

第140回 岐阜歯科学会例会

と き 平成13年10月20日 (土) 午後1時より

ところ 朝日大学1号館3階 第1大講義室

1. 明海・朝日・UCLA Joint Programにおけるインプラント治療についての考察

○梶本 忠保・永原 國央・山本 宏治
(朝日大・歯・総合歯科)

最近の歯科医療の競争的環境の中で卒業生が歯科医師として生涯活躍するための一助となることを目的に朝日大学・明海大学生涯研修が、昨年からスタートした。

今回、UCLAとのJoint Programである「歯周病とインプラント」を受講し、将来的歯科治療を考察し報告する。

このコースはUCLAからの講師Dr. Henry Takei & Dr. Perry Klokkeveldが中心となり、最新のアメリカでのトピックスを交え講演された。講習時間(12日間)のほぼ半分が豚顎を使った実践的な実習に費やされた。最終日には、Dr. Arun Gargを招き多血小板血漿(PRP)の最も新しい講演及び実習が企画された。

近年歯科インプラント治療が予知性の高い治療として確率されてきた現状を鑑みると、顎口腔機能修復にとって最終的治療法として歯科インプラント治療を取り入れていく必要性があると考えられる。

2. ラット耳下腺腺房細胞の頂端側形質膜に存在するCa²⁺-非依存性ホスホリパーゼA₂活性

井口 裕嗣 (朝日大・歯・口腔生化)

<目的>

ホスホリパーゼA₂(PLA₂)はリン脂質のsn-2位からの脂肪酸遊離を司る酵素である。本酵素は、アラキドン酸カスケードの初発酵素として炎症反応に深く関わっていると同時に、分泌機構への関与が示唆されてきた。これは、本酵素の活性化剤あるいは阻害剤によって、分泌応答が促進あるいは抑制されるという知見に基づいている。しかし、実際に機能する酵素タンパク質の特定、およびその作用機構の解明には至っていない。神谷らはラット耳下腺分泌顆粒においてCa²⁺-非依存性PLA₂の存在を明らかにし、本酵素が開口分泌の調節酵素である可能性を指摘してきた。そこで本研究では、分泌顆粒の融合相手である頂端側形質膜を対象として、PLA₂の局在およびその生化学的特徴を明らかにし、あわせて本酵素の開口分泌への関与について追求した。

<材料および方法>

頂端側形質膜画分(A-PM画分)はHildenらの方法を改変した二価陽イオン沈殿法を用い、分泌顆粒画分

(SG画分)はPercoll密度勾配遠心法を用い、各々ラット耳下腺(Wistar系・雄性・9~10週齢)から調製した。PLA₂活性は放射標識されたホスファチジルコリン(PC)を外因性基質として用い、pH7.0, 37°Cで遊離する脂肪酸の放射能から算出した。SG画分とモデル膜との膜融合はオクタデシルローダミンB(R18)を用いた蛍光消光解消法により観察した。

<実験結果と考察>

sn-2位脂肪酸鎖を¹⁴Cで、コリン残基を³Hで二重標識したPCとA-PM画分をpH7.0, 37°Cでインキュベートすると、主要反応物として [¹⁴C] 遊離脂肪酸とほぼ等量の [³H] リゾPCが検出され、PLA₂の存在が示唆された。同時に [¹⁴C] ジアシルグリセロール、 [¹⁴C] ホスファチジン酸および [³H] コリンも検出されたが、これらの生成はホスホリパーゼD特異的阻害剤である2,3-ジホスホグリセリン酸の存在下で顕著に抑制された。これに対し、 [¹⁴C] 遊離脂肪酸と [³H] リゾPCの生成は2,3-ジホスホグリセリン酸の影響を受けなかった。これらの結果は、A-PM画分の脂肪酸遊離系としてPLA₂が機能していることを示している。A-PM画分のPLA₂活性は0.05% Triton X-100の反応系中への添加で著しく上昇し、エチレンジアミン四酢酸あるいは、エチレンジアミン四酢酸(β-アミノエチルエーテル)四酢酸の存在下でも観察された。また、5 mM 塩化カルシウムの添加では、活性の上昇は確認されなかった。以上の結果から、A-PM画分に存在するPLA₂はCa²⁺-非依存性であることが明らかとなった。本酵素は、sn-2位に不飽和脂肪酸鎖を有するジアシル型PCとホスファチジルエタノールアミンを良い基質としたが、sn-1位に結合した脂肪酸鎖の分子種を区別しなかった。さらにATPと各種のPLA₂特異的阻害剤の本酵素に対する影響を観察したところ、ATPで著しく活性化される一方、用いたいずれのPLA₂特異的阻害剤でも全く阻害されなかった。これらの結果は、本酵素が現在までに体系づけられてきたいずれのPLA₂とも異なる構造をもつ、新たなタイプの酵素である可能性を示している。また、本酵素の特徴は、SG画分由来Ca²⁺-非依存性PLA₂と大変類似しており、両者が同一のグループに属している可能性が示唆された。

一方、これらPLA₂の生理機能として、開口分泌への関与をモデル系で検討した。R18を過剰負荷したSG画分とモデル膜からなる膜融合モデル系において、モデル膜を蛇毒PLA₂で処理すると、膜融合の進行を反映した蛍光強度の増加が観察された。その増加率は、モデ