

## 新潟歯学会学会抄録

## 第49回 新潟歯学会 総会

日時 平成28年4月23日(土) 午前10時～  
場所 新潟大学歯学部講堂

## [特別講演]

造血幹細胞・前駆細胞を維持する骨髄の微小環境(ニッチ)

大阪大学大学院 生命機能研究科/  
医学系研究科 幹細胞・免疫発生研究室  
長澤丘司

生涯にわたり血液系・免疫系細胞を供給し続ける造血幹細胞は、細胞数が成熟した血液細胞より圧倒的に少なく、骨髄のニッチと呼ばれる限局した特別な微小環境によって維持されると考えられてきた。しかし、この造血幹細胞ニッチの実体は長年不明であった。2003年、骨表面に局在する骨芽細胞の一種(SNO細胞)が造血幹細胞ニッチを構成すると報告されたが、その生体での機能が証明されるには至らず、最近では、否定されつつある。私たちは、2006年に、ケモカインCXCL12が、造血幹細胞の維持と免疫担当細胞の産生に必須であることを明らかにし、骨髄腔内にCXCL12を高発現し、長い突起を持った細胞の一種(CAR細胞)を同定した(1)。更に、CAR細胞が、骨芽細胞形成に必須の転写因子Osterixと脂肪細胞形成に必須の核内受容体PPAR $\gamma$ を同時に発現する脂肪・骨芽細胞前駆細胞であること、造血幹細胞の維持に必須のSCFとCXCL12の骨髄での主要な産生源であること、造血幹細胞と自己複製を欠いた造血前駆細胞の維持に必須であることを明らかにした(2)。最近、転写因子Foxc1が骨髄ではCAR細胞で特異的に高発現し、CAR細胞による造血幹細胞ニッチの形成と維持に必須であることを見出した(3)。これらの知見より、造血幹細胞ニッチを構成する細胞の実体が分子レベルで明らかになった。

- 1, Sugiyama, T. et al., Immunity 25, 977 (2006) .
- 2, Omatsu, Y. et al., Immunity 33, 387 (2010) .
- 3, Omatsu, Y. et al., Nature 508, 536 (2014) .

## [一般講演]

## 1 歯髄幹細胞に対する lipopolysaccharide 刺激の影響

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野  
<sup>2</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野  
○末山有希子<sup>1</sup>, 金子友厚<sup>1</sup>, 伊藤崇史<sup>1</sup>, 興地隆史<sup>2</sup>

## 【目的】

我々は、MAP1BおよびCD146を発現する幹細胞様細胞がラット歯髄に多数分布することを報告した。しかし炎症性刺激が幹細胞の動態や遺伝子発現に及ぼす影響の詳細は不明である。そこで本研究では、幹細胞のCD146(幹細胞分化能マーカー)発現と増殖能に着目し、ヒト歯髄幹細胞(2種)およびラット骨髄間葉系幹細胞を用いて、細胞増殖と幹細胞分化能に対するlipopolysaccharide(LPS)刺激の影響をin vitroで検討した。またLPSにより歯髄炎を誘発したラット切歯歯髄組織を検索対象として、CD146mRNA発現およびMAP1B/CD146二重陽性細胞数の変化を併せて解析した。

## 【材料および方法】

in vitro: ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞, ヒト歯髄幹細胞, およびラット骨髄間葉系幹細胞を播種後, LPSもしくは生理食塩液を培養液に滴下し, 3, 12, 24, 48時間培養した。また, 対照としてラット微小血管内皮細胞を用い同様に培養した。所定時間経過後, 各培養細胞から全RNAを抽出し, CD146mRNA発現を定量解析した。また, 所定時間経過後の単位面積あたりの細胞数も定量した。

in vivo: Wistar系雄性ラットに全身麻酔を施した後, 下顎切歯を切削, 露髄させLPSを貼付したのち, 窩洞を封鎖した。LPS刺激12, 24, 48時間経過後に切歯歯髄を摘出し, 全RNAを抽出後, real time PCR法を用いてCD146mRNAの発現解析を行った。また上述と同様に施術した組織に対し, 固定, 凍結包埋, 薄切後, MAP1BとCD146に対する免疫二重染色法を行い, 二重陽性細胞数を定量した。

## 【結果および結論】

in vitroにおいて, 幹細胞におけるLPS刺激後のCD146mRNA発現亢進と細胞増殖の亢進が観察された。一方, 血管内皮細胞に有意な変化は観察されなかった。in vivoでは, 歯髄組織のCD146mRNA発現亢進後にMAP1BとCD146の二重陽性幹細胞数の増加が認められた。以上の結果よりLPS刺激により幹細胞にCD146mRNAの発現亢進と細胞増殖能の亢進が生じる

