

言うことが示唆された。

演題 5. 矯正の歯牙移動にともなう interleukin 1α , interleukin 1β と transforming growth factor $\beta 1$ の mRNA レベルの変化

○永井 雅純, 太田 稔

岩手医科大学歯学部口腔生化学講座

【目的】歯科矯正力による歯牙移動には、局所的な骨改造に関わる蛋白質の多くが関係しているものと思われるが、歯牙移動部位における蛋白あるいはそれに先立つ mRNA の発現レベルを定量的に比較できる実験系はない。本研究では、複数の蛋白質の mRNA レベルを歯牙移動部位と対照部位とで比較可能な系を考案し、interleukin 1α (IL- 1α), IL- 1β , TGF- $\beta 1$ について検討した。

【方法】100 日齢ラットの上顎右側臼歯 (M1~M3) を口蓋側に指様弾線を用いて 7 日間移動した。一部のラットでは、歯牙移動後、弾線を外し、7 日間臼歯を後戻りさせた。移動実験終了後、歯牙移動量を測定した後、臼歯とその周囲の歯槽骨を一塊として摘出し、同組織よりチオンアン酸ゲアニジン法で RNA を分離した。分離した RNA は oligo dT プライマーで cDNA に逆転写し、competitive PCR による定量に用いた。

【結果】(1)一週間で 0.5 mm の歯牙移動が認められ、弾線除去後、一週間で 0.2 mm 後戻りした。(2)約 0.3 g の臼歯・歯槽骨より 15 μ g の total RNA が得られた。(3) IL- 1α , IL- 1β , TGF- $\beta 1$ すべての mRNA が歯牙移動側で約 2 倍に増加していた。(4)後戻り期には、歯牙移動時に認められた mRNA レベルの増加は減少し、IL- 1β が対照側の 1.5 倍、TGF- $\beta 1$ が対照側の 1.2 倍で、IL- 1α mRNA は対照と差がなくなった。

【考察】IL- 1α , IL- 1β は破骨細胞の誘導因子であり、歯牙移動部の圧迫側で骨吸収に関与しているものと思われる。また、TGF- β は骨折の治療に関与するので、骨添加側で発現しているものと推測される。

【まとめ】今回得られたサンプルで 10 種類以上の mRNA の定量が可能であった。これまで骨の代謝に関連することが知られている蛋白質の遺伝子配列のほとんどがラットで決められているので、それらの mRNA の発現レベルを本実験系で調べ、どの遺伝子が歯牙移動に関与するかのスクリーニングが可能と思われる。

演題 6. ウシガエル交感神経節細胞の caffeine induced rhythmic hyperpolarization に対する局所麻酔剤阻害とアデニンヌクレオチドの拮抗作用

○大江 政彦, 栃内 明啓, 依田 淳一
奈良 一彦, 加藤 一郎, 染井 宏祐

岩手医科大学歯学部口腔生理学講座

ウシガエル交感神経節細胞にカフェインを投与すると、リズム的な過分極性応答 (RMH) が細胞内記録により記録される。この RMH は種々局所麻酔剤の投与で著しく阻害された。種々局所麻酔剤の阻害部位は局所麻酔剤の投与中に細胞を直接刺激して発生する活動電位の後電位は変わらないので、 Ca^{2+} 依存性 K^{+} チャネルに直接作用するのではなく、細胞内の Ca^{2+} 放出チャネルに作用して Ca^{2+} の放出を阻害しているものと考えられる。このように局所麻酔剤で阻害された RMH は、アデニンヌクレオチドの ATP や ADP の投与で回復したが、他のヌクレオチド (c-AMP, d, b, c-AMP, adenosine) では回復が見られなかった。

そこで、ATP と ADP の RMH に対する増強効果を調べたところ、RMH は ATP や ADP の投与で増強されることが分かった。この増強効果は ATP や ADP の投与で起こる膜の脱分極を生じるため、その電位変化によるものかどうか調べた結果、RMH は電位依存性がないことが分かった。

また、ATP や ADP が直接細胞内に作用することは考えにくいために、交感神経節細胞の膜に存在すると考えられている purinoceptor の P_2 型を介して起こるのではないかと考えられる。

そこで、 P_2 -antagonist の suramin や reactive blue 2 をして P_2 -purinoceptor とカプリングしている phospholipase C の inhibitor の Li^{+} や 4-bromophenacyl-bromide を投与すると、ATP や ADP の RMH に対する増強効果や局所麻酔剤阻害からの回復効果が見られなかった。

以上の結果、ATP や ADP の投与による RMH の増強効果及び局所麻酔剤による阻害からの回復は P_2 -purinoceptor を介し phospholipase C が活性化して、膜の phosphatidyl inositol biphosphate が加水分解して生じた inositol 1,4,5-triphosphate が細胞内 Ca^{2+} ストアーに作用して、 Ca^{2+} の放出を促した結果、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇したからではないかと考えられる。