

20. プラーク付着と唾液量(1) —唾液分泌を抑制した場合—

河合 治¹⁾, 渡部 茂²⁾, 石井 克枝¹⁾
大宮 孝人¹⁾, 袴田 哲矢¹⁾, 加藤 義弘¹⁾
藤井 健男¹⁾, 小鷲 悠典
(歯科保存学第一¹⁾, 小児歯科²⁾)

唾液はう蝕, 歯周疾患, その他の口腔疾患の重要な環境因子として, 古くから研究されているが唾液流出量を抑制した時のプラーク付着に及ぼす影響についての報告は少ない。今回, 硫酸アトロピンを経口投与し, 唾液分泌量を抑制した時のプラークの付着について検討したので報告する。

被験者は歯周組織が臨床的に健康で, 実験の趣旨に賛同した歯学部6年男子学生10名である。実験準備期間を設け, 臨床的健康歯肉を確立し, 開始時のプラーク量を0にした。被験者を無作為に5名ずつI, IIの2群に分けた。48時間のブラッシング停止期間中, 被験者全員に同一の食事をとらせた。I群には1日3回毎食前に硫酸アトロピン, 1mgを経口投与した。II群には, 偽薬を投与した。48時間後ブラッシングを再開させ, プラーク量を

を0にした後, I, II群の薬剤を入替え同じ実験を繰り返した。本実験は二重盲検法により行った。診査項目は, 1. GI 2. GBI 3. Probing depth 1歯6点計測 4. GCF量 5. プラーク付着量 6. 安静時唾液とした。

その結果, 唾液流出量を抑制するとプラーク付着量が増加することが認められ, 特に唇頬側部, 上顎において顕著であった。隣接部のプラーク付着量は, 唾液流出量抑制の影響はみられなかった。隣接部は食物の流れ等による自浄作用の及びにくい部位であり, これが, 洗浄等の唾液の作用より, 強く影響したものと思われる。C群, A群間GCF量に有意差が認められなかった点に関して, アトロピンによる歯肉溝滲出液抑制も一部関与している可能性を考慮する必要があると思われる。

21. ハムスター頬嚢癌におけるDNA断片化と増殖細胞の発現様式について

有路 博彦, 大内 知之, 安彦 善裕
蔵口 潤, 田嶋 久士, 澤木 健
菅野 秀俊, 賀来 亨
(口腔病理)

【目的】Kerrらによって提唱された, 従来の細胞死(壊死)とは形態的に異なる能動的な細胞死の概念であるアポトーシスについては近年, 多くの分野で急速に研究が進み, 悪性腫瘍における腫瘍細胞の増殖率と腫瘍塊の大きさとDiscrepancyにも関わっていることが指摘されてきている。本研究ではハムスター頬嚢粘膜・発癌過程において, DNA断片化および増殖細胞の局在について組織化学的に比較検討を行った。

【材料および方法】実験動物は7週齢雄シリアンコールテンハムスターを用い, 0.5%DMBAミネラルオイル溶液を週2回16週間右側頬嚢粘膜に塗布後, 8週間放置し頬嚢癌を得た。屠殺1時間前に10%BrdU-DMSO/生食溶液を25mg/kg腹腔内投与し組織を摘出固定後, 硬パラフィン包埋し4μmの連続切片を作成した。DNA断片化細胞の検出には*in situ* nick end labeling法を, BrdU陽

性細胞の検出にはストレプトアビジン免疫組織染色法により行った。また, 一部はエポソド包埋, 超薄切片を作製し電顕的に観察した。

【結果および考察】正常頬嚢粘膜ではnick end labeling陽性細胞は角化層を中心とした有棘層上方に, BrdU陽性細胞は基底層付近に散在的に認められた。粘膜肥厚部および乳頭腫では, 陽性細胞数はともに増加しているものの, 局在は正常頬嚢粘膜とほぼ同様であった。扁平上皮癌組織においては, その分布傾向は認められるものの, 陽性細胞数はともに増加し, それぞれの陽性細胞が近接した位置での発現も認められ, その規則性・局在に乱れが生じていた。また, nick end labeling陽性細胞にはほぼ一致する部位で電顕的に周囲細胞との結合を失い, 核の濃縮傾向を示すものや, アポトーシス小体様の所見が観察された。以上より, 癌の発生・成長には細胞増殖の異常

