

13. メラトニンは口腔内投与においても成長期マウスの骨量を増加させる

○政所 明弘¹⁾, 中出 修²⁾, 服部 裕歩²⁾,
賀来 亨²⁾, 五十嵐清治¹⁾

(北海道医療大学歯学部小児歯科学講座¹⁾・口腔病理学講座²⁾)

〈はしめに〉松果体からの分泌物であるメラトニンは、日内リズムを制御する作用の他に抗腫瘍作用、免疫賦活作用等種々の有益な作用が報告され、各方面から注目を浴びている。近年、われわれはメラトニンにはin vitroにおいて骨芽細胞の細胞増殖およびタイプ I コラーゲンの合成促進作用があることを、またin vivoにおいてはメラトニンの腹腔内投与が成長期マウスの脛骨近位端の骨量を増加させることを報告してきた。

〈目的〉本研究は口腔内投与によるメラトニンが成長期マウスの骨組織に及ぼす影響を調べる目的で行われた。

〈方法〉動物は、18匹の4週齢のddy系オスのマウスを用い、6匹ずつの3群に分け、粉末飼料にメラトニンを各々0, 0.1, 1%添加したものを28日間、自由に与えた。口腔内投与のメラトニンが体重、全身諸臓器重量および病理組織学的変化、DEXA法による骨密度 (BMD)、血液生化学、脛骨の骨形態計測パラメーターなどに及ぼす

影響を調べた。

〈結果〉1 口腔内投与のメラトニンはマウスの体重、骨の成長率および血清カルシウム、無機リン濃度に有意な効果を及ぼさなかった。2 口腔内投与のメラトニンは脛骨の近位端における海綿骨量および海綿骨幅を有意に増加させた。3 口腔内投与のメラトニンは、骨芽細胞面、頰骨量などの骨形態計測における骨形成パラメーターを有意に減少させ、血清骨形成マーカーであるアルカリホスファターゼ活性には、有意な効果を及ぼさなかった。4 口腔内投与のメラトニンは骨吸収面あるいは破骨細胞数など骨吸収パラメーターを有意に減少させた。5 口腔内投与のメラトニンによる諸臓器の病理組織学的変化は観察されなかった。

〈結論〉メラトニンは腹腔内投与のみならず口腔内投与においても成長期マウスの骨量を増加させる作用がある。

14. メラトニン投与による口腔インプラント周囲の骨形成促進効果について

○山崎慎一郎, 加々見寛行, 越智 守生,
広瀬由紀人, 八島 明弘, 中出 修*,
賀来 亨*, 坂口 邦彦

(北海道医療大学歯学部歯科補綴学第二講座・口腔病理学講座*)

目的 本研究に使用した薬剤メラトニンは、松果体からの分泌産物であり、現在日本において未承認薬であるが、欧米においては入眠補助剤、抗癌剤、抗ストレス剤などに広く臨床応用されている。我々は、これまでにメラトニンにはin vitroにおいて正常ヒト骨芽細胞の細胞増殖およびタイプ I コラーゲン合成を刺激する作用、in vivoにおいてマウスの骨量を増加させる作用を報告してきた。本研究は、メラトニン投与によるウサギ大腿骨インプラント体周囲の新生骨の形成状態について検討した。

方法 実験には日本白色ウサギを用い左右大腿骨遠心端部内側の骨面を露出させ、可及的に骨端骨髓内にインプラント体を埋入した。インプラント体の埋入は、すへのウサギについて同一部位に同一方向で行った。

実験期間はインプラント体埋入後から2週間とし、実

験群には50mg/kg/dayのメラトニンを腹腔内投与した。対照群には実験群と同量の生理的食塩水を腹腔内投与した。いずれの群も毎日、夕方の定刻に投与を行った。術後8日目にオキシテトラサイクリン30mg/kg, 12日目にカルセイン8mg/kgを大腿部にそれぞれ筋注した。術後2週間で屠殺し灌流固定後、非脱灰研磨標本作製し、CMRによる画像解析、蛍光ラベリング像、および塩基性フクシンメチレンフルー重染色像による組織学的観察を行った。

