

(1) S-PRG フィラーからの可溶性抽出成分の細胞への影響

(a) 可溶性成分の抽出: S-PRG フィラー (10g) を細胞培養液 Dulbecco's Modified Eagle Medium (D-MEM, 10mL) に添加し, ミキサーで 24 時間混合した. その後, 遠心分離 (1×10^5 rpm, 5 min) にてフィラーを沈殿させ, 上清をフィルター (フィルター孔径: $0.2 \mu\text{m}$) をろ過し, S-PRG-抽出培養液とした.

(b) S-PRG-抽出培養液添加培地を用いて, ヒト骨髄由来間葉系幹細胞 mesenchymal stem cell (MSC) を培養し, 細胞増殖や分化能力への影響を検討した. 細胞増殖能力は AlamarBlue 法により細胞内代謝活性を指標として測定し, 分化能力については qRT-PCR を用いて分化マーカー遺伝子の発現について mRNA レベルで定量した.

(2) S-PRG フィラーの覆髄材成分としての応用可能性

S-PRG フィラー含有レジンプレートあるいはフィラー非含有レジンプレート上に MSC を播種し, 分化マーカー遺伝子の発現について qRT-PCR 法により測定した. さらに, Alizarin Red 染色を行い細胞外マトリックスのカルシウムの沈着について評価した.

結果:

(1) S-PRG-抽出液濃度が 40 倍未満では細胞増殖を抑制したが, 40 倍以上に希釈されると細胞増殖能に影響はみられなかった.

(2) S-PRG-抽出液は MSC における Alkaline phosphatase (ALP) の発現を有意に促進するとともに, MSC の細胞外マトリックスにおけるカルシウム沈着を促進した. また, S-PRG フィラーを含むコンポジットレジン上で MSC を培養すると, ALP の発現が有意に促進された.

考察及びまとめ: S-PRG-抽出液が MSC の ALP の発現を誘導し細胞外マトリックスのカルシウムの沈着を促進させた. ALP 発現メカニズムの詳細な検討が必要ではあるが, MSC は歯髄組織中に存在することから, 骨芽細胞様細胞分化の促進により, 硬組織形成を誘導する可能性が示唆された.

2. ブタ舌動脈・肺動脈血管平滑筋に対するデクスメドトミジン塩酸塩の作用機序

The effects of dexmedetomidine on porcine lingual and pulmonary arteries

○筑田 真未, 佐藤 健一, 小豆嶋正典*, 石崎 明**

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座
歯科麻酔学分野、岩手医科大学歯学部
口腔顎顔面再建学講座歯科放射線学分野*、
岩手医科大学大学生化学講座細胞情報科学分
野**

背景・目的: これからの超高齢社会を迎えるにあたり, 局所麻酔時に循環動態の変動のより少ない局所麻酔薬添加薬が必要と考えられ, デクスメドトミジン塩酸塩 (Dex) が注目されている. そこで本研究では, 舌動脈および肺動脈血管平滑筋に対する Dex の直接作用を解明することを目的として, 各種刺激薬による血管平滑筋動態に対する Dex の作用を等尺性収縮張力と細胞内カルシウムイオン ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の変化を指標として検討した.

方法: 屠殺ブタの舌及び肺から舌動脈と肺動脈を摘出し, 長さ 2-3mm に切断した後, 血管内皮を剥離し反転して内膜側を外側にした舌および肺動脈血管輪状標本を作製した. Hanks 溶液に Ca^{2+} 感受性色素 Fura2/AM を溶解した液中に標本を浸し, 暗所, 37°C の恒温槽で約 3 時間半振盪させた. その後, 標本を細胞内カルシウムイオン測定装置 (AQUACOSMOS™, HAMAMATSU) の恒温槽内に設置し, 各種刺激薬を投与した時の収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を同時測定した.

結果:

(1) 各種濃度の Dex が KCl による収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響

舌動脈および肺動脈血管平滑筋に対して, $10^{-10}\text{M} \sim 10^{-5}\text{M}$ の Dex は KCl による収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に増加させる傾向を示した.

