

## 岩手医科大学歯学会第28回総会抄録

日時:平成14年12月7日(土) 午後1時

場所:岩手医科大学歯学部第四講義室

### 特別講演

組織形態をたもった標本における  
カルシウムイメージング

佐藤 洋一

岩手医科大学医学部解剖学第二講座

生きた細胞を経時的に観察するバイオイメージングは、細胞内情報伝達系を研究する上で、必要不可欠な手法となりつつある。とりわけ細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) のイメージングは、カルシウム感受性蛍光色素の開発と、高性能カメラの発達と相まって、多くのラボでおこなわれている。けれども、そのほとんどが培養細胞系でなされたものであり、生体内で本当にその反応が起きているか、検証されていない。多細胞生物は、“異種の細胞が互いに協調してはたらく” ところに特徴があり、その点をおざなりにして個々の細胞の機能解析をしても意味が少なからう。そこで我々は組織形態を保ったままの生標本を用いて、 $[Ca^{2+}]_i$  変動の画像解析を試みてきた。

細動脈に関して：器官内の血流調節に重要な意義を有する細動脈の血管平滑筋の  $[Ca^{2+}]_i$  のイメージングに初めて成功した。脳と精巣の細動脈を比較したところ、ATP の受容体のサブタイプが異なることがわかった。角膜上皮に関して：中間翼細胞層では細胞間の  $[Ca^{2+}]_i$  変動が隣接細胞に伝播しやすいのに対し、基底細胞層や表層細胞層へ向う垂直方向の細胞間伝播は弱いことがわかった。これは、分化度が異なると細胞間の情報伝達がおこりにくくなる現象と解釈できる。また、培養角膜上皮細胞で、細胞核のカルシウム濃度変動が細胞質のカルシウム変動に比べて大きくしかも維持期間が長いことが示された。これはカルシウム変動が、遺伝子発現に影響することを意味しているように思える。末梢神経組織に関して：神経周膜は組織内における炎症性物質の拡散バリアとして働いていることが示唆された。また、上頸神経節標本で、衛星細胞と神経細胞が ATP に対して異なった反応を示

し、それは受容体サブタイプの相違によるものであることがわかった。なお、ATP により、神経細胞の膨化が生じたが、これは水や電解質の流入がおきたためと考えられるが、詳細な解析には至っていない。ハーダー腺に関して：ポルフィリンを内在している細胞は、ごく弱い光でもフリーラジカルを生成してしまい、細胞が損傷されることがわかった。蛍光による画像解析法において不可避免的に生じる光障害の典型例としておこなった実験である。

私たちがおこなっているイメージングは、形だけでなく機能面でも新たな知見をつけ加えることができる。こうした実験手法は、「動的形態学」とも言える分野を開拓する有用なツールとなりうるであろう。

### 一般演題

演題1. 内包条件刺激による延髄侵害受容細胞の抑制作用

○福田 大介, 村田純一郎, 坂東 三史  
松本 範雄\*, 三浦 廣行, 北田 泰之\*

岩手医科大学歯学部歯科矯正学講座  
同口腔生理学講座\*

目的：モルヒネが効果を示さない神経因性疼痛や癌性疼痛の軽減に内包の電気刺激が用いられているが、その鎮痛機序については明らかではない。岡田らは内包の条件刺激が視床の侵害受容細胞の活動を抑制することを報告した。本実験は視床へ侵害情報を伝える延髄の二次ニューロンレベルで内包条件刺激による抑制が認められるかどうかを調べることを目的とした。  
方法：実験には笑気と酸素の混合ガス (2 : 1) および0.5%のハロタンで麻酔し、臭化パンクロニウムで不動化したSD系ラットを用いた。延髄の三叉神経脊髄路核尾側核とその内側の網様垂核に pontamine sky blue を充填したガラス微小電極を刺入し、口腔顔面領域への侵害刺激に応じる細胞 (侵害受容細胞) の活動を記録した。これらの細胞の末梢受容野に電気刺激

(試験刺激)を与え、その応答が50msec前に与えた内包刺激(条件刺激)によって変化するかを観察した。内包の条件刺激として同芯円電極を通じ、持続時間0.5 msecで強さ300 $\mu$ Aの矩形波、頻度330Hzの刺激を100 msecの間与えた。実験終了後、記録部位および条件刺激部位をマーキングし組織学的検索を行った。

