

により骨細胞がなんらかの刺激を受けると骨髄中の骨芽細胞が活性化し、新生骨が形成されることがわかった。骨細胞はメカニカルストレスのシグナルを骨表面の細胞へ伝えるためにWnt/ β -catenin経路を使用することが明らかになっている。新生骨形成までの間LEF1の発現が見られることから、Wnt/ β -catenin経路の活性化が示唆される。よって、レーザーによるメカニカルストレスは通常の機械的負荷と同様、骨細胞に働きかけWnt/ β -catenin経路を刺激し、骨形成に関与することが示唆された。

4) 炭酸ガスレーザー凝固モード照射による組織変化

—照射条件と組織変化の関係について—

○玉村 清治, 遊佐 淳子, 櫻井 裕子
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【目的】近年歯科臨床において、低出力パルス発振による炭酸ガスレーザーが口腔粘膜表在性病変の治療に用いられ効果をあげている。この治療法は、切除ではなく組織凝固壊死による病変の除去を目的としている点で従来の炭酸ガスレーザーとは治療概念が異なっているが、その根拠となる科学的データは殆ど示されていない。そこで本研究は、この治療法に関する基本的データの提供を目的とし、照射条件と凝固壊死範囲の関係を検討した。

【方法】レーザー発振装置としてパナラスC05Σを用いた。パルス幅600 μ s、休止時間6ms、出力2.5, 5.0, 7.5W、スポットサイズ1.5mm、照射時間10, 20, 30, 40秒の条件でラット背部皮膚上に照射した。1日後に試料を採取し、H-E染色、マッソン・トリクローム染色、およびHsp70免疫染色を施して観察した。

【結果】2.5W照射群では、組織学的に真皮表面で線維構造の緻密化と好塩基性の増加がみられ、照射時間の増加とともにその範囲を拡げた。深部では細胞成分、線維構造ともに明らかな変化は認められなかった。一方Hsp70免疫染色では、組織生存の最前線を表す帯状の陽性細胞層がU字形を呈して実際上の壊死範囲を表示し、その深さは平均20秒：724 μ m、30秒：756 μ m、

40秒：796 μ mであった。5.0W, 7.5W照射群では真皮表面の変性がより著明になり範囲を拡大、蒸散(5.0W20秒)、実質欠損(7.5W10秒)を示し、Hsp70表示による壊死層も深さを増した(5.0W10秒：1063 μ m、20秒：1296 μ m、7.5W10秒：1350 μ m)。統計的には、同じ出力の場合、照射時間の延長による壊死の深化に有意差はみられず、同じエネルギー密度で出力を上昇させた場合に有意な深化がみられた。

【結論】炭酸ガスレーザー凝固モードによる組織加工効果、すなわち凝固壊死の範囲は照射時間よりも出力に強く影響されることが明らかになった。

5) 筋組織の外科的侵襲に伴う神経筋接合部および軸索輸送への影響

○宮下 照展, 高田 訓, 大野 敬
(奥羽大・大学院・顎口腔外科
奥羽大・歯・口腔外科)

【目的】口腔外科領域における再建や形成術により筋組織には剥離、減張、伸展などの手技が加わる。これらの侵襲が筋線維に及ぼす影響、あるいは形態や機能の回復にどのように影響するかを検索する目的で、筋の剥離や支配神経切断後の神経筋接合部と運動終末、神経伝達物質の輸送について観察した。

【材料と方法】本研究では顎二腹筋前腹を使用した。実験群として①前復の起始と停止を温存し、筋腹を周囲組織と筋周膜との間隙で完全に剥離し、微少な神経や血管が周囲から剥離された群、以下筋剥離群。②顎二腹筋前腹の支配神経である顎舌骨筋神経を切断し、反転結紮した群、以下神経切断群の2群を検索した。尚、対照群は未処置の顎二腹筋前復を使用した。観察方法は実験後3, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 84日例、各5匹を使用し、顎二腹筋前腹を摘出し、8 μ mの凍結横断連続切片にてAChE染色、ATPase染色を施し、神経筋接合部のAChE活性について前腹中央部を横断面にて観察し、AChE活性の出現数を検索した。また、この標本をもとに筋線維タイプを識別し、タイプ2C線維の出現率を検索した。脳幹を摘出する48時間前に10%WGA-HRP溶液を顎二腹筋前腹起