のみならず、アポトーシス機構が重要な役割を果たしていることが示唆された。

22. PDGFとIGF-Iのコンビネーションがラット歯髄由来線維芽細胞に及ぼす影響

蔵口 潤, 安彦 善裕, 越智 真理
中畑 潜, 定岡 敏之, 三浦 義隆
神田 昌巳, 長江 俊一, 賀来 亨
(口腔病理)

細胞増殖因子の一つである血小板由来成長因子(PDGF)は、線維芽細胞や平滑筋細胞などの間葉系細胞の増殖能や遊走能を促進し、また、インスリン様成長因子のI型(IGF-I)も同様に、間葉系細胞の増殖や分化に促進的に作用することが知られている。しかし、IGF-I単独での作用は一般的にそれほど強いものではなく、他の増殖因子との間に相乗作用を示すと言われている。また、動物実験において、PDGFとIGF-Iのコンビネーションが、皮膚あるいは歯周組織において骨を含めた創傷の治癒を促進することが近年報告されてきているが、その作用機序については未だ不明な点が少ない。一方、ラット歯髄由来線維芽細胞は他の線維芽細胞、すなわち歯根膜や歯肉由来の線維芽細胞よりも分化傾向が高く、*in vitro*において石灰化能を有することが知られている。

今回、われわれはラット前歯部歯髄から線維芽細胞を分離し、線維芽細胞のgrowth mediaである10%FCSのみ

の条件下と、PDGFのisoformであるPDGF-AAあるいはPDGF-BBを用い、それぞれとIGF-Iを同時に添加した0.1%FCS含有のmediumにて培養を行い、細胞増殖能、遊走能、タンパク合成について両者を比較検討した。

【結果および考察】

- 1) PDGF-BBとIGF-Iのコンビネーションにより、10%FCSと同程度の細胞増殖能が認められた。
- 2) 化学走化性では、PDGF-BBの方がPDGF-AAよりも高値を示し、それは濃度依存性であったが、10%FCSの値にははるかに及ばなかった。
- 3) タンパク合成では、有意差が認められなかった。

以上の結果より、PDGFとIGF-Iのコンビネーションが創傷の治癒に対して促進的に働くことは、主にPDGF-BBの著明な細胞増殖促進作用による影響が大きいことが示唆された。

23. エナメル上皮腫におけるbc1-2とp53の局在に関する免疫組織学的研究

荒井 滋朗, 安彦 善裕, 大内 知之
越智 真理, 西村 学子, 蔵口 潤
斎藤 正人, 賀来 亨
(口腔病理)

(目的) bc1-2はヒト濾胞性Bリンパ腫から発見されたガン遺伝子であり、様々な細胞のアポトーシスを抑制する働きのあることが最近報告されている。一方、ガン抑制遺伝子として知られているp53はアポトーシスの誘導に関与していると言われている。今回、エナメル上皮腫におけるbc1-2とp53の局在様式を観察し若干の興味ある知見が得られたので報告する。またれによるDNAの断片化をin siteで観察するnick and labeling法、細胞増殖マーカーとされている抗PCNA抗体を用いた染色を行いました。

(材料と方法) 材料はエナメル上皮腫と診断された20症

例を用い、1次抗体として抗bc1-2、抗p53抗体、抗PCNA抗体を用いた免疫組織化学的検索を行った。またDNA NICK AND LABELING法も併せて行いました。

(結果と考察) bc1-2はその反応の強弱はあるものの、20症例すべてにおいて陽性反応が確認された。反応部は主に間質に接した円柱状細胞の細胞質と核の一部であった。p53は胞巣の扁平上皮類似部の一部に陽性反応が認められた。以上の結果からエナメル上皮腫の発生、増殖にはbc1-2によるアポトーシスの回避が関与していることが示唆された。