

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<sup>1)</sup>

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)

(<sup>1)</sup>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