

ている。これらのことから、FLS1 細胞では ROCK/actin/MRTF シグナル経路が持続的に活性化し、この細胞の MF への分化が誘導されている可能性が示唆された。実際に、ROCK 阻害剤 Y-27632、アクチン重合阻害剤 CytB、ならびに MRTF 阻害剤 CCG-100602 はこの細胞の MF への分化を抑制した。また、FGF-1 は、F-actin 形成量を低下させると共に、この細胞の MF への分化を抑制した。一方、これらの ROCK/actin/MRTF シグナル経路阻害物質のうち、CytB は FLS1 細胞の生存率を有意に低下させることから、MF マーカーの発現を特異的に抑制するものとは断言できなかった。これらの結果より、FLS1 細胞は ROCK/actin/MRTF シグナル経路の持続的な活性化により、この細胞の MF への分化を誘導・維持していることが強く示唆された。加えて、Y-27632 と CCG-100602 は顎関節周囲の線維症を抑制する薬剤に成りうる可能性が示唆された。それに反して FGF-1 は、MF マーカーの発現を特異的に抑制するが、局所の FLS 細胞数を増加させることにより線維症を増悪させる可能性があるため、顎関節周囲の線維症を抑制する薬剤としては不適當であることが示唆された。

12. 加温したフッ化物塗布による表層下脱灰の再石灰化に関する研究

○氏家 隼人, 田中 光郎, 中嶋 省志*

口腔保健育成学講座小児歯科学・障害者歯科学分野, 東京医科歯科大学齲蝕制御学分野*

背景・目的：プラークの蓄積箇所が生じた白濁に対する対応法としてはフッ化物歯面塗布がある。健全歯質に対するフッ化物歯面塗布では、塗布液を加温することで、健全歯質中に取り込まれるフッ化物量、歯質表面に沈着するフッ化カルシウム様物質ともに有意に増加することが報告されている。一方、この加温の効果が、脱灰したエナメル質の再石灰化促進にも有効であるかは明確になっていない。また、現行の直接塗布法には唾液の侵入による薬液の希釈、塗布液の保持の作用時間確保の困難性などの問題点がある。本研究の目的は塗布するフッ化物の温

度を上昇させることによる再石灰化促進効果を検証し、臨床におけるフッ化物塗布法の手技を改善することによって、その効果促進を図ることである。

方法：APF を加温して歯面塗布した場合に、歯質の再石灰化に重要な意味を持つ、フッ素イオンの歯面からのリリース量の増加、リリース時間の継続を健全歯質と脱灰歯質とを対比しつつ *in vitro* にて測定した。また、再石灰化の評価として、ピッカース硬度による脱灰歯の硬度の回復を *in vitro*, *in situ* による再石灰化実験で検証した。

結果：APF を 50℃ に加温することによってリリースされるフッ素は 25℃ に比べて、健全歯質においては 18 時間まで、脱灰歯質では 48 時間まで有意に多かった。また脱灰歯質では健全歯質よりも、より長時間、より多量のフッ素がリリースされた。脱灰歯質の硬度は、*in vitro* の実験においても *in situ* の実験においても、塗布後 2 週間程度硬度の上昇がみられ、各時点で 25℃ よりも 50℃ で有意に多くの回復が認められた。しかしながら 1 回の塗布では脱灰前の硬度にまでの回復は困難であり、臨床では頻度多く塗布する必要があることが示唆された。

考察及びまとめ：APF を加温することにより歯質からリリースされるフッ素量並びにリリース時間は健全歯質よりも脱灰歯質の方がともに大きいことが判明した。また、脱灰歯質のピッカース硬度の回復においても APF を加温したほうが回復の効果が高まることが判明したが、完全な再石灰化療法確立のためには、加温した APF 塗布の応用法について、さらなる検討を要するものと考えられた。

