

## 学位研究紹介

## 歯肉炎および歯周炎組織における Toll 様受容体およびインターフェロン $\alpha 1$ の遺伝子発現定量解析

### Quantitative messenger RNA expression of Toll-like receptors and interferon- $\alpha 1$ in gingivitis and periodontitis

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻  
摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野

梶田 桂子

Division of Periodontology,

Department of Oral Biological Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Keiko Kajita

#### 【目 的】

歯周炎は細菌感染によって引き起こされる慢性感染症である。一方で歯周炎組織より単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、EB ウィルスなどのウイルス核酸が検出されており、歯周炎の病態形成におけるウイルスの関与も示唆されている。細菌やウイルス由来の種を超えて保存された抗原は Toll-like receptors (TLRs) で認識されるが、歯周炎組織における TLR family の遺伝子発現に関する報告は少なく、特に核酸認識に関わる受容体については全く報告がない。

よって本研究の目的は、歯肉炎群と歯周炎群で ① TLRs およびウイルス感染により産生が誘導され、強力な抗ウイルス作用をもつ interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) の発現を比較、②各ウイルスに対する血清抗体陽性率を比較、③ TLR7, 9 を高発現し、ウイルス感染における IFN- $\alpha$  産生の主体となる形質細胞様樹状細胞の出現頻度を比較することにより、歯周炎の病態形成におけるウイルス関与を明らかにすることである。

#### 【材料および方法】

新潟大学医歯学総合病院歯周病診療室並びに歯科総合診療部を受診した歯周炎患者群（以下歯周炎群）59 名

と歯周炎に罹患していないコントロール被験者群（以下歯肉炎群）27 名を被験者とした。歯周手術および矯正便宜抜歯時に病変部よりポケット上皮を含む歯肉組織を採取しトータル RNA を抽出、cDNA を合成した後、リアルタイム PCR 法にて遺伝子発現定量解析を行った。同時に歯周炎群 21 名、歯肉炎群 19 名から採血を行い、各ヘルペスウイルスに対する血清抗体価を ELISA 法にて測定した。さらに歯周炎群 7 名、歯肉炎群 2 名から歯肉組織を採取し連続凍結切片を作成、形質細胞様樹状細胞のマーカー分子 BDCA-2 に対する免疫組織学的解析を行った。

#### 【結 果】

- (1) TLR 2, 4, 7, 9 の遺伝子発現は歯肉炎群と比較して歯周炎群において有意に高かった。(図 1)
- (2) TLR 5 の遺伝子発現は 2 群間で差は認められなかった。(図 1)
- (3) IFN- $\alpha 1$  の遺伝子発現は歯肉炎群と比較して歯周炎群において有意に高かった。(図 1)
- (4) ヒトサイトメガロウイルスに対する抗体陽性率は、有意差はないものの歯周炎群で高い傾向が見られた。(表 1)
- (5) 単純ヘルペスウイルス、EB ウィルスに対する抗体陽性率は 2 群間で差は認められなかった。(表 1)
- (6) 歯周炎群の切片 7 例中 4 例において BDCA-2 陽性細胞がポケット上皮下の結合組織中にわずかに認められた。一方、歯肉炎群の切片では認められなかった。(図 2)

#### 【考 察】

本研究により、歯周炎組織において細菌由来の脂質抗原を認識する TLR2, 4 だけでなく、核酸抗原を認識する TLR7, 9 の発現が上昇していることがはじめて示された。TLR9 はウイルス DNA だけでなく細菌由来

	歯肉炎群 (%) N = 19	歯周炎群 (%) N = 21	P-value
単純ヘルペスウイルス	52.6	76.2	0.12
サイトメガロウイルス	73.7	95.2	0.057
EB ウィルス	94.7	95.2	0.94

表 1 各ウイルスに対する血清抗体陽性率 (カイ 2 乗検定, P 値 < 0.05 をもって有意差あり)

