

3. 添付資料

3-2 研究成果報告会抄録



鶴見大学歯学部

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成27年度 研究成果報告会

平成28年3月12日（土）

会 場：鶴見大学 2号館3階 第10講堂
横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

プログラム

- 10:00 開会 挨拶
研究代表者 斎藤 一郎
- 10:05 発表
- | | |
|---|-------|
| 鶴見大学歯学部病理学講座 | 斎藤 一郎 |
| 鶴見大学歯学部口腔微生物学講座 | 前田 伸子 |
| 鶴見大学歯学部解剖・組織解剖学講座 | 佐藤 秋絵 |
| 鶴見大学歯学部口腔解剖学講座 | 下田 信治 |
| 鶴見大学歯学部分子生化学講座 | 山越 康雄 |
| 鶴見大学歯学部薬理学講座 | 二藤 彰 |
| 鶴見大学歯学部歯科理工学講座 | 早川 徹 |
| 鶴見大学歯学部生理学講座 | 奥村 敏 |
| 鶴見大学歯学部探索歯学講座 | 花田 伸弘 |
| 鶴見大学歯学部小児歯科学講座 | 朝田 芳信 |
| 鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座 | 小川 匠 |
| 鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座 | 濱田 良樹 |
| 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
全人的医療開発学講座歯科心身医学分野 | 豊福 明 |
| 九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座
顎顔面腫瘍制御学分野 | 中村 誠司 |
- ディスカッション
- 11:20 特別講演
「環境因子を基盤とした自己免疫疾患の病態解明」
徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔分子病態学講座
教授 石丸 直澄 先生
- 12:00 閉会

ご 挨 拶

「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

研究代表者 斎藤 一郎

平成27年度、文部科学省の私立大学戦略的研究基盤形成支援事業として「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」が採択されました。

21世紀医療の緊急課題として長寿医療が担う責任は重大であり、人類史上未曾有の超高齢社会における医療にとって最も重要な課題の一つが高齢者のQOL（Quality of Life）の向上であることは言うまでもありません。従って、長寿科学研究の緊急課題としてフレイルやサルコペニアなどの高齢者の様々な疾患の増加に如何に対処しうるのか、どのような具体的方策が可能であるのかが問われています。高齢者の健康寿命とQOLの確保にとって健全な口腔機能の維持は予防医学的にも、あるいは歯科心身症や自己免疫疾患を含めた疾患罹患率の低下にとっても極めて重大な中心課題です。加齢とともに不可逆的に進行する高齢者の口腔の機能低下は摂食への悪影響だけでなく、高齢者の死亡原因となる誤嚥性肺炎の重大要因としてしばしば不幸な転帰をとることや窒息死の原因として社会問題になっています。しかしながら、世界的にみても高齢者の口腔機能の低下を適切に評価し治療する方法が少ないことから基礎と臨床の連携により集学的な研究を実施することで、口腔機能を維持し加齢に伴う口腔機能の低下を軽減ないしは阻止することが本事業の目的です。すなわち、相互に関連する基礎と臨床の研究者により、新たな臨床技術の開発を目指す先駆的研究拠点を目指します。

本研究成果報告会は初年度ということから現状で得られた成果と共に今後の展開についても活発な討議が行われることを期待しています。

最後になりましたが、本研究事業の推進にご尽力頂きました関係各位に心より御礼申し上げます。

平成28年3月12日

特別講演

環境因子を基盤とした自己免疫疾患の病態解明

徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔分子病態学分野
教授 石丸 直澄 先生

環境因子を基盤とした自己免疫疾患の病態解明
～シェーグレン症候群と加齢～

徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔分子病態学分野
石丸 直澄

自己免疫疾患は様々な因子を介した複雑な病態から成り立っていることから、根本的な治療法の開発が立ち遅れている。ドライアイ、ドライマウスを主徴とし、唾液腺や涙腺などの外分泌腺を標的とするシェーグレン症候群も加齢や性ホルモンなどの環境因子によってその発症が大きく左右されている。多因子疾患であるシェーグレン症候群はその病態は未だ不明な点が多く、対症的治療法が中心であり、患者の **QOL** を著しく低下させているのが現状である。我々は、これまでにシェーグレン症候群の疾患モデルを開発し、多角的なアプローチからこの難病の病態の一部を解き明かしてきた。本講演では、シェーグレン症候群のいくつかの疾患モデルを用いて、病態機序を解説した上で、加齢という時間軸が自己免疫疾患の発症にいかに関わっているかを議論したい。また、加齢変化を含めた環境因子を基盤とした病態に基づいた新たな診断法あるいは治療法の可能性に関して考察を加えたい。

略 歴

氏 名 石 丸 直 澄

現 職 徳島大学大学院医歯薬学研究部教授（口腔分子病態学分野）
徳島大学歯学部副学部長
徳島大学病院教授（病理部）

学 歴 平成 6 年 3 月 徳島大学歯学部歯学科卒業
平成 10 年 3 月 徳島大学大学院歯学研究科博士課程修了

職 歴 平成 11 年 4 月 徳島大学助手歯学部附属病院（臨床検査室）
平成 15 年 4 月 徳島大学助教授歯学部（口腔病理学講座）
平成 15 年 8 月 米国スクリップス研究所免疫部門研究員（～平成 17 年 3 月）
平成 15 年 10 月 徳島大学病院病理部副部長
平成 21 年 12 月 豪州ガルバン医学研究所免疫炎症グループ客員教授
（～平成 23 年 8 月）
平成 23 年 5 月 徳島大学大学院医歯薬学研究部教授
平成 25 年 4 月 徳島大学歯学部副学部長

賞 罰 平成 16 年 6 月 日本病理学会学術奨励賞
平成 19 年 4 月 文部科学大臣表彰若手科学者賞
平成 19 年 12 月 日本病理学会学術研究賞
平成 23 年 9 月 ライオン学術賞
平成 27 年 9 月 日本シェーグレン症候群学会賞

主要論文

1. Yamano T *et al.* Intrathymic B cell licensing for Aire expression and T cell tolerance induction. *Immunity* 2015 42(6):1048-61.
2. Oura R *et al.* Induction of rapid T cell death and phagocytic activity by Fas-deficient lpr macrophages. *J Immunol* 2013 190(2):578-85.
3. Tsunematsu T *et al.* Aurora-A controls pre-replicative complex assembly and DNA replication by stabilizing geminin in mitosis. *Nat Commun.* 2013;4:1885.
4. Yamano T *et al.* Ex vivo-expanded DCs induce donor-specific central and peripheral tolerance and prolong the acceptance of donor skin grafts. *Blood.* 2011 117(9):2640-8.
5. Lei Y *et al.* Aire-dependent production of XCL1 mediates medullary accumulation of thymic dendritic cells and contributes to regulatory T cell development. *J Exp Med.* 2011 208(2):383-94.
6. Nitta T *et al.* Thymoproteasome shapes immunocompetent repertoire of CD8+ T cells. *Immunity* 2010 32(1):29-40
7. Ishimaru N *et al.* Expression of the retinoblastoma protein RbAp48 in exocrine glands leads to Sjögren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy. *J Exp Med.* 2008 205(12):2915-27.
8. Ishimaru N *et al.* Regulation of naive T cell function by the NF-kappaB2 pathway. *Nat Immunol* 2006 7(7):763-72.
9. Ishimaru N *et al.* Novel role for RbAp48 in tissue-specific, estrogen deficiency-dependent apoptosis in the exocrine glands. *Mol Cell Biol.* 2006 26(8):2924-35.
10. Saegusa K *et al.* Cathepsin S inhibitor prevents autoantigen presentation and autoimmunity. *J Clin Invest* 2002 110(3):361-9.

研究分担者抄録

加齢に伴って発症する難治性唾液腺疾患の検体組織の長期凍結保存方法を確立し、その試料を用いた解析結果から病態の成立機構の解析を試みる。

既に本学外来に蓄積され冷凍保存されている臨床検体の患者情報を統計学的に分析し疫学的な情報処理を行い次年度以降に得られる解析結果をバイオインフォマティクスにより検討する体制を整える。病因に関与する因子のメタゲノム配列を次世代シーケンサーで解析するための予備的検討を実施すると共に、ヒト人工染色体 (HAC) 等を用いた次世代ヒト疾患モデルマウス作製のための基本的な技術確認の準備を行っている。

従来、当講座では唾液分泌障害発症のリスク評価に有用な生活習慣病関連SNPsを解析しており、それらの遺伝子領域にある185 SNPsを対象とし個々のSNPsとドライマウス発症の有無の相関を検討したところ6 SNPsに統計的に有為な相関をこれまでに明らかにしてきた。また、ロジスティック回帰分析では、相互的な寄与率を考慮した結果、HMOX1遺伝子とCD36遺伝子の2 SNPsがドライマウスの発症リスク評価する有意な遺伝子マーカーである可能性を見いだし、今後は本研究事業において、このような解析結果を総合的に検討し、腺組織障害が誘導可能な遺伝子改変マウスの作出を試み、parotid secretory protein (PSP)プロモーター下流にGanciclovir (GSV)により唾液腺特異的に細胞死を誘導するHSV-TKを組み込んだコンストラクトを構築し、Lama-HSV-tk マウスに持続的にGSVを投与することで唾液腺の障害が誘導可能な実験系を確立することを計画している。

【平成27年度 成果の刊行一覧】

1. Kikuchi K., Ishige T., Ide F., Ito Y., Saito I., I Hoshino M., Inoue H., Miyazaki Y., Nozaki T., Kojima M., Kusama K.: Overexpression of activation-induced cytidine Deaminase in MTX- and Age-Related Epstein-Barr Virus-Associated B-Cell lymphoproliferative disorders of the head and neck. *J. Oncol.* 2015;2015:605750. doi: 10.1155/2015/605750. Epub 2015 Mar 5.
2. Takahashi A., Inoue H., Mishima K., Ide F., Nakayama R., Hasaka A., Ryo K., Ito Y., Sakurai T., Hasegawa Y., Saito I.: Evaluation of the effects of quercetin on damaged salivary secretion. *PLoS One*, 10(1): Jan, 28, 2015. doi: 10.1371/journal.pone. e0116008. 1-15.
3. 斎藤一郎 (分担): 第3版 EB ウィルス、自己免疫疾患 (関節リウマチ、Sjogren 症候群)、診断と治療社、2015.
4. 斎藤一郎 (分担): 非侵襲的検体検査の最前線 -唾液検査・呼気検査を中心に-、シーエムシー出版、2015.
5. 斎藤一郎: 超高齢社会におけるドライマウスへの対応 -ドライマウスへどう取り組むべきか、日本歯科評論、3: 30-6, 2015.

口腔常在真菌 *Candida* は健康な宿主からも分離される一方で、高齢者ではしばしば日和見感染症の原因微生物として、口腔および全身の健康状態に悪影響を及ぼすことが知られている。私たちは今までの研究で健康な宿主で年齢が上昇するに連れて *Candida* キャリア率および菌数が上昇すること、さらに唾液量の減少、義歯装着などによりキャリア率・菌数の上昇が起こることを明らかにしてきた。今回の取り組みでは高齢者の栄養状態や有病状態に焦点をあて、本真菌が高齢者の健康に及ぼす影響を検討することを目的とした。まず、被験者（339名）から採取した血液中のさまざまな成分と *Candida* のキャリア状況との相関を検討したところ、検出菌数と有意な負の相関が見られたのが、安静時唾液量、刺激唾液量、血清アミラーゼ、ヘマトクリット値、DHEA、血小板数、赤血球数、血色素量であった。唾液量の減少が *Candida* のキャリア率や菌数を上昇させることは以前の結果からも明らかであるが、本真菌の増加がこれらの血液成分の低値と関連することに関して、さらなる検討が必要であると思われた。一方、有意な正の相関が AST(GOT)、LDH、CRP 値との間に見られたことから、*Candida* が炎症の存在や肝機能の低下と関連する可能性が示唆された。

今後、全身の健康状態と本真菌との関連をさらに詳しく調べるとともに *Candida* が口腔マイクロバイオーーム内での構成員として果たす役割を明らかにしたい。また、*Candida* をコントロールする口腔プロバイオティクスの応用についても検討したい。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. 口腔カンジダ症治療指針：共著 日本歯科薬物療法学会 口腔カンジダ症薬物療法ガイドライン制定委員会編 医歯薬出版 2016 年 3 月発行予定
2. Kojima, Y., Ohshima, T., Seneviratne, C. J., & Maeda, N.. Combining prebiotics and probiotics to develop novel synbiotics that suppress oral pathogens. J. Oral Biosci. 58:27–32. 2016. doi: 10.1016/j.job.2015.08.004
3. Ohshima.T., Kojima. Y., Seneviratne, C. J. & Maeda N.: Therapeutic application of synbiotics, a fusion of probiotics and prebiotics, and biogenics as a new concept for oral *Candida* infections: A mini review. Front. Microbiol. 25 Jan. 2016 <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00010>

本研究の目的は、老化研究のモデル生物である短寿命の魚 turquoise killifish (カダヤシ目キリフィッシュ) で研究された長寿関連遺伝子のホモログ遺伝子を、別の魚のスズキ目シクリッド科で同定することで、加齢現象に潜む共通のメカニズムを明らかにすることである。シクリッド科は適応放散で種分化が進み、種の数が多いことで知られており、種数は数千とも言われている。