結果 各群における平均値の比較は骨接触率が、対照群26.3%に比較し実験群45.3%で約1.7倍、骨面積比率は、対照群38.9%に比較し実験群51.2%で約1.3倍であった。対照群に比較し実験群は骨接触率、骨面積比率ともに有意に高い値を示した (p<0.01)。

結論 ウサギ大腿骨インプラント埋入モデルにメラト

ニン50mg/kg/dayの2週間の腹腔内投与では、対照群に比較し有意にインプラント周囲の骨形成を促進したこと

からメラトニンの骨形成促進効果が明らかになった。

15. 共焦点レーザー顕微鏡によるラット歯槽骨細胞の形態学的観察

○浜谷 明里, 坂倉 康則*, 矢嶋 俊彦*,
溝口 到

(北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座・口腔解剖学第一講座*)

【目的】骨組織内の骨代謝において重要な働きを担うと考えられている骨細胞は、骨基質内で、細胞突起を介したネットワークを形成している。最近、骨細胞のネットワークが細胞間のコミュニケーションにおいて重要であることが指摘されている。しかし、骨細胞は骨基質内に埋め込まれているため細胞形態の3次元的観察が困難であった。そこで、本研究では、ラットの歯の歯槽骨骨細胞の3次元的形態観察を行うために、アクチンおよび核に対する蛍光染色法による骨細胞の観察について検討を行った。

【方法】実験動物には、生後8週齢のWistar系雄性ラットを用いた。Nembutal麻酔下で4%paraformaldehyde固定液(0.1M PB, pH7.4)で灌流固定後、同固定液を用い浸漬固定を施し、10%EDTA溶液(4℃)での脱灰後、通法により厚さ30μmの水平断凍結切片を作製した。細胞質の観察には、Alexa488標識phalloidinによるF-actin染色と抗アクチン抗体を用いた染色を行い、核には4'

6-diamino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI)とpropidium iodide (PI)を用いた染色を行った。染色後、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行い、各染色法の比較検討を行った。

【結果】(1)Alexa488標識phalloidinによる細胞質染色では、抗体法に比べてその染色性が強く、骨細胞の細胞突起の細部にわたって反応を示した。(2)DAPIによる核染色では、mRNAとの交差反応による細胞質の染色はみられなかった。(3)生理的遠心移動における圧迫側(遠心側)と牽引側(近心側)において、歯槽骨表面の骨芽細胞と接している骨細胞の細胞突起に形態差が認められた。

【結論】Alexa488標識phalloidinによるF-actin染色とDAPIによる核染色を行うことにより歯槽骨骨細胞の核および細胞突起の詳細な観察を行うことが可能であることが明らかとなった。

16. 株化骨細胞(MLO-Y4およびMLO-Y4A2)へのシェアストレスによるCOX-2, PG, PG receptorの発現と調節

○荒川 俊哉¹⁾, 岡山 三紀^{1,2)}, 溝口 到²⁾,
田隈 泰信¹⁾

(北海道医療大学歯学部口腔生化学講座¹⁾・矯正歯科学講座²⁾)

【目的】無重力下での宇宙空間長期滞在や加齢に伴う骨粗鬆症などの骨量の低下はジョギングなどの外的刺激によって予防・回復することが知られている。その予防回復効果は、骨にかかる力学的負荷(メカニカルストレス)によるものと考えられている。また最近の研究によると、メカニカルストレスの効果は特に骨小腔内の組織液の流動(シェアストレス)によってもたらされると考えられるようになってきた。さらに、メカニカルストレスを受け取るセンサーの役目は、骨細胞が担っており、シェアストレスを受けることによって骨細胞から破骨細胞およ

び骨芽細胞へ何らかのシグナルを送っているのではないかと考えられている。しかしながら、そのシグナルおよび作用メカニズムは依然として明らかとなっていない。これまでの研究からプロスタグランジン(PG)が骨吸収・形成の重要な因子であることはすでに知られている。また、骨細胞にシェアストレスをかけるとPG合成の律速酵素の一つであるシクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)およびPGの合成が上昇する。そこで骨細胞においてシェアストレスがPG合成系にどのような関わりを持つかを検討するために、シェアストレスによるCOX-2, PG, およ