

第45回 奥羽大学歯学会例会講演抄録

(平成20年6月21日)

一般講演

1) トレハロースは $I\kappa B-\alpha$ の分解を抑制してマクロファージからの炎症性サイトカイン産生を抑制する○田谷かほる, 廣瀬 公治¹, 大橋 明石¹, 浜田 節男¹
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御, 口腔衛生)【目的】トレハロースは2分子のD-グルコースが $\alpha-1, 1$ 結合した二糖類であり, 自然界に多く存在する低齲蝕原性甘味料である。

我々はこれまでに, トレハロースがマクロファージから産生される炎症性サイトカインのmRNAの安定性を低下させることを報告した。しかし, その詳細なメカニズムは依然不明である。

そこで本研究では, マクロファージからの炎症性サイトカイン産生に対する影響について, 標的遺伝子の転写に関与する $I\kappa B-\alpha$ と, 細胞内シグナルトランスダクションの構成要素である p38 MAPKへのトレハロースの効果について検討した。【方法】ICR系雄性マウス(4~8週齢)に, 10%プロテオース・ペプトンを腹腔内注射し, 3日後に採取した腹腔内浸出性のマクロファージを24時間培養後, 実験に使用した。解析は, IL-1 β およびTNF- α 産生量をELISA法で, マウス腹腔マクロファージにおけるトレハロース受容体(T1R3)の発現はRT-PCR法にて検討した。また, $I\kappa B-\alpha$ およびp38 MAPKのタンパク発現はウェスタンブロッティング法にて検出した。【結果と考察】トレハロースは*Porphyromonas gingivalis*由来のLPS刺激により誘導されるIL-1 β , およびTNF- α の産生を抑制した。また, 今回実験で使用したマクロファージに, トレハロース受容体(T1R3)の発現が認められた。さらに, トレハロースは $I\kappa B-\alpha$ の分解を抑制したが, p38 MAPKのリン酸化には影響を及ぼさな

かった。

以上の結果より, トレハロースは, *P. gingivalis*由来のLPS刺激によりマクロファージから産生される一部の炎症性サイトカインを, 受容体T1R3を介して $I\kappa B-\alpha$ の分解を抑制することにより, 標的遺伝子の転写を抑制し, 炎症性サイトカインの合成を抑制することが明らかになった。従って, トレハロースは骨吸収を抑制する食品として期待され, 将来, 歯周疾患予防を目的とした機能性食品や歯磨剤への配合など応用を考える上で, 興味ある知見と思われる。

2) 魚類における味上皮特異的に発現するGタンパク質の局在

○福山 悦子, 大須賀謙二¹, 丸井 隆之¹(奥羽大・大学院・顎口腔外科,
奥羽大・歯・口腔機能分子生物)アミノ酸や, 苦・甘味の受容には, Gタンパク質共役型受容体(G-protein coupled receptor, GPCR)が関与していることが明らかにされている。これまでに, 魚類のコイの味上皮から, RT-PCRによって得られたGPCRの部分配列が, 哺乳類の味細胞に特異的に見られるGタンパク質である α -gustducinと高い相同性を持つ配列が認められた。しかしながら, 市販されているラットの α -gustducinに対する抗体は, 魚類では抗原抗体反応を示さないため, この部分配列が齧歯類と魚類では大きくことなっているものと考えられる。本研究ではコイのGタンパク質のアミノ酸部分配列の特徴的なペプチドに対して抗体を作り, コイ味上皮におけるそのGタンパク質の局在を調べることが目的に免疫組織化学的検索を行った。

研究材料としたコイのヒゲを切断し, 4%パラホルムアルデヒド-0.1Mリン酸緩衝液と0.25%グルタルアルデヒドの混合液中で固定を行った。免疫組織化学実験には, コイの味上皮由来のGタンパク質のアミノ酸配列のうち20個の特異的な配

列(-IDFGDAARADDARQLFVLAG-)を抗原ペプチドとした一次抗体を作製して用い、二次抗体としては市販のHRP標識されたヤギ抗ウサギIgG抗体を用いた。発色は0.02% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)で行い、対照試験として一次抗体を除いたblank試験と、免疫反応の特異性を検定する免疫吸収試験を行った。