シクリッド科の種間や種内の長寿関連遺伝子の多型性を調べることにより寿命の長さの違い、多種多様な生物が生まれる種分化のメカニズムの解明ができ、さらに進化上離れた生物種のゲノム横断的解析を行うことにより、加齢の進化を理解することができる。また長寿関連遺伝子はゲノムの特定の領域でクラスターを作っている可能性があり、性染色体にリンクしている場合は寿命と性決定は共進化して種分化に大きく関わり進化の本質にせまる可能性を秘めている。

シクリッド科数百種のゲノム DNA サンプルは保存されていて、その中から数種を選び、長寿関連遺伝子の同定を行った後、遺伝子配列の種間での違いがある遺伝子を選び、種間、種内の個体間での多型性解析を行う。

これまでの解析で候補となりうる長寿関連遺伝子は、テロメア短縮、栄養センシング調節不全、ミトコンドリアの障害、細胞老化、幹細胞の疲弊、炎症反応、DNA 損傷と修復に関わる以下の遺伝子である：TERT (telomerase reverse transcriptase), FOXO3 (forkhead box O3), IGF1R (insulin-like growth factor 1 receptor), POLG (polymerase, DNA, gamma), CDKN2B (cyclin-dependent kinase inhibitor 2B), APOE (apolipoprotein E), SIRT6 (sirtuin 6)。

ヒトでは例えば FOXO 遺伝子多型の変異が加齢と長寿に関連することが報告されている。

【平成27年度 成果の刊行一覧】

1. Wake K, Sato T.: 'The sinusoid' in the liver. Lessons learned from the original definition by Charles Sedgwick Minot (1900). Anat Rec 298(12):2071-2080 (2015) DOI 10.1002/ar.23263
2. Miwa Z, Inoue K, Kuroda N, Sato T.: Evaluation of pulpal vitality in patients with hereditary sensory and autonomic neuropathy Type IV or V. J Dent Oral Health 1(4): 22-29 (2015)
3. 歯科用磁性アタッチメントを構成するステンレス鋼からの金属イオン溶出と細胞増殖への影響 椋梨兼彰、池田忠幸、黒田範行、早川徹、森戸光彦 鶴見歯学 (2015) 41: 1-10

加齢に伴うエナメル質の組成（無基質量，水分量，有機質量）推移について

鶴見大学歯学部口腔解剖学講座
下田 信治

近年，大規模災害はもちろん社会の高齢化にともない歯の加齢に伴う組成の推移データが求められている．歯のエナメル質は人体の中で，最も硬い組織で，不利な条件下でも永く生活反応を留める器官で，個体の年齢の推定をはじめ，歯科臨床においても重要な情報を提供する．平成 27 年度は，年齢別にヒトのエナメル質に関する物理化学的性質に関するデータのうち無基質量，水分量，有機質量について分析をおこなった．

材料は鶴見大学口腔解剖学講座所蔵の年齢および歯種が既知のう蝕のない永久歯 40 本を使用した．10%中性ホルマリン溶液に浸漬固定，保存されていた抜去歯を 1 昼夜水洗し，1) 無機質量を計測する目的でマイクロ X 線 CT 撮影を行った．その後，歯冠象牙質を機械的に除去し，マイクロ CT で象牙質残存の有無を確認した後，エナメル質のみの試料として，2) 水分量，3) 有機質量について同一試料で定量測定を行った．

1) 無機質量

無機質量について X 線マイクロ CT を用いて 20 代から 60 代の歯について年代別に X 線減弱によるエナメル質無機質量の分析を試みた．その結果，同一条件で求めたエナメル質の CT 画素値は，10 代および 20 代では $\bar{x}=1223\sim1346$ から 60 代では $\bar{x}=1468\sim1552$ と緩やかな増加傾向を示した．しかしながら，これらの値は相対的な画素値であることから，標準参照体を用いた絶対値としての無機質量へ変換が必要であり，再検討を要すると考えられる．

2) 水分量

年代別に区別した 40 本の抜去歯エナメル質をアルコール脱水法による水分の定量測定をおこなった．その結果，水分は $\bar{x}=0.886\pm0.003\%$ で，全体の傾向として加齢に伴いゆるやかな減少傾向が認められた．

3) 有機質量

エナメル質のみになった歯冠 ($n=40$) を液体窒素で凍結粉碎し，強酸 (0.17N 塩酸，0.98N ギ酸の混合液) で脱灰し，比色定量により各年代の湿タンパク量を求めた．その結果，エナメル質に含まれるタンパクは $\bar{x}=0.336\pm0.002\%$ であり，若年者ではばらつきが大きい傾向から次第に収束する傾向が観測された．

以上の結果より，歯のエナメル質は加齢による水分量の減少傾向と有機質量の収束傾向が認められ，このことは無機質量の増加を意味しており，加齢に伴ってエナメル質は脆くなる傾向と同時に，酸に対して抵抗性を増す可能性について裏付けデータが得られたのではないかと考えられた．

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. 千葉敏江，山本雄嗣，下田信治，桃井保子．：リン酸カルシウム系ペーストの歯質ケア材としての有用性．日本歯科保存学雑誌．58(3)，2015
2. Oki Hayashi，Toshie Chiba，Shinji Shimoda，Yasuko Momoi．：Demineralization and Remineralization Phenomena of Human Enamel in Acid Erosion Model．Journal of Hard Tissue Biology，25(1)，2016

加齢に伴う歯根象牙質中の有機成分の変化

鶴見大学歯学部分子生化学講座

山越 康雄

象牙質は容量で 45%が無機質、33%が有機質、22%が水分で構成されているが、加齢に伴ってそれらの成分がどのように変化しているか明らかにされていない。

【目的】本研究では加齢に伴う歯根象牙質中の主要非コラーゲン性タンパク質である象牙質シアロリントタンパク質 (DSPP) を構成する象牙質シアロタンパク質 (DSP) および象牙質リントタンパク質 (DPP) の変化を調べることを目的とした。

【方法】生後約 6 ケ月のブタ第一、第二大臼歯 (6m-1、6m-2) および 12 ケ月のブタ第一、第二、第三大臼歯 (12m-1、12m-2、12m-3) と 17 歳、44 歳、74 歳のヒト第三大臼歯 (17y-3、44y-3、74y-3) より歯根分岐部を調整し、密度と体積の測定後、DSP および DPP を抽出して電気泳動およびウェスタンブロッティングによりそれらタンパク質の変化を調べた。

【結果および考察】ブタの試料において、象牙質の密度は 12m-1 > 12m-2 > 6m-1 > 12m-3 > 6m-2 の順で高く、体積は 12m-2 > 12m-1 > 6m-1 > 12m-3 > 6m-2 の順で高かった。一方ヒトの試料においては密度、体積とも各年齢間でほぼ同じであった。DSPP 由来タンパク質のうち DPP はブタ試料においては 6m-2=12m-3 > 6m-1 > 12m-2 > 12m-1 の順で多く認められた。また DSP は 6m-2 と 12m-3 においては高分子 DSP が観察されたものの 6m-1、12m-1、12m-2 の試料では分解された DSP が観察された。一方ヒト試料においては 17y-3 試料では DPP 特有の二重バンドが SDS-PAGE 上で観察されたが、44y-3 および 74y-3 試料では DPP が分解したスメアバンドが観察された。これらの結果より、象牙質の組成成分は加齢に伴って変化し、DSPP 由来タンパク質は歯根象牙質中では transient な成分であることが分かった。DSPP 遺伝子は歯髄細胞の分化に伴って 2 つの DSPP 遺伝子バリエーションの発現に差が生じることより、今後加齢に伴うそれら遺伝子の変化も検討するつもりでいる。また象牙質中に存在する生理活性物質である TGF- β 1 は DSP や DPP と結合してその活性が維持されるので、加齢に伴うそれら DSPP 由来タンパク質の変化と TGF- β 1 の変化についても調べるつもりでいる。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. Yamamoto R., Oida S. and Yamakoshi Y.: Dentin Sialophosphoprotein-derived Proteins in the Dental Pulp. *J Dent Res.* 2015, 94(8) 1120-1127. DOI: 10.1177.
2. Papagerakis P, Pannone G, Zheng LI, Athanassiou-Papaefthymiou M, Yamakoshi Y, McGuff HS, Shkeir O, Ghirtis K, Papagerakis S. Clinical significance of kallikrein-related peptidase-4 in oral cancer. *Anticancer Res.* 2015; 35(4): 1861-1866.

加齢に伴い増加する運動器症候群：ロコモティブシンドローム（locomotive syndrome）では要介護になるリスクが高いことから、その病態の解明・治療法の開発が急務とされている。とりわけ運動器を構成する重要な要素である靱帯・腱組織については障害がおきるとその対応に苦慮する事が多い。靱帯・腱特異的な細胞の単離が容易でないことから、靱帯・腱組織形成・維持の基礎的知見については不明な事が多い。

本研究では靱帯・腱細胞の機能・分化制御メカニズム解明を目的とし、そのために今年度は、まずマウスでの靱帯・腱細胞の単離・純化方法の確立を試みた。3次元のコラーゲンゲル内で培養する方法により、**pure**な **population** が得られるかどうかを検討した。その上で分化させ、靱帯・腱に多く発現していることが知られる分子の発現について解析した。2次元の培養シャーレに播種する培養法に比べ3次元のコラーゲンゲル培養法では、増殖速度、増殖回数の多い細胞が得られた。さらにそれらの細胞では靱帯・腱の分化マーカーとされる遺伝子が発現し、そのレベルは培養期間に応じて増加した。

【平成27年度 成果の刊行一覧】

1. Kamiunten T, Ideno H, Shimada A, Nakamura Y, Kimura H, Nakashima K, **Nifuji A**. Coordinated expression of H3K9 histone methyltransferases during tooth development in mice. **Histochemistry and Cell Biology**. 143(3):259-66. 2015 doi: 10.1007/s00418-014-1284-0.
2. Wada S, Ideno H, Shimada A, Kamiunten T, Nakamura Y, Nakashima K, Kimura H, Shinkai Y, Tachibana M, **Nifuji A**. H3K9MTase G9a is essential for the differentiation and growth of tenocytes in vitro. **Histochemistry and Cell Biology**. 144(1):13-20. 2015
DOI 10.1007/s00418-015-1318-2
3. Ideno H, Nakashima K, **Nifuji A**.
Roles of the histone methyltransferase G9a in the development and differentiation of mesenchymal tissues. **J Phys Fitness Sports Med**, 4(5) : 001-006 (2015)
DOI: 10.7600/jpfs.4.000
4. Pawaputanon Na Mahasarakham C, Ezura Y, Kawasaki M, Smriti A, Moriya S, Yamada T, Izu Y, **Nifuji A**, Nishimori K, Izumi Y, Noda M.
BMP-2 Enhances Lgr4 Gene Expression in Osteoblastic Cells. **J Cell Physiol**. 2015 Sep 2. doi: 10.1002/jcp.25180.

現在、骨補填材として臨床で応用されているハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウムや、リン酸カルシウムとポリ乳酸やコラーゲンなどとの複合体は、機械的特性や加工性に難点があることが知られている。一方、DNA は骨形成に必要なリン酸基を有しており、また、塩基対間に抗生物質やサイトカインなどを担持できるなど新たな骨補填材として期待できる生体材料である。我々は、サケ白子由来 DNA とキトサン、リジン、プロタミンなどのカチオン性タンパク質からなる複合体を各種合成し、その生物学的特性について検討してきた。その結果、例えば、チタンインプラント体への DNA/プロタミン複合体コーティングにより良好な骨形成が得られることを見出した。

合成した各種 DNA/カチオン性タンパク質複合体は、粉末や多孔体、スポンジ、フィルムなどの形態に加工が可能であり、特に、DNA/プロタミン複合体は水で練和するとペースト状になる特性を有しており、複雑な形態の骨欠損にも適応できることが期待される。DNA/プロタミン複合体ペーストの応用としてラット抜歯窩での治癒に与える影響について検討したところ、DNA/プロタミン複合体ペーストの填入が抜歯窩の骨形成を促進することが分かった。

しかしながら、水と練和した DNA /プロタミン複合体ペーストの安定性や DNA /プロタミン複合体ペーストの填入時の操作性に問題があることが判明した。現在、ペーストの安定性および操作性の向上を目指し、水溶性高分子の添加などを検討中である。また、複合体作製反応についても検討も行っている。次年度以降、DNA /プロタミン複合体ペーストの安定性および操作性の改良について、さらに詳細に検討する予定である。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. 福島忠男, 大野 純, 鍛冶屋浩, 御手洗 誠, 早川 徹: 歯科再生・修復医療と材料, サケ由来骨再生材料. シーエムシー出版, 2015 年.
2. Hayakawa T. Biochemical surface modification of titanium implants using tresyl chloride-activated method. Dent. Mater. J., 2015;34:, 725-739.
3. Yoshida E., Hayakawa T.: Adsorption analysis of lactoferrin to titanium, stainless steel, zirconia and polymethyl methacrylate using the quartz crystal microbalance method. BioMed Res. Int., in press.
4. Sakurai T., Yoshinari M., Toyama T., Hayakawa T., Ohkubo C.: Effects of a multilayered DNA/protamine coating on titanium implants on bone responses. J. Biomed. Mater. Res., Part A. in press.

