

から、顎下腺の活性酸素処理系酵素活性は加齢的に低下傾向を示すものと、そのような傾向を示さないものがあり、それらの活性のバランスにより顎下腺機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

実験2 顎下腺湿重量は実験群とコントロール群間において全期間を通じ有意な差はなかったが、顎下腺の過酸化脂質量は実験群の左側で高い値を示した。GPx活性は術後1～4週まで実験群がコントロール群より低い値を示し、6週以降有意差は認められなかった。SOD活性は術後4週においてのみ実験群で低い値を示した。これらの処理系酵素は、全期間を通じコントロール群に比べ実験群では活性変化があまり見られず、また、実験群の左側と右側の活性値にも変化がなかった。GST活性は術後2週で実験群とコントロール群の間に差が認められたものの、その他の期間では有意な差はなかった。

以上の結果から、咬合干渉は直接咬合に関与しておらず、応力が波及していないと思われる顎下腺組織においても、比較的速やかで長期に及ぶ過酸化脂質量の増加と、この代謝に関わる酵素活性を変化させることが明らかになった。また、これらのことから咬合干渉を取り除くことの重要性が改めて示された。

(学位請求論文)

4. 歯肉溝滲出液プロテオグリカンの簡易測定法による評価

浅野なみ子 (朝日大・歯・大学院・歯周病)

<目的>

歯肉溝滲出液(GCF)中の物質を選択的に測定する事により、歯周炎の病変活性をあらわすための研究が数多く行われている。細胞外マトリックス成分である硫酸化グリコサミノグリカンもターゲットの一つである。硫酸化グリコサミノグリカンを選択的に染色する簡易微量測定法(簡易測定法)が開発され、これを臨床応用した結果、その有用性が明らかにされてきている。硫酸化グリコサミノグリカンは生体ではコア蛋白と結合したプロテオグリカン(PG)として存在するが、簡易測定法のPGに対する評価は明らかでない。本研究はPG測定に対する本法の評価を行う事を目的として、市販PGならびに部分精製したイヌGCFのPGを試料として本法と電気泳動法による測定を行った。

<材料と方法>

市販PGはRat Chondrosarcoma由来のものを用いた。GCFはイヌに外科用縫合糸を巻き歯周炎を惹起させ、キャピラリーチューブで採取した。これをMono Q陰イオン交換カラム(1ml)を用いた高速液体クロマトグラフィー(FPLC)により精製分離を行った。すなわち緩衝液には7M尿素、0.05MTris-HCl(pH6.8)を用い0～1MNaClのグラジエントで溶出させ、吸光度280nmで測定して得たピークを基に7画分に分割した。そ

の後透析を行い濃縮した。試料は未消化群、未消化群をプロテアーゼ消化したプロテアーゼ消化群、プロテアーゼ消化群をコンドロイチナーゼACII消化したコンドロイチナーゼACII群を用いてPG量の測定を行った。

簡易微量測定法：試料を2μづつセルロースアセテートストリップス上に貼付し、染色液ABY(0.4M塩酸グアニジン、0.05M塩化マグネシウム、0.25%Triton X100、0.02M硫酸溶液を含む0.2%アルシアンブルー8GX溶液)で5分間染色し、その後洗浄液(染色液からアルシアンブルーを除いた溶液)にて洗浄し乾燥した。染色後のストリップスは、島津二波長フライングスポットスキヤニングデンシトメータCS9300を用いて走査させ、デンシトグラム上のピーク面積値を算出しC4S標準曲線からC4Sに換算して定量を行った。

電気泳動法：試料をセルロースアセテート膜に貼付し、緩衝液には0.3M酢酸カドミウムpH4.1ならびに0.2M酢酸カルシウムpH7.25を使用し電気泳動を行った。染色にはAB液(0.1%アルシアンブルー溶液0.1%酢酸溶液中)とABY液の二種を用い、分離したPG及びグリコサミノグリカンは簡易測定法と同様の方法で定量を行った。

高速液体クロマトグラフィー：PG画分をさらにResourceQカラム(1ml)を用いたFPLCにかけ、クロマトグラムのピーク面積値からPG量を算出し定量を行った。

<結果>

市販PGとGCF中のPGの簡易測定法による染色は可能であった。市販PGの未消化群は、簡易測定法と電気泳動の測定値は同様の値を示した。市販PGのプロテアーゼ消化群の電気泳動による測定値は簡易測定法より低値を示した。GCF未消化群は、両測定法とも同様の値を示し、またプロテアーゼ消化群は、簡易測定法とFPLCでは同様の値を示したが、コンドロイチナーゼACII消化群ではFPLCが高値を示した。

<結論>

歯肉溝滲出液に含まれる微量のプロテオグリカンの測定が簡易微量測定法を用いて可能かどうか検討した。その結果標準的測定法による値とほぼ同様の値を示したことから、本法はプロテオグリカン測定に有用であることが示された。(学位請求論文)

5. 抜歯後の歯槽骨におけるプロテオグリカンの免疫組織学的検討

牧 克教 (朝日大・歯・大学院・歯周病)

<目的>

プロテオグリカン(PG)は、細胞外マトリックスの主成分の一つであり、組織構造の維持、イオン平衡、浸透圧の維持、物質の貯留などの重要な役割を果たしている。このPGは、コア蛋白質と呼ばれる部分と、二糖