

第39回 奥羽大学歯学会例会講演抄録

(平成17年6月18日)

一般講演

1) ラット顎下腺の発育に伴うBMPおよびその受容体の局在

○色井 亮仁

(奥羽大・大学院・口腔組織構造生物学)

(目的) Bone morphogenetic proteins (BMP) は異所性の骨形成を誘導するタンパクとして発見され、さまざまな細胞に対して増殖や分化、器官形成などの生物学的作用をもつことが明らかにされている。そこでラット顎下腺の発育に伴うBMPおよびその受容体 (BMPR) の局在の推移を免疫組織化学的に検索し、比較検討した。

(材料) 胎生20日齢から生後50日齢のWistar系雄性ラット顎下腺を用いた。

(方法) 方法はPLP固定液にて固定後、厚さ10 μ mの凍結切片を作製し、通法に従い免疫染色し、DABにて発色、メチルグリーンにて核染色後、顕微鏡観察した。研究に用いた抗体は、BMP-2, 4, 7およびBMPR-I, IIの5種類である。

(結果) BMP-2, BMP-4の局在は、胎生20日齢において腺房様細胞集団の一部の細胞に観察されたが、生後0日齢以降、腺房における反応性は減弱し、生後14日齢以降、BMP-2は導管系にのみ確認され、BMP-4は、腺房、導管系ともに認められなかった。BMP-7は、生後7日齢から導管系に陽性反応が認められ、生後50日齢では介在部を除くすべての導管系が陽性を呈した。BMPR-I, -IIは、胎生20日齢では、腺房様細胞集団の一部で陽性であったが、増齢に伴い減弱し、生後14日齢以降、腺房では陰性であった。また、導管系においては生後0日齢より弱陽性反応がみられ、増齢に伴い増強した。

(考察) 胎生20日齢から生後50日齢までの顎下腺におけるBMPおよびBMPRの発現を検索し

た結果、BMP, BMPRはともに顎下腺の発育に関連していることが明らかとなった。加えて、終末部の分化には、BMP-2, BMP-4が、導管系の発達には、BMP-2, BMP-7が関与していることが示唆された。

2) ラット下歯槽神経損傷後の経時的变化に関する実験的研究 一定量形態学およびHRP神経標識法による検索一

○林 由季

(奥羽大・大学院・顎口腔外科学)

(緒言) 本研究では、下歯槽神経損傷後の知覚神経の形態および機能的な回復経過を知ることが目的に、組織学的、免疫組織化学的ならびに定量形態学的に観察した。

(実験方法) 生後8週齢のWistar系ラットを用い、フロセン全身麻酔下で下顎正中部に皮切を加え、下顎骨を明示後、オトガイ孔より5mm後方の頰側皮質骨に歯科用ダイヤモンドディスクを用いて、下顎下縁に垂直な幅0.2mm、長さ2.5mmの損傷を加えた。反対側は非実験側とし、対照とした。

(検索内容) 検索期間を損傷後3, 7, 14, 28, 42日とし損傷部末梢側の下歯槽神経採取後、6 μ mの切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色、Gomoriトリクローム染色およびHolmes鍍銀染色を用いて観察した。また、三叉神経節内のHRP神経標識細胞については、horseradise peroxidase (HRP) 神経標識法にて観察した。まず、オトガイ神経を明示し切断した後、断端に10% wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase (WGA-HRP; TOYOBO) 溶液を浸潤させ、48時間後に灌流固定を行い、三叉神経節を摘出、60 μ mの連続切片を作製、tetramethylbenzidine (TMB) を用いてHRPを可視化した。

(実験結果) 1. 下歯槽神経の損傷後14日まで、神経線維の変性がみられ、髄鞘や軸索の減少が認

められた。2. 損傷後14日まで、三叉神経節内のHRP神経標識細胞数は平均100個未満であった。3. 損傷後14日を過ぎると、髄鞘やシュワン鞘の形態回復と軸索数の増加傾向がみられ、損傷後42日の軸索数は対照側の約1.5倍に増加した。4. HRP神経標識細胞は、損傷後28日以降に増加傾向がみられ、HRP逆行性輸送の再開が示唆されたが、損傷後42日におけるHRP神経標識細胞数は対照側の約半分であった。