結果:26個の侵害受容細胞が記録された。それらは触刺激から侵害刺激に至る広い刺激範囲に段階的に応じる広作動域(WDR)細胞と、侵害刺激のみに応じる特異的侵害受容(NS)細胞に分けられた。前者は尾側核辺縁層と網様垂核背側部に認められ、後者は尾側核辺縁層のみに認められた。これらの侵害受容細胞7個について内包条件刺激の効果を観察したところ、5個の応答が平均62.4%抑制された。このような抑制効果を示す条件刺激部位は脳皮質体性感覚野から延髄や脊髄に投射する神経線維の通路である内包の外側部に集中していた。

結論:以上の結果は内包条件刺激によって痛覚情報の伝達が延髄の二次ニューロンレベルで抑制されることを示唆している。この研究から得られた知見は臨床における内包刺激による鎮痛法の神経生理学的基礎をなすと考えられる。

演題2. タイプの異なるカエル味覚器細胞の電位依存性電流に対するNi<sup>2+</sup>の効果について

○諏訪部 武, 成田 欣弥\*, 奥田・赤羽和久\*  
久保田 稔, 北田 泰之\*

岩手医科大学歯学部歯科保存学第一講座  
同口腔生理学講座\*

目的:塩味の受容機構は十分には明らかとなっていない。カエル舌咽神経の塩味応答はNi<sup>2+</sup>により増強されることが報告されているので、塩味受容機構の解明を目的にNi<sup>2+</sup>の作用を調べた。カエル味覚器中には味細胞であるとされている細胞が3種類(type I b, type IIおよびtype III cell)存在しているので、今回はどのタイプの細胞がNi<sup>2+</sup>に対して感受性を持つのか調べた。

材料・方法:ウレタンで麻酔したウシガエル(*Rana catesbeiana*)から舌を摘出し、茸状乳頭のスライス標本作製した。味覚器の中間層の細胞からホールセルパッチクランプ法により電位依存性電流を記録した。Ni<sup>2+</sup>は電位依存性Na<sup>+</sup>電流に対して効果が大きいので、パッチピペット充填液中のK<sup>+</sup>をCs<sup>+</sup>に置換する

ことでK<sup>+</sup>電流を抑えてNa<sup>+</sup>電流を解析した。細胞の種類を同定するため、あらかじめパッチピペット充填液中に蛍光色素を加えておいた。

結果:電位依存性電流を発生した全ての細胞においてNi<sup>2+</sup>により電位依存性Na<sup>+</sup>電流の持続時間が延長した。Ni<sup>2+</sup>の効果をNa<sup>+</sup>電流の減衰過程の時定数で評価したところ、3種類の細胞のうちtype III cellにおいてNi<sup>2+</sup>の効果が著しく大きいことが明らかとなった。

考察:Ni<sup>2+</sup>はtype III cellの電位依存性Na<sup>+</sup>電流の減衰を著しく遅延させた。これによりNi<sup>2+</sup>はtype III cellの興奮を持続させ、カエル舌咽神経のNa<sup>+</sup>応答を増強させることが考えられた。

結論:type I b, type IIおよびtype III cellは全てNi<sup>2+</sup>に対して感受性があったが、特にtype III cellの感受性が著しく高かった。

演題3. めがね不要立体映像システムを用いたマイクロCT像の三次元観察

○小野寺政雄, 藤村 朗, 長門 里美  
胡 興学, 野坂洋一郎

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座

二次元画像を三次元的に観察する方法は過去にいくつか報告されている。一般的にモニター上での三次元観察にはなんらかの装着器具が用いられている。今回紹介する『めがね不要立体映像システム NSLCD 2005』は特別な立体めがねや装着器具を要せず、直感的に三次元構造を両眼立体映像として観察できるシステムである。本システムの立体表示方式は、左右眼に左右映像を分離して投影することにより、立体映像を感知させるレンチキュラー方式を用いている。

マイクロCTを用いて硬組織を撮影し二次元スライス像を作成する。その得られた二次元スライス像をPhotoshop7.0, (Adobe)にて内部構造の描出および閾値処理を行う。ついで、Voxblast2.3.3, (VayTek)にて三次元再構築像作成ならびにアニメーションを制作する。このアニメーション画像の360度方向から6度ずつの透視立体像を作製し、そのデータを1280×1024のファイルサイズにした後、多方向像立体視ソフト(STImgBuilder, (テクネ))にて両眼立体映像を作成し、モニター上で観察する。

今回、歯および下顎骨の内部構造の透視立体像を紹介した。『めがね不要立体映像システム NSLCD2005』