高齢化社会を迎え咬筋の廃用性委縮に起因する咀嚼機能障害患者が増加している。一方健康な咀嚼機能は、高齢者の QOL にきわめて重要である。我々は、ベータ2 刺激薬クレンブテロール(CB)は、咬筋に比較的特異的な肥大作用を有することを解明した。平成 27 年度は「CB は、咬筋委縮に起因する咀嚼機能障害の新しい治療方法になる」という仮説をたて、8 週令雄ラットを用いて 1) コントロール 2) CB 群) 3) デキサメサゾン投与群 (DEX 群) 4) CB と DEX 併用投与群 (CB+DEX 群) を作成。その結果、CB 群では、咬筋重量の増加、DEX 群では、咬筋重量の低下がみられた。一方 CB+DEX 群では、DEX による咬筋委縮が抑制され、そのメカニズムとして、Akt/mTOR 経路の活性化ならびに Insulin growth factor (IGF) の発現量の減少が CB により抑制されることを報告した。以上の分子メカニズムを詳細に解析するため、近年報告された新規 cAMP 活性化因子 Epac (exchange protein activated by cAMP) に着目し、そのノックアウトマウスを用いた解析から、CB による Akt/mTOR 経路の活性化における Epac の重要性を明らかにした (論文投稿中)。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. Umeki D., Ohnuki Y., Mototani Y., Shiozawa K., Suita K., Fujita T., Nakamura Y., Saeki Y., Okumura S.: Protective effects of clenbuterol against dexamethasone-induced masseter muscle atrophy and myosin heavy chain transition. PLoS One 2015 Jun 8;10(6):e0128263. doi: 10.1371/journal.pone.0128263. eCollection 2015.
2. Shiozawa K., Ohnuki Y., Mototani Y., Umeki D., Ito A., Saeki Y., Hanada N., Okumura S. : Effects of food diameter on bite size per mouthful and chewing behavior. J Physiol Sci 2015 Oct 22; 66(1): 93-98. Doi: 10.1007/s12576-015-0411-6.
3. Suita K., Fujita T., Hasegawa N., Cai W., Jin H., Hidaka Y., Prajapati R., Umemura M., Yokoyama U., Sato M., Okumura S., Ishikawa Y. : Norepinephrine-induced adrenergic activation strikingly increased the atrial fibrillation through β_1 - and α_1 -adrenergic receptor-mediated signaling in mice. PLoS One. 2015 Jul 23;10(7):e0133664. doi: 10.1371/journal.pone.0133664. eCollection 2015.
4. Tsunematsu T., Okumura S., Mototani Y., Ohnuki Y., Jin H., Cai W., Suita K., Sato I., Umemura M., Yokoyama U., Sato M., Fujita T., Ishikawa Y. : Coupling of β_1 -adrenergic receptor to type 5 adenylyl cyclase and its physiological relevance in cardiac myocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015 Mar 13;458(3):531-5. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.149. Epub 2015 Feb 9.

高齢者が要介護状態に陥る原因の 1 つとして、低栄養が挙げられる。これまでの研究で加齢に伴う歯の喪失が低栄養を惹起させ、さらに食物の嗜好の変化に関連することが報告されている。2004 年国民健康・栄養調査では、各食品群の摂取は現在歯数の多寡によって異なっており、現在歯数が少ない人は炭水化物の摂取が多く、たんぱく質、ミネラル、ビタミンなど他の栄養素の摂取が少ないことが報告されている。したがって、画一的な食事指導ではなく、現在歯数に応じた新しい食事指導法、すなわち歯科栄養学を確立することが極めて重要であると考えられる。

そこで、有料老人ホームに入居する高齢者で、訪問歯科診療の受診歴がある者を対象とし、食事形態と現在歯数を 5 年間追跡調査する。有料老人ホームからは被験者の摂食・嚥下機能の情報および食事形態の記録を、訪問歯科診療医からは、現在歯数の記録の提供を受ける。初年度は、有料老人ホームで実施の確認と調査票の作成を行い、更に鶴見大学倫理審査委員会の審査を受け、次年度以降に調査を実施するための準備を行った。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. Salivary pathogen and serum antibody to assess the progression of chronic periodontitis: a 24-mo prospective multicenter cohort study. Morozumi T, Nakagawa T, Nomura Y, Sugaya T, Kawanami M, Suzuki F, Takahashi K, Abe Y, Sato S, Makino-Oi A, Saito A, Takano S, Minabe M, Nakayama Y, Ogata Y, Kobayashi H, Izumi Y, Sugano N, Ito K, Sekino S, Numabe Y, Fukaya C, Yoshinari N, Fukuda M, Noguchi T, Kono T, Umeda M, Fujise O, Nishimura F, Yoshimura A, Hara Y, Nakamura T, Noguchi K, Kakuta E, Hanada N, Takashiba S, Yoshie H. J Periodontol Res. 2016 Jan 20.. [Epub ahead of print]
2. Effects of food diameter on bite size per mouthful and chewing behavior. Shiozawa K, Ohnuki Y, Mototani Y, Umeki D, Ito A, Saeki Y, Hanada N, Okumura S. J Physiol Sci. 2015 Oct 22. [Epub ahead of print]
- Streptococcus panodentis* sp. nov. from the oral cavities of chimpanzees. Okamoto M, Imai S, Miyanojima M, Saito W, Momoi Y, Nomura Y, Ikawa T, Ogawa T, Miyabe-Nishiwaki T, Kaneko A, Watanabe A, Watanabe S, Hayashi M, Tomonaga M, Hanada N. Microbiol Immunol. 2015 Sep;59(9):526-32.
3. 花田信弘 (分担) : 最新保健学講座 (公衆衛生看護活動論)、メヂカルフレンド社、2015.
4. 花田信弘 : 歯科領域が原因の菌血症のメカニズム、ザ・クインテッセンス Vol35:116-119, 2015.
5. 花田信弘 : 白米が健康寿命を縮める、光文社、1-176. 2015.

β 2-アドレナリン受容体刺激によって誘発される咬筋肥大の *mitf* の役割

鶴見大学歯学部小児歯科学講座

成山 明具美、朝田 芳信

Mitf (Microphthalmia-associated transcription factor) は、ベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 構造を持つ小眼球症関連転写調節因子である。*Mitf* 遺伝子に突然変異をもつ小眼球症マウス (mi/mi) は *mitf* 分子の bHLH 構造中の 4 つのアルギニンのうちの 1 つが欠失しているため、MITF は DNA 結合能を持たない。このマウスでは、小眼球症以外に難聴、色素異常によるアルビノ、大理石骨病などの異常が報告されている。また、破骨細胞が正常に発生しないため、上顎、下顎のすべての歯が萌出せず、歯の萌出不全モデルマウスとしても用いられている。

mitf は、心臓でも多く発現しており、慢性的な β 1-アドレナリン受容体 (β 1-AR: 心臓の主要なサブタイプ) 刺激により誘発される心肥大の発症に重要な役割を果たすことが報告されている。一方、MITF は骨格筋でも発現していることが報告されているが、その生理的役割は不明な点が多い。

本実験では、 β -AR の慢性刺激により誘発される骨格筋肥大に対する *mitf* の役割を明らかにするために、*mitf* 遺伝子変異型マウス (mi/mi) を用い、クレンブテロール (CB) (β 2-AR (骨格筋の主要なサブタイプ) アゴニスト) 投与による骨格筋肥大に対する MITF 変異の影響を詳細に解析する予定である。

現在までに、mi/mi および野生型 (WT) マウスにおける咬筋 (速筋)、前脛骨筋 (速筋)、ヒラメ筋 (遅筋)、心筋の脛骨長に対する筋重量の比 (筋重量/TL) について、CB 投与の影響を調べたところ、WT マウスでは、CB 投与により、咬筋、前脛骨筋、心筋の筋重量/TL が有意に増加 ($p < 0.05$) したのに対し、mi/mi マウスでは、すべての筋で有意差がみとめられなかった。

以上の結果より、*mitf* は心筋同様に、速筋型骨格筋においても β -AR を介した筋肥大に重要な役割を果たすことが示唆された。今後、骨格筋肥大に対する MITF の生理機能およびその分子機序について詳細に解析する予定である。

6 自由度咀嚼運動測定器の開発および精度評価

鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座
平林里大, 重本修伺, 平井真也, 井川知子, 小川 匠

摂食の準備期で行われる食塊の形成は、咀嚼運動すなわち下顎運動により行われる。下顎運動に関するこれまでの研究では、歯列形態の変化や顎関節の状態により運動経路が変化することが報告され、さらに医用画像技術の向上により、歯列形態情報と下顎運動情報の統合による咬合接触状態や下顎頭の運動様相が観察可能となっている。

これまでの6自由度下顎運動測定器は、接触式で測定精度は高いものの治具が重い（上下顎フェイスボウ一体型：480g）測定器（MM-J-IE）や、光学式により治具の軽量化（上顎フェイスボウ：30g、下顎フェイスボウ：35g）を図ったものの測定精度が低い測定器（MM-J2）などが用いられてきた。そのため、測定器装置の重量が咀嚼運動を阻害もしくは、下顎頭などの微細な運動の測定が困難であるため、咀嚼運動の測定器として十分ではない。

そこで今回、咀嚼運動時の咬合接触や下顎頭の位置変化などの咀嚼運動評価を行うことを目的とし、3軸コイルを用いた軽量型、高精度6自由度下顎運動測定器の開発および精度評価を行った。

以下に6自由度咀嚼運動測定器（MM-J3）の精度評価を示す。磁場を発生する1次コイル（約25g）から磁場の強さを測定する2次コイル（約8g）を100mm離して設置し、2次コイルのx, y, z軸方向に40mmの空間を10mm間隔の125点を測定点として1秒間の連続するデータを記録し、位置の標準偏差および各軸方向のRMS値を求めた。

徳島大学が開発し臨床研究に使用している測定器（CSIIi）、MM-J3ともにコイル間距離が大きくなるにつれて標準偏差は大きくなっていた。両測定器ともコイル間距離100mmで約0.01mm、コイル間距離160mmで約0.05mmとほぼ同等の性能を実現できた。また各軸方向10mm移動時の絶対誤差はCSIIiはx軸方向： $9.99 \pm 0.03\text{mm}$ 、y軸方向： $9.99 \pm 0.03\text{mm}$ 、z軸方向： $9.98 \pm 0.03\text{mm}$ 、試作器（MM-J3）はx軸方向： $9.92 \pm 0.05\text{mm}$ 、y軸方向： $9.91 \pm 0.03\text{mm}$ 、z軸方向： $9.93 \pm 0.03\text{mm}$ を実現できている。現状で咀嚼運動の測定を行うには十分な性能を満たしていると考えられる。

【平成27年度 成果の刊行一覧】

1. 井川知子, 重田優子, 平林里大, 平井真也, 高木温子, 河村 昇, 小川 匠. 新しい概念に基づいた新型咬合器の開発. 口腔リハビリ誌 28 (1) : 11-20, 2015.
2. 平井 真也, 井川 知子, 平林 里大, 安藤 栄里子, 重田 優子, 重本 修伺, 小川 匠, 松香 芳三. 顎機能異常者における運動論的基準軸の検討. 第28回一般社団法人日本顎関節学会, 名古屋国際会議場, 愛知県. 2015年7月4日-7月5日.

顎骨再建術が生活の質に与える影響に関する検討

鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座
中岡一敏、熊谷賢一、長谷部充彦、濱田良樹

顎骨再建術による顔貌や顎骨形態の改善は、患者の精神状態に良い影響を及ぼし、結果的に生活の質（QOL）の向上に寄与していることは経験的に明らかで、高齢者の QOL の見地から有益であると考えられる。しかしながら、現状では、その貢献度を客観的に評価する方法は確立されていない。そこで本研究では、顎骨再建術が患者の精神状態や QOL に及ぼす影響を検討することを目的とする。まず、術前後の顔貌と顎骨形態の変化を 3 次元的にデジタル評価する。患者の精神状態は血液ならびに唾液中のストレスホルモン量や性ホルモン量で評価し、主観的 QOL はアンケート形式で評価する。得られた各データに基づいて、手術による顎顔面の形態変化が患者の精神状態ならびに QOL に及ぼす影響について検討する。

なお、顎骨再建術は、カスタムメイドチタンメッシュトレイと腸骨または脛骨骨髓海綿骨細片を用いた顎骨再建術を行う。従来から行われてきた血管柄付骨移植による顎骨再建術では、手術に長時間を要し、オトガイ部や下顎角部の形態の付与が煩雑なうえに血管の閉塞等の重大な合併症の危険を伴う。一方、当院で開発した医用工学技術により製作されたカスタムメイドのチタンメッシュトレイと腸骨または脛骨の骨髓海綿骨細片を用いた顎骨再建術は、手術手技が比較的単純で湾曲を伴う顎骨形態の付与が容易で安全性・審美性に優れている。当科では、本法を用いた結果得られる臨床データ（手術時間、出血量、合併症、予後など）の症例集積研究を行っており、今回はこれに沿った形式で評価項目を追加する。

本年度においては、欠損顎骨に対してカスタムメイドチタンメッシュトレイと骨髓海綿骨細片による顎骨再建を施行した症例はなかった。しかしながら、過去に本手法により顎骨再建を施行した患者 11 名の顔貌への満足度は高いことが確認され、下記論文にて報告した。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. Yamada H, Nakaoka K, Sonoyama T, Kumagai K, Shigeta Y, Harada N, Ogawa T, Hamada Y. Clinical usefulness of mandibular reconstruction using custom-made titanium mesh tray and autogenous particulate cancellous bone and marrow harvested from tibia and/or ilia. J Craniofac Surg. In press.

