

または ETI を添加した10%FBS 含有 RPMI 1640 培地で24時間培養した。次に、無血清 RPMI 1640 培地で 2 回洗浄後、Pam₃CSK₄または *P. gingivalis* を添加した10%FBS 含有 RPMI 1640 培地で24時間培養した。それから、上清中の IL-6 を ELISA 法で測定した。

【結果】1. ALD 前処理で *P. gingivalis* または Pam₃CSK₄ による J774.1 細胞の IL-6 産生が有意に増加した。2. ETI 前処理で *P. gingivalis* または Pam₃CSK₄ による J774.1 細胞の IL-6 産生が有意に減少した。3. ALD と ETI を同時に加えて前処理した場合は、ALD 単独前処理と比べて IL-6 産生が有意に抑制された。

【考察】ALD と共に窒素非含有の ETI を併用した時に IL-6 の産生が抑制されたことは、骨吸収抑制作用は強いが炎症を誘導しやすい ALD と骨吸収抑制作用は劣るが炎症性サイトカイン産生を抑制する ETI の併用によって、顎骨骨髄炎・骨壊死の発症を抑制できる可能性が示唆された。

9) ヒト口腔扁平上皮癌細胞 HSC-3 における Hsp47 の発現

○奥山 典子

(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【目的】小胞体在住ストレスタンパク質である Hsp47 はコラーゲン特異的な分子シャペロンであり、その発現はコラーゲン合成と密接に結びついている。しかし Hsp47 はコラーゲン産生細胞である線維芽細胞の他、重層扁平上皮基底細胞や上皮性腫瘍細胞でも発現が認められている。正常上皮において Hsp47 は IV 型コラーゲンの産生を介助することで、基底膜産生に関与することを示唆した報告があるが、その詳細は明らかにされていない。そこで本研究ではヒト口腔扁平上皮癌細胞、HSC-3 を用いて Hsp47 の発現を検討した。

【方法】HSC-3 細胞の培養段階を増殖期、confluent および confluent 後の 3 段階に分け、それぞれにおける Hsp47 タンパク、mRNA の発現を検討した。加えて基底膜の主成分である IV 型コラーゲンおよびラミニン 5 の mRNA 発現を検討した。Hsp47 と IV 型コラーゲンの細胞内局在を調べるために蛍光二重染色を行った。また、

IV 型コラーゲン以外のコラーゲンについても検討を行った。

【結果と考察】Hsp47 の発現は増殖期から confluent にかけて増加し、confluent 後は有意に減少した。IV 型コラーゲンやその他のコラーゲンの発現も同様で、Hsp47 との相関が見られた。ラミニン 5 は増殖期から高い発現を示したが、confluent 後は IV 型コラーゲンと同様に減少し、基底膜産生の低下が示された。また蛍光二重染色ではコロニー中央に比べ、活発に移動している周囲の細胞でともに強い陽性反応を示した。これらの結果から Hsp47 は HSC-3 細胞においてもコラーゲンの産生を介助しており、特に IV 型コラーゲンの産生を介助することで、基底膜産生に関与していることが示された。また、confluent 後は Hsp47 および IV 型コラーゲンを減少させることで基底膜産生を低下させ、腫瘍細胞としての運動性を確保している可能性が示唆された。

10) 窒素含有 bisphosphonates が歯肉線維芽細胞の菌体成分に対する応答に与える影響

○玉井利代子、清浦 有祐

(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【緒言】骨吸収抑制薬である窒素含有 bisphosphonates (NBP) は、炎症性副作用を有し、さらに近年、NBP 投与患者における顎骨壊死の報告が増加している。NBP は、破骨細胞のアポトーシスを誘導することで骨吸収抑制効果を示すが、他の細胞に対しても傷害を与える報告がある。そして、口腔細菌が NBP による顎骨骨髄炎または顎骨壊死の発症誘因として考えられている。本研究では、菌体成分の合成物が惹起する歯肉線維芽細胞のサイトカイン産生に対する NBP の作用を検討した。

【方法】NBP は alendronate を用いた。菌体成分の合成物は、Toll-like receptor (TLR) 2/1 リガンドである Pam₃CSK₄ と TLR4 リガンドである Lipid A を用いた。ヒト歯肉線維芽細胞は歯周炎患者の便宜抜去歯から採取した組織片より分離培養し、継代数 5 から 8 代で供試した。ヒト歯肉線維芽細胞は、10% FBS 添加 α -MEM 培地、5%CO₂、37°C で培養後、96穴平底マイクロプレー