

- (2) 生体内含量の変化を反映する尿中MTBCとTBCのクレアチニン比(ng/mg)は、非飲酒時(n=48)と比べて飲酒2時間後(n=16)に有意に増大した(MTBC:  $2.33 \pm 0.17$  vs  $9.43 \pm 0.95$ , TBC:  $0.54 \pm 0.04$  vs  $1.59 \pm 0.18$ ). 飲酒によってテトラヒドロ- $\beta$ -カルボリン類が増加したのは、飲酒に伴う外因性供給量の増加やアルデヒド/インドールアミン間の生体内縮合反応の促進によると考えられる。
- (3) 局所麻酔薬が膜脂質を流動化したのに対して、MTBCとTBCはng~ $\mu$ g/mlレベルで膜疎水性領域の流動性を低下させた。一方、テトラヒドロ- $\beta$ -カルボリン類はDPPCリポソームのPNA偏光を $\mu$ g~mg/mlレベルで減少させるとPeura等が報告している。このような膜作用に関する矛盾は、MTBCとTBCが濃度依存的に二相性の膜流動性変化を起こすことで説明できる。MTBC(0.1~200ng/ml)やTBC(5.0~50 $\mu$ g/ml)の前処理は、局所麻酔薬のDPPCリポソームに対する膜作用を著しく抑制した。また、40mol%コレステロール/60mol%POPCリポソームにリドカイン(2.0mg/ml)が起こした膜流動化に対して、MTBCは200ng/mlで97.9%、生体内濃度に近似の100pg/mlで43.8%の抑制を示した。しかし、MTBCの水酸化代謝物は、200ng/mlでも有意な抑制効果を示さなかった。膜流動性低下作用がより強く飲酒で増加する生体内MTBCは、局所麻酔薬と相互作用して麻酔効果に影響し得る。慢性的飲酒で必ずしも麻酔効果が減弱しないのは、飲酒に伴いCytochrome P450(CYP2E1)が誘導されればMTBC水酸化代謝が亢進するためと考えられる。

#### <結論>

局所麻酔薬の作用は、神経細胞膜脂質の流動化に基づく。飲酒に伴う麻酔耐性について、“飲酒で増加するアセトアルデヒド-インドールアミン縮合物が膜流動性変化に関して相互作用する結果、局所麻酔が効きにくくなる。”という仮説的機序が想定できる。

(学位請求論文)

### 3. マウス口腔発生におけるホメオティック遺伝子産物、細胞増殖および成長因子の経時的発現

森川留美子(朝日大・歯・口腔病理)

個体発生に関連する主な遺伝子群は体軸決定遺伝子群、分節遺伝子群、ホメオティック遺伝子群であり、体軸遺伝子群本体の母性効果遺伝子群から始まる遺伝子活性化カスケードの発現パターンが、軸決定、体節形成、原基形成、成長、完成といった個体発生の経過に反映されている。

しかし、頭頸部のみは体節とは違って例外的に顔面隆起の口咽頭弓から生じており、その特徴は間葉組織が中胚葉性間葉と神経堤由来の外胚葉性間葉という2種の間葉より成る点にある。このような顔面隆起から

生じる口腔領域の発生を光顕的に経時的(胎生10日から生後2日のマウス)に追求すると同時に、その組織発生を基にして組織発生(体節の特徴付け)に関連する遺伝子発現物質のホメオティック遺伝子産物、ならびに発生原基の細胞増殖と分化に関連する成長因子ファミリーの2系を選んで免疫組織化学的に検索した。

#### <材料と方法>

用いた胎児マウスおよび生後マウスは合計220匹で、これらを10%中性ホルマリンで固定した後、それぞれ約6 $\mu$ mパラフィン切片とした。そしてまずHE染色による光顕的観察によってマウス口腔領域の型形成の過程を観察した。

さらに免疫組織化学的検索では、ホメオティック遺伝子産物のPax-9およびHox-11、増殖関連物質のPCNA、成長因子のTGF $\beta$ スーパーファミリー(TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ R I, TGF $\beta$ R II, BMP-2/4, BMP-4, Inhibin- $\alpha$ ), NGFファミリー(NGF, NGFR-1, NGFR-5, PDGF-A), EGFファミリー(TGF- $\alpha$ , HB-EGF, EGFR), FGFファミリー(FGF-8, FGFR-1, FGFR-2)のそれぞれをstreptoavidin-biotin-peroxidase complex法にて検出した。

#### <結果>

光顕的には、口腔発生は原基形成期(10~12日胚)、成長期(13~17日胚)および完成期(18日胚以降)の3期に分けることができた。12日胚は様々な原基形成が認められるようになる時期であると同時に、17日胚にまで及ぶ成長期の開始期ともオーバーラップしていた。

免疫組織化学的検索では、ホメオティック遺伝子産物のPax-9およびHox-11は口腔領域にも認められ、Pax-9は上皮系細胞(口腔粘膜上皮と歯胚上皮)に、これに対してHox-11は神経線維に検出され、組織細胞特異性の傾向が強く現れた。

PCNAは12日胚と15日胚以降に二つのピークを示す発現性を示した。

NGFファミリー、EGFファミリーは12日胚と17日胚前後に二相性のピークを描いて検出された。これに対してFGFファミリーのみは成長期後半のみにピークを認めた。

さらに、TGF- $\beta$ スーパーファミリーのTGF- $\beta$ 1とレセプターのTGF- $\beta$ R IおよびTGF- $\beta$ R IIは13日胚と14日胚にピークを示した。

#### <考察>

本来、体節の特徴付けに機能するホメオティック遺伝子産物が口腔発生の場合でも発現され、その中のPax-9は歯胚上皮に、Hox-11は軟骨や骨の特徴付けに関連していることが示唆された。

またPCNA発現性から、最も旺盛な細胞増殖は胎生12日および15日胚以降に現れ、これには原基形成のための増殖と、組織完成のための増殖が反映されていることが窺えた。そして、成長因子の中で増殖抑制に機

能するTGF- $\beta$ 1とそのレセプターは13日および14日胚にピークを示したことは、このPCNA発現細胞減少期とよく一致していた。

これとは逆に、他の成長因子はPCNA発現細胞増加期と一致しており、これらはmitogenとして作用していることが示唆された。

以上より細胞増殖低下期の13日および14日胚で分化が展開される可能性が最も高いことが予測され、同時に、各成長因子の多様な発現は、口腔の各原基の分化と成長に複雑な影響を及ぼしていることも併せて示唆された。

<結論>

1. マウス口腔発生は原基形成期(10~12日胚)、成長期(13~17日胚)および完成期(18日胚以降)の三期にわたることが明らかになった。
2. ホメオティック遺伝子は口腔発生にも関与することが明らかになった。
3. 細胞増殖は12日と17日胚前後にピークを示した。
4. TGF- $\beta$ 1とそのレセプターは細胞増殖低下期に一致して検出された。
5. これとは逆に、他の成長因子のNGF, EGFおよびFGFの各ファミリーは細胞増殖期と一致して検出された。  
(学位請求論文)