

が確認された。このようなEpiに対する反応性の違いには導管細胞の細胞膜表面のアドレナリン受容体やCa²⁺ストアのイノシトール三リン酸受容体の発現量が関与していると考えられる。今後はこれ

ら受容体の発現とCa²⁺反応の関係について検討していく予定である。

マウス味蕾細胞における、神経栄養因子のNGF, NTN, およびそれらのレセプターTrkA, GFRα2の発現

○川越俊太郎*, 奥村 一彦*, 内田 暢彦*, 伊藤 昭文*, 柴田 考典*, 鈴木 裕子**, 武田 正子**

*北海道医療大学歯学部口腔外科学第1講座, **北海道医療大学歯学部口腔解剖学第2講座

【目的】 NGF (nerve growth factor) とNTN (neurturin) は、ニューロンの増殖、分化、生存維持に関与する神経栄養因子 (neurotrophic factor) である。本研究は二重免疫染色法を用いて味蕾細胞に、NGFとNTN、およびそれらのレセプターのTrkAとGFRα2が発現するかどうかを検索した。また、これらが発現した場合、味蕾の中のどの型の細胞に発現するかを合わせて検索した。

【方法】 正常マウスの有郭、葉状、および茸状乳頭の凍結切片を作製し、それぞれの抗体を用いて蛍光抗体法を行った。味蕾のⅢ型細胞は神経との求心性シナプス接合を持つが、この細胞にNCAMが発現し、またⅢ型細胞と一部のⅡ型細胞にPGP9.5が、他のⅡ型細胞にα-gustducinが発現することが報告されている。そこで本研究では、味蕾の細胞型を決めるためのマーカーとしてNCAM、PGP9.5、およびα-gustducinの抗体を使用して二重染色を行い、共焦点レーザー走査顕微鏡で観察した。

【結果】 正常の味蕾細胞は、NGF、NTN、TrkA、およびGFRα2を発現した。二重免疫染色後では、ほとんどすべての抗NCAM、抗PGP9.5、および抗α-gustducin免疫陽性細胞は、NGFにも陽性を示した。このことから、NGF免疫陽性細胞にはⅡ型とⅢ型細胞、そしておそらくはⅠ型細胞も含まれることがわかった。ほぼすべての抗PGP9.5陽性細胞は、TrkA、NTN、そしてGFRα2に陽性を示した。これはⅢ型細胞がTrkA、NTN、GFRα2を発現することを示している。しかし他の型の細胞もこれらのレセプターやNTNを発現した。

【結論】 これらのことから、味蕾細胞に発現するNGFとNTNは、自己および近隣の細胞のレセプターのTrkAとGFRα2に結合することにより栄養効果を及ぼし、さらにⅢ型細胞から味覚神経へのシナプス伝達にも関与するのではないかと推測された。

癌細胞の同所移植法による頸部リンパ節転移の観察

—組織片移植と細胞注入移植の比較—

○伊藤 昭文*, 奥村 一彦*, 村岡 勝美**, 川越俊太郎*, 荒川 俊哉***,

安彦 善裕****, 細川洋一郎*****, 柴田 考典*

*北海道医療大学歯学部口腔外科学第1講座, **口腔外科学第2講座, ***口腔生化学講座,

****口腔病理学講座, *****歯科放射線学講座

【目的】 すでに我々は、高浸潤性舌扁平上皮癌細胞SAS-H1に緑色蛍光蛋白 (GFP)，本GFP遺伝子を導入し、GFP高発現安定化細胞であるSAS-H1/GFPを作製後、ヌードマウスの舌へ同所移植すると、原発巣の局所浸潤と頸部リンパ節転移が認められることを報告した。そこで今回は、先に行なった細胞注入移植法と比較し、組織片移植法を用いて、原発巣の進展度と転移巣の発現頻度について検討することを目的とした。

【方法】 SAS-H1/GFP細胞を、ヌードマウスの背部皮下に2×10⁶個/20μl: PBS (リン酸緩衝液) の細胞浮遊液を注入し、1週経過後に形成された腫瘍塊を摘出後、各組織片 (0.5×0.5×0.5 mm, 1×1×1 mm, 2×2×2 mm) を切り出した。得られた組

織片を舌粘膜下に埋入し、経時に実体蛍光顕微鏡による観察を行った。また、同時に転移巣と周辺組織を0.2% gluteraldehyde添加2% formaldehydeで固定後、凍結切片を作製し蛍光顕微鏡で微小転移の検討を行った。

【結果】 細胞注入移植法と比較して組織片移植法は、原発巣の腫瘍増殖性が高く、膨脹性に発育するため、局所浸潤の観察には適さないことが示された。また、組織片移植法による頸部の観察においては、リンパ管内の癌細胞の微小集団が観察されるとともに、細胞注入移植法と比較して、早期に頸部リンパ節転移が認められた。

これらのことから、組織片移植法において、頸部リンパ節転移を早期に観察できることが明らかとなった。

ラットにおける固形から粉末飼料への変更が自発運動に及ぼす影響

○岩崎 一生, 横山 雄一, 平井 敏博, 牧浦 哲司, 越野 寿, 田中 慎介

北海道医療大学歯学部歯科補綴学第1講座

【目的】 ストレス応答に関して、視床下部一下垂体-副腎皮質系が重要な役割を果たしている。また、神経-内分泌-免疫系の相互作用が指摘されている。われわれはラットにおける咬合・咀嚼障害が

対角帯核・内側中隔核のコリン作動性ニューロン数を減少させること、記憶・学習機能を低下させることなどを報告した。一方、ラットの習性に反する飼料による飼育が情動ストレスとなり、日常動作

