

座長 柏俣 正典 教授

3. ラット好中球の機能発現における p38MAPK の役割

○東 幸雄・柏俣 正典

(朝日大学歯学部口腔感染医療学講座
歯科薬理学分野)

目的

好中球は生体防御の最前線で重要な役割を果たしており、状況に応じて、遊走、活性酸素産生、脱顆粒および貪食といった機能を発現する。それぞれの機能は異なった細胞内情報伝達系で調節されていると考えられるが、その詳細な機構はほとんど知られていない。本研究は、細菌が産生する N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP) によって誘導されるラット好中球の遊走および活性酸素産生と好中球内で活性化される細胞内情報伝達系について検討を行った。

実験方法 体重250~350 g の Wistar 系雄ラットに 6 % カゼインを投与 (i.p.) し、16~18 時間後に腹腔液から好中球を回収した。好中球の遊走試験は、96-well chemotaxis chamber (Neuro Probe model AB96) 中で行った。Chamber 内の下層部に FMLP を添加して 60 分後、上層部の好中球が遊走によって membrane を通過して付着したものを Diff-Quick で染色した。染色された membrane は 655nm の吸光度を測定して好中球の遊走活性を求めた。また、活性酸素の測定は cytochrome C 還元法により行った。

さらに、分離したラット好中球を培養液中に懸濁させ、各種酵素阻害剤を前処置した。一定時間後、好中球に FMLP を添加し、一定時間反応を行った。遠心分離により反応を停止し、好中球を洗浄してホモジネートを作成した。一定量のタンパク質をウエスタンブロット解析して、好中球のシグナル関連タンパク質の活性化状態について検討した。また、siRNA 法を用いて phospholipase D (PLD) をノックダウンした場合の好中球の FMLP に対する応答性を調べた。

結果および考察

FMLP はラット好中球の遊走と活性酸素の産生を促進した。遊走の FMLP 至適濃度は 10 nM であり、0.1 mM では最大の活性酸素産生がみられた。また、ウエスタンブロット解析により、FMLP が MAP キナーゼ (p38MAPK, ERK および JNK) のリン酸化反応を促進していることが分かった。p38MAPK 阻害薬 (SB 203580) は好中球の遊走および活性酸素産生を濃度依存的に抑制したが、ERK および JNK の阻害薬 (PD 98059 および SP600125) では影響を受けなかった。したがって、FMLP による好中球の遊走と活性酸素産生促進には p38MAPK が関与することが示唆された。

近年、p38MAPK カスケードの活性化機構には、一部 PLD が関与していることが報告された。そこで、FMLP による好中球の p38MAPK 活性化の機構に PLD が関与するか否かについて検討を行った。アルコール類 (エタノールとブタノール) は PLD の活性を特異的に阻害することが知られている。アルコールを前処置後の好中球を FMLP 刺激すると活性酸素産生が濃度依存的に抑制された。しかし、FMLP が誘導する遊走能には何ら変化は認められなかった。また、アルコール類は、高濃度 FMLP の短時間処置 (0.1 mM, 5 分, 活性酸素産生促進) で運動する p38MAPK のリン酸化状態を抑制した。しかし、低濃度の長時間処置 (10 nM, 60 分, 遊走促進) による p38MAPK のリン酸化には影響を及ぼさなかった。さらに、PLD がシグナル伝達経路に関与していることを確認するため、siRNA を用いて好中球 PLD 1 のノックダウンを試みた。ラット好中球に PLD 1 の siRNA をトランスフェクション後、24 時間で PLD 1 の遺伝子が消失した。この好中球に FMLP を作用させたところ、活性酸素産生が有意 ($p < 0.05$) に減少していることが分かった。しかし、FMLP による好中球遊走の抑制は認められなかった。また、PLD 1 ノックダウンされた好中球に FMLP を処置すると活性酸素産生系刺激 (0.1 mM FMLP, 5 分) では p38MAPK のリン酸化の促進が認められなかったのに対し、遊走能誘導系刺激 (10 nM FMLP, 60 分) では p38MAPK のリン酸化が促進した。これらの結果から、PLD は p38MAPK の上流に存在して活性酸素産生に関与していること、一方、PLD 非依存的に活性化される p38MAPK 経路も存在しており、この経路は好中球の遊走に関与していることが示唆された。

座長 高井 良招

4. 下顎骨内に生じた神経線維腫の 1 例

○山田真由美・大野 健二・山田 和人¹⁾

水谷 豪・池田 昌弘・太田 貴久・住友伸一郎
高井 良招

(朝日大学歯学部高校病態医療学講座
口腔外科学分野)

(¹⁾ 福井赤十字病院歯科・歯科口腔外科)

事後抄録:

孤立性の神経線維腫のうちでフォン・レクリングハウゼン病を併発しないものの約半数は頭頸部領域に発生するといわれている。しかし、そのうち口腔内に発生するものは 1 割未満と少なく、さらに顎骨内に発生することは非常にまれであるといわれている。今回我々は、下顎骨内に孤立性に発生した神経線維腫の 1 例に遭遇したので、その概要と免疫組織化学的鑑別診

