

4) 抗てんかん薬・気分安定薬のバルプロ酸は、胎生期における頭部神経堤細胞の形成と移動を攪乱する

○鈴木 礼子¹, 今井 元²
 (奥羽大・歯・口腔病態解析制御¹,
 奥羽大・歯・口腔機能分子生物²)

【緒言】抗てんかん薬、気分安定薬のバルプロ酸 (VPA) は、頭顔面の催奇形性リスク、及び、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC1) が関与する遺伝子の転写抑制に対する非特異的な阻害作用が報告されている。頭顔面の発生には頭部神経堤細胞 (NCC) の形成・移動・分化が重要な役割を演じているため、「VPAによる頭顔面の催奇形性は、頭部NCCの形成や移動を制御する遺伝子発現の攪乱による」可能性が高い。そこで、本研究では、ラット母獣にVPAを投与し、胎生期における頭部NCCの動態を解析することを目的とした。

【材料と方法】SDラットの産仔確認日の正午を胎齢0.5日 (E0.5) とした。E9の朝10時に、実験群は10%VPA・生理食塩水溶液を背部皮下投与 (500mg/kg) し、対照群は生理食塩水を背部皮下投与 (5ml/kg) した。その後、まず、出生前日 (E20.75) に母獣をセボフルラン麻酔下で帝王切開し、胎仔透明化骨格標本を作製した。次に、セボフルラン麻酔下で母獣から胎仔を摘出し (E9.75-E12.75)、4%PFA固定後、発生関連因子のwhole mount in situ ハイブリダイゼーションおよびwhole mount 免疫染色を行った。最後に、セボフルラン麻酔下で母獣から胎仔を摘出し (E9.75)、頭部NCCのDiI標識後、40時間の全胚培養を行った。

【結果】VPA投与群では、*in vivo*で、(1)鰓弓骨格 (上顎骨・下顎骨・舌骨) が小さくなること、(2)中脳後方～ロンボメア2で形成され第一鰓弓や前頭鼻隆起に分布するべきNCCが著しく減少し、ロンボメア4で生じたNCCがロンボメア3の境界より頭方へ分布すること、(3)*Hoxa2*を発現するロンボメア4より尾方のNCCが第一鰓弓と前頭鼻隆起へ移動することが観察された。さらに、*in vitro*でも、(4)NCCの移動経路の攪乱が検証された。

【結論】VPAによって上顎・下顎・舌骨の低形

成が生じる一因として、頭部NCCの形成と移動の攪乱があることが、示唆された。

5) 幼若ラットに対する新規ビスホスホネートMPMBPの骨量増加作用

○長岡 正博¹, 島村 和宏², 鈴木 恵子¹
 (奥羽大・歯・口腔病態解析制御¹,
 奥羽大・歯・成長発育歯²)

【緒言】骨代謝疾患治療薬であるビスホスホネートは、確実な骨量増加作用をもつため臨床現場で頻用されている。演者らが現在開発中の[4-(methylthio)phenylthio] methanebisphosphonate (MPMBP) は窒素非含有ビスホスホネート (BPs) であり、側鎖に抗酸化活性をもつメチルチオフェニルチオ基を有することを特徴とする化合物である。これまでの研究で成熟ラットに対して、P-C-P基本骨格があらゆる骨吸収抑制作用に加えて、著明な骨形成促進作用および抗炎症作用を併せ持つことが確認されている。本研究では、骨代謝疾患治療薬としての有効性と安全性について調べるために、幼若ラットを用いてMPMBP全身投与の影響について検討した。

【材料・方法】雄性Wistar系ラットを用いて、生後3日齢から3週齢の離乳期まで、3日に1回、計6回BPsを全身投与した。上下顎骨および大腿骨・脛骨を採取し、X線マイクロCTで骨形態計測後、樹脂包埋試料を作製して蛍光ラベルの観察を行った。また、血漿試料についてTRACP活性を測定した。使用したBPsはMPMBP (1.2, 2.4または6.0mg/kg), zoledronate (0.05, 0.1mg/kg) である。

【結果】幼若ラットにzoledronateまたはMPMBPを投与すると、脛骨近心端において、用量依存的に、有意な骨量増加が認められ、血漿TRACP活性の低下が確認された。上下顎骨においても用量依存的な石灰化度の低下が認められた。一方、zoledronate投与群では、用量依存的な長管骨伸長抑制および歯牙萌出遅延が認められた。zoledronate 0.1mg/kg投与群においては歯牙萌出が確認できなかった。MPMBP 2.4mg/kgおよび6.0mg/kg投与群においても長管骨伸長抑制や歯牙萌出遅延の有害作用が観察されたもののこれ

