

部位では、低ストレス群に発生部位が多くみられた。

従って、高ストレス群でも定期的で自己の意識的な訓練を5回繰り返すことによって、ストレスの軽減と歯科技能の向上を図れることが示唆された。

### 7) 肺炎レンサ球菌 *Streptococcus pneumoniae* の迅速鑑別法の開発

○鈴木 奈央, 清浦 有祐

(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

(目的) 肺炎レンサ球菌 *Streptococcus pneumoniae* は、健常人の咽頭や口腔内に常在し、特に幼児や高齢者の日和見感染源として重要である。近年、PCR判定で *S. pneumoniae* 標的遺伝子として広く使われる *lytA* や *ply* に対して陽性を示す鑑別困難な口腔レンサ球菌が出現し問題になっている。本研究では、遺伝学的に最も近似する *Streptococcus mitis* と subtractive hybridization を行い、標準株の遺伝子の違いを調べ、さまざまな臨床分離株から *S. pneumoniae* を正確に鑑別する新しいPCRプライマーの開発を試みた。

(方法) 標準株 *S. pneumoniae* WU2株と *S. mitis* 903株の染色体DNAについて subtractive hybridization を行った。両端に一部相補配列を持つ2種類のアダプターを付加した *S. pneumoniae* DNA断片とアダプターを付加しない大過剰の *S. mitis* DNAをハイブリダイズさせた後、5'末端のアダプターをプライマーに用いてPCRを行い、*S. pneumoniae* WU2株DNAに存在し *S. mitis* 903株DNAに存在しない塩基配列を増幅し、クローニングした。

(結果) 200個のDNAライブラリーのうち、無作為に選択した92個の挿入塩基配列を決定したところ、46個がデータベース上で *S. pneumoniae* 以外の塩基配列と相同性を示さなかった。そこで46対のプライマーを設計し、20種類の口腔細菌の標準株を用いてPCR評価すると、19対が *S. pneumoniae* 特異的であった。さらに、フィールド調査で単離した *lytA* あるいは *ply* 遺伝子陽性の口腔レンサ球菌を用いたプライマーの評価では、2対のプライマーが *S. pneumoniae* 特異性を示した。

(結論) subtractive hybridization より得た特異塩基配列をもとに、2対の *S. pneumoniae* を正確に鑑別するPCRプライマーを見出した。本研究の成果は、簡便・迅速が要求される臨床診断に大いに役立つと期待できる。

### 8) 口腔癌細胞HSC-3におけるPTHrP遺伝子発現のレチノイン酸による制御

○阿部 匡聡, 原元 信貴, 伊藤 秀文, 川根 徹也

松沼 礼子, 前田 豊信, 堀内 登

(奥羽大・歯・口腔機能分子生物)

(目的) 副甲状腺ホルモン関連タンパク質 (PTHrP) は悪性腫瘍に伴う高Ca血症の因子として同定され、その後、keratinocyteなどの正常細胞でも合成されていることが明らかにされ、autocrine/paracrine factorとして細胞の分化、増殖を制御する因子として注目されている。我々は、口腔癌細胞HSC-3におけるPTHrP遺伝子発現に対するレチノイン酸の作用について検討した。

(方法) PTHrP mRNA発現量は、細胞からtotal RNAを抽出し、Northern blot法により測定した。培地へのPTHrP分泌量はPTHrP EIAにより測定した。

(結果) all trans-レチノイン酸 (tRA) はPTHrP mRNA発現およびPTHrP分泌を用量依存的に抑制した。また、9-cis-レチノイン酸もtRAと同程度の抑制効果を示した。tRAのPTHrP mRNA発現に対する効果のtime courseを検討したところ、コントロール群と比較して、1時間から発現量の有意な低下が認められ、12時間で抑制効果は最大となった。また、tRAはPTHrP mRNAの安定性を変化させなかった。これらのことから、tRAは転写機構上に作用して発現を抑制していることが示唆された。tRAによるPTHrP mRNA発現の抑制はcalphostin Cの存在下では減弱した。従って、tRAによる抑制効果は、リガンドの結合したレチノイン酸レセプターと、PKCにより活性化を受ける転写調節因子との相互作用を介したものである可能性が考えられる。(結論) 口腔癌細胞HSC-3のPTHrP発現はレチノイン酸により転写、翻訳の両レベルで抑制されることが明らかとなった。