

外の間葉系細胞においてもBMPの産生を上昇させることを初めて示し、細胞外カルシウム濃度の上昇と異所性の骨化との関わりを示唆する研究と考えられ、BMPsを骨以外の組織に臨床応用する上で、有意義な研究と思われる。

れた。

以上のことより、本論文は病理学および歯科医学の進歩発展に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	河合拓郎(愛知県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	甲第72号
学位授与の日付	平成11年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(課程博士)
学位論文題目	三叉神経電気刺激による副腎髄質機能に及ぼす影響
論文審査委員	主査 教授 新家 昇 副査 教授 猪股 孝四郎 副査 教授 金子 昌幸

論文内容の要旨

I 緒言

高齢社会に伴い、歯科を受診する高齢患者は年々増加している。このような高齢患者は循環器系疾患を有していることが多く、安全な歯科治療を行うためには、治療前の十分な全身評価および治療中・治療後の管理が重要である。特に、歯科治療における偶発症の発症や基礎疾患の増悪は、三叉神経への痛み刺激が交換神経系に影響して生じると考えられている。そこで、本研究の目的は三叉神経領域への侵害性刺激に対する循環動態および副腎髄質機能の影響を知るために検討した。すなわち、ハロタン吸入下ラットにおいて、三叉神経第II枝である上顎神経末梢部に電気刺激を与え、その前後の心拍数および血圧の変動を測定し、同時に副腎カテコールアミン分泌速度の変動を測定した。

II 方法

Wistar系雄性ラット(8~14週齢)を用い、刺激群および無刺激群の2群にわけ比較検討した。麻酔導入はハロタンで行い、その後臭化パンクロニウムを1mg腹腔内に投与し不動化して気管切開を行った。呼吸管理は人工呼吸器を用いて、呼吸回数70回/分、一回換気量14ml/分で行った。麻酔維持はルームエア下0.5%ハロタンにて

行った。体温は36°C~37°Cで体温保持装置を用いて維持した。

血圧は0.1%ヘパリン添加生理食塩水で満たした留置針を右大腿動脈に挿入して圧トランスデューサーを介して血圧測定アンプにて測定した。心拍数は針電極を四肢に刺入して心電図記録を行い、R-R間隔より計測した。

副腎静脈採血の前準備として開腹切開した。その後実態顕微鏡下で副腎静脈にチューブを挿入し、経時的にヘマトクリット毛細管で40 μ l採血した。

採血した試料は12,000回転、5分間、遠心分離を行った。その上清を10 μ l採取し、500倍希釈した。希釈した試料はマレイミド/ほう酸水溶液と1.0Mの亜塩素酸で除蛋白して、0.4Mのほう酸カリウムでpH2~4に調整し、遠心分離後、その上清液を高速液体クロマトグラフィーへ注入した。カテコールアミン基に結合するジフェニルエチレンジアミンに自動的にラベルされた後、蛍光検出器で血漿カテコールアミン濃度を測定した。測定後、副腎のカテコールアミン分泌速度をヘマトクリット値、副腎静脈血流量、体重から求めた。

刺激電極に歯科用リーマーを用い、刺激部位を三叉神経第II枝(上顎左右切歯歯髓)に設定した。上顎左右切歯を露髄させた後、刺激電極を約10mm挿入した。歯科用即時重合レジンで絶縁し、電気刺激装置に接続した。電

気刺激条件は刺激強度5.0mA, 接続時間500 μ secの矩形波, 50Hz, 10秒間行った。

採血時間は刺激開始前1分・刺激終了直後・刺激終了1分後・3分後・5分後・10分後・20分後に行った。心拍数・血圧測定時間は刺激前・後1分間は15秒毎, その後は採血時に測定した。

III 結 果

III-1 循環動態

三叉神経電気刺激により, 心拍数は刺激終了直後から増加傾向を示し, 刺激終了後20分には無刺激群とほぼ同じレベルに戻った。一方, 収縮期・拡張期血圧は共に刺激終了直後に上昇し, 刺激終了後30秒まで急激に下降を認めた。

