

は激減し、結果的に全身麻酔回数、来院回数も少なく済むことが明らかになった。

全身麻酔の安全性や快適性が高まっていることから、協力度の低い知的障害者は全身麻酔下で定期的メンテナンスを行うことが有用であると思われる。

10) キトサンオリゴ糖の抗炎症効果

○千葉 有, 寺澤 理恵, 釜田 朗¹, 今井 啓全²
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御, 診療科学¹, 歯科保存²)

【目 的】N-アセチルグルコサミンが β 1, 4グリコシド結合した直鎖はキチンと呼ばれ、キトサンはキチンを濃アルカリ中で脱アセチル化することにより得られる天然高分子多糖類である。近年キチンキトサンを低分子化する技術が確立され、それにより水解可能となり、いわゆる水溶性キチンキトサンも製品化されるようになった。これにより注射による投与も可能となったが、注射した場合の生体に及ぼす影響は不明な点が多い。今回我々は前回の鎮痛効果が最も強く現れた10%キトサンの鎮痛効果が、抗炎症作用に起因するの可否かを検索するため、実験的腹膜炎法によりキトサンの抗炎症作用を調べることを目的とした。

【材料と方法】実験動物は6WのICR雄性マウス。実験薬物は、10%キトサンオリゴ糖溶液、5%アスピリン懸濁液、生理食塩液、0.7%酢酸溶液、1.0% Evans Blueを用いた。方法1として、各実験薬物を1匹あたり0.5ml腹腔内投与、1時間放置したのち0.7%酢酸溶液を1匹あたり0.5ml腹腔内投与した。さらに1時間放置後、頸椎脱臼後開腹して腹膜を含む腹部筋層を切除。通法に従ってHE染色を施し組織を観察した。方法2として1.0% Evans Blueを1匹あたり0.2ml尾静脈投与したのち1時間放置、その後各実験薬物を1匹あたり0.5ml腹腔内投与し、再度1時間放置。0.7%酢酸溶液を1匹あたり0.5ml腹腔内投与しさらに1時間放置。頸椎脱臼後開腹後、腹腔内に5mlの蒸留水を注入、洗浄したのち4mlの色素を回収。遠沈管に3ml移し蒸留水で希釈(全量10ml)、したのち波長610nmで吸光度を測定した。

【結果と考察】①マウスの急性炎症による血管透過性は、対照と比較してアスピリンおよびキト

サンオリゴ糖の投与によって有意に抑制された。

②管透過性の抑制効果はアスピリンとキトサンオリゴ糖間に有意な差は認められなかった。③対照、アスピリンおよびキトサンオリゴ糖間において、病理組織像に大きな相違を認めることはできなかった。

【結 論】キトサンオリゴ糖による鎮痛効果には、キトサンオリゴ糖の抗炎症作用も関与していることが示唆された。

11) お歯黒が生体に及ぼす影響

○寺澤 理恵, 釜田 朗¹, 今井 啓全²

天野 義和³, 千葉 有

(奥羽大・歯・口腔病態解析制御, 診療科学¹, 歯科保存², 奥羽大学³)

【目 的】お歯黒は明治時代初期まで長い歴史を経て続いていた女性の習慣であった。また、お歯黒は虫歯予防の見地からも有効であったと言われている。中国雲南省、ベトナム、タイの少数民族地域では現在でもお歯黒を使用している。お歯黒の塗布後、ほうれん草を食べることにより生体に為害作用が現れるとする記録があるが、その詳細は不明である。そこで今回我々は、お歯黒の成分分析を行い、さらにお歯黒とほうれん草の関連性について検討した。

【材料と方法】1) お歯黒の材料である鉄漿水を一般的な方法で作成し、ICP発光分析法により鉄漿水中に含まれる金属元素を検出した。2) 高速液体クロマトグラフィーを用いて、お歯黒の材料であるふし粉中のタンニン酸含有量を定量した。3) お歯黒の成分である酢酸第一鉄の5%溶液にタンニン酸を加えてタンニン酸第二鉄を作成し、それに蒸留水またはほうれん草の成分であるシュウ酸の5%溶液を加えて、化学的变化を観察した。

【結 果】1) 最も多く検出されたのは鉄であった。また微量ではあるが、クロムやカドミウムなどの有害な重金属も検出された。2) ふし粉中にはタンニン酸が約5%含まれていた。3) タンニン酸第二鉄に蒸留水を加えると液は薄黒く着色し、ほとんどが沈殿したままであったが、シュウ酸溶液を加えると溶液が薄い黄色の均一な溶液となった。