口腔異常感症（口腔セネストパチー）の疫学的研究

東京医科歯科大学（TMDU） 歯科心身医学分野

豊福 明

高齢者が訴える「口の中がネバネバ、ベタベタする」などの口腔内の乾燥感や異物感には、相応する器質的異常が見出せずに対応に苦慮することがしばしば経験される。このような、いわゆる口腔異常感症（口腔セネストパチー）患者は、精神科を受診することは稀で、ほとんどが歯科を受診してくる。本症の疫学的データは皆無で、疾患の特性や実態、あるいは病態の本質などは不明な点が多いままである。

我々は、2010年から2015年までの当科初診患者の中から本症患者606例の臨床データを抽出し、その臨床病像、精神科疾患の合併率、経過、転帰などを検討した。その結果は第80回口腔病学会に発表し、来年度にはその要旨を論文にまとめ、専門雑誌へ投稿の予定である。

【平成27年度 成果の刊行一覧】

1. Watanabe M, Umezaki Y, Miura A, Shinohara Y, Yoshikawa T, Sakuma T, Shitano C, Katagiri A, Takenoshita M, Toriihara A, Uezato A, Nishikawa T, Motomura H, Toyofuku A. Comparison of cerebral blood flow in oral somatic delusion in patients with and without a history of depression: a comparative case series. BMC Psychiatry. 2015 Mar 10;15:42. doi: 10.1186/s12888-015-0422-0.

2. 豊福 明：超高齢社会におけるドライマウスへの対応 ドライマウスと歯科心身症、日本歯科評論 75（3）47-52、2015.

豊福 明：歯科の不定愁訴(MUOS)への向き合い方、The Quintessence 34（6）1210-1219、2015.

3. 豊福 明：最近の歯学 歯科心身医学 歯の不定愁訴は、どこから生じるのか？、口腔病学会雑誌 81/82巻3/1号 15、2015.

吉川 達也，豊福 明：不定愁訴臨床を極める！不定愁訴臨床を極める！ 歯科領域では不定愁訴をこうみる、Modern Physician 35（8）952-954、2015.

シェーグレン症候群患者の唾液を用いた新しい診断方法の確立

九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野

中村 誠司

【目的】近年、ドライマウスに対する社会的関心の高まりとともに、的確な診断と治療が求められている。しかし現在のところ、シェーグレン症候群（SS）以外のドライマウスには明確な診断基準がないため、診断に苦慮することが多い。そこで本研究では、ドライマウス患者の鑑別および新しい診断方法の確立を目的に、ドライマウスの臨床所見を検討し、さらに非侵襲的で簡便かつ繰り返し採取可能な唾液を用いて可溶性分子（サイトカイン、ストレス関連物質）の検索を行った。

【対象と方法】SS 患者 90 例、神経性・薬物性ドライマウス（DND）患者 22 例、放射線性ドライマウス（RD）患者 30 例、健常者 36 例を対象とし、安静時唾液分泌量（UWS）、刺激時唾液分泌量（SWS）、visual analog scale（VAS）による自覚症状を測定した。さらに、フローサイトメトリー法にて唾液中サイトカイン濃度を、ELISA 法にてストレス関連物質（分泌型 IgA（sIgA）、クロモグラニン A（CgA））を測定した。

【結果】SS と RD は UWS、SWS とともに基準値以下であり、DND は UWS のみ基準値以下であった。VAS による口腔症状は、全ての患者群で健常者と比較して有意に高値であったが、眼症状は SS のみ有意に高値であった。サイトカイン濃度は、健常者と比較して、SS では炎症性・Th1 タイプ（INF- γ 、IL-1 β 、IL-8）および Th2 タイプ（IL-4、IL-10）が有意に高く、DND では IL-10 のみが有意に低く、RD では有意差を認めなかった。また、SS を口唇腺のリンパ球浸潤程度で軽度と重度の 2 群に分類し、サイトカイン濃度を比較したところ、重度の症例で Th2 タイプが有意に高かった。SIgA 濃度はいずれの患者群も健常者と有意な差は認めなかったが、CgA 濃度は DND で健常者と比較して有意に高かった。

【考察】臨床所見や唾液成分の検索は、ドライマウスの診断に有用であることが示唆された。また、経時的な唾液中サイトカイン濃度測定は、繰り返し行うことが困難な口唇腺生検に代わって、SS の病態進展の把握にも有用であることが考えられた。

【平成 27 年度 成果の刊行一覧】

1. Ohyama K, Moriyama M, Hayashida JN, Tanaka A, Maehara T, Ieda S, Furukawa S, Ohta M, Imabayashi Y, **Nakamura S**. Saliva as a potential tool for diagnosis of dry mouth including Sjögren's syndrome. Oral Dis 21: 224-231, 2015. (doi: 10.1111/odi.12252. Epub 2014 May 15.)
2. Hayashida JN, Minami S, Moriyama M, Toyoshima T, Shinozaki S, Tanaka A, Maehara T, **Nakamura S**. Differences of stimulated and unstimulated salivary flow rates in the patients with dry mouth. J Oral Maxillofac Surg Med Pathol 27(1):96-101, 2015.

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 28 年度 研究成果報告会

平成 28 年 11 月 5 日（土）

会場：鶴見大学 2 号館 3 階 第 10 講堂
横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 28 年度 研究成果報告会

平成 28 年 11 月 5 日（土）

問い合わせ先：鶴見大学歯学部 病理学講座
230-8501 横浜市鶴見区鶴見 2-1-3 TEL045-580-8362

プログラム

10:00 開会 挨拶
研究代表者 齋藤 一郎

10:05 発表

鶴見大学歯学部病理学講座	齋藤 一郎
鶴見大学歯学部口腔微生物学講座	前田 伸子
鶴見大学歯学部解剖・組織細胞学講座	佐藤 秋絵
鶴見大学歯学部口腔解剖学講座	下田 信治
鶴見大学歯学部分子生化学講座	山越 康雄
鶴見大学歯学部薬理学講座	二藤 彰
鶴見大学歯学部歯科理工学講座	早川 徹
鶴見大学歯学部生理学講座	奥村 敏
鶴見大学歯学部探索歯学講座	花田 信弘
鶴見大学歯学部小児歯科学講座	朝田 芳信
鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座	小川 匠
鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座	濱田 良樹
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 全人的医療開発学講座歯科心身医学分野	豊福 明
九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野	中村 誠司

ディスカッション

11:20 特別講演
「長生きを享受するための口腔の重要性」
国立研究開発法人国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部
部長 松下 健二 先生

12:00 閉会

特別講演

長生きを享受するための口腔の重要性

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

口腔疾患研究部

部長 松下 健二 先生

長生きを享受するための口腔の重要性

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

口腔疾患研究部

松下 健二

現代日本において、急速な少子高齢化の伸展や疾病構造の変化、医療技術等の高度化等により医療を取り巻く環境が大きく変化するとともに、国民の医療に対するニーズも変化してきている。このような変化に対応した国民本意の総合的かつ戦略的な研究推進がこれからの大学研究者に求められている。特に、超高齢社会のトップランナーである日本において、“長生きを喜べる社会の構築”は喫緊の最重要課題である。その課題解決のためには、立法や行政の努力だけでは十分ではなく、多業種が連携し一致団結してその解決にあたることが重要である。歯学研究者においても、このような課題解決のためにどのような貢献ができるかを常に意識しつつ、研究を進める必要がある。“長寿を享受するための理論的歯学の推進”は、歯学研究者に課せられた重要なミッションの一つである。

口腔は摂食、構音、味覚、表情を司る器官であり、長生きを享受するための極めて重要な機能を担っている。口腔の老化は、単に生命予後に影響するだけではなく、様々な老年病・老年症候群の発症や身体の機能障害の大きな要因となる。例えば、歯周病は、糖尿病、骨粗鬆症、心脳血管病、認知症、がんといった老年病との関連性が高い。そのため、両者の因果関係を明らかにすることは老年病対策のための重要な情報となるが、その解明には最新の分子生物学や細胞生物学を駆使した解析・研究が必須である。また、サルコペニア(筋力低下症)は高齢者の歩行困難や活動能力の低下の大きな原因になるが、口腔周囲の筋肉においても同様の現象が進行し、その結果咀嚼機能の低下や嚥下困難をきたして、低栄養や誤嚥の原因となりえる。しかし、その病態成立機序には不明な点が多く、今後推進すべき重要な研究テーマの一つである。さらに、老化による唾液分泌の低下は高齢者の QOL を著しく低下させるため、そのメカニズムの解明は喫緊の課題である。加えて、口腔における再生医学の確立とその応用は口腔機能の回復に多大なる貢献が期待されるが、そのためには基礎歯学研究者と臨床歯科医が連携してその基盤研究と応用研究を推進していく必要がある。口腔における老化の分子基盤の解明は、高齢者の健康維持に極めて重要な情報をもたらすとともにその成果を臨床研究に繋げてゆくことで、長生きの享受におおいに貢献できると考えている。

健康寿命の延伸のためには、生活習慣病を予防することと、要介護にならないようにする介護予防が重要である。この二つの予防を科学的根拠に基づいて実施して行くためには、老化に関する基礎研究を一層充実させ、一般社会に還元することが必要である。本講演では、長生きを享受するための口腔の重要性について、我々のデータを交えながら解説する。

略 歴

氏 名 松 下 健 二

現 職 国立研究開発法人 国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部 部長

学歴 及び 職歴 等

平成元年	鹿児島大学歯学部卒業
平成元年	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科博士課程入学
平成元年	国立予防衛生研究所歯科衛生部研究生(～平成3年5月)
平成5年	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科博士課程修了
平成5年	鹿児島大学歯学部歯科保存学講座 助手
平成14年	米国 Johns Hopkins 大学医学部循環器内科研究員
平成17年	国立長寿医療センター研究所口腔疾患研究部 部長
客員教授:	
平成19年4月～	東北大学大学院歯学連携講座長寿口腔科学講座
平成20年10月～	北海道医療大学歯学部
平成21年4月～	愛知学院大学歯学部
平成22年4月～	北海道大学大学院歯学連携講座長寿口腔科学講座
平成23年4月～	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科連携講座長寿口腔科学講座
平成24年7月～	九州大学大学院歯学研究院地域口腔保健推進講座

受 賞	平成 7年 5月	日本歯科保存学会奨励賞
	平成15年 5月	Young Investigator Prize in Thrombosis (4th Annual Conference on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology)
	平成16年 5月	Young Investigator Award (The 3rd International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide)

主要論文・研究業績

1. Matsushita K, Morrell CN, Cambien B, Yang SX, Yamakuchi M, Bao C, Hara MR, Quick RA, Cao W, O'Rourke B, Lowenstein JM, Pevsner J, Wagner DD, Lowenstein CJ: Nitric oxide regulates exocytosis by S-nitrosylation of N-ethylmaleimide-sensitive factor. *Cell* 115:139-150, 2003.
2. Matsushita K, Morrell CN, and Lowenstein CJ: Sphingosine 1-phosphate activates Weibel-Palade body exocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:11483-11487, 2004.
3. § Bhatia R, § Matsushita K, Yamakuchi M, Morrell CN, Cao W, and Lowenstein CJ: Ceramide triggers Weibel-Palade body exocytosis. *Circ Res* 95:319-324, 2004.
4. Matsushita K, Morrell CN, and Lowenstein CJ: A novel class of fusion polypeptides inhibits exocytosis. *Mol Pharmacol* 67:1137-1144, 2005.
5. Matsushita K, Yamakuchi M, Morrell CN, Ozaki M, O'Rourke B, Irani K, and Lowenstein CJ: Vascular endothelial growth factor regulation of Weibel-Palade-body exocytosis. *Blood* 105:207-214, 2005.
6. Matsushita K, Morrell CN, Mason RJA, Yamakuchi M, Khanday FA, Irani K, and Lowenstein CJ: Hydrogen Peroxide Regulation of Endothelial Exocytosis by Inhibition of N-Ethylmaleimide Sensitive Factor. *J Cell Biol* 170:73-79, 2005.
7. Into T, Kanno Y, Dohkan JI, Nakashima M, Inomata M, Shibata KI, Lowenstein CJ, Matsushita K. Pathogen recognition by Toll-like receptor 2 activates Weibel-Palade body exocytosis in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 282:8134-8141, 2007.
8. Into T, Inomata M, Nakashima M, Shibata K, Hacker H, Matsushita K: Regulation of MyD88-dependent signaling events by S nitrosylation retards toll-like receptor signal transduction and initiation of acute-phase immune responses. *Mol Cell Biol* 28:1338-1347, 2008.
9. Kanno Y, Into T, Lowenstein CJ, Matsushita K: Nitric oxide regulates vascular calcification by interfering with TGF- signaling. *Cardiovasc Res* 77:221-730, 2008.
10. § Jeong Y, Chaupin DF, § Matsushita K, Yamakuchi M, Cameron S, Morell CN, Lowenstein CJ: Aldosterone activates endothelial exocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:3782-3787, 2009.