ことが明らかとなった。

## 2 結紮誘導歯周炎モデルマウスにおける全身への影響とそのメカニズムの解析

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野

<sup>2</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

<sup>3</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯学教育研究開発学分野

○松田由実<sup>1,2</sup>, 高橋直紀<sup>1,2</sup>, 中島麻由佳<sup>1,2</sup>, 佐藤圭祐<sup>1,2</sup>, 多部田康一<sup>1</sup>, 中島貴子<sup>3</sup>, 山崎和久<sup>2</sup>

### 【目的】

歯周炎は様々な全身疾患のリスク因子であることが知られており、そのメカニズムのひとつとして歯周炎により誘導される全身性の炎症の影響が考えられてきた。我々は *Porphyromonas gingivalis* 経口投与モデルを用いて、腸内細菌叢の変化とそれに伴う腸管バリア機能の低下の結果、腸管から病原因子が漏出し全身性の炎症が惹起されることを報告した。一方で、歯周炎組織で産生された炎症メディエーターが直接全身循環に流入することで全身性の炎症が誘導されることも考えられるが、これまでその検証は十分になされていない。結紮誘導歯周炎モデルは、歯周組織へのプラーク蓄積により顕著な歯周組織の破壊及び炎症が誘導される。今回我々はこのモデルを用いて、歯周組織局所の炎症が全身性に与える影響とそのメカニズムを検討した。

### 【材料および方法】

10週齢雄 C57BL/6 マウスの上顎両側第2臼歯を絹糸にて結紮し、14日後に上顎骨を採取し、歯槽骨吸収量の計測、歯肉組織における炎症性サイトカインの遺伝子発現および組織学的解析を行った。また、肝臓における炎症性サイトカイン遺伝子発現、血清中の炎症性サイトカインおよびエンドトキシンレベルを解析した。更に、腸内細菌叢及び腸管における各種遺伝子発現解析を行った。

### 【結果】

結紮群は非結紮群と比較して、顕著な歯槽骨吸収と辺縁歯肉における炎症性細胞浸潤を認めた。また、歯肉組織における IL-1 $\beta$  及び IL-17 の遺伝子発現は有意に上昇した。一方、血清における IL-6 レベルは有意に上昇したが、歯肉における IL-6 遺伝子発現の上昇はわずかであった。血清中の SAA レベルの増加傾向と肝臓における SAA 遺伝子発現の有意な上昇を認めた。腸内細菌叢の変動は微弱で、腸管透過性関連遺伝子発現及び血清エンドトキシンレベルに両群間での有意な変化は認めなかった。

### 【考察】

本モデルにおいて、限局的ではあるが全身性の炎症が

惹起されることが確認された。歯肉組織と血清中では炎症性サイトカインの発現プロファイルが一部異なることから、歯周炎組織で産生された炎症メディエーターが全身循環へ直接波及する可能性は低いと考えられる。

## 3 *Streptococcus mutans* に対する厚朴由来抽出物の殺菌ならびに抗バイオフィーム効果

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 微生物感染症学分野

<sup>2</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

<sup>3</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 摂食機能保存学講座 歯髄生物学分野

○坂上雄樹<sup>1,2</sup>, 土門久哲<sup>1</sup>, 小田真隆<sup>1</sup>, 竹中彰治<sup>2</sup>, 興地隆史<sup>3</sup>, 寺尾 豊<sup>1</sup>

### 【目的】

Magnolol および Honokiol は、生薬として広く用いられている厚朴由来のポリフェノールである。鎮痛作用や抗炎症作用のほか、抗菌作用を有するとされており、口腔領域では歯周病原性細菌に対する抗菌効果が報告されている。本研究では、これら厚朴由来抽出物の *Streptococcus mutans* 浮遊菌およびバイオフィームに対する殺菌能を解析した。

### 【方法】

Magnolol もしくは Honokiol を添加した Brain heart infusion (BHI) 培地に、*S.mutans* MT8148 株を添加し、37°C、5% CO<sub>2</sub> の条件下で培養した。24時間後の培地濁度の変化により、浮遊状態における増殖抑制効果を評価した。対照として、クロロヘキシジングルコン酸塩を培地に添加した。次に、*S.mutans* 浮遊菌に対する各抽出物およびクロロヘキシジングルコン酸塩の殺菌効果を、コロニーカウント法により測定した。また、0.5% スクロースを添加した BHI 培地を用い、各抽出物およびクロロヘキシジングルコン酸塩が *S.mutans* バイオフィーム形成能に及ぼす影響を調べた。続いて、ガラスボトムディッシュ底面に形成した *S.mutans* バイオフィームに、各抽出物もしくはクロロヘキシジングルコン酸塩を作用させた。その後、生細胞・死細胞同時染色キットを用いて染色し、共焦点蛍光レーザー顕微鏡にて観察した。バイオフィーム中の菌の生存率は、バイオフィームを剥離・分散させた後、コロニーカウント法により算定した。さらに、ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 に対する各抽出物の細胞毒性は、MTT 試験にて測定した。

