

ン誘導体のうち、2種類が、濃度依存性に有意に細胞増殖及び、ALP活性、タイプIコラーゲン合成を刺激した。  
 〈結論〉1. フェニトインのosteogenicな作用にTGF- $\beta$ のみならずBMP-2のup-regulationも関与している可能

性が示唆された。2. ある種のフェニトイン誘導体には、in vitroにおいてフェニトインと同様のosteogenicな作用があることが示された。

## 19. 細胞外カルシウム濃度の上昇がラット腹直筋器官培養におけるBMPsの遺伝子発現に及ぼす影響

○有路 博彦, 小山 宏樹, 中出 修,  
 賀来 亨  
 (北海道医療大学歯学部口腔病理学講座)

〈目的〉われわれは、これまで細胞外カルシウム濃度の上昇が短時間作用において正常ヒト歯肉線維芽細胞のBMP-2, -4, -5のmRNAの発現を上昇させることを報告してきた。本研究は細胞外カルシウム濃度の上昇がラット腹直筋の器官培養においてBMPsのmRNAの発現に影響を及ぼすかどうかを調べるために行われた。

〈方法〉1. 腹直筋は10週齢ラットを屠殺後、直ちに摘出、約1×5×5mm<sup>2</sup>大に細切し、生理的食塩水で約5分間洗浄したものを用いた。2. その後、種々のカルシウム濃度に調節された0.01%BSA添加DMEMあるいは0.01%BSA添加生理的食塩水において0.5あるいは24時間、器官培養を行い、細胞外カルシウム濃度の上昇がBMPs (BMP-1-5) のmRNAの遺伝子発現に与える影響を半定量的RT-PCR法により検討した。

〈結果〉1. BMP-1-5のうち、ラット腹直筋において

mRNAの発現が認められたのはBMP-4のみであった。2. 0.01%BSA添加DMEMを用いた器官培養において、短時間作用 (0.5h) の細胞外カルシウム濃度の上昇は0.4mMにおいてBMP-4のmRNAの発現を増加させた。3. しかしながら、長時間作用 (24h) においてはこのような効果は認められなかった。4. 短時間作用 (0.5h) の細胞外カルシウム濃度の上昇は1.2mM上昇させた場合において、0.01%BSA添加生理的食塩水においてもBMP-4のmRNAの発現を増加させた。

〈結論〉細胞外カルシウム濃度の上昇はラット腹直筋の器官培養においてBMP-4のmRNAの発現を上昇させる。

〈考察〉本研究の結果はわれわれの仮説をさらに支持する結果と考えられた。

## 20. in vitroにおける象牙質リンタンパク質による石灰化誘導実験

○斎藤 隆史, 松田 浩一  
 (北海道医療大学歯学部歯科保存学第二講座)

〈目的〉齶蝕によって失われた歯質を生物学的に再建することは、歯科医学の究極的な目標のひとつである。本研究の目的は、in vitro実験系において、象牙質基質中に存在するタンパク質 (ホスホホリン) の石灰化誘導能を明らかにするとともに、臨床における象牙質再建の可能性を検討することである。

〈材料と方法〉8カ月齢牛象牙質より、EDTA脱灰、カルシウム沈殿、および、DEAE-Celluloseカラムクロマトグラフィーを経て、ホスホホリンを抽出、精製した。1型コラーゲンは、牛皮膚より抽出したものを使用した。線維化したコラーゲンにホスホホリンを吸着、あるいは架橋剤を用いて共有結合した試料を用いて、ハイドロキ

シアパタイトに対する飽和度7.74, 7.59, 7.53, および7.41を有するカルシウム-リン酸石灰化溶液中にてインキュベートすることにより、石灰化誘導能を比較した。さらにNielsenのClassical Nucleation Theoryを用いて、試料と誘導された石灰化物間の界面エネルギーを計算した。

〈結果〉1型コラーゲンにホスホホリンを吸着した場合、ホスホホリンは石灰化を誘導せず、むしろ阻害した。一方、共有結合した場合、 $\mu\text{g}$ オーダーで短時間のうちに石灰化を誘導し、石灰化物はX線回折パターンよりハイドロキシアパタイトであることが確認された。また、石灰化誘導能の指標として界面エネルギーを測定したとこ