研究分担者抄録

ミトコンドリアを介在したエストロゲンによる唾液分泌制御機構

鶴見大学歯学部病理学講座

中山亮子、斎藤 一郎

【背景】口腔乾燥症は加齢と共に更年期の女性に多く発症するとの疫学的報告があり、女性ホルモンであるエストロゲンの関与が示唆されているが、その病態成立機序の分子機構は未だ不明な点が多い。一方、最近の報告ではエストロゲンがミトコンドリア機能の制御に関して重要な役割を担うことや、女性に多いアルツハイマー型認知症の発症における性差には、エストロゲンによるミトコンドリアの制御機構が関与する事なども報告されており、このことから本研究では、卵巣摘出による早期閉経モデルマウスの唾液分泌能と唾液腺組織のミトコンドリア機能を比較検討することで、エストロゲンによるミトコンドリア機能の制御が唾液分泌能に及ぼす影響について検討した。【方法と結果】卵巣摘出(OVX)を施した早期閉経モデルマウスと、偽手術(sham)群を比較検討し唾液流量やミトコンドリアの機能ならびにATP量の測定を行った結果、OVX群は唾液流量が有意に減少し($P<0.001$) ATP量も有意に減少していた($P<0.05$)。【考察】核内受容体とされているエストロゲンレセプターはミトコンドリア内部にも存在し、エストロゲンがミトコンドリアの数を増加させるなど、エストロゲンとミトコンドリアの間にも密接な関係があることが近年明らかとなってきたことから、唾液腺においてもエストロゲンによるミトコンドリア内ERを介した唾液分泌制御機構の存在が示唆された。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

1. Inoue H., Kishimoto A., Ushikoshi-Nakayama R., Hasaka A., Takahashi A., Ryo K., Muramatsu T., Ide F., Mishima K., Saito I.: Resveratrol improves salivary dysfunction in a non-obese diabetic (NOD) mouse model of Sjögren's syndrome. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2016. 59(1): 1-6, July, doi: 10.3164/jcbrn.16-31.
2. Kusakabe Y., Shindo Y., Kawai T., Takahashi Y., Koori M., Inoue H., Saito I.: Sex-Based Differences in SmgG Expression in the Submandibular Gland of C57BL/6 Mice. *Pathobiology*, 2016. 83(6): 287-294.
3. Tanaka N., Muro Y., Suzuki Y., Nishiyama S., Takada K., Sekiguchi M., Hashimoto N., Ohmura K., Shimoyama K., Saito I., Kawano M., Akiyama M.: Anticentromere antibody-positive primary Sjögren's syndrome: Epitope analysis of a subset of anticentromere antibody-positive patients. *Mod. Rheumatol.*, 2016 May 10:1-7.

高齢者の口腔内から *Candida* を除去し、口腔環境を改善する

鶴見大学歯学部口腔微生物講座

前田伸子、大島朋子、草塩英治

我々は本事業で「高齢者の健康状態と菌叢の量的・質的特徴、唾液の成分特性との関連を検討することで、加齢が高齢者の口腔の健康にどのように関与しているかについて」を課題に取り組んでいる。一方、常在真菌であると同時に日和見感染症の原因である *Candida* に関する基礎的・臨床的研究の成果から、高齢者の口腔では *Candida* が優勢となり、様々な口腔内の不具合を引き起こしていることを明らかにしてきた。今回、新潟県の介護老人保健施設の入居者を対象に抗真菌薬による含嗽を継続的することで *Candida* を除菌した結果、口腔内の健全化のみならず、消化管症状の改善も示唆されたので、その結果を報告する。

【対象・方法】自由意志及びご家族より同意書を得た入所者 12 名。1 回 AMPH-B5mg を 1 日 3 回食後に使用。ただし、経口摂取者は AMPH-B を希釈した含嗽薬でのうがい、経管栄養者は AMPH-B 原液をスポンジブラシで口腔内に塗布した。評価項目として *Candida* 菌量の測定、COACH スコアと歯科医による口腔内の検診、治療イベント・体重・全身スコアのチェックを行った。

【結果】有意差は認めないものの *Candida* 菌量が緩やかに減少することに伴い、口腔内の症状が改善した。また、痰の付着量や吸痰回数が減少した対象者が認められた。消化管症状の変化では 2 名の便秘症状が著しく改善し、他の 2 名でも便秘薬の使用量が低下した。

【考察】AMPH-B 使用により、口腔内環境の改善が示されただけでなく、消化管症状も改善することが示唆された。今後、ADL、心身状態、社会参加や対人交流などの生活面の評価を行っていく予定である。

【平成 28 年度成果の刊行一覧】

木村 陽介、山本 共夫、草塩英治、前田 伸子

抗真菌剤の長期使用は菌垢量を減少させる Medical Mycology Journal 投稿中

長寿関連遺伝子の基礎的研究

鶴見大学歯学部解剖・組織細胞学講座

佐藤秋絵・黒田範行・佐藤哲二

本研究の目的は、老化研究のモデル生物である短寿命の魚 *turquoise killifish* (カダヤシ目キリフィッシュ) で研究された長寿関連遺伝子のホモログ遺伝子をスズキ目シクリッド科で同定することで、加齢現象に潜む共通のメカニズムを明らかにすることである。

研究材料のビクトリア湖のシクリッドは多様化のスピードが非常に早く、ビクトリア湖に生息する約 500 種のシクリッドはすべて過去 1 万～1 万 5000 年の間に適応放散を起こしたグループで、シクリッドほど短期間の間に多様な種分化を遂げた脊椎動物のグループは他にない。

シクリッドの種間では遺伝的差異はほとんどないが、変異のある領域を特定することができれば、その領域がシクリッドの形態・色彩・繁殖行動などに違いを生み出し、適応放散と種分化に関与したと考えることができる。

近縁の 2 種間のゲノム比較を行ったところ、他の領域に比べて明らかに区別がつくほど 2 種間の DNA 配列の違いの大きな領域がいくつか見つかかり、そのうち 1 つの領域には長寿関連遺伝子が 3 つ含まれていた。3 つの遺伝子のうちの 1 つの遺伝子は、老化研究のモデル生物の短寿命キリフィッシュにおいても老化関連遺伝子として報告されている。

さらに進化上離れた生物種のゲノム横断的解析を行うことにより加齢の進化を理解することができ、また長寿関連遺伝子はゲノムの特定の領域でクラスターを作っている可能性がある。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

Hara Y, Wake K, Inoue K, Kuroda N, Sato A, Inamatsu M, Tateno C, Sato T. : Development of the Heart Endocardium at an Early Stage of Chick Embryos Evaluated at Light- and Electron-Microscopic Levels. Anat Rec 299(8):1080-9 (2016)

加齢に伴う歯質や歯根の亀裂・破折は、しばしば、臨床の場で問題を生じる。このことから、当該年度は当講座に保存した年齢および歯種が既知のう蝕のない永久歯を使用し、歯の加齢変化の指標を得ることを目標とした。

1) 年齢別に歯の硬さを測定するため、ビッカース微小硬度計を用いてエナメル質硬さを測定した。10代から60代まで年代別（ $n=60$ ）にビッカースの硬度計で硬さを測定したところ、加齢とともに硬さは300から500Hvへと増加した。また、エナメル質の表層から深層にかけて10代では400から300Hvと減少し、50代以降では480から290Hvと減少した。また機能咬頭において、最表層において10代では460Hvで50代以降では約500Hvと高い値を示した。そして機能咬頭表層から深層方向に次第に硬さは減少傾向を示し、10代、50代以降ともに250Hvと減少した。

2) CTによる歯の加齢変化に関する計測結果では、硬さと同様に、加齢とともにCT値は増加し、歯冠においては10代の1200から1500とCT値は増加した。エナメル質の浅層から深層にかけて10代では1500から1200と減少し、50代以降では1800から1300と減少した。中心溝では他の咬頭と比べ低い値を示し、10代では表層から深層(1100)方向に、顕著な違いは認められなかった。また50代以降の小白歯中心溝における表層から深層にかけても顕著な差異は認められなかった。

一方、歯根の変化については、三次元再構築CT計測による歯根全体の体積に対する高石灰化部位の体積の割合を求めると、男性20代、女性20代ではそれぞれ $15 \times 10^{-3} \pm 9$ ($n=15$)、 $26 \times 10^{-3} \pm 11$ 、また、60代男性および女性では、それぞれ $107 \times 10^{-3} \pm 74$ 、 $130 \times 10^{-3} \pm 154$ と、かなり個体差は大きいものの、加齢にともなう石灰化度の上昇傾向が認められた。

現在、石灰化度の既知資料をもちいて、エナメル質および象牙質の絶対値としての定量化を目指している。

【平成28年度 成果の刊行一覧】

1. リン酸カルシウム系ペーストによるエナメル質の再石灰化促進作用日本歯科保存学雑誌 Vol. 59, 千葉 敏江, 浅田 由佳, 石川 美佐緒, 山本 雄嗣, 下田 信治, 桃井 保子, 2016
2. 下田信治・千葉敏江：知覚過敏抑制材料「ティースメイト® AP ペースト」「ティースメイト® ディセンタイザー」は、なぜ効くのか. 日本歯科評論, 76(7)107-112. 2016.

象牙質シアロリントタンパク質 (DSPP) 由来タンパク質と 象牙質中の TGF- β 1 の相互作用について

鶴見大学歯学部分子生化学講座
山越 康雄

象牙質シアロタンパク質(DSP)および象牙質リントタンパク質(DPP)は象牙質の主要非コラーゲン性タンパク質であり、加齢に伴って減少していくことが明らかにされている。【目的】今回我々は DSP および DPP が細胞分化誘導因子としての生理活性機能を有しているかについて調べることを目的とした。【方法】生後約5か月のブタ永久歯歯胚より、幼若及び成熟エナメル質を削り取った後、硬組織粉碎機を用いて象牙質試料を調製した。この試料の脱灰不溶物を酢酸一食塩で抽出して可溶性画分(AN画分)を得た。AN画分をイオン交換クロマトグラフィー(IEC)で分離して、得られた DSP および DPP 画分をさらに逆相 HPLC(RP-HPLC)で分離した。各溶出画分に対して歯根膜由来培養細胞(PDL細胞)に対するアルカリホスファターゼ(ALP)活性を調べ、ALP活性の上昇した画分に対して ELISA および LC/MS 分析を行って生理活性物質を同定した。さらにこの生理活性物質と象牙質タンパク質との相互作用を調べるために in vitro 結合実験を行った。【結果】AN画分の IEC で得られた DSP および DPP 画分を RP-HPLC で分離すると、PDL細胞に対して ALP 活性を上昇させる物質が DSP および DPP の主ピークとは異なる位置に溶出することが判明した。この生理活性物質は LC/MS および ELISA 分析によって TGF- β 1 であることが同定され、微量の DSP および DPP と共存していた。リコンビナント TGF- β 1 を用いた主要象牙質タンパク質に対する in vitro 結合実験では、TGF- β 1 はコラーゲンにはほとんど結合しなかったが、DSP および DPP に結合することでその活性が維持されることが明らかになった。【結論】DSP および DPP は象牙質中の TGF- β 1 の活性維持に必要であり、加齢に伴う両タンパク質の減少は TGF- β 1 の活性維持にも影響を及ぼすことが示唆された。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

1. Kobayashi-Kinoshita S, Yamakoshi Y, Onuma K, Yamamoto R and Asada Y. (2016) TGF- β 1 autocrine signaling and enamel matrix components. *Sci. Rep.* 6:33644.
2. Zhang J, Shirai M, Yamamoto R, Yamakoshi Y, Oida S, Ohkubo C and Zeng J. (2016) Effect of nerve growth factor on osseointegration of titanium implants in type 2 diabetic rats. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 31(5):1189-1194.
3. Kwak SY, Yamakoshi Y, Simmer JP and Margolis HC. (2016) MMP20 proteolysis of native amelogenin regulates mineralization in vitro. *J Dent Res.* (Epub ahead of print).
4. Ujiie Y, Karakida T, Yamakoshi Y, Ohshima T, Gomi K and Oida S. (2016) Interleukin-4 released from human gingival fibroblasts reduces osteoclastogenesis. *Arch Oral Biol.* 28(72):187-193.
5. Shirai M, Yamamoto R, Chiba T, Komatsu K, Shimoda S, Yamakoshi Y, Oida S and Ohkubo C. (2016) Bone augmentation around a dental implant using demineralized bone sheet containing biologically active substances. *Dent Mater J.* 35(3):470-478.