【考 察】タンニン酸は水に溶け込んでいる金属イオンと結合して不溶化させる効果があり、お歯黒においては鉄を取り込んで不溶化している。シュウ酸を添加した場合、シュウ酸により不溶化していた鉄が再びイオン化し、溶液中に溶け出したものと思われる。つまり、シュウ酸によりお歯黒が剥がれて、お歯黒の成分である鉄を過剰に摂取してしまうと考えられる。

【結 論】お歯黒塗布後のほうれん草摂取による生体内への影響の一つとして、鉄の過剰摂取が挙げられた。また、その鉄の過剰摂取はほうれん草に含まれるシュウ酸がお歯黒成分の鉄を遊離させることにより生じると考えられる。

12) *Porphyromonas gingivalis*線毛による単球分化機構の解析

○広瀬 公治¹, 沼田 匠²

(奥羽大・歯・口腔衛生¹, 奥羽大・大学院・口腔保健²)

歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* 線毛が持つ多彩な生物活性が注目されている。本菌線毛は *in vitro* の実験系において、骨吸収を促進することが報告されている。そこで今回我々は、本菌線毛が破骨細胞の形成に作用するかを知るため、ヒト単球/マクロファージ系細胞である U937 をモデルとして用い検討を行った。

線毛は菌体より剥離し、カラムクロマトグラフィーにて精製した。所定の濃度の線毛を U937 に添加し、24～48時間培養を行った。U937 の分化は Fc ロゼット形成能をその指標とした。その結果、線毛は U937 の分化を誘導した。当初24時間で認められた分化促進効果はプロテインキナーゼ C の阻害剤である H7, カルホスチンで有意に抑制された。一方、48時間後における線毛の分化誘導作用は抗 TGF- β 1 抗体で抑制される傾向が認められた。

以上の結果より、歯周病原性細菌線毛は未熟な単球系細胞に対し、早期にはプロテインキナーゼ C を介した経路で、また後期には TGF- β 1 のオートクリンの系を介して分化を誘導することが示された。このことは、歯周局所において菌体構成成分が破骨細胞の形成に関与する可能性を示すものとして興味ある。

13) 真菌によるヒト歯肉線維芽細胞への *Porphyromonas gingivalis* の侵入菌数の増加

○玉井利代子, 菅又 美穂, 清浦 有祐
(奥羽大学・歯・口腔病態解析制御)

【目 的】共凝集などにおける歯周病原性細菌と *Candida albicans* 間の相互作用の報告がある。本研究では、ヒト歯肉線維芽細胞への *Porphyromonas gingivalis* の侵入における *C. albicans* の関与を検討した。

【方 法】臨床分離株 *C. albicans* OH-1 は 1% yeast extract 含有サブローデキストロース培地で 37℃ 好気培養した。*P. gingivalis* 381 はヘミン・メナジオン添加 GAM 培地で 37℃ 嫌気培養した。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。侵入実験では、24 穴平底マイクロプレートに 1 穴あたり 105 播種した。一晚培養後、熱加熱死菌 *C. albicans* 含有または不含の培地で 3 時間前培養した。その後、1 穴あたり 107 の *P. gingivalis* を含む培地で 90 分共培養した。次に、メトロニダゾールとゲンタマイシンを含む培地で 2 時間培養後、蒸留水でヒト歯肉線維芽細胞を溶解、その溶解液をヘミン・メナジオン添加血液寒天培地に播種し嫌気培養した。1 週間後、得られた黒色コロニー数を計測した。ヒト歯肉線維芽細胞の ICAM-1 発現はフローサイトメトリーで、Rac1 活性は ELISA で検討した。

【結果と考察】1. *C. albicans* 死菌の前培養により、ヒト歯肉線維芽細胞への *P. gingivalis* の侵入が有意に増加した。2. ヒト歯肉線維芽細胞の *C. albicans* 死菌による ICAM-1 発現増強はなかった。3. *C. albicans* 死菌によるヒト歯肉線維芽細胞の Rac1 活性化増強がみられた。*C. albicans* 死菌の前培養によるヒト歯肉線維芽細胞への *P. gingivalis* の侵入増加に Rac1 活性化が係わる可能性がある。