

結果：スキンスの口蓋粘膜は角化した重層扁平上皮で覆われ、錯角化した部位は確認されなかった。上皮下に結合組織乳頭は殆ど見られず、わずかに見られる乳頭も丈が短い。硬口蓋後方や軟口蓋の上皮下には口蓋腺が確認された。上皮下結合組織には、上皮下から骨膜へ向かって走行する毛細リンパ管が見られた。現時点では切片上での二次元的観察に止まるが、樹枝状を呈した毛細リンパ管が散見され、隣り合うリンパ管が連絡し、リンパ管網を一層形成していることが推測される。また結合組織乳頭が殆ど存在しないために、リンパ管の盲端が乳頭部に入り込むような派出は見られなかった。

考察及びまとめ：今回の結果から口蓋の上皮下結合組織には盲端の派出が見られないリンパ管網が一層走行していることが判明した。今後は、この上皮下リンパ管網と骨膜上を走行する集合リンパ管の連絡状況、さらに同じ脈管である血管系との関連を明らかにし、炎症性疾患や口腔癌に対する薬剤投与部位、経路を探索する予定である。

5. シェーグレン症候群モデルマウスにおける耳下腺分泌障害機構の解明および正常ICRマウスにおけるプリン受容体の解析

○守口 霞, 齋野 朝幸*

岩手医科大学歯学部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：シェーグレン症候群とは涙腺、唾液腺の分泌障害による乾燥性症状を主とし、外分泌腺の慢性炎症を引き起こす自己免疫疾患である。現在、ドライマウスに対しての治療法は人工唾液やアズレンなどによる口腔粘膜保護があるが、直接唾液腺からの唾液分泌を促す薬剤は使用されていない。

シェーグレン症候群の発生機序についてはまだ未知の点が多く、どの分泌機構に障害があるか詳細に調べられた報告はない。本研究ではモデルマウスを用いて各種分泌機構についてどの過程が障害されているかを明らかにし、シェーグレン症候群発症・進行の機序解明の第一歩になることを期待する。

あわせて、交感神経終末からノルアドレナリンと共に放出される他に、物理的刺激や傷害を受けた細胞から逸脱する Adenosine-5'-triphosphate (ATP) は、生体内伝達物質としての意義が注目されている。多細胞生物の組織・細胞の多様性に立脚すると、ATP に対する反応性が一様とは思われない。ATP が耳下腺の刺激・放出連関にどのように寄与するかを解明することは、上記疾患の検討のためにも臨床的にも極めて重要である。マウス耳下腺腺房細胞に及ぼす ATP の効果も、上記と同様に細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 変化を指標として検討した。

方法：雌マウス (NOD/ShiJcl 及び ICR 19-30W) を CO_2 ガスにて屠殺し、耳下腺を摘出した。摘出標本を HEPES バッファー中で純化コラゲナーゼ 100 U/ml を用い 37°C、1 時間消化した。その際に 15 分ごとに O_2 ガスを吹きつけた。消化後、100 メッシュフィルターを用いて細胞をろ過し、 Ca^{2+} 感受性色素 Indo-1/AM を付加した。その後、細胞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) によって $[Ca^{2+}]_i$ の画像解析を行った。併せて、Indo-1/AM 付加前の検体から mRNA を採取し、RT-PCR を行った。

結果：(1) シェーグレンモデルマウス (NOD/ShiJcl) と正常マウス (ICR) の比較

ノルアドレナリン (NA)・カルバコール (CCh)・ATP・PAR-2AP など様々な刺激を行い、 $[Ca^{2+}]_i$ 変化を指標として検討した。両群に比較的顕著に差が見られたのは、NA および ATP 刺激であり、NOD 群で $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が部分的に抑えられた。しかしながら、思ったほどの差とはならないためモデルマウスを再検討した方が良いと考え、新たに NOD/ShiLtg の導入を検討している。病気発症の確率を上げるために 20 週近い個体を用いるため実験に期間がかかる。

(2) 正常 ICR マウスでのプリン受容体の検討
ATP は正常 ICR マウス耳下腺腺房細胞において $[Ca^{2+}]_i$ の増加を引き起こした。細胞外 Ca^{2+} 除去、及び Ca^{2+} チャネルブロッカー投与によってもこの反応は消失しなかった。一方、ホスホリパーゼ C 特異的阻害薬の U73122 によって IP_3 産生を抑制してもこの反応は完全には消失しなかった。従って、細胞内からの Ca^{2+} 動員の他に、細胞外から Ca^{2+} 流入の機転が考えられ

た。P2 受容体抑制薬の suramin によって ATP 誘導性 $[Ca^{2+}]_i$ の増加は完全に阻害され、P2Y 受容体抑制薬の Reactive blue 2 によってこの反応は強く阻害された。RT-PCR で P2 受容体の発現を確認したところ、P2X4, P2X6, P2X7, P2Y1, P2Y2, P2X12 および P2X14 が主に発現していることが確認された。

考察及びまとめ：(1) シェーグレンモデルマウス (NOD/ShiJcl) と正常マウス (ICR) の比較

これから再検討を考えている NOD/ShiLj マウスであるが、先行に用いているマウスに比べシェーグレン症候群様の症状発症が多く認められる事が期待できる。ただし、高価で手に入れる事が比較的困難であり、症候群発症まで時間を要するため今後の結果次第で実験を続けるかどうか検討を要する。

(2) 正常 ICR マウスでのプリン受容体の検討

上記の結果から P2Y 受容体と P2X 受容体の 2 種類が存在することが検討できる。今後さらに受容体の特定を行っていく。具体的には P2Y 受容体刺激薬の 2-MeSATP, P2Y および P2X の刺激薬である UTP や α, β -methylene ATP, また、P2X7 アゴニストの BzATP などを用いて $[Ca^{2+}]_i$ 上昇について検討する。また、ATP 投与時の形態学的変化を電子顕微鏡を用いて検討する予定である。