加齢に伴い増加する運動器症候群：ロコモティブシンドロームでは要介護になるリスクが高いことから、その病態の解明や治療法の開発が求められている。中でも運動器を構成する重要な要素の一つである靱帯・腱組織は、骨との付着部において断裂などの障害が発生しやすく、その後の修復が困難であるが、靱帯・腱組織の形成・維持機構については不明な点が多い。本研究は、靱帯・腱細胞の機能・分化制御メカニズム解明を目的とした。

今年度は、靱帯・腱と骨の付着部 (enthesis) に強発現するアネキシン A5 (Anxa5) に着目し、enthesis の形成と維持における Anxa5 の機能を解析した。Anxa5 はメカニカルセンサー、アポトーシスシグナル伝達、細胞膜裏打ちタンパクとしての膜修復調節など多彩な機能が見出されているが、靱帯・腱組織における機能についてはこれまで報告が無い。

まず、Anxa5 遺伝子の下流に lacZ をノックインした Anxa5 機能欠損マウス (Anxa5^{-/-}) を用い、成体マウスにおける Anxa5 の発現部位を lacZ の組織染色によって調べた。Anxa5-lacZ は、関節軟骨、骨膜、および骨と腱・靱帯付着部に強く発現していた。これらの Anxa5-lacZ の発現部位は、抗 Anxa5 抗体を用いた免疫染色によって、野生型マウスにおける Anxa5 タンパクの局在と一致することを確認した。

次に、Anxa5^{-/-}マウスの骨の形態解析を行った。マイクロ CT による解析の結果、生後 4 週において、Anxa5-lacZ と野生型の間に骨の顕著な差は認められなかったが、生後 7 週以降の Anxa5^{-/-}マウスにおいて、野生型に比べて entheses 近傍に特異的な骨の肥大を認めた。骨幹部における皮質骨断面積や骨密度には顕著な差は認められなかった。この表現型は脛骨、大腿骨、上腕骨、下顎骨など、調べた骨でいずれも共通していた。

これらの結果は、骨と腱・靱帯の付着部において、生後の骨の形成と維持の調節に Anxa5 が関与することを示唆するものである。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

1. Pawaputanon Na Mahasarakham C, Ezura Y, Kawasaki M, Smriti A, Moriya S, Yamada T, Izu Y, Nifuji A, Nishimori K, Izumi Y, Noda M. BMP-2 Enhances Lgr4 Gene Expression in Osteoblastic Cells. **J Cell Physiol.** 231(4): 887-95, 2016.
2. Cationized gelatin hydrogels mixed with plasmid DNA induce stronger and more sustained gene expression than atelocollagen at calvarial bone defects in vivo. Komatsu K, Shibata T, Shimada A, Ideno H, Nakashima K, Tabata Y, Nifuji A. **J Biomater Sci Polym Ed.** 27(5): 419-30, 2016.

インジェクタブル DNA 複合体の調整

鶴見大学歯学部理工学講座

早川 徹

現在、様々な骨補填材が検討されている。我々は、骨再生が困難な高齢者や骨粗鬆症などの有病者に有効な骨補填材の開発を目指し、DNA/プロタミン複合体の骨形成能について検討してきた。高齢者モデルとしての加齢ラットを用いた実験に適応した所、良好な骨形成を確認できた。DNA/プロタミン複合体は水で練和するとペースト状になる特性を有しており、複雑な形態の骨欠損にも適応できる可能性を有しており、今後臨床での幅広い適応が期待できる材料である。しかしながら、水と練和して作製した DNA/プロタミン複合体ペーストはその保存安定性に問題があり、また、ペーストの流動性が一定せず、操作性に問題があった。本研究では、DNA ペーストの安定性や操作性の向上を目指し、DNA ペーストの改良を試みた。

DNA/プロタミン複合体ペーストにポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドンなどの水溶性高分子を添加して安定性向上を目指したが、際立った効果は得られなかった。そこで、複合体を合成してからペースト化するのではなく、DNA 水溶液にプロタミンを添加して、その場でペースト化する方法を考案した。DNA やプロタミンの濃度を検討し、操作性に優れたペースト (DNA 水溶液/プロタミンペースト) を作製する事ができた。また、複合体合成の塩基性化合物として、生体材料として多用されている塩基性ゼラチンに注目し、同様にして DNA 水溶液に塩基ゼラチンを添加してペースト作製を試みた。この場合、ゼラチンを均一に配合する事が困難であり、流動性のあるペーストは作製できなかった。そこで、ゼラチン水溶液に DNA を添加して検討した所、流動性に優れたペースト (ゼラチン水溶液/DNA ペースト) を得る事ができた。この様に配合する方法の違いでペースト作製が影響を受ける事が分かった。今後は、DNA 水溶液/プロタミンペースト、ゼラチン水溶液/DNA ペーストの骨形成について検討していく予定である。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

1. Eiji Yoshida, Tohru Hayakawa: Adsorption analysis of lactoferrin to titanium, stainless steel, zirconia and polymethyl methacrylate using the quartz crystal microbalance method. BioMedical Research International. Article ID 3961286, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3961286>. 2016
2. Takeshi Wada, Tsuyoshi Amemiya, Masatsugu Hirota, Tohru Hayakawa: Bone Formation in Gelatin/Calcium Phosphate Paste in a Subperiosteal Pocket of Rat Calvaria. Journal of Hard Tissue Biology. 25(3), 305-312, 2016.
3. Takeshi WADA, Daisaku OZAWA and Tohru HAYAKAWA: Gelatin/Calcium Phosphate Paste for Bone Regeneration. Journal of Oral Tissue Engineering. in press.

平成 27 年度の研究成果よりステロイド（デキサメサゾン）長期投与による咬筋委縮が、ベータ2刺激薬クレンブテロール（CB）により抑制される分子メカニズムとして Akt/mTOR 経路の活性化が重要であることを報告した（Umeki et al. PLoS One, 10, e0128263, 2015）。

平成 28 年度は CB による咬筋委縮抑制による咀嚼機能改善効果を分子レベルで解明するため、新規 cAMP 活性化因子 Epac (exchange protein activated by cAMP) に着目し、その欠損マウス (Epac1KO) を用いて CB による咀嚼機能改善効果における Epac の役割について検討した。その結果、野生型マウスでは CB (2mg/kg/day) の 3 週間投与により、CB 非投与群に比較して、咬筋重量/脛骨比の有意な増加が見られたが、Epac1KO ではその効果が消失し、そのメカニズムとして、Akt/mTOR 経路と Calmodulin kinase II/histone deacetylase 4 経路の活性化が Epac1KO では抑制されていた。以上の結果は、咬筋肥大経路の上流に Epac1 が存在し活性化を制御しているとともに、Epac1 が咀嚼機能障害の新しい治療標的になる可能性を示唆している。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

1. Ohnuki Y, Umeki D, Mototani Y, Shiozawa K, Ito A, Kawamura N, Jin H, Cai W, Suita K, Saeki Y, Fujita T, Ishikawa Y, Okumura S: Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signal-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol.

***Physiol Rep* 2016 May;4(10). pii: e12791. doi: 10.14814/phy2.12791.**

2. Cai W, Fujita T, Hidaka Y, Jin H, Suita K, Ling C, Parajapati R, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Okumura S, Ishikawa Y: Disruption of Epac1 protects the heart from adenylyl cyclase type5-mediated cardiac dysfunction:

***Biochem Biophys Res Commun* 2016 Jun 17;475(1):1-7. Doi 10.1016/j.bbrc.2016.04.123. Epub 2016 Apr 24.**

2016.04.123. Epub 2016 Apr 24.

3. Sato I, Umemura M, Mitsudo K, Fukumura H, Kim J-H, Hoshino Y, Nakashima H, Kioi M, Nakakaji R, Sato M, Fujita T, Yokoyama U, Okumura S, Oshiro H, Eguchi H, Tohnai I, Ishikawa Y: Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug nanoparticles.

***Sci Rep* 2016 Apr 22;6:24629. doi: 10.1038/srep24629.**

4. Shiozawa K, Ohnuki Y, Mototani Y, Umeki D, Ito A, Saeki Y, Hanada N, Okumura S: Effects of food diameter on bite size per mouthful and chewing behavior.

***J Physiol Sci* 2016 66: 93. doi:10.1007/s12576-015-0411-6**

現在歯数に着目した高齢者施設での食と栄養指導システムの構築

鶴見大学歯学部探索歯学講座
花田信弘

目的：

調査対象となる高齢者施設の入所者の介護度、歯の状態、食事形態の状況を把握する。

研究の背景：

高齢者施設の給食に出される食事は、栄養士が食事形態を変えることによって管理している。一般に歯・口腔の健康状態と低栄養は関係すると考えられるが、食事形態と低栄養に関する多くの報告は、歯・口腔の健康状態と食事形態の関連を調べていない。

調査方法と対象者：

要介護度、歯の健康状態、可撤性有床義歯の状態、食事形態に関して、調査対象となる高齢者施設（有料老人ホーム）に入居する 276 名を調査した（男性、n=56; 女性、n=220; 平均年齢、87.68 ± 5.94 年）。

結果：調査対象者は要支援 1 の高齢者が 5.8%, 要支援 2 が 5.4%, 要介護 1 が 18.0%, 要介護 2 が 23.0%, 要介護 3 が 16.5%, 要介護 4 が 16.9%, 要介護 5 が 14.4% であった。食事形態は、普通食の高齢者が 52.5% で、刻み食が 39%, 残り 9% がミキサー食等であった。歯の残存状態では全体の 28% の高齢者が無歯顎であった（図 1 左）。要介護度と食事形態の関係を図 1（右）に示す。

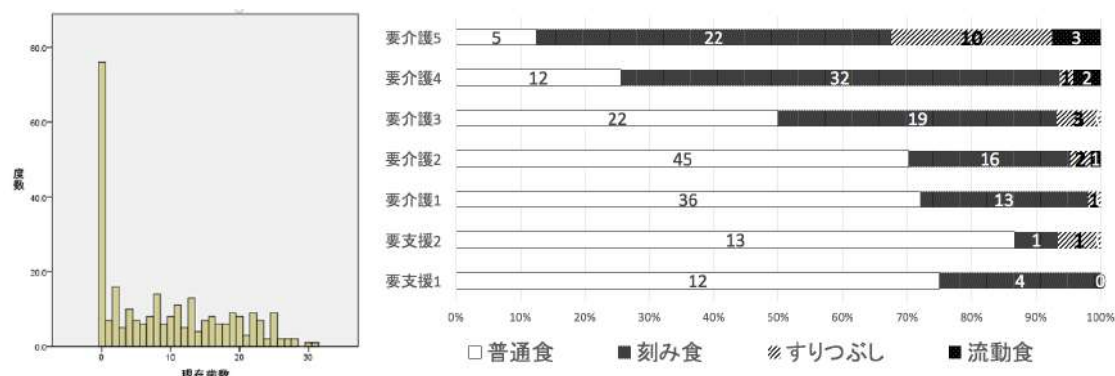


図1 高齢者施設の入所者の現在歯数（左）、要介護度と食事形態（右）

考察：要介護度、食事形態、歯・口腔の健康状態の3者の関連を解析し、現在歯数に着目した高齢者施設での食と栄養指導システムを構築する必要がある。

【平成28年度 成果刊行の一覧】

1. Murata T, *Hanada N. Contribution of chloride channel permease to fluoride resistance in *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett.* 2016 in press.
2. Nomura Y, Okada A, Kakuta E, Gunji T, Kajiura S, *Hanada N. A new screening method for periodontitis: an alternative to the community periodontal index. *BMC Oral Health.* 16: 64, 2016.
3. 深井穂博、宮崎秀夫、大渡凡人、喜久田利弘、佐藤博信、弘地尚子、西原達次、吉野賢一、品川隆、*花田信弘、保健・医療・介護・福祉をつなぐための歯科からの提言～2025年問題に対する歯科界の挑戦～、ザ・クインテッセンス 35:84-94, 2016.
4. 萩原芳幸・武内博朗・、*花田信弘、インプラント治療で生活習慣病を予防する～咀嚼機能回復後の食習慣改善と栄養指導が導く健康寿命の延伸～インプラント YEARBOOK 2016、クインテッセンス出版、東京、2016年4月。

気管支喘息の発生病序の解明のための基礎的研究

鶴見大学歯学部小児歯科学講座

船山 ひろみ, 朝田 芳信

気管支喘息 (Bronchial Asthma) は歯科治療の際遭遇する最も多い疾患の一つであるが、その発症機序や発作の誘因などたくさんの報告があるものの不明な点が多い。全世界に3億人以上の喘息患者がおり、年間25万人以上の人が喘息で死亡している。日本では1960年代は小児、成人とも有症率は1%程度であったものが近年増加の傾向にあり、数倍から十数倍程度増加している。細菌・ウイルス感染、過労、ハウスダスト・食物・薬物などの環境刺激因子 (アレルゲン)、運動、タバコ、アルコール、気圧変化等のストレス刺激が引き金となり、これらに対する過敏反応として気管支平滑筋収縮、気道粘膜のむくみ、気道分泌亢進などにより気道の狭窄・閉塞が起こることが分かっているが、気管支喘息の病態生理はまだはっきりしていない部分が多い。歯科疾患または歯科治療自体がその発症や発作誘因の原因となりうる可能性を大いに含んでいる。本研究では、気管支喘息の発症と発作の誘因について、分子生物学的な観点から、培養細胞を使用した *in vitro* での気管支喘息の発生病序の解明と、治療、および歯科界からの予防を目指す。

まず本研究ではヒト気管支平滑筋培養細胞 (HASM cell) を用いて Neurokinin Receptor を介する気管支喘息の機序解明と治療・予防法を探る。培養細胞を用いた実験では、特に Neurokinin Receptor を遺伝子導入し高発現させた HASM cell を用いて、発作の実際の原因である平滑筋の収縮と気道狭窄につながる平滑筋の細胞増殖について作用薬の効果の有無を検討した。タキキニンは、Neurokinin-1 (NK1) 受容体を介して気道収縮を引き起こすことが知られている。種々の腫瘍モデルでの NK1 の活性化が有糸分裂を増進するため、我々は当初、NK1 受容体の活性化は病的な HASM cell の増殖を促進すると考えた。しかし予想に反して、NK1 受容体作動薬の SM-SubP は、NK1 を高発現させた HASM cell を用いた実験で、成長因子による細胞増殖と Akt のリン酸化を阻害した。G-protein coupled receptors (Gタンパク質結合受容体: GPCRs) は Akt のリン酸化を含むシグナル伝達を介して HASM cell の細胞増殖を促進する事が報告されている。NK1-GPCR は、喘息における ASM の細胞増殖を軽減するユニークで有力な細胞増殖抑制の標的となり得ると考えられる。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

Danielsson J, Zaidi S, Kim B, Funayama H, Yim PD, Xu D, Worgall TS, Gallos G, Emala CW. Airway Epithelial Cell Release of GABA is Regulated by Protein Kinase A. Lung. 2016 Jun;194(3):401-8. doi: 10.1007/s00408-016-9867-2. Epub 2016 Mar 17.