III-2 カテコールアミン分泌速度

三叉神経電気刺激により, 副腎エピネフリン分泌速度は増加し, 刺激終了後10分には無刺激群と比較して有意な増加を示した。一方, 副腎ノルエピネフリン分泌速度は刺激終了直後より増加し, 刺激終了後5分まで続いた。エピネフリン, ノルエピネフリン共に20分後には無刺激群とほぼ同じレベルに戻った。

IV 考察・まとめ

今回副腎のカテコールアミン分泌速度を副腎髄質機能の指標として用いた。その理由として血漿カテコールアミンが高濃度で刺激直後の少量採血で測定できる。また,

分泌速度はラット個体や採血時間により副腎静脈血流量に差があるため, カテコールアミン濃度よりも副腎髄質機能を的確に把握できるためである。

三叉神経電気刺激により心臓迷走神経を抑制し心拍数は増加したと考えられた。また刺激後持続的に増加を示した理由は, 右副腎静脈から分泌したエピネフリンの β_1 作用によるものと考えられた。一方, 血圧は血管収縮神経に影響を与え, この血管収縮線維末端からノルエピネフリンなどにより血管が収縮したことや, エピネフリン分泌による心拍出量増加により上昇したと推察された。

三叉神経電気刺激により副腎静脈のカテコールアミン分泌速度は, エピネフリン分泌速度が無刺激群と比較して刺激終了10分後に有意な上昇を認めた。これは三叉神経電気刺激という侵害刺激により交感神経—副腎髄質系に影響を与え, 副腎髄質中のクロマフィン細胞からエピネフリンが分泌したと考えられた。しかし, 同条件下の三叉神経電気刺激後, 副腎交感神経の遠心性放電活動は刺激終了30秒後に術前とほぼ同じレベルを示すという報告がある。また, 胸部や後肢へ侵害性刺激した報告とも異なった。そのため, 三叉神経領域へ刺激をしたため交感神経を介さない因子が, 副腎髄質のクロマフィン細胞を刺激したと考えられた。

以上の結果から, 三叉神経領域に侵害性刺激を10秒与えると, 副腎髄質機能の影響が持続した。さらにそれに伴い循環機能にも影響を及ぼすことが示唆された。

学位論文審査の要旨

歯科治療における不整脈や異常高血圧などの偶発症の発症は, 三叉神経への痛み刺激が交感神経系に影響して生じると考えられている。そこで, 本研究の目的は三叉神経領域への侵害性刺激が循環動態および副腎髄質機能の影響を知るために検討した。すなわち, ラットにおいて, 三叉神経第II枝である上顎神経末梢部に電気刺激を与え, その前後の心拍数および血圧の変動を測定した。また, 同時に副腎静脈から採血し, 副腎カテコールアミン分泌速度を計測した。

その結果, 三叉神経電気刺激により, 心拍数は刺激終了直後から刺激終了10分前まで上昇した。一方, 収縮期・拡張期血圧は共に刺激終了直後に上昇し, 刺激終了30秒後に下降した。

三叉神経電気刺激により, 副腎エピネフリン分泌速度は刺激終了10分後に無刺激群と比較して有意な増加を認めた。一方, 副腎ノルエピネフリン分泌速度は, 刺激終了直後より増加し, 刺激終了5分後まで続いた。エピネ

フリン, ノルエピネフリン共に20分後には無刺激群とほぼ同じレベルに戻った。

これらの理由として三叉神経電気刺激により心臓迷走神経を抑制し心拍数は増加し, また刺激後持続的に増加を示した理由は, 副腎エピネフリンの β_1 作用によるものと考えている。一方, 血圧は血管収縮神経に影響を与え, 交感神経末端のノルエピネフリンなどによる血管の収縮および心拍出量増加により上昇したと考えている。