始部から中央部に向かってハミルトンマイクロシリンジを使用し、手で10 μ l注入し、その後注入部を生食にて洗浄し、完全閉鎖創とした。48時間後に灌流固定し、最後に10%蔗糖を含むリン酸緩衝液で灌流した。TMB法にてHRP神経標識細胞を可視化し光学顕微鏡により明視野にて観察した。尚、三叉神経運動核に見られるHRP神経標識細胞数はobexを最後方とした60 μ mの凍結連続切片にて出現数を測定し、実験例数の平均値を算出した。

【結果】①AChE活性は両群ともに術後3日例で減少し7日例で消失した。以後、筋剥離群では28日例で再度出現した後、増加傾向を示し、84日例では対照群に対し51.7%まで増加した。一方、神経切断群では84日においても観察できなかった。②HRP神経標識細胞数は両群ともに術後3日例から14日例まで、HRP神経標識細胞は認められなかったが、筋剥離群では術後21日例以降に認められ、徐々に増加する傾向がみられ、84日例では対照群に対し46.1%まで増加した。一方、神経切断群ではHRP神経標識細胞はみられなかった。③タイプ2C線維出現数は両群ともに術後14日例で出現し、以後84日例まで認められた。しかし、出現率は両群間に差がみられ、筋剥離群では術後28日例まで減少し、以後増加傾向を示したのに対し、神経切断群では術後21日例で最も多く出現し、以後84日例まで徐々に減少する傾向がみられた。

【考察】①筋剥離群ではAChE活性が術後28日例で認められたのに対し、HRP神経標識細胞は術後21日例で認められた。すなわち、三叉神経運動路核への逆行性軸索輸送が成立した後、神経筋接合部での神経筋伝達が再開することが示唆された。②神経切断群では術後84日例までAChE活性、HRP神経標識細胞ともに認められず、再神経支配はみられなかった。③両群ともに術後14日例以降にタイプ2C線維を認めたが、術後14日例から21日例までではAChE活性が認められなかったことから、この筋線維は脱神経筋であると考えられた。一方、筋剥離群では術後28日例以降のAChE活性の増加に比例してタイプ2C線維も増加することから、この時期に筋機能も回復す

ることが示唆された。

6) 窒素含有骨吸収抑制薬によるマクロファージの単球走化活性因子1 (MCP-1) とマクロファージ炎症性タンパク質1 α (MIP-1 α) 産生減少

○増田 隆宏, DENG XUE¹, 玉井利代子¹

(奥羽大学・大学院・歯内・歯周療法
歯・口腔病態解析制御)

【目的】窒素含有骨吸収抑制薬 (NBP) は、骨粗鬆症、高カルシウム血症、悪性腫瘍の転移予防など様々な骨関連疾患の治療に用いられている。しかしながら、NBPには炎症性副作用があり、近年、NBP投与患者における顎骨壊死の報告が増加している。一方、NBPの一種であるアレンドロネート (ALD) が歯周病原性細菌が引き起こす炎症性サイトカイン IL-1 β 産生を増加することが報告されている。本研究では、口腔細菌に含まれる菌体成分の合成成分が惹起するマクロファージのケモカイン産生における ALD の作用とそのメカニズムを検討した。

【方法】Toll-like receptor (TLR) リガンドである Pam3CSK4 と lipidA は Invivogen とペプチド研究所から購入した。マウスマクロファージ様細胞 J774.1 は、10%ウシ血清添加 RPMI1640 培地を用いて、5% CO₂, 37°C で3回から6回継代培養後、96穴平底マイクロプレートに1穴あたり2 \times 10⁵個播種した。一晩インキュベート後、同細胞をALD含有または不含の培地で24時間培養後、2回細胞を洗い、上記TLRリガンド (Pam3CSK4:10 ng/ml, lipidA:100 ng/ml) を含む、または含まない培地で24時間インキュベートした。そして、上清中の単球走化活性因子 (MCP-1)、マクロファージ炎症性タンパク質 (MIP-1 α)、トランスフォーミンググロースファクター- β 1 (TGF- β 1) の産生量をELISA法で、J774.1細胞内のカスパーゼ8活性化をFACSScanで調べた。

【結果と考察】1.ALD前処理により、TLRリガンド刺激によるJ774.1細胞のMCP-1とMIP-1 α の産生が減少した。2.ALD前処理によりJ774.1細胞のカスパーゼ8が活性化した。3.ALD前処理は