

れる。そこで次の問題としてこの吸着がこれら試薬の如何なる性質によって生じるかを検討することとした。

我々は先に脂肪酸イオンの抑制効果を調べ脂肪酸イオンの鎖が長くなるにつれて抑制効果が強まることを見いだしている。そこで、受容膜への陰イオンの結合には疎水結合が関与しているのではないかと考え、ニトロフェノール化合物を用いて抑制力と疎水性との関係を調べた。

そこで、受容膜への陰イオンの結合には疎水結合が関与しているのではないかと考え、ニトロフェノール化合物を用いて抑制力と疎水性との関係を調べた。

2,4DNP 以外のニトロフェノール化合物も実験に使用した濃度範囲では、2,4DNP と同様に可逆的抑制効果を示したが、その抑制力は $2,4DNP > 2,5DNP > TNP > P-NP > 2,6DNP > m-NP > O-NP$ の順であった。この順序はこれら化合物の脂質および水に対する溶解度及び油/水分配率の順序と一致せず、疎水結合が陰イオンと受容膜の結合の主役であるとは考えにくい結論となった。そこで、これら化合物は二重親液性物質として作用し、結合には疎水結合と同時に極性基による結合も関与しているのではないかと考え、二重親液性物質の代表であるANSならびに界面活性剤が抑制効果をもつかどうかを調べたところ、ANSならびに陰性界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウムに強い抑制効果があることが見いだされた。従ってカエル舌水受容器に対する陰イオンの抑制効果には、その陰イオンの疎水結合性と同時に極性基による結合性が関与していると推察される。

第2回松本歯科大学研究会講演抄録

昭和49年3月15日(金)
松本歯科大学602教室

1. ヒト及びカエル舌粘膜の ATP アーゼ活性

野村浩道, 河野のり子 (口腔生理)

昆虫の触角の糖受容器の受容分子は、 α -グリコシダーゼであることを認められてきているが、この酵素は糖を外から与えたときにも、糖を分解することが分かっている(Koizum, et al, 1973)。そこで、もしカエル舌味受容器の受容分子が前報告で述べた如く、 Ca^{++} 依存性 ATP アーゼであれば、この受容分子は外からかけた ATP を加水分解するのではないかと考え、食用ガエルの舌粘膜に ATP 溶液をかけて加水分解が生じるか否かを調べてみた。また比較のために、ヒトの舌についても同様な実験を行なった。

食用ガエルの舌に $2mM$ ATP 溶液 $5ml$ を繰り返して5回かけたところ、 Ca^{++} の存在する時には約5%のATPが分解されたが、 Ca のない時には、1.5%であり、有意差を認めた。 β -グリセロリン酸を用いてアルカリホスファターゼ活性を調べたが、ほとんど活性は認められなかった。ヒトの舌では、僅かのATP分解が見られたが、 Ca^{++} の有る無しとは関係ないように思われた。また、 β -グリセロリン酸を用いた結果も同程度の無機リン生成量であった。ヒトの場合、試験溶液中の蛋白量と、生成された無機リン量との間にはほぼ比例関係が見られるので、そのATPの分解は、粘液中のアルカリホスファターゼの作用によるものと考えられる。

このような結果から、我々はカエルの舌粘膜に Ca^{++} 依存性ATPアーゼが存在するらしいという結論を得た。しかし、これが受容分子であるかどうかについては、この実験からはまだ十分結論づけることは出来ないので、今後さらに検討したい。

2. カエル舌化学受容器に対する Ca イオン依存性 ATP アーゼ阻害剤の作用

野村 浩道 (口腔生理)

カエル舌化学受容器は Ca イオンに高い感受性をもち、 $10^{-5} \sim 10^{-4}$ M の CaCl_2 に感ずることがわかっているが、われわれは、この受容器が H イオンに高い感受性をもつことや、長鎖の脂肪酸イオンによって抑制を受けることなどから、この化学受容器の受容分子は血清アルブミンに似た性質の蛋白質ではないかと考えている。

ところが、最近昆虫の糖受容器で受容分子が膜酵素であることがわかってきた。そこでカエル舌化学受容器の受容分子も一種の膜酵素ではないかと考え、Ca イオンで活性化される膜酵素として知られている Ca イオン依存性 ATP アーゼと受容分子との関連を調べることとした。本報告では、そのうち Ca イオン依存性 ATP アーゼ阻害剤の作用について報告する。

