症例、すなわち非悪性腫瘍症例との比較を貧血の程度との関連性について検討を行った。

**材料および方法：**材料は舌に影響を与えられると考えられる処置の加わった症例を除き、肉眼的に特別な病変が認められない舌を使用した。舌の前3分の2の中央部の前額断標本を用い、通常の方法で標本を作製した。検索は舌乳頭の萎縮の程度、平坦化の程度を画像解析装置により数量的に解析した。血液検査値は赤血球数、Hb量、Ht値を使用した。死亡直前に輸血がなされた症例や紫斑病などの症例を除き、最終的に88症例を検索した。

**結果および考察：**1) 舌乳頭の萎縮はほとんどの症例でみられた。2) 舌乳頭の平坦化した症例は加齢とともに上皮は薄くなる傾向がみられた。3) 舌乳頭の萎縮は加

齢とともに面積が小さく、上皮の菲薄化傾向を示したが、はっきりした相関は認められなかった。4) 悪性腫瘍症例36例のうち、舌乳頭の消失傾向すなわち平坦化28症例、萎縮8例と平坦化が多い傾向が見られた。5) 悪性腫瘍症例では貧血の程度が非悪性腫瘍症例に比べ強かった。ま

た平均Hb量、Ht値も同様の傾向が認められ、舌乳頭の消失と関連する結果と思われる。6) 平坦化症例の面積を悪性腫瘍症例と非悪性腫瘍症例とで比較すると非悪性腫瘍症例のほうが小さい傾向を認めたが、有意差はなかった。

#### 14. ハムスター舌粘膜におけるGapjunction蛋白connexinの発現について

齊藤 正人, 越智 真理, 中畑 潜  
定岡 敏之, 神田 昌巳, 芳賀 宏  
長江 俊一, 安彦 善裕, 賀来 亨  
(口腔病理学)

**目的:** ギャップ結合は細胞間結合装置の一つで、分子量約1000以下の物質の細胞間における交換、すなわち細胞間コミュニケーションに関与しており、多細胞生物における増殖、分化やホメオスタシスの維持に重要な役割を担っていると考えられているギャップ結合はコネクシンと呼ばれる蛋白質から構成されており、現在まで10種類以上の異なったコネクシンcDNAがクローニングされている。

口腔粘膜重層偏平上皮は基底層から角化層への調和のとれた分化をすることで、その恒常性を維持しているが、分化に伴いギャップ結合の出現数に違いがあることが指摘されている。本研究では正常舌粘膜上皮において、どのようなコネクシンが発現しているか、また上皮の分化過程においてその発現がどのように変化するかを検索した。

**方法:** mRNAレベルでの検索のために正常ハムスター

舌粘膜上皮を用い、Cx26, Cx32, Cx43のRNAプローブにてノーザンプロットを行った。免疫組織学的検索はCx26, Cx32, Cx43の抗体を用いてその局在様式の観察を行った。

**結果・考察:** ノーザンプロットによりCx26, Cx43のmRNAの発現は認められたが、Cx32は確認されなかった。免疫組織化学的検索では、Cx26, Cx43は舌粘膜上皮細胞の細胞膜上に輝点として認められたが、Cx32はみられなかった。その局在はCx26は顆粒層と有棘層の上層に、Cx43は基底層と有棘層の下層に局在することが確認された。またCx26からCx43へ局在が分かれる部分で、同一細胞内にCx26, Cx43が両方発現していることが確認された。以上の所見により、ハムスター舌粘膜上皮にはCx26とCx43が存在し、その分化過程においてCx43からCx26へ発現が変化することが示唆された。

#### 15. チタン表面における歯肉由来線維芽細胞の遊走と酵素活性について

蔵口 潤, 齊藤正人, 三科卓見  
長江俊一, 高橋香苗, 芳賀 宏  
中畑 潜, 定岡敏之, 神田昌巳  
安彦善裕, 賀来 亨  
(口腔病理学)

細胞の接着、遊走について、これまで主にfibronectinや種々のコラーゲンをはじめとする細胞外基質に着目した報告が数多くなされてきている。近年この細胞外基質だけでなく、これらを分解する酵素の関与が、特に癌の浸潤、転移という観点から注目されている。一方、歯科インプラントにおける細胞レベルでの研究は、細胞の

接着と遊走がその予後を左右する因子の一つとして多くの報告がある。今回われわれは、インプラント材として広く用いられているチタン基質上で線維芽細胞を培養し、血小板由来成長因子(PDGF)による遊走と酵素活性について検討した。

**方法:** 細胞はBrunetteらの方法により歯肉より単離し