結果は、コイ味上皮の味蕾の中の一部の細胞に免疫陽性反応が見られた。また、対照試験の結果より、作製した抗体が特異的にコイの味細胞に反応していることを確認することができた。近年、分子生物学的に味覚受容体の解析が急速に進められており、哺乳類においては甘味受容体T1Rと苦味受容体T2Rはそれぞれ味蕾内の別の細胞に存在しており、甘味と苦味を受容する細胞は別であると考えられている。今回の実験結果より、魚類にも哺乳類と類似した、味細胞に特異的に発現するGタンパク質が存在し特定の味細胞によって味覚の受容が行われているが、哺乳類のそれとは異なった塩基配列をもつことが確認された。

3) 局所麻酔後の骨膜注水下における顎骨内残留リドカイン濃度の検討

○小川 幸恵

(奥羽大・大学院・生体管理)

【緒言】観血的処置では局所麻酔薬が必須であるが、yamazakiらは臨床的に骨膜剥離下に水や生理食塩水による注水下で局所麻酔薬の作用時間が短縮することを報告した。骨膜剥離注水により何らかの理由で顎骨内リドカイン濃度が低下していることが示唆され、骨膜剥離注水後の顎骨内リドカイン濃度の変化を検討し、考察を加えて報告する。

【実験材料】実験動物：日本白色ウサギ（日本生物材料。センター株式会社）、平均体重3.0kg、雄、13羽。飼育：奥羽大学動物舎（約24℃恒温室ケージ）飼料：ウサギ固形飼料MF(オリエンタル酵母株式会社)、水道水。

【方法】小動物用全身麻酔器を用いて、全身麻酔薬セボフルレンで気管切開後に気管内カニューレを挿入。その後、両側下顎骨骨膜下に2% Lidocaine (1/80,000E)を定量式注射器で0.5ml注

入し、片側のみ骨膜剥離を行い生理食塩水で10分間注水した。兎殺後、両側顎骨片を採取し、骨を破碎後、pH9.18ホウ酸塩0.01M液1mlに懸濁、クロロホルム+メタノール(8:2)液5ml添加し、ポリトロンにてホモジナイズし、遠心分離器を行い、有機相3mlを減圧乾燥固定した。残査をHPLC移動相に溶解し高速液体クロマトグラフにてLidocaine濃度を測定した。統計処理はWilcoxon-t-testを用いて、有意水準 $P<0.05$ とした。

【結果】顎骨内リドカイン濃度は非剥離群の平均値 $1020.7\mu\text{g/g}$ に対し、剥離注水群は平均値 $650.3\mu\text{g/g}$ だった。剥離注水群の顎骨内リドカイン濃度は低下し、危険率4%未満で、強い有意差を認めた。

【考察および結論】骨膜剥離注水を行うと顎骨内リドカイン濃度が有意に低下した。理由として、骨膜剥離注水や骨膜剥離後の骨面からの出血で、顎骨内残留リドカインがwash outされたことが明らかになった。その結果、顎骨における骨膜剥離注水下の処置は局所麻酔効果が短く、約4.3ml注入で約38分しか効果が得られないことがわかった。臨床応用として、教科書では操作に関係なく、2% Lidocaine (1/80,000E)の作用時間は60分と記載されているが、骨膜剥離操作では短縮されるため、短時間で終了させることが必要であり、40分以上を要する場合、伝達麻酔や全身麻酔を適応する。

4) 最大開口時における上気道形態の検討

○伊藤 寛

(奥羽大・大学院・生体管理)

【緒言】歯科治療時の死亡事故126症例中、窒息が21%と高い割合を占め、特に開口器を使用した身体抑制下処置において窒息が高率に起きることが分かった。そこで、大きく開口を保持することにより気道が狭窄する可能性を疑い、開口時の気道変化について検討した。

【対象および方法】健康成人ボランティア13名を対象に最大開口時と閉口時におけるエックス線側貌写真を各一枚ずつ撮影した。また呼吸苦の有無を確認した。

【開口器】高砂社製の万能開口器を使用した。