### 【結果および考察】

Magnolol および Honokiol は、浮遊菌に対して殺菌効果を示すとともに、*S.mutans* のバイオフィーム形成を抑制した。また、Magnolol を5分間作用させた群では、Honokiol およびクロロヘキシジングルコン酸塩作用群と比較してバイオフィーム深部まで浸透殺菌されてお

り、バイオフィーム中の S.mutans の生菌数を 99.9% 減少させた。さらに、Magnolol および Honokiol は、有効殺菌濃度においてヒト肉肉上皮細胞に対して細胞毒性を示さなかった。以上より、Magnolol は S.mutans バイオフィームに対する優れた殺菌効果を有し、かつ口腔粘膜への為害性が低いことが示唆された。

#### 4 大気圧センサを用いた嚥下時咽頭内圧変化の測定

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生理学分野

<sup>2</sup>新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部

<sup>3</sup>東京歯科大学 口腔科学研究センター

○長谷川真奈<sup>1,2</sup>, 山田好秋<sup>3</sup>, 黒瀬雅之<sup>1</sup>,  
岡本圭一郎<sup>1</sup>, 藤井規孝<sup>2</sup>, 山村健介<sup>1</sup>

##### 【目的】

嚥下機能を経時的、定量的に評価すべく、従来、多くの測定システムが開発されてきた。咽頭圧測定もその範疇である。しかしその機器の特性から嚥下時に移送される食塊が直接センサーに作用する結果、圧変化に影響を与え、結果の解釈を複雑にすることが推察されてきた。今回、我々は高精度の小型大気圧センサーを利用した口腔・咽頭内圧測定システムを開発し、嚥下に伴う咽頭内の“空気圧”の変化を評価した。

##### 【方法】

健常被験者の中咽頭に経鼻的に大気圧センサーを留置した。また舌骨上筋活動を記録した。被験者には、唾液と 15ml および 45ml の水・2 種類の性状の異なるとりみ水を 1 回で嚥下するように指示、その際の咽頭内圧と筋活動を同時記録し、応答を定量した。

##### 【結果】

すべての嚥下動作において一過性に咽頭内圧の上昇が認められた。水、とりみ嚥下では、全試行の 99.4% で二相性の圧変化を示したが、唾液嚥下では 0.1% であった。液体嚥下群で見られた二相性の圧変化を Early phase と Late phase に区分し解析した。Late phase の圧変化は Early phase より大きかった。45ml の水嚥下時の Early phase の圧変化は 15ml より有意に大きかった。Late phase は食塊の量や性状の影響を受けなかった。さらに液体嚥下群の Late phase の AUC は唾液嚥下と同じであった。筋活動は量依存性の増加を認めるも、性状の違いの影響を受けなかった。Early phase の圧がピークとなるタイミングは筋活動が最大となる時点にほぼ一致し、Late phase の発現はその後であった。

##### 【結論】

1) 唾液、液体嚥下に伴う咽頭圧変化はそれぞれ単相性、二相性の変化を示した。2) Early Phase の圧変化は量依存性の増加を示したのに対し、Late phase は量

／性状に依存しなかった。3) Early, Late phase の圧変化は舌骨上筋群の活動性の上昇に先行しなかった。4) 舌骨上筋群の活動は量依存性であった。5) Early および Late Phase の機能的意義は現時点では不明も、異なるメカニズムの存在が推察された。

#### 5 フィリピン共和国マンドラウエ市における社会経済状況別にみた学童の齲蝕罹患状況、口腔衛生習慣、身体発育状況および食生活状況

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 予防歯科学分野

<sup>2</sup>新潟大学医歯学総合病院 予防歯科

○西川敦子<sup>1</sup>, 山賀孝之<sup>2</sup>, 小川祐司<sup>1</sup>, 宮崎秀夫<sup>1</sup>

##### 【目的】

近年、東南アジア諸国はめざましい経済発展を遂げている一方で、国内における健康格差が拡大している。しかし、社会的経済状態別にみた学童の齲蝕罹患状況に関する報告は十分ではない。本研究の目的は、フィリピン共和国マンドラウエ市における学童の社会経済状況別の齲蝕罹患状況を明らかにするとともに、口腔衛生習慣、身体発育状況および食生活状況との関連を検討することである。