矢状面内限界運動と習慣性閉口運動を利用した咬合高径の評価

鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座

平林里大, 重本修伺, 平井真也, 井川知子, 小川 匠

加齢に伴う顎口腔機能の低下は下顎運動すなわち咀嚼運動に影響し、摂食の準備期で行われる食塊の形成能の低下を招くことが考えられる。

これまでに、咀嚼運動時の咬合接触や下顎頭の位置変化などの咀嚼運動評価を行うことを目的とし、3軸コイルを用いた軽量型、高精度6自由度下顎運動測定器の開発および精度評価を行った。

本年度は下顎位、特に下顎運動データから適切な垂直的顎間関係を明らかにすることを目的に、矢状面内限界運動の終末蝶番運動路と習慣性閉口運動の前後的な位置関係、すなわちゴシックアーチのアペックスに対してタッピングポイントが、1mm程度の範囲となる垂直的な下顎位の範囲について検討を行った。

下顎運動の計測には6自由度下顎運動計測装置を使用し、矢状面内限界運動と習慣性開閉口運動を計測した。解析点は下顎の切歯点とした。矢状面内限界運動の終末蝶番運動路および習慣性閉口運動について、開口量0.0～10mmの運動データを抽出し、各運動の矢状面内での近似直線を算出した。各近似直線の前後的な距離が0.0～1.0mmとなる上下的な範囲を適正な咬合高径の範囲と規定した。

矢状面内限界運動の終末蝶番運動路の近似直線は $y=2.95x+0.12$ 、習慣性閉口運動の近似直線は $y=4.82x-1.36$ であった。これらの前後的な位置が0.0～1.0mmになる垂直的な下顎位は、基準顎位の咬合高径に対し、上方2.4mmから下方5.1mmの7.5mmの範囲であった。

一般に、切歯点における咬合拳上の可能な範囲は、下顎安静位の範囲内である1～2mm程度とされ、今回得られた結果はこれを超える範囲であった。しかし、矢状面内限界運動の終末蝶番運動路および習慣性閉口運動の前後的な位置関係の変化は、開口時に生じる下顎の前方滑走運動が影響する。これに関して、下顎頭が関節窩内で主として回転運動する顎位であれば、安静空隙量を超えて咬合高径を変化させ得ることが報告されており、今後は顎頭運動との関連を含めて検討を行う。

【平成28年度 成果の刊行一覧】

1. Ikawa T, Shigeta Y, Hirabayashi R, Hirai S, Hirai K, Harada N, Kawamura N, Ogawa T. Computer assisted mandibular reconstruction using a custom-made titan mesh tray and removable denture based on the top-down treatment technique. J Prosthodont Res. In Press.

顎矯正手術に対する評価法の確立

鶴見大学歯学部 口腔顎顔面外科学講座

重松宏昭 中岡一敏 濱田良樹

<目的>

顎変形症患者は、加齢に伴う咬合不全や顔の変形による劣等感に悩むことで、抑うつ状態になっている人が少なくない。顎変形症に対する顎矯正手術は、咬合機能を改善するばかりではなく、顔貌の整容的改善という側面も有している。その結果、患者の多くは顎矯正手術前に抱いていた劣等感から解放され、自身に満ちた表情となる症例を多数経験しており、顎矯正手術は QOL の向上に繋がっていると考えられる。しかしながら、顎矯正手術が患者の精神状態に影響を与えていることを客観的に評価する方法は確立されていない。そこで本研究では、精神状態の影響を受けるストレス関連ホルモンおよび性ホルモンの動態を調査し、顎矯正手術による精神的影響の客観的評価方法の確立を目指すことを目的とした。

<対象および方法>

1. 対象

2014年～2016年までの間に当科で上下顎同時移動術または下顎枝矢状分割術を施行した顎変形症患者 10 名（男性 4 名女性 6 名、平均年齢 24.6 歳）を対象とした。

2. 評価方法

顎矯正手術前（以下術前）およびプレート除去術前（以下術後）に採血を行い、ただちに血清分離剤添加のスピッツに入れ 10 分間遠心分離後、その上清を測定まで 20℃で凍結保存した。測定項目はストレス関連ホルモンとしてカテコラミン 3 分画（アドレナリン・ノルアドレナリン・ドパミン）・コルチゾール、性ホルモンとしてテストステロン・エストラジオールの血清中濃度とした。各検体の測定を（株）SRL に依頼した。カテコラミン 3 分画については高速液体クロマトグラフィー、コルチゾール・テストステロンは電気化学発光免疫測定法、エストラジオールは化学発光免疫測定法が用いられた。

3. 統計処理

解析方法は Mann-Whitney's U-test を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。統計ソフトは GraphPad PRISM 5 を使用した。

<結果>

アドレナリンの血清中濃度は、術前と比較し術後で有意に低下した。ノルアドレナリン・ドパミンの血清中濃度も低下していたが、統計学的な有意差は認められなかった。その他ストレス関連ホルモンおよび性ホルモンの血清中濃度は、術前・術後に有意な変化は認められなかった。今後はサンプル数を増やすとともに唾液・尿中のストレス関連ホルモンおよび性ホルモン値を測定する予定である。

【平成 28 年度 成果の刊行一覧】

Yamada H, Nakaoka K, Sonoyama T, Kumagai K, Ikawa T, Shigeta Y, Harada N, Kawamura N, Ogawa T, Hamada Y: Clinical Usefulness of Mandibular Reconstruction Using Custom-Made Titanium Mesh Tray and Autogenous Particulate Cancellous Bone and Marrow Harvested From Tibia and/or Iliac. J Craniofac Surg. 2016 May;27(3):586-92.

薬物療法中の舌痛症患者における唾液分泌量の経時的変化

東京医科歯科大学 (TMDU) 歯科心身医学分野
豊福 明

ドライマウスは高齢者の口腔症状として比較的多く、その中で舌の灼熱痛を伴うものも少なくない。一方で舌痛症の63%で口腔乾燥感の訴えがあると報告されている。さらに舌痛症で頻用される抗うつ薬は副作用として唾液分泌を阻害し、病態に修飾をかける。このようなドライマウス・舌痛・薬剤の副作用の関連を明らかにするために、抗うつ薬で治療を受ける舌痛症患者の唾液分泌量と口腔乾燥感そして痛みの変化を初診時、1ヶ月後3ヶ月後6ヶ月後と経時的に測定した。本研究過程で、高齢者に優しく、かつ痛みのコントロールと口腔乾燥の軽減を両立する新しい薬物療法の可能性が副次的に示唆された。その要旨を論文にまとめ、専門雑誌へ投稿した。

【平成28年度 成果の刊行一覧】

- 1: Takenoshita M, Motomura H, Toyofuku A. Low-Dose Aripiprazole Augmentation in Amitriptyline-Resistant Burning Mouth Syndrome: Results from Two Cases. *Pain Med.* 2016 Aug 24. pii: pnw200. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27558854.
- 2: Umezaki Y, Miura A, Watanabe M, Takenoshita M, Uezato A, Toriihara A, Nishikawa T, Toyofuku A. Oral cenesthopathy. *Biopsychosoc Med.* 2016 Jun 10;10:20. doi: 10.1186/s13030-016-0071-7. eCollection 2016. Review. PubMed PMID: 27293481; PubMed Central PMCID: PMC4903001.
- 3: Umezaki Y, Takenoshita M, Toyofuku A. Low-dose aripiprazole for refractory burning mouth syndrome. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016 May 19;12:1229-31. doi:10.2147/NDT.S94426. eCollection 2016. PubMed PMID: 27279742; PubMed Central PMCID: PMC4878659.
- 4: Toyofuku A. Psychosomatic problems in dentistry. *Biopsychosoc Med.* 2016 Apr 30;10:14. doi: 10.1186/s13030-016-0068-2. eCollection 2016. Review. PubMed PMID: 27134647; PubMed Central PMCID: PMC4851772.

次世代シーケンサーを用いた口腔カンジダ症の新しい診断方法の確立

九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野

中村 誠司

【目的】高齢者に好発する口腔カンジダ症は口腔内真菌叢の変化と密接に関係しており、その原因真菌は主に *Candida albicans* (*C. albicans*) と考えられてきた。しかし、加齢による口腔内真菌叢の恒常性の変化から、口腔カンジダ症の発症に *C. albicans* 以外の真菌の関与も指摘されている。従来、真菌の同定には CHROMagar candida 培地(培養法)が用いられてきたが、培養が必要であるため時間が要し、さらにカンジダ属真菌のみしか同定できなかった。

しかし近年、次世代シーケンサー(NGS)が開発され、きわめて短時間で網羅的に解析することが可能となった。現在では多くの施設で NGS による細菌叢の網羅的解析が行われているが、真菌叢の解析についてはいまだ確立されていない。

そこで本研究では、NGS と従来の検査法(培養法)の解析結果を比較検討し、NGS による正確で迅速な新しい解析法を確立し、原因真菌に応じた口腔カンジダ症のオーダーメイド治療に繋げることを最終目的とする。

【対象と方法】急性偽膜性口腔カンジダ症患者(POC)27 例、健常者 66 例を対象とし、含嗽液中の真菌叢を培養法および NGS にて解析を行い、検出真菌種数、真菌叢の構成比および総真菌量について比較検討を行った。

【結果】培養法では *C. albicans* の 1 種しか検出されなかったが、NGS では 1 人あたり平均 14.8 ± 1.8 種が検出された。真菌叢の構成比はどちらの検査法でも *C. albicans* が最も優勢であったが、一人当たり検出菌種数は NGS が有意に多く、また同時に菌種の同定も可能であった。

さらに、加齢と口腔カンジダ症の関連を明確にするために、健常者 66 名を各年代別(20 歳代、30 歳代、40 歳代、50 歳代以上)に分けて含嗽液中の口腔内真菌叢の解析を行った。一人あたりの総真菌量および NGS による一人あたりの平均検出真菌種数は、年齢と正の相関を示した。真菌叢の構成比はどの年代も *C. albicans* が最も多くの割合を占めたが、加齢とともに *C. albicans* の占める割合は減少した。

最後に、POC 患者 27 名と健常者のうち年齢を合わせるため 40 歳代以上の 29 名を対象にした。含嗽液中の口腔内真菌叢を解析した。患者群は健常者群よりも総真菌量は有意に多く、NGS による一人あたりの検出菌種数は、患者群が 11.6 ± 8.2 種、健常者群が 14.0 ± 3.5 種であり、患者群が少なかった。また、真菌叢の構成比では患者群の方が *C. dubliniensis* の占める割合が高かった。

【考察】本研究の結果から、NGS を用いた解析方法は、培養法よりも感度が高く、健常者のわずかな真菌量であっても検出が可能であった。また、加齢や口腔カンジダ症の発症によって特定の真菌種が過剰に増殖すると、その他の真菌種が相対的に減少したことが原因と推察されることから、口腔カンジダ症の発症には *C. dubliniensis* が関与していることが示唆された。

【平成28年度 成果の刊行一覧】

1. Molecular analysis of fungal populations in patients with oral candidiasis using next-generation sequencing. Imabayashi Y, Moriyama M, Takeshita T, Ieda S, Hayashida JN, Tanaka A, Maehara T, Furukawa S, Ohta M, Kubota K, Yamauchi M, Ishiguro N, Yamashita Y, Nakamura S. Sci Rep 6:28110, 2016. (doi: 10.1038/srep28110)

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 29 年度 研究成果報告会

平成 29 年 10 月 7 日（土）

会場：鶴見大学 2 号館 3 階 第 10 講堂
横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 29 年度 研究成果報告会

平成 29 年 10 月 7 日（土）

問い合わせ先：鶴見大学歯学部 病理学講座
230-8501 横浜市鶴見区鶴見 2-1-3 TEL045-580-8362

プログラム

10:00 開会 挨拶
研究代表者 斎藤 一郎

10:05 発表

鶴見大学歯学部病理学講座	斎藤 一郎
口腔微生物学講座	前田 伸子
解剖・組織細胞学講座	佐藤 秋絵
口腔解剖学講座	下田 信治
分子生化学講座	山越 康雄
薬理学講座	二藤 彰
歯科理工学講座	早川 徹
生理学講座	奥村 敏
探索歯学講座	花田 信弘
小児歯科学講座	朝田 芳信
クラウンブリッジ補綴学講座	小川 匠
口腔顎顔面外科学講座	濱田 良樹
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	
全人的医療開発学講座歯科心身医学分野	豊福 明
九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座	
顎顔面腫瘍制御学分野	中村 誠司

