

第49回 奥羽大学歯学会例会講演抄録

(平成22年6月19日)

一般講演

1) キニーネ受容における唾液中Histatin 5の機能

○和田 裕一, 山森 徹雄¹, 清野 和夫²
(奥羽大・大学院・口腔機能回復, 奥羽大・歯・歯科補綴)

(目的) 基本味の中で苦味は毒物を示すシグナルとして知られているが, ヒトの場合には苦味が常に不快な味というわけではなく, むしろ食品の嗜好性において重要な役割を果たす。これまで, キニーネと関連性が深い唾液中タンパク質の検出が試みられてきたが, その相互作用については明らかにされていない。本研究では, キニーネとHistatin 5との結合, およびキニーネに対する唾液中Histatin 5の作用様式を検討することを目的とした。

(方法) 実験1: 分画分子量1,000の遠心式限外濾過フィルターを用いてキニーネとHistatin 5の混合溶液を濾過し, キニーネのフィルター通過率を求めた。

実験2: 本学歯学部学生および教職員50名をキニーネに対する正常閾値群22名, 高閾値群28名に分類し, 2群間における唾液中Histatin 5濃度の差を比較した。

実験3: 本学歯学部学生および教職員17名に対して, Histatin 5プレリンス併用による苦味閾値の変化を比較した。

(結果と考察) 実験1: 0.1mMキニーネ水溶液と0.1, 0.05, 0.01mg/mlのHistatin 5溶液を混合したところ, キニーネのフィルター通過率はそれぞれ66.9, 69.6, 70.1%であり, キニーネとHistatin 5間での結合が確認された。

実験2: キニーネに対する高閾値者群は正常閾値者群に比較し唾液中Histatin 5濃度が有意に低い値を示した。

実験3: キニーネの味覚閾値はHistatin 5含有溶液によるプレリンスにより有意に低下することが示された。

これらの結果より, 唾液中に分布するHistatin 5の量が苦味感受性に影響を及ぼすことが示され, 唾液中Histatin 5量の増加によって苦味感受性を上昇させることが明らかとなった。

(結論) キニーネとHistatin 5の相互作用について検討し, キニーネはHistatin 5と結合することでキャリアタンパクとして作用していることが示唆された。

2) マウスの舌および軟口蓋における味覚受容体の発生過程 —受容体の発生時期と味覚機能発現について—

○加川千鶴生, 大須賀謙二¹, 宗形 芳英¹, 鈴木 康生²
(奥羽大・大学院・小児歯科, 口腔機能分子生物¹・成長発育歯²)

(目的) ほ乳類の味蕾の出現と機能の発現は, 舌および軟口蓋などの部位によって異なると言われている。そこで, マウスの胎生期から離乳完了期における, 味覚受容体の発現時期と特徴を, 口腔器官の発育, 歯の萌出状況にあわせて検索した。

(材料と方法) 実験材料には, 胎生8~生後21日齢のマウス(C57BL/6)を使用した。

1) 味覚受容体の発現の指標となるT1RファミリーのmRNAの発現時期を, RT-PCRを用いて解析した。PCR産物であるDNA断片は, アガロースゲル電気泳動によって分離し, 目的のDNA断片を回収した。

2) 味蕾の機能発現: 免疫組織化学的検索

舌と口蓋を摘出し4%PFAで固定した後にPBSで洗浄し, 内因性ペルオキシダーゼを不活性化し, 通法によりパラフィン包埋し厚さ5 μ mで切片を作成した。その後, 抗Gustducin, 抗mGluR4をそれぞれ1次抗体とし, 二次抗体には緑色蛍光標識抗体であるALEXA Fluor488を用いた。

(結果) 舌が形成される, 胎生11日齢にT1RファミリーのmRNAが発現した。

うま味, 甘みおよび苦味の機能発現は, 軟口蓋が胎生14日齢で最も早く, 茸状乳頭では胎生16日齢, 有郭乳頭は胎生18日齢から抗mGluR4と, 抗

Gustducinの陽性反応がみられた。出生後に味蕾が発現する有郭乳頭の味蕾は、下顎切歯の萌出が開始する生後10日齢頃から増加し、臼歯部の萌出が確認される生後15日齢頃には、成マウスとほぼ同じ味蕾数が確認できた。