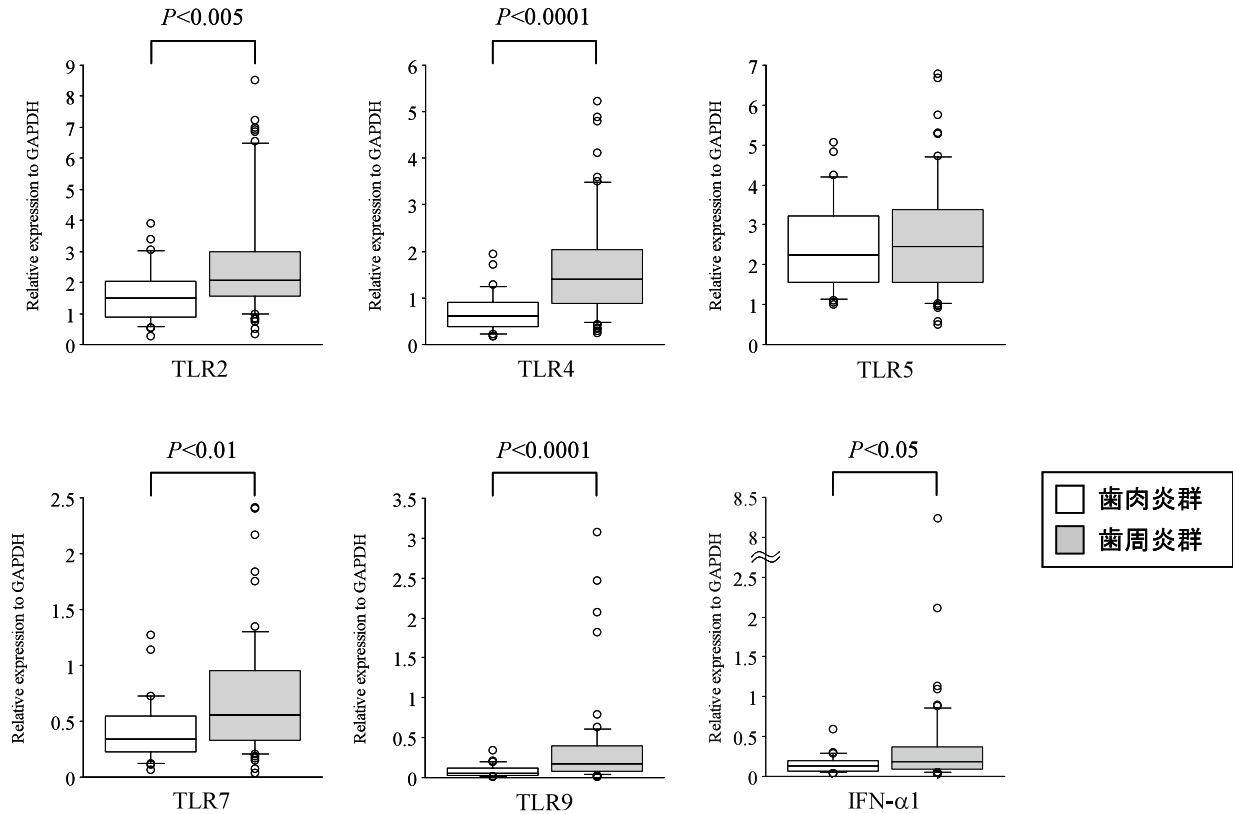


図1 各 Toll 様受容体および IFN- $\alpha$ 1 の遺伝子発現比較  
(Mann-Whitney U-検定, TLRs は P 値 < 0.01 (Bonferroni 補正適用), IFN- $\alpha$  は P 値 < 0.05 をもって有意差あり)

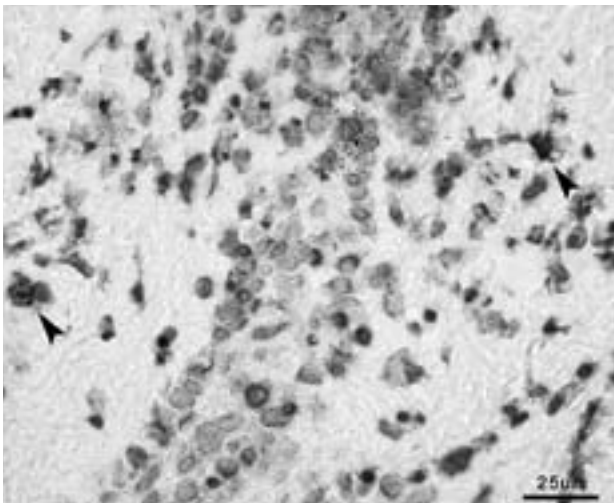


図2 歯周炎組織における BDCA-2 陽性細胞 (矢頭) の免疫染色像

DNA も認識するため TLR9 の歯周炎群での発現上昇は必ずしもウイルスの関与を意味しない。また、形質細胞様樹状細胞だけでなく B 細胞をはじめとする免疫系細胞も TLR7, 9 を発現しており、歯周炎組織中に形質細胞様樹状細胞がわずかしが認められなかったこと、ウイルスに対する抗体陽性率に 2 群間で有意な差が認められなかったことから歯周炎群での TLR7 および TLR9 の

有意な発現上昇は歯肉炎群との細胞構成の違いが影響している可能性が考えられた。しかしながら IFN- $\alpha$  の発現も歯周炎群で有意に高いものであり、ウイルス感染が歯周炎の病態形成に関与している可能性も否定できない。

## 【結 論】

歯周炎の病態形成にはウイルス由来の抗原も含め、様々な微生物由来の抗原が関与している可能性が示唆された。

## 【参考文献】

Kajita K, Honda T, Amanuma R, Domon H, Okui T, Ito H, Yoshie H, Tabeta K, Nakajima T and Yamazaki K : Quantitative messenger RNA expression of Toll-like receptors and interferon-1 in gingivitis and periodontitis. Oral Microbiol Immunol, 22 (6) : 398-402, 2007.