3) 情動ストレス負荷時における圧受容体反射の感受性

○増淵 正彦

(奥羽大・歯・口腔機能分子生物)

歯科診療中の偶発症には、ショック、出血、血圧変動、術後感染などが挙げられる。交感神経、副交感神経、血圧変動の拳動から圧受容体反射系を評価することにより、医療行為中の偶発症に対する診断と対処法を探るべく本研究を計画した。

コントロールとしてのガム咀嚼（「ガムを噛んでもらいます。」）、および情動的ストレス負荷（「局所麻酔を注射します。」）となる言質を各々与え、その前後各々1分間の交感神経（血圧変動）と副交感神経（心拍変動）の活動と、これらの制御中枢として知られる圧受容体反射感受性（BRS, Baroreceptor Reflex Sensitivity）の拳動をモニターして、MemCalc法により解析し、それぞれを比較して評価した。

被験者30名の情動ストレス負荷時とコントロール実験の計測解析パラメーターの推移は、1) 血圧変動はストレス負荷試験とコントロール（ガム咀嚼時）試験ともに実験時に有意な上昇を示し、2) 血管運動性交感神経成分の指標である血圧LF成分は両者とも有意に上昇したが、3) ストレス負荷試験においてはBRSの有意な低下と、交感神経成分とされてきたL/Hはランダムな変化を示し有意差は認められなかった。逆に、4) ガム咀嚼においてはBRSには有意差は認められず、L/Hは有意な上昇を認めた。

ヒトそれぞれストレスに対する反応は異なるが、口腔外科処置やインプラントなどの術前において圧受容体反射感受性が極度に抑制されるよ

うな場合には血圧変動による偶発症に注意を要すると考えられる。それゆえ、非観血的な血圧と心拍のモニターを術前に施すことにより歯科診療時の偶発症を防止できるものと考えられた。

4) 半導体レーザーが血管新生におよぼす影響

○茂呂祐利子, 中川 敏浩, 安部 仁晴

(奥羽大・大学院・口腔組織構造生物学, 歯・生体構造)

(目的) 低出力レーザーは歯科臨床の場で治癒促進などを目的に用いられる。その治癒過程において血管新生は重要な役割を果たしているものの、レーザー照射後の血管新生に対する影響についてはほとんどわかっていない。そこで今回、我々はレーザー照射後の内皮細胞における増殖因子とその受容体VEGF-VEGF Receptor (Flt-1, KDR/Flk-1), Angiopoietin (Ang1, 2)-Tie2および接着因子VE-cadherin, β -cateninの動態について検討を行った。

(材料・方法) レーザー装置はTrinpl 830 PUを使用し、細胞は微小血管内皮細胞を用いた。プレートに細胞を播種し、通法にて2ないし4日間培養後、レーザーを出力密度6.7mW/cm²-60秒の条件下にて1日1回照射し、それぞれの因子についてELISAおよび蛍光抗体法を用いて検索を行った。

(結果) 非照射群と比べ照射群においてVEGF, KDR, Flt-1, VE-cadherin, β -catenin, Ang-1, Tie2の合成量が増加した。さらに蛍光抗体法で観察した結果、照射群における増殖因子の発現は粗面小胞体上に、また受容体は細胞質全体に、接着因子は隣接する細胞間に認められ非照射群に比べ増強していた。

(考察) レーザー照射によりVEGFとKDRの活性化が生じ、細胞の増殖が促進され、VE-cadherin, β -cateninの発現も増強したことにより細胞間の接着が強固になるものと考えられた。さらにAng-1-Tie2およびVEGFの活性化が管腔形成を早期に促す可能性が示唆された。

以上より、レーザー照射は血管新生因子を活性化し、血管新生を促進することが明らかとなった