(まとめ) C57BL/6マウスにおいては、

①舌形成後からT1RファミリーのmRNAが発現する。

②胎生中期より甘み・うま味を認識する。

③歯の萌出と同時期に味蕾数が増加する。
という結果が得られた。

マウスは、胎生期には、羊水中のグルコース(甘味)やグルタミン酸(うま味)を味わい、出生後には、母乳の成分である乳糖やグルタミン酸の味も認識すると思われる。また、歯の萌出と同時期に味蕾数が増加することから、次に摂取していく固形食餌を味わう準備がなされているとも考えられる。ヒトにおいても、マウスとの発育期間の差はあるものの、乳歯の萌出開始期から萌出完了期にかけて、味覚の成熟が予想されるため、小児歯科では、乳歯の萌出が開始する頃からの離乳食、さらに幼児食に切り替わる時期には、子どもの味覚育成を考慮した食事指導(食育)などの必要性が示唆された。

3) AlendronateによるSmad3活性化を介したサイトカイン産生の制御

○玉井利代子, 杉山 明子, 清浦 有祐
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

(緒言) Alendronate (ALD) は骨吸収抑制薬である窒素含有bisphosphonates (NBPs) の1種である。NBPsは、破骨細胞におけるアポトーシス誘導で骨吸収抑制作用を示すが、他の細胞に対しても傷害を与える報告がある。一方、口腔細菌はNBPs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、菌体成分の合成産物が惹起するヒト末梢血単核球(PBMCs)のサイトカイン産生と転写因子活性化に対するALDの作用を検討した。

(方法) 菌体成分の合成産物はlipid Aを用いた。PBMCsは健常人から採血、Histopaque-1077で分離した後、供試した。同細胞をALD含有または不含の培地で24時間培養、2回洗った後、lipid A含有または不含培地でさらに24時間培養

した。上清中のサイトカイン産生はELISA法で検討した。NF- κ Bの活性はlipid A添加の5時間後に核タンパク質を抽出し、ELISA法で検討した。Smad3抑制実験では、Smad3活性化インヒビターであるSIS3をALD添加の1時間前から培養細胞に加えた。

(結果) 1. ALDによる前処理はPBMCsの、lipid AによるIL-1 β とIL-6産生を増加した一方でIL-8産生とMCP-1産生を抑制した。

2. ALDは、PBMCsの、lipid AによるNF- κ B活性化に変化を与えなかった。

3. SIS3によるSmad3活性化抑制でALD前処理によるPBMCsのIL-6産生増強およびIL-8産生減少が抑制された。

すなわち、ALDによるIL-6産生増強とIL-8産生抑制にはSmad3活性化が必要であることが示された。

(考察) ALDはヒト細胞内にとり込まれるうえに蓄積する。上述の結果は、ALDの長期使用がサイトカイン産生と転写因子活性化に変化を与えることでヒト細胞の口腔細菌に対する反応に影響を及ぼし、顎骨骨髄炎を含む感染症を増悪する可能性を示唆する。

4) CAD/CAM用ブロックを用いたオールセラミックの強度—グレージングの係留時間が強度に及ぼす影響—

○長嶺 学, 坂井 祐真, 西本 秀平, 佐藤 仁昭
中山 奈美, 太田 麻生, 雨宮 幹樹, 林 太一
岡本 望, 大友 悠賢, 宮地 克佳, 影山 勝保
竹内 操, 鎌田 政善
(奥羽大学歯学部歯科補綴学講座、
奥羽大学大学院歯学研究科咬合機能修復学専攻)

(目的) 近年、CAD/CAMシステムの歯科分野への応用が進み、オールセラミック修復が広く行われるようになってきた。一般にCAD/CAM用ブロックは単色であるため、前歯部など高度の審美性が求められる症例では追加焼成を行うことが多い。これまで我々の研究でCAD/CAM用セラミックブロックを繰り返し焼成すると強度が高まることが分かっている。そこで今回我々は、CAD/CAM用セラミックブロックにグレージング焼成を施す際の係留時間が、セラミックブロックの強度に及ぼす影響について検討した。