(2) 各種濃度の Dex がアドレナリンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響

舌動脈および肺動脈血管平滑筋に対して,

$10^{10}\text{M} \sim 10^5\text{M}$ の Dex は KCl による収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に減少させた。

(3) 細胞外 Ca^{2+} が無い状態で, Dex がアドレナリン, カフェイン, ヒスタミンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響

舌動脈および肺動脈血管平滑筋に対して, Dex はアドレナリンとヒスタミンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に減少させたが, カフェインによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇に影響はみられなかった。

考察及びまとめ

(1) 各濃度の Dex において, 脱分極刺激 (KCl) の収縮に対しては促進作用が示され, 受容体刺激 (アドレナリン) の収縮に対しては抑制をもつことが示された。KCl 刺激に対する促進作用を今後検討する予定である。

(2) Dex は細胞外 Ca^{2+} の細胞内への流入機構である受容体活性化 Ca^{2+} チャネル (RACC) および細胞内カルシウムストアから細胞内への Ca^{2+} 放出機構であるイノシトール-1,4,5-三リン酸 (IP3) 刺激による Ca^{2+} 放出系 (IICR) を抑制し, Ca^{2+} 誘導性 Ca^{2+} 放出系 (CICR) は抑制しないことが示唆された。

3. 歯周靭帯由来未分化間葉系細胞による口腔領域末梢神経再生機構の解明

Elucidation of molecular mechanism underlying peripheral nerve regeneration in injured periodontal ligament (PDL) promoted by undifferentiated mesenchymal cells derived from PDL tissue

○太田麻衣子, 佐藤 健一, 石崎 明*, 帖佐 直幸*, 客本 齊子*, 加茂 政晴*, 城 茂治**

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座歯科麻酔学分野, 岩手医科大学生化学講座細胞情報科学分野*, 岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座摂食嚥下口腔リハビリテーション学分野**

研究背景と目的: 下歯槽神経など末梢神経の組織障害によって知覚神経麻痺・知覚過敏・知覚減退・異感覚と錯感覚等の症状が起きた際の治

療法として, 薬物療法・理学療法・神経節ブロックなどの治療法があるものの, その根治を目指した治療法の確立はなされていない。また, 神経組織損傷後の再生には複雑な生体反応が関与していると考えられているが, 細胞分子生物学的レベルでの再生メカニズムについては不明な点が多い。一方, 最近になり神経細胞の再生機構には周囲に存在する未分化間葉系細胞と神経細胞との相互作用が存在することが明らかにされつつある^{1,2)}。加えて, Bohnらは, ラットのオトガイ神経損傷モデルにおいてヒト歯周靭帯由来細胞の受傷部への投与が治癒促進的に働いたことを報告している³⁾。また, とくに歯周靭帯中の未分化間葉系細胞が, 歯周靭帯に終末部を配する知覚神経細胞に働き, その再生に関わる可能性が考えられるが, その詳細は明らかとされていない。本研究により, 歯周靭帯由来細胞が炎症性環境下においてどのような分子メカニズムで口腔領域末梢神経の再生に関わるのかを明らかとし, 口腔領域末梢神経組織再生療法開発のための分子基盤を構築したい。

参考文献: 1) Takeda & Xu: PLoS One 2015; 10: e0135111.

2) Yang et al.: Biomaterials 2015; 63: 177-188.

3) Bohn et al.: Neural Regen Res 2013; 8: 2827-2837

実験方法:

1) 歯周靭帯由来細胞を炎症性サイトカインあるいは組織修復性サイトカインで刺激し, ラット歯周靭帯由来未分化間葉系細胞 SCDC2 における神経組織再生に関わるニューロトロフィンの発現変化を RT-qPCR 法や ELISA 法により調査した。

2) 炎症性サイトカインあるいは組織修復性サイトカインが SCDC2 細胞においてどのような細胞内シグナルを介してニューロトロフィンの発現変化に関わるかについて, 各種シグナル阻害剤を利用し western blotting 法や immunocytochemistry 法を用いて調査した。

結果:

1) 組織修復性サイトカイン TGF- β 1 にて SCDC2 細胞を刺激し, ニューロトロフィンである nerve growth factor (NGF) の発現量を qRT-PCR 法にて調査したところ, 有意にその