らの有害作用は軽微であり、MPMBP 1.2mg/kg 投与群では、ほとんど認められなかった。

【考察】 zoledronate投与では、過度の骨吸収抑制作用が骨や歯の成長に悪影響を及ぼすと考えられる。MPMBP投与では、有害作用がほとんど認められない用量においても、有意な骨量増加が観察されたことから、MPMBPは小児期の骨代謝疾患治療薬として、有効かつ安全に使用できる可能性が示された。

6) アレンドロネートによる細胞傷害と IL-1 β 放出の増加

○玉井利代子, 小林美智代, 清浦 有祐
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【背景】ビスフォスフォネート (BPs) は、窒素を含むBPsと窒素を含まないBPsの2種類がある。窒素含有BPsは高い骨吸収抑制効果を示す一方、炎症や顎骨壊死を起こす副作用がある。本研究では、窒素含有BPsの一種であるアレンドロネート (ALN) が誘導する細胞傷害とインターロイキン (IL)-1 β 放出の増加作用について検討した。

【材料・方法】TLR4リガンドであるリピドAはペプチド研究所から購入した。マウスマクロファージ様細胞J774.1は、10%ウシ血清添加RPMI1640培地を用いて、5%CO₂, 37°Cで継代培養後、96穴平底マイクロプレートに1穴あたり2×10⁵個播種した。16時間後1回細胞を洗ってから、同細胞を100 μ M ALN含有または不含の培地で24時間培養後、2回細胞を洗い、リピドA (100 ng/ml) 含有または不含培地で24時間インキュベートした。そして、上清中の炎症性サイトカインとカスパーゼ1をELISA法で定量した。細胞傷害はLDH定量で、生細胞数はMTS法で検討した。カスパーゼ1抑制剤であるAc-YVAD-CHO (3 μ M または 10 μ M) はALN添加またはリピドA添加1時間前に、抗ASC抗体および抗NLRP3抗体 (0.25, 0.5, 1 μ g/ml) は30分前にJ774.1細胞とインキュベートした。

【結果・考察】J774.1細胞をALNで前処理すると、細胞傷害リピドAが誘導したおよびIL-1 β 産生は増加したが、IL-6およびTNF- α 産生は増加しなかった。カスパーゼ1抑制剤は、ALNが誘

導した細胞傷害を抑制しなかった。次に、ALNによって増加したIL-1 β 産生および細胞傷害が、インフラマソーム関連分子ASCおよびNOD様受容体ピリンドメイン3 (NLRP3) に依存するかどうかを調べた。その結果、抗ASC抗体または抗NLRP3抗体は、ALNが誘導した細胞傷害およびカスパーゼ1放出を抑制した。さらに、抗ASC抗体はALNによって増加したIL-1 β 産生を抑制した。以上の結果は、ALNによって増加したIL-1 β 産生および細胞傷害はASCを必要とし、抗ASC抗体はALNが惹き起こす壊死性炎症性疾患の緩和剤として使用できる可能性を示唆する。

7) チェアサイドにおける暫間被覆冠の操作に関するアンケート

○大木 達也¹, 齋藤 龍一², 盛植 泰輔², 五十嵐一彰²
石田 喜紀³, 山森 徹雄², 関根 秀志², 岡田 英俊⁴
(奥羽大・歯・生体材料, 奥羽大・歯・歯科補綴²)

【緒言】これまでの研究から、常温重合レジンによる暫間被覆冠作製時、成形後の保管温度が高くなると、機械的性質と破断率に影響を及ぼすことが示唆された。また、過去の常温重合レジンに関する文献や添付文書などを参考に操作したが、実際の臨床の間では暫間被覆冠の作製方法は様々であると推察された。

そこで、今回はチェアサイドにおける暫間被覆冠の操作が術者により、どのように行われているのかを明らかにするため、本学附属病院にてアンケートを実施した。

なお、本アンケートは奥羽大学倫理審査委員会より承認を受け、参加者に同意書を取った後に実施した。

【調査方法】対象は同意の得られた本学附属病院総合歯科所属歯科医師40名である。

質問は、①暫間被覆冠作製に用いるレジン ②TeC作製時間 ③温水への浸漬時間 ④浸漬温度 ⑤セメントアウトの手技 ⑥現在の手技の参考の6問で無記名・複数回答可で実施した。

【結果および考察】

①キュアグレースが最多であった。次いでユニファストⅢ、プロビナイスと続いた。

②10～30分が約7割であった。