や活動能に影響を及ぼすことが推測される。そこで、咬合・咀嚼と脳機能との関連を検討する目的で、ラットにおける固形飼料から粉末飼料への変更が自発運動量と脳内セロトニン(5-HT)濃度に及ぼす影響を検討した。なお、5-HTは副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)を介して副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)の分泌を惹起することが報告されている。

【方法】 実験では、Wistar系雄性ラットを用い、6週齢からの実験期間中を固形飼料にて飼育する固形飼料群と、17週齢から固形飼料と同一成分の粉末飼料にて飼育する粉末飼料群の2群を設定した。

自発運動量の測定には小動物運動解析装置を使用し、各群5匹ずつの暗期12時間と明期11時間の運動量を測定した。また、5-HT濃

度は、飼育飼料変更1, 3, 5, 7日後において、各群10匹から海馬を摘出し、高速液体クロマトグラフィーで測定した。

【結果と考察】 固形飼料群における自発運動量は加齢に伴い減少した。粉末飼料群における自発運動量は飼料変更直後に有意に増加し、18週齢時に最大値を示した。それ以後、漸次減少するものの、30週齢の時点においても固形飼料群のそれには至らなかった。一方、粉末飼料群における5-HT濃度は、固形飼料群のそれに比して、3日後、7日後で有意な増加を示した。これらの結果から、ラットへの習性に反する粉末飼料給餌が情動ストレスとなって5-HT濃度を増加させ、粉末飼料群における自発運動量の増加を引き起こす可能性が示唆された。

歯科鋳造用Ag-In合金の耐食性向上に関する研究

○中嶋 智仁、遠藤 一彦、大野 弘機、川島 功、山根 由朗、柳 智哉
北海道医療大学歯学部歯科理工学講座

【目的】 Ag-In合金(JIS第2種銀合金)は、金銀パラジウム合金に統いて2番目に多く生産されている歯科鋳造用合金である。本合金には、InやZnなどの卑金属が多く配合されているため、その耐食性は他の貴金属合金と比較すると著しく低い。したがって、Ag-In合金は、唾液に直接触れる用途には使用せず、主に、歯台築造に使用されている。そこで本研究では、Ag-In合金に微量のAuを添加することによって、耐食性を向上させることを目的とした。

【方法】 Ag-20InにAuを1~6%添加した合金を作製し、0.9%NaCl溶液中で耐食性を評価した。試験片は、通法にしたがって14x14x1mmの大きさに鋳造した。合金試料は、表面を0.05μmのアルミニナ懸濁液を用いて鏡面に仕上げた。合金試料の腐食挙動は、超高純度Arガスで脱気した0.9%NaCl溶液中で、動電位分極法を用いて調べた。自然浸漬状態における合金試料の耐食性は、合金表面の分光測色測定と交流インピーダンス測定を行うことによって評価した。

【結果および考察】 実験合金の分極曲線を測定した結果、Au含有量の増加とともに腐食電位は貴となり、低電位領域(-150 ~ +100 mV)における電流密度は低下した。この結果から、Ag-In合金の低電位領域におけるアノード反応は、Auを1%添加することによって効果的に抑制されることが明らかとなった。Ag-20In合金におけるΔEa*b*の値は、浸漬1日後に急激に増加し、その後は時間の経過とともにわずかに増加した。Auを1~6%含有する3種類の合金試料は、ΔEa*b*の値がAg-20In合金と比較すると約1/2と小さく、耐食性が向上していることが分かった。交流インピーダンス法で得られた分極抵抗の値から、合金の腐食速度は、Au含有量の増加とともに低下することが確かめられた。

以上の結果から、Auを微量添加することによって、Ag-In合金の0.9%NaCl溶液中における耐食性を改善できることが明らかとなった。

Properties of an experimental prosthetic resin composite containing finely powdered enamel

○Masaki Sakamoto, Kanae Toda, Tatsuhiro Hidaka, Sayaka Fujiwara and Kunio Yamamoto
Health Sciences University of Hokkaido, School of Dentistry

【Purpose】 Mechanical strengths and wear resistance of prosthetic resin composites have recently been improved due to a significant increase in the filler/matrix ratio. However, it may have adverse effects on antagonistic dentition when composite restoratives contain large amounts of hard filler particles. In the present study, we used finely powdered enamel as a filler to develop a prosthetic resin composite that has good mechanical properties and no potential to abrade opposing tooth structure.

【Materials and Methods】 Crowns of bovine teeth were ground into powder by a crusher, and then the enamel particles were separated from the powder by centrifugation in bromoform-ethanol solution at a rotation speed of 3,000 rpm for 10 min. The particle size distribution of the enamel powder was determined by the laser diffraction particle size analyzer. The resin matrix consisted of UDMA (60 mole %) and Tri-EDMA (40 mole %). Camphorquinone (0.5 mass %) was added to the monomer as a photo-initiator. Fillers were incorporated directly into

the resin matrix in amounts of 80 or 85 mass %. The hardness (Hv) of the specimens was measured on a Vickers Hardness Tester under a 1kg load. The bending strength was measured using a universal testing machine operated at a cross-head speed of 1 mm/min.

【Results and Discussion】 Scanning electron micrographs showed that the enamel particles are characterized by their prismatic shape, probably due to the structure of the enamel rod. The size of the particles ranged from 0.2 μm to 100μm. An increase in filler content resulted in an increase in the HV and the bending strength of the resin composite. The average hardness value and the average bending strength for specimens having 85 mass % filler that had been subjected to heat treatment after light-curing were higher than those for most commercially available resin composites. This finding suggests that the experimental resin composite having a large amount of finely powdered enamel would be used clinically for inlays and full-coverage crowns.