三叉神経電気刺激により, 副腎エピネフリンは刺激終了10分後まで上昇を認めた。これは三叉神経への電気刺激により交感神経—副腎髄質系に影響を与え, 副腎髄質のクロマフィン細胞からエピネフリンが分泌したと考えている。三叉神経への電気刺激は中枢への影響が強く, 副腎のエピネフリン分泌が持続しやすい事を推考している。また, クロマフィン細胞にはエピネフリン分泌に関与するインターロイキン1 β が存在している。インターロイキン1 β 濃度も刺激後無刺激群と比較して有意な増

加を認めた。このインターロイキン 1β はエピネフリン分泌の持続に関与したものと推察している。

以上の事から、三叉神経領域に電気刺激、すなわち侵害性刺激を10秒与えると、副腎髄質機能の影響が持続し、

さらにそれに伴い循環機能にも影響を及ぼすことを示唆している。

よって、本論文は審査の結果、歯科麻酔学の発展に寄与するところ大であり、学位論文に値すると判定した。

氏名・(本籍)	北 所 弘 行 (北海道)
学位の種類	博 士 (歯学)
学位記番号	甲 第73号
学位授与の日付	平成11年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor (HGF/SF) によるヒト口腔扁平上皮癌細胞の浸潤シグナルの検討 —特に低分子量GTP結合蛋白質Rhoの関与について—
論文審査委員	主 査 教 授 有 末 眞 副 査 教 授 賀 来 亨 副 査 教 授 田 隈 泰 信

論 文 内 容 の 要 旨

I. 緒 言

口腔癌細胞の持つ浸潤・転移能は、癌治療の予後を左右する重要な因子と考えられている。また、この癌細胞の浸潤・転移能は、周囲環境を構成する宿主細胞が産生する様々なサイトカインによって促進されることも明らかとなってきた。今回、検討に用いた肝細胞増殖因子 (Hepatocyte Growth Factor, 別名Scatter Factor: HGF/SF) は、当初、肝細胞の増殖促進作用を有するサイトカインとして見出され、その後、上皮系細胞の分散運動を促す作用を有すること、近年、宿主線維芽細胞が産生するHGF/SFがパラクリンのに癌細胞に作用し、その浸潤能を促進する現象が報告され注目を集めている。しかしながら、HGF/SFがヒト口腔扁平上皮癌細胞に対し、どのような影響を及ぼすかについては不明な点が多いままとされている。

一方、低分子量GTP結合蛋白質Rhoは近年アクチン細胞骨格を制御し、細胞の運動や接着などを調節しているキーレギュレーターとして注目され、また、細胞接着斑構成成分であるFAK (Focal Adhesion Kinase) などの

制御に深く関与し、細胞運動能に極めて重要な役割を担っていることが示されてきている。そこで、本研究では、HGF/SFがヒト口腔扁平上皮癌細胞の浸潤・転移能に及ぼす影響とそのシグナル伝達におけるRhoの役割について検討した。

II. 方法および結果

1. HGF/SFが口腔癌細胞の浸潤能に及ぼす影響

*in vitro*浸潤アッセイにより3系のヒト口腔癌細胞 (SAS, Ca9-22, HSC-3) のHGF/SF (10ng/ml) 刺激による浸潤能の変化を検討したところ、いずれの癌細胞も1.3~2倍の浸潤能の促進が認められた。また、Matrigel™を用いたBoyden chamber法にて口腔癌細胞のHGF/SFによる再構成基底膜通過能への影響を検討した結果、SAS細胞のみ1.4倍の亢進が認められた。つぎに、HGF/SF刺激に最も高い反応性を示したSAS細胞を用い、HGF/SF処理濃度が及ぼす影響を検討したところ、濃度依存的に浸潤能の亢進が認められた。

2. HGF/SFが口腔癌細胞の運動能に及ぼす影響

phagokinetic track assayにより3系の口腔癌細胞の