13. 小児プラークにおけるミュータンスレンサ球菌定着量と齲蝕罹患率の関連

○蒔苗 剛, 下山 佑*, 松本 弘紀,
木村 重信**, 田中 光郎

口腔保健育成学講座小児歯科学・障害者歯科学分野, 微生物学講座分子微生物学分野*, 関西女子短期大学歯科衛生学科**

背景・目的：ヒトのミュータンスレンサ球菌

(MS) である *Streptococcus mutans* と *S. sobrinus* はともに (デンタル) ブラークを主要生息部位とする細菌で, 小児齲蝕の主たる原因細菌と考えられている。MS による齲蝕発症機序の詳細についてはこれまで, 測定法の問題もあり, MS が小児の口腔/ブラークに定着しているか否か, すなわち MS 感染の有無から小児齲蝕との関連性を検討したものがほとんどであった。しかし最近では, クオラムセンシングを含むブラーク細菌間のコミュニケーション機構の存在や局所 pH をはじめとするブラークの局所環境も, MS 感染とともに齲蝕発症機序に深く関与することが示唆されている。そこで本研究では, それらの結果としての, ブラーク中での MS の定着量および存在比率と齲蝕罹患率との関連性について, 菌種特異的 PCR 法 (c-PCR) および定量的リアルタイム PCR 法 (q-PCR) を併用して検討を行った。さらに, 全ブラーク細菌叢中および全ブラークレンサ球菌中での MS の存在比率についても検討を行った。

方法: インフォームド・コンセントの得られた小児患者 98 名を被験者とし, 口腔内診査後, 歯肉縁上ブラークを採取した。サンプルより DNA を精製し, MS の c-PCR による定性分析を行った。また c-PCR で陽性となったサンプルに関しては q-PCR による定量解析を行った。全ブラーク細菌叢中および全ブラークレンサ球菌中での MS の存在比率は, 16S rRNA および Elongation factor Tu の塩基配列をもとに設計したプライマーを用いた q-PCR 値を用いて算出した。齲蝕罹患率は df 歯率を用いた。

結果: c-PCR は q-PCR と比較してその感度は約 10 倍高かった。c-PCR による MS の定性解析では, 全 98 例中 60 例 (61.2%) に *S. mutans* が, 12 例 (12.2%) に *S. sobrinus* が検出された。c-PCR で *S. mutans* (+)-*S. sobrinus* (-) となった 49 例については q-PCR を併用することにより *S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{high}-Ss^{-}$; 30/49) および *S. mutans*^{low}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{low}-Ss^{-}$; 19/49) に群分けされ, *S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*^{high} 群 ($Sm^{high}-Ss^{high}$) および *S. mutans*^{negative}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{-}-Ss^{-}$) を加えた 4 群間で齲蝕罹患率との関連性を検討した。その結果, df 歯率は $Sm^{high}-Ss^{high}$ 群で最も有意に高く, ついで $Sm^{high}-Ss^{-}$ 群も有意に高かった。また全細菌および全レンサ球菌

中における *S. mutans* の構成比率も $Sm^{high}-Ss^{high}$ 群で最も高かった。しかし, $Sm^{low}-Ss^{-}$ 群と $Sm^{-}-Ss^{-}$ 群の間には df 歯率の有意な差は認められなかった。

考察及びまとめ: 小児ブラークへの MS, 特に *S. mutans* の定着量が小児齲蝕の発症に深い関連性を有することが明らかとなり, MS の定量解析が小児における齲蝕リスクの効果的な予測手段となり得る可能性が示唆された。

14. ラット上頸神経節 (SCG) における脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) 受容体の発現及び反応機構の解明

○磯部可奈子, 久慈 昭慶, 齋野 朝幸*, 横山 拓矢*

口腔保健育成学講座小児歯科学・障害者歯科学分野, 解剖学講座細胞生物学分野*

背景・目的: 下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (Pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide: PACAP) には 38 アミノ酸からなる PACAP38 と, その N 末の 27 アミノ酸からなる PACAP27 の 2 種類がある。現在, ホルモン作用の他に, 神経伝達物質・調節因子としても働いていると考えられ, 中枢神経系においては神経保護作用が報告されている。しかしながら, 自律神経系, 特に交感神経節に対する研究はほとんどない。交感神経節である上頸神経節 (SCG) は, 歯科麻酔領域においても疼痛治療の際の標的器官であり, 上頸神経節において PACAP に対する反応性を解明することはきわめて臨床的意義が大きいと考えられる。本研究では, ラットの SCG での PACAP 受容体の発現の有無, 及び, その反応機構を細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 変動を指標として検討することを目的とした。

方法: 雄ラット (Wistar 8-12W) を炭酸ガスにて屠殺し, SCG を摘出した。標本を 3~4 分割し, 純化コラゲナーゼ 100 U/ml と Ca^{2+} 指示薬 Indo-1/AM 10 μ M 存在下で 37°C, 1 時間反応させた。その後, 標本をカバーガラスに固着させ, リアルタイム共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon RCM/Ab) を用い画像解析を行った。受容体の発現については, 色素付加前の検体か