(図は全て参考文献より改変して引用)

学位研究紹介
--------

## 歯根完成歯自家移植の予後因子に関する研究

### Prospective Study on Prognostic Factors of Autotransplantation of Teeth with Complete Root Formation

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻  
顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野  
(主任： 齊藤 力 教授)

菅井登志子

Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Course for Oral Life Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Toshiko Sugai

#### 【目 的】

歯の移植は、移植歯が良好に生着し、歯根膜治癒が得られるならば天然歯と同様な機能を持つことができるため、歯の欠損に対する有用な治療法の一つと考えられている。しかしながら、これまで報告されてきた歯の移植に関する論文の多くは歯根未完成歯の移植に関する研究であり、歯根完成度や歯髄治癒など歯根未完成歯特有の因子に関して検討したものが多かった<sup>1-5)</sup>。新潟大学医歯学総合病院では1994年以來、年間約50例の歯の即時移植手術を施行しており、2001年からは、口腔外科医だけでなく、歯内療法、歯周病、補綴、矯正の専門医からなるチーム医療を開始している<sup>6)</sup>。今回は歯根完成歯の即時自家移植症例について前向き研究を行い、移植歯側や受容部側の予後因子を統計学的に評価した。

#### 【材料と方法】

対象は2001年12月から2004年3月までに当院で施行した106例106歯で、男性38例、女性68例、年齢は11歳から75歳、平均年齢は39.0歳であった。術後の経過観察期間は12.0～70.1月で、平均40.0か月であった。術前に、バイアスを排除し、客観的に評価することを目的に作成したプロトコールに従い、患者の情報、移植歯や受容部の状態を記録した。手術は経験を有する口腔外科医14名が行った。術式は移植歯の歯根膜の保護、緊

密な歯肉縫合、移植歯の安静、術後感染の予防に留意して行った。歯内療法は術後3週目に専門医1名が行い、補綴は当院もしくは紹介元の歯科医が行った。経過観察は術後1, 2, 3週目、および3, 6, 9, 12月目、そしてその後は6月ごともしくは12月ごとに行った。術中の所見や術後の経過もプロトコールに記載した。術後経過の判定は、口腔外科医2名によって行い、全例を移植歯の経過により2群に分類した。すなわち進行性の異常所見があり、抜歯の適応と診断された症例を経過不良群とし、それ以外の症例を経過良好群とした。統計解析を行う便宜上、各症例の術前・術中の診査項目をすべて2値化した。各症例について、移植手術を施行した日を追跡開始の起点、抜歯の適応と診断をした日をエンドポイントと設定し、 Kaplan-Meier法で全症例の累積生存率を算出した。次にすべての診査項目について、単変量解析(ログランク検定)を行い、経過に影響する項目を抽出した後、多変量解析(コックス比例ハザード分析)を行い、複数の診査項目について同時に検討した。解析はSPSSを用い、ステップワイズ法で行った。

#### 【結 果】

106歯中、経過不良は13歯(12.3%)であった。その原因としては、創傷治癒不良が5歯(38.5%)、置換性歯根吸収と6mm以上の歯周ポケットがあわせて認められたものが5歯(38.5%)であり、骨新生遅延、上顎洞炎、歯根破折が1歯(7.7%)ずつであった。累積生存率は1年後で96.2%、5年後で83.2%であった。単変量解析では、患者の年齢が40歳以上の場合、移植歯の術前の歯周ポケットが4mm以上の場合、移植歯に歯根の開大があった場合、移植歯にう蝕、修復、根管治療の既往のどれかがあった場合において、そうでなかった場合と比較して、抜歯適応と診断されるまでの期間が有意に短かった(表1, 表2)。多変量解析では、移植歯の歯根の開大が移植歯の喪失に有意に影響を及ぼすことが示された(表3)。つまり、移植歯に歯根の開大があった場合には、なかった場合よりも移植歯を喪失するリスクが3.401倍となった。

#### 【考 察】

今回、単変数解析と多変量解析で有意であった移植歯の歯根の開大に関しては、移植後の予後因子としてこれまでほとんど報告されていない。この項目が有意な予後