##### 【方法】

対象はマンドラウエ市内 1 公立小学校の 6 歳児 41 名と 12 歳児 42 名および 1 私立小学校の 6 歳児 36 名と 12 歳児 34 名の計 153 名である。公立小学校児童を貧困層(以下 Low 群)、私立小学校児童を中流階級層(以下 Middle 群)と定義し、歯科健診、身長・体重測定を実施し BMI を算出した。さらに、質問紙調査を保護者(自記式)および学童(12 歳児のみ、聞き取り)に実施し、口腔保健行動や口腔衛生知識、さらに食習慣に関する情報を得た。

##### 【結果および考察】

齲蝕罹患状況は 6 歳児では df 者率、dft 指数および齲蝕歯にしめる処置歯の割合 (ft/dft) を、12 歳児では DMF 者率、DMF 指数および齲蝕歯にしめる処置歯の割合 (FT/DMFT) を比較した。いずれの項目も Low 群の有病率が高く処置歯率が低い傾向を示したが、両群ともに罹患状況は悪く統計学的有意差が認められたのは 12 歳児の DMF 者率 (Low 群, Middle 群それぞれ 92.9%, 70.6%,  $p = 0.014$ ) のみであった。BMI は 12 歳児女子で統計学的有意差が認められた (Low 群, Middle 群それぞれ 16.2, 20.1,  $p = 0.0002$ )。また、質問紙調査の結果は、保護者では学歴、1 日の歯磨き回数、口腔保健知識、歯痛症状の有無、定期的歯科受診および数項目の食物摂取の頻度に、学童 (12 歳児のみ) では 1 日の歯磨き回数、口腔保健知識、数項目の食物摂取の

頻度に両群で統計学的有意差が認められた。社会経済状況により齲蝕に関する学童の健康格差が存在し、その背景因子として口腔保健知識や食習慣の違いなどが考えられたが、中流階級層の齲蝕罹患状況も悪く、さらなる歯科保健対策の必要性が示唆された。

## 6 新潟大学大学院医歯学総合研究科顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野における48年間の顎矯正手術の臨床的検討

新潟大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野

○長谷部大地, 須田大亮, 浅井佑介,  
小島 拓, 加藤祐介, 小林正治

### 【緒言】

外科的矯正治療のさらなる向上のため、今回、われわれは当分野において過去48年間に行われた顎矯正手術の臨床統計的検討を行った。

### 【対象】

当分野にて1968年1月から2015年12月までの48年間に顎変形症の診断で顎矯正手術を行った顎変形症患者1452名のうち、資料が整った1448名を対象として性別・手術時年齢、臨床診断、術式、手術時間、出血量、輸血量等を検討した。

### 【結果】

対象の内訳は男性473名、女性975名で男女比は1:2.1

であった。手術時の平均年齢は $22 \pm 7$ 歳で最年長59歳、最年少12歳であった。年齢層の内訳は15歳以上25歳未満が1065名と最も多く、全体の73.6%を占めていた。臨床診断はAngle 3級症例が1145例(79.1%)、Angle 2級症例が125例(8.6%)で、その他178例(12.3%)であった。口蓋裂を含めた先天疾患を伴った症例は60名(4.0%)、外傷起因性症例は10名(0.7%)認めた。術式は上顎LeFort1型骨切り術と下顎枝矢状分割法の併用が584例(40.3%)と最も多く、次いで下顎枝矢状分割法単独563例(38.9%)、curved oblique osteotomy 53例(3.7%)、body osteotomy 34例(2.3%)の順であった。平均手術時間は $221.6 \pm 95$ 分、平均出血量は $549.4 \pm 415$ mlであり、最も多かった出血量は4608mlであった。術中に輸血を行った症例は979例(67.6%)で、内訳は同種間輸血106症例、自己血輸血865症例、同種間輸血と自己血輸血の併用5症例であった。年別の症例数の平均は $30.2 \pm 23.1$ 例で、1968年の2例から始まり、その後年々増加していき1998年以降は年間30症例を越えるようになっていた。年間最多は2005年の79例、最少は1968年の2例であった。

### 【結語】

患者は10代後半から20代前半の女性が多かった。術式は時代とともに変化していき、近年では患者の期待に応えるために、より複雑な術式が用いられるようになっていた。