断について報告した。患者は21歳の男性。智歯抜歯依頼および左側下顎臼歯部の精査・加療目的に紹介来院した。また、既往歴および家族歴については特記すべき事項はなかった。初診時、顔貌の変形、疼痛および腫脹などの特記すべき症状はなく臼歯部の歯肉にも著変は認めなかった。また、触診による骨の膨隆はなく波動や羊皮紙様感も認めなかった。パノラマエックス線写真で左側下顎埋伏智歯の直下で下歯槽管に連続する、20mm×20mmの類円形、単房性の境界明瞭なエックス線透過像を認めた。CT写真より、病変は類円形で内部に石灰化物などを含まない、ほぼ均一の像を示した。また、病変により下顎骨のわずかな頬舌的膨隆を認め、皮質骨の非薄化を認めた。また、再構築像より下顎管と病変との連続性が疑われた。顎骨良性腫瘍の臨床診断のもと全身麻酔下で、抜歯術および顎骨腫瘍摘出術を施行した。同歯を通法に抜去したところ抜歯窩より病変を確認することができず、左側下顎埋伏智歯とは別個の病変であることが判明した。そこで、頬側の歯槽骨を一部削除して病変にアプローチした。病変摘出時、周囲骨からの剥離は容易であったが、下歯槽神経の一部と連続しており、神経本幹を可及的に損傷しないように切除した。また、病変摘出後の骨面を十分搔爬し、開放創として手術を終了した。摘出された病変は、表面がなめらかな卵円形で帯黄白色の弾力性のある腫瘍であった。術直後より、左下唇・オトガイ部の知覚鈍麻を認めたが、その後暫時症状は改善し手術後現在では日常生活に支障がない程度回復した。さらに、病理組織学的所見では、紡錘形細胞の増殖と膠原線維の束状・交錯増生を認め、一部には、リンパ球、形質細胞、組織球が浸潤していた。しかし、腫瘍内に歯源性上皮や神経束は認められず、核の異型性や分裂像も認められなかった。病理組織像より、類腱線維腫と考えられたが、手術所見から神経原生腫瘍が疑われたため、鑑別のため免疫染色を行った。免疫組織化学的検索では、S-100タンパク、神経特異性エノラーゼ、グリア線維性酸性タンパクとビメンチンが陽性を示したが、デスミンと α 平滑筋アクチンは陰性であった。これらの臨床所見と組織学的所見を総合して、下歯槽神経由来の神経線維腫と診断した。また、今回取り扱わなかったが、神経細胞の中間径細線維であるNFPは3つのサブユニットタンパクから構成されており、これらのタンパクに対する抗体は神経細胞系の細胞に対する特異性が高いため、診断を下すのにさらに確実になると思われる。現在、術後2年6か月経過したが、再発傾向は認めていない。しかし、今後とも十分な経過観察が必要と考えている。

5. 第3回朝日大学歯科医師臨床研修指導医ワークショップの概要

横山 貴紀¹⁾・岩堀 正俊¹⁾・住友伸一郎²⁾
田辺俊一郎²⁾・脇坂 孝³⁾・松岡 正登³⁾
北後 光信⁴⁾・吉田 隆一⁵⁾・藤原 周¹⁾
倉知 正和¹⁾

(¹⁾朝日大学歯学部口腔機能修復学講座
歯科補綴学分野)

(²⁾朝日大学歯学部口腔病態医療学講座
口腔外科学分野)

(³⁾朝日大学歯学部口腔病態医療学講座
歯科放射線学分野)

(⁴⁾朝日大学歯学部口腔感染医療学講座
歯周病学分野)

(⁵⁾朝日大学歯学部口腔機能修復学講座
歯科保存学分野)

事後抄録

平成18年4月から必修化される歯科医師卒後臨床研修制度の実施に向けて本院でもハード・ソフト面での整備を必要としている。特にソフト面においては「主たる研修施設」のみでなく、「従たる研修施設」においても教育能力のレベルアップが求められている。それを従来は歯科医療研修振興財団主催の臨床研修指導医講習会（以下、ワークショップとする）が担っていたが、平成16年4月からはその内容が一定レベルであると厚労省が認めたものという条件下で大学でも実施することが可能となった。

今回は、平成16年11月6、7の2日間コースで実施した第3回のワークショップの概要を報告する。

スタッフはディレクター1名、タスクフォース9名、そしてゲストスピーカ2名の合計12名から構成した。受講者は、本学からは臨床系分野の教員9名、PDI1名、村上記念病院1名そして基礎系分野の教員1名の計12名、そして学外の従たる施設から14名の総計26名であった。これを、各班6、7名から構成するA～Dの4グループに分けた。

ワークショップのスケジュールは、全13のセッションから構成されているが、その内容は受講者への情報提供としての「研修の必修化」で今後の研修はどの様になっていくのか、現在とはどの様に変化していくのか、をまず説明し、そして日常臨床において非常に身近で、しかも重要な課題と位置付けられる「医療事故とその対策」、「医科における病診連携」についてゲストスピーカーによる講演が行われた。次いでKJ法を用いて「リスクマネジメントについての問題点の抽出」作業を行った。その後、参加者個々が各グループ内で活発な意見交換が可能となるのを促進するため