

## 〔学会記録II〕

## 東日本歯学会第19回学術大会 一般講演抄録

## 1. Percoll遠心分離法によるラット顎下腺導管細胞の単離

○根津 顕弘, 谷村 明彦, 東城 庸介  
(北海道医療大学歯学部歯科薬理学講座)

【目的】精製された唾液腺導管細胞標本を得ることは、導管系における分泌調節機構や情報伝達機構を解明する上で極めて有用である。本研究では、Percoll遠心分離法によるラット顎下腺導管細胞の単離を試み、本分離法の有効性を確かめるとともに調製された導管細胞の受容体アゴニストに対する反応性を検討した。

【方法】1) 単離顎下腺導管細胞の調製：ラットの顎下腺組織を十分に細断し、コラゲナーゼPを用い顎下腺細胞を分散化した。次に、40%Percollを含む等張化した緩衝液を用いて遠心分離を行った。2) カリクレイン活性測定：細胞のホモジネート上清に発色基質であるN $\alpha$ -ベンゾイル-DL-アルギニン-p-ニトロアニリド塩酸塩を加え、直ちに分光光度計にて405nmの吸光度を経時的に測定した。3) 細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 測定：Ca<sup>2+</sup>蛍光指示薬であるfura-2/AMを調製した細胞に取り込ませ、蛍光光度計を用いて測定した。

【結果および考察】Percoll遠心分離により、顎下腺細胞は遠心管の上部と底部の2つの細胞群に分離された。光学顕微鏡観察において、上部細胞群には特徴的な管状構造を有する導管様の細胞が多く見られ、腺房様の細胞はほとんど観察されなかった。また導管細胞のマーカー酵素であるカリクレイン活性を測定したところ、上部細胞群のカリクレイン活性は底部細胞群の約4.5倍であった。さらに上部細胞群をカルバコール、フェニレフリンおよびイソプロテレノールで刺激したところ、全ての受容体アゴニストで有意な[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇が認められた。

本方法によって調製された上部細胞群は、大部分が導管細胞であることが示された。得られた導管細胞は受容体刺激に対して十分な反応性を保持していた。以上の結果から、Percoll遠心分離法は導管細胞の調製方法として非常に有用である事が確かめられた。

## 2. マラッセ上皮細胞が発現する炎症性サイトカインに関する研究

○劉 芳\*\*\*, 西村 学子\*\*\*, 草野 薫\*,  
安彦 善裕\*, 賀来 亨\*

(\*北海道医療大学歯学部口腔病理学講座・\*\*同済大学 児童口腔医学研究所・  
\*\*\*北海道医療大学歯学部中央検査部)

【目的】歯根嚢胞は感染根管に伴う生体の防御反応として形成され、裏装上皮による歯根膜や歯槽骨などの内部環境の保護と、炎症による細菌への抵抗を行っている。様々な上皮細胞自身もある種のサイトカインを分泌し、炎症へ関与していることが明らかになってきているが、歯根嚢胞裏装上皮のサイトカインの発現様式については

不明である。この裏装上皮がマラッセ上皮遺残由来であることから、本研究では、in vitroでのマラッセ上皮細胞の炎症性サイトカインの発現様式について検索し、歯根嚢胞裏装上皮の炎症における役割について議論することを目的とした。

【材料および方法】細胞には、ブタ歯根膜より単離した