Ca イオン依存性 ATP アーゼ阻害剤としては Ruthenium red, Mersalyl acid, Quinacrin, 2,4-DNP, Ethacrynic acid, Sodium amytal, N-ethylemalimide (NEM) などが知られているが、このうち Ruthenium red, Quinacrin, 2,4-DNP および Ethacrynic acid に低濃度で可逆的抑制作用、高濃度で不可逆的抑制作用がみられ、NEM に不可逆的抑制作用がみられた。前4者の50%抑制を生じる濃度は、赤血球膜で知られている濃度よりいずれも低いものであった。しかし、Mersalyl acid および Sodium amytal には、はっきりした抑制効果が認められなかった。

以上の結果は、カエル舌化学受容器の受容分子が Ca イオン依存性 ATP アーゼである可能性をかなり強く示唆しているように思われる。しかし、Mersalyl acid および Sodium amytal に抑制効果がみられないことは、今後さらに別の面から検討する必要があることを示している。

3. 感染能を有する歯垢嫌気性菌の産生酵素

中村 武, 杉中芳幸 (口腔細菌)

heparinase 産生性 *Bacteroides* および嫌気性 *Corynebacterium* は *Bacteroides melaninogenicus* と共に歯槽膿漏症病巣局所で predominant であること、また、これら3菌種の純培養菌の組合せが種々の動物に感染発症させることが明らかとなっている。従ってこれら菌種の保有する病原的屬性を明らかにする事は歯周疾患に於ける病因論に極めて重要であると考えられる。われわれはこれら菌群中の歯周結合組織崩壊に関連する産生酵素について検討しているが、今回は heparinase 産生性 *Bacteroides* および嫌気性 *Corynebacterium* の種々ムコ多糖体に対する作用、さらに嫌気性 *Corynebacterium* の脂質分解因子について検討した。

供試菌は感染能を有する heparinase 産生性 *Bacteroides* および嫌気性 *Corynebacterium* の2株である。各菌株のムコ多糖体分解能は、heparin, chondroitin sulfate (1mg/ml) および hyaluronic acid (2mg/ml) 加 Trypticase broth に接種し、嫌気培養後経日的に培養液中の各基質定量によって検索した。なお定量法はこれまでと同様 toluidine blue 溶液の titration によった。heparinase 産生性 *Bacteroides* は供試3種の多糖体をすべて分解した。嫌気性 *Corynebacterium* は chondroitin sulfate および hyaluronic acid を分解したが、heparin を全く分解しなかった。それぞれ当該菌から heparinase および chondroitin sulfatase を抽出してこれら粗酵素による各基質分解性を検したところ heparinase は2種の多糖体を分解するが、chondroitin sulfate には作用しなかった。しかし本菌の chondroitin sulfate 加培養菌体からの抽出粗酵素は heparin に対する分解活性は弱い、chondroitin sulfate 分解活性は強く発現した。嫌気性 *Corynebacterium* からの粗酵素は培養液中の活性と同様 heparin 分解活性は認められ

ないが、供試2種の多糖体を分解した。粗酵素の各基質分解は平板法による検索からも確認された。嫌気性 *Corynebacterium* は卵黄平板で顕著な乳光反応を呈する事実に基づいて本因子を培養上清から硫酸分画法で濃縮した。cell free 標品の lecithin に対する分解性を methanolic NaOH 液中の titre, 平板法による乳光反応および反応混液の paper chromatography で検討した。

4. *Azotobacter vinelandii* の産生する蛍光色素の生理作 用の検討(I)

深沢勝彦, 原田 実 (口腔生化学)

アゾトバクター属の窒素固定化反応に関与する酵素は鉄—モリブデンを含んだ金属蛋白質であるが、その電子伝達体は不明である。しかしながら、本菌を鉄含有、鉄欠乏培地で培養すると、前者でフラビン、後者では黄緑色蛍光色素を選択的に培地中に遊離することが知られている。

正常菌体と鉄欠乏菌体の蛋白質分解酵素活性を測定すると、鉄欠乏菌体の方が2倍高い活性を示しその結果、培養液中のアミノ酸濃度も高い値 ($10^3 \mu \text{mole/cell}$) を示した。

蛋白質分解酵素の存在するところには、その酵素阻害物質が存在するという報告が1968年頃からあり、これまでに、ロイペプチン、アンチバイン、キモスタチン、ペプスタチンが発見されている。この蛍光色素が産生される条件下では蛋白質分解酵素活性が高まるという事実から当然それら蛋白質分解酵素阻害物質も存在しなければならず、本色素の酵素阻害作用を検討し以下のような結果を得た。基質蛋白質としてカゼイン、分解酵素としてトリプシン、キモトリプシン、ペプシン、ババインを用い275 nm による吸光度の増加量を測定する方法により活性を測定した。本物質の阻害作用はババイン—カゼインの反応系で0.3 μmole の量で50%阻害のある事を見いだした。現在までに微生物から発見された上記特異酵素阻害

物質は病因の解析や、疾病の治癒に有効である。具体的にはそれらの化合物は血液凝固時間の延長、カラゲニン浮腫、胃潰瘍、十二指腸潰瘍発生の阻止等が認められている。

本蛍光色素はババインに対する阻害作用を持つことが明らかになったのでさらに特異酵素の検索、ならびにその反応機構を解明して行きたい。

5. 骨内 IMPLANT の基礎的 実験 (その1) 病理組織所見

岩佐太人, 鈴木茂夫, 橋本京一
(補綴学 I)

鈴木和夫 (口腔解剖 II)

歯科領域において今まで数多くの IMPLANT が試みられてきて、種々なる臨床所見およびX線写真所見が報告されているが、病理組織所見に関する報告はきわめて少ない。

われわれは、Titanium を材料とした Blade 型の IMPLANT を Mini-pig の胫骨に移植し、3か月後のX線写真の観察とともに、移植部切断面の肉眼および顕微鏡的観察を行った。

Blade-post は骨膜から伸びる緻密繊維性結合組織膜すなわち一種の Peri-implant-membrane によって被覆され、これより分化した骨芽細胞による繊維性骨形成が見られ、既存の海綿骨骨梁および IMPLANT 下方の緻密骨骨組織と癒合し、さらに IMPLANT 上方では骨膜より分化した骨芽細胞により繊維性骨形成が見られ、埋入された IMPLANT を固定しているものと思われる。また、Blade-neck 部から脚上方部は、骨外周の緻密骨から伸びる骨組織によって包まれており、脚下端部は海綿骨骨梁様の骨組織に包まれ、脚周縁を取り巻く骨組織は周囲の海綿骨骨梁と連結し、IMPLANT 周辺の新生骨は外表が骨梁様構造となって周囲の海綿骨骨梁と癒合したものと考えられる。

以上の結果を考察すると、IMPLANT の移植による局所の異常所見と思われるものは全く見ら

れず, Blade 脚周辺の Neck 部から続く緻密骨や被覆や, 新生骨部における骨芽細胞の配列など, IMPLANT と組織との親和性についても極めて良好な結果が得られたものと考えられる。

6. ラット顎下腺排泄管結紮による腺組織の変化

吉 沢 英 樹 (口腔解剖II)

顎下腺排泄管結紮による腺組織の変化については種々の実験がみられるが, しかしこれら実験は腺房や導管系の変性についての光顕的観察のみで, 腺細胞や導管上皮細胞の微細構造の変化については殆んどなされていない。特にラット顎下腺顆粒管上皮細胞についての研究はみられない。

Wister 系ラットの顎下腺排泄管を結紮し, 結紮側と非結紮側の変化を経日的に観察した。

結紮による腺の変化は腺実質の外層部より, 腺細胞の萎縮変性に始まり, 腺小葉内に多くの結合

組織繊維が侵入し, 腺房を被覆する様になる, 腺細胞の変性がさらに進むと, 細胞質中に多くの空胞がみられる様になると共に, 核の濃縮がみられ, 細胞壊死の様相を示す。これらの変化は最初に腺房に現われ導管系は腺房よりおくれて変化が現われる。導管系の変化は管房の拡大と導管上皮細胞の萎縮であり, これら変化は導管系では介在部に早く出現し, ついで線条部にみられ, 顆粒管部では変化の出現は最もおそい。

非結紮側では術後 5 日, 7 日頃から腺体の外層部に増生が見られる様になる。光顕で観察すると既存の腺体辺縁部より未分化上皮細胞が索状にのび, これが数条に分岐する, また導管系細胞と腺房細胞との差はみられない。さらに増生が進むと細胞索先端部の細胞は大きさを増すと共に細胞質はやや明るくなり, 腔を中心に胞状に配列する様になる。また導管系の部位的な差はない。術後 20 日頃より増生部に明らかな線条部が存在する様になるが顆粒管の新生はみられない。

結紮側では分泌部と顆粒管を除く導管系の細胞に変化が現われ, 非結紮側では早期に分泌部の増生が見られ, 顆粒管の新生は見られないことから, 顆粒管は外分泌腺と異なった機能を有するものと考えられる。