ディスカッション

11:20 特別講演
「ドラッグリポジショニング応用した臓器再生医療へのアプローチ
An Approach to Organ Regeneration using Drug-repurposing」
大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能治療学教室
教授 阪井 丘芳 先生

12:00 閉会

特別講演

ドラッグリポジショニング応用した 臓器再生医療へのアプローチ

An Approach to Organ Regeneration using Drug-repurposing

大阪大学 大学院歯学研究科
顎口腔機能治療学教室
教授 阪井 丘芳 先生

ドラッグリポジショニング応用した臓器再生医療へのアプローチ

An Approach to Organ Regeneration using Drug-repurposing

大阪大学大学院歯学研究科

顎口腔機能治療学教室

阪井 丘芳

頭頸部癌に対する放射線療法は、外科療法、化学療法と同様に有効な治療法の1つであるが、放射線照射に伴い唾液腺が破壊され唾液分泌障害を生じた場合、著しい口腔乾燥症に対して効果的な解決策は見いだされていない。さらに、超高齢社会をむかえた現代において、加齢に伴う唾液腺障害に対しては唾液分泌刺激薬や口腔ケア用品があるものの対症療法のみであり、根本的な治療法が見いだされていないのが現状である。

本研究では胎仔と成体のマウス唾液腺に放射線照射を行い、それぞれの形態変化を観察した。さらに、早期の臨床応用を目指して、ドラッグリポジショニングの観点から既存薬剤・サプリメントの唾液腺再生に関する再評価を行い、そのメカニズムを検討したので報告する。

Lactferrinは胎生期唾液腺に対する分枝形態形成を誘導する作用を認め、ERK と AKT のリン酸化に関与していた。Lactferrin の成体マウスへの腹腔内投与では、放射線照射直後から腺組織を保護する効果を認め、唾液腺の腺房形態と AQP5 の発現、唾液分泌機能の維持に有効であった。将来的には唾液腺の加齢制御にも応用できればと研究を進めている。最新の知見を交えながら、唾液腺の発生と再生に対する評価、腺房形態の保護、唾液分泌機能の回復を中心にそれらのシグナル伝達機構について議論する予定である。

略 歴

氏 名 阪井 丘芳 (さかい たかよし)

現 職 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能治療学教室 教授

学歴 及び 職歴 等

平成 3 年	徳島大学歯学部 卒業 大阪大学歯学部附属病院第一口腔外科 研修医
平成 6 年	大阪警察病院歯科口腔外科 医員
平成 12 年	米国国立衛生研究所(NIH) 客員博士研究員
平成 13 年	日本学術振興会 海外特別研究員
平成 16 年	大阪大学歯学部附属病院口腔外科 (制御系) 講師
平成 18 年	米国国立衛生研究所(NIH) 客員教授 大阪大学歯学部附属病院顎口腔機能治療部 部長 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能治療学教室 教授

受 賞

平成 12-13 年	米国 NIH Visiting Program Award
平成 16-18 年	米国 NIH Visiting Program Award
平成 15 年	Gordon Conference -salivary gland & saliva- Best Poster Award
平成 15 年	第 2 回口腔医科学フロンティア最優秀賞
平成 19 年	平成 18 年度国立大学法人大阪大学教育・研究功績賞
平成 19 年	第 89 回米国口腔顎顔面外科学会最優秀講演賞
平成 22 年	平成 22 年度国立大学法人大阪大学功績賞
平成 25 年	Gordon Conference -salivary gland & saliva- Best Poster Award
平成 28 年	第 16 回歯科基礎医学会ライオン学術賞
平成 29 年	Gordon Conference -salivary gland & saliva- Best Poster Award

主要論文・研究業績

- 1: Sakai M, Matsushita T, Hoshino R, Ono H, Ikai K, Sakai T. Identification of the protective mechanisms of Lactoferrin in the irradiated salivary gland. *Sci Rep*. 7: 9753, 2017.
- 2: Ono H, Obana A, Usami Y, Sakai M, Nohara K, Egusa H, Sakai T. Regenerating Salivary Glands in the Microenvironment of Induced Pluripotent Stem Cells. *Biomed Res Int*. 2015: 293570, 2015.
- 3: Obana-Koshino A, Ono H, Miura J, Sakai M, Uchida H, Nakamura W, Nohara K, Maruyama Y, Hattori A, Sakai T. Melatonin inhibits embryonic salivary gland branching morphogenesis by regulating both epithelial cell adhesion and morphology. *PLoS One* 10(4):e0119960, 2015.
- 4: Onodera T, Sakai T*, Hsu JC, Matsumoto K, Chiorini JA, Yamada KM. Btbd7 regulates epithelial cell dynamics and branching morphogenesis. *Science* 329(5991):562-565. (*Corresponding author)
- 5: Sakai T, Larsen M, Yamada KM. Fibronectin requirement in branching morphogenesis. *Nature* 423, 876-881, 2003.
- 6: サイエンス誌に載った日本人研究者 2010、2011 年 4 月
- 7: ドライマウスー今日から改善・お口のかわきー、医歯薬出版、2010
- 8: 高齢者のドライマウスー口腔乾燥症・口腔ケアの基礎知識ー、医歯薬出版、2017
- 9: 睡眠時無呼吸症候群の口腔内装置治療ー、医歯薬出版、2014

研究分担者抄録

2 型糖尿病における唾液分泌障害成立機序の検討 -GlcNAc 修飾を介した腺組織傷害の関与-

鶴見大学歯学部病理学講座
松本直行、斎藤一郎

加齢に伴い発症頻度が増す 2 型糖尿病を介した口腔乾燥症は周知であるがその成立機序については不明な点が多い。一方、高血糖状態におけるグルコーススパイクによる細胞傷害の機序が近年、示されていることや、セリン・スレオニン結合型糖鎖の一つである *O*-linked-N-acetyl-glucosamine (*O*-GlcNAc) の修飾によるアポトーシスの誘導も報告されており、これらのことから本研究では 2 型糖尿病モデルマウス (db マウス) を用い、腺組織傷害の病態の成立機序について検討を行った。その結果、1) db マウスでは増齡的な血糖値の上昇に伴い唾液腺組織でのアポトーシスの増加と共に唾液量が減少し、2) 蛍光抗体法によりヒストン 2A の 40 番セリン残基への *O*-GlcNAc 修飾が検出された。従来、2 型糖尿病患者における口腔乾燥症状は高血糖における脱水とされているが、本研究では慢性的な高血糖状態がヒストン 2A の *O*-GlcNAc 修飾を介しヌクレオソームの構造が変化することで腺組織傷害を生じた可能性が示唆され現在その詳細を検討している。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. Juri Saruta, Masahiro To, Masahiro Sugimoto, Yuko Yamamoto, Tomoko Shimizu, Yusuke Nakagawa, Hiroko Inoue, Ichiro Saito, Keiichi Tsukinoki : Salivary Gland derived BDNF Overexpression in Mice Exerts an Anxiolytic Effect. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017. 18(9), 1902; doi:10.3390/ijms18091902
2. Uehara O., Takimoto K., Morikawa T., Harada F., Takai R., Adhikari B. R., Itatsu R., Namura T., Yoshida K., Matsuoka H., Nagayasu H., Saito I., Muthumala M., Chiba I., Abiko Y.: Unregulated expression of MMP-9 in gingival epithelial cells induced by prolonged stimulation with arecoline. *Oncol. Lett.*, 2017 Jul;14(1):1186-1192. doi:10.3892/ol.2017.6194. Epub 2017 May 17.
3. Tsuboi H., Hagiwara S., Asashima H., Takahashi H., Harota T., Noma H., Umehara H., Kawakami A., Nakamura H., Sano H., Tsubota K., Ozawa Y., Takamura E., Saito I., Inoue H., Nakamura S., Moriyama M., Takeuchi T., Tanaka Y., Hirata S., Mimori T., Matsumoto I., Sumida T.: Comparison of performance of the 2016 ACR-EULAR classification criteria for primary Sjögren's syndrome with other sets of criteria in Japanese patients. *Ann. Rheum. Dis.*, 2017. Mar 22. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210758.
4. 斎藤一郎：口腔から考える全身の抗加齢医学、週刊 医学のあゆみ、261: 6 638-641, 2017.
5. 斎藤一郎 (分担)：『臨床のみかたシリーズ』新訂版 知りたいことがすぐわかる高齢者歯科医療—歯科医療につながる医学知識—、株式会社永末書店、2017.
6. 斎藤一郎 (分担)：シェーグレン症候群診療ガイドライン 2017 年版、株式会社診断と治療社、2017.
7. 斎藤一郎 (編著・分担)：超高齢社会におけるドライマウスへの対応—いま、ドライマウスにどう取り組むべきか、株式会社ヒョーロン・パブリッシャーズ、2017.
8. 「めざせ 8020 歯が元気なら体も元気 第 10 回 心身の健康づくりに口周り筋肉強化を」(NHK テキストきょうの健康、2017 年 9 月号、2017. 8. 21)

経管栄養を受けている要介護高齢者の口腔からの *Candida* 除去が
全身状態を改善させる

鶴見大学歯学部口腔微生物学講座
前田伸子、大島朋子

我々は本事業で「高齢者の健康状態と菌叢の量的・質的特徴、唾液の成分特性との関連を検討することで、加齢が高齢者の口腔の健康にどのように関与しているかについて」を課題に取り組んでいる。特に、常在真菌であると同時に日和見感染症の原因である *Candida* に関する基礎的・臨床的研究に重点を置いて、検討した結果、高齢者の口腔では *Candida* が優勢となり、様々な口腔内の不具合を引き起こしていることを明らかにした。また、昨年は新潟県の介護老人保健施設の入居者を対象に抗真菌薬による含嗽を継続することで *Candida* 除菌に成功し、その結果、口腔内の健全化のみならず、消化管症状も改善傾向が見られたことを報告した。

今回は、経鼻や胃婁による経管栄養を受けている要介護高齢者の口腔ケアにも抗真菌薬を導入した結果、経管栄養要介護高齢者の場合、うがいも出来ない状況のため、投与量は当初予定していた 1 回 AMPH-B 5mg ではなく、その 10 倍量が必要であった。使用量の増量に伴う薬剤のコスト増はあるものの、過剰投与による有害事象などは認められなかった。また、消化管に見られた不具合も改善傾向を示した。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. 前田伸子：常在真菌 *Candida* の病原性-カンジダ症とその対応-、歯薬療法、35: 115-123, 2016
2. 木村陽介、山本共夫、草塩英治、前田伸子：抗真菌剤の長期使用は菌垢量を減少させる、歯薬療法、36: 9-14, 2017
3. Ohshima, T., Kojima, Y., Seneviratne, C. J., & Maeda, N. (2016). Therapeutic application of synbiotics, a fusion of probiotics and prebiotics, and biogenics as a new concept for oral candida infections: a mini review. *Frontiers in microbiology*, 7.
4. Kojima, Y., Ohshima, T., Seneviratne, C. J., & Maeda, N. (2016). Combining prebiotics and probiotics to develop novel synbiotics that suppress oral pathogens. *Journal of Oral Biosciences*, 58(1), 27-32.

老化研究のモデル生物である短寿命の魚 turquoise killifish (カダヤシ目キリフィッシュ) で研究された寿命関連遺伝子の1つに、タンパク質恒常性喪失の原因遺伝子となる ATG5 (autophagy 5) がある。ATG5 遺伝子は、オートファジーに関与するコアタンパク質をコードし、隔離膜の伸長および完全なオートファゴソームへの成熟に役割を果たす。

オートファジーはユビキチン・プロテアソーム系とともに細胞内の主要なタンパク質分解経路の一つである。このオートファジーによる分解経路は酸化ストレスや UV 照射などによって生じる傷害されたタンパク質の分解等に重要な役割を果たしていることが報告されている。また老化において個体レベルでオートファゴソーム形成能及びタンパク質分解活性の低下がこれまでに報告されており、培養細胞系の実験において老化によってオートファジーの活性の低下が報告されている。

このような観点から老化によって低下するオートファジーの活性を、何らかの刺激によって亢進させることで低下したタンパク質分解活性を亢進させ、不要タンパク質の蓄積による様々な障害を改善させることが可能ではないかと考えている。

現在、肝疾患、特に慢性肝炎の治療に用いられているグリチルリチンの薬理作用の一つとして、いくつかのオートファジー関連遺伝子の発現を亢進させる効果があることを発見した。マウスマクロファージ由来の cell line の RAW264 に LPS を投与し、24 時間経過後にその培養上清をマウス肝細胞由来の cell line の Hepa 1-6 に加えて 24 時間培養後に細胞から mRNA を抽出して、real time PCR によって遺伝子発現量を測定した。

その結果、Atg5、Rab24 といったオートファジー関連遺伝子の発現量が亢進していることが判明した。

今後は、このグリチルリチンの投与によってタンパク質分解活性が実際に亢進するかを、*in vivo* で確認していくことが必要であると考えている。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

1. Terai Y., Miyagi R., Aibara M., Mizoiri S., Imai H., Okitsu T., Wada A., Takahashi-Kariyazono S., Sato A., Tichy H., Mrosso H.D.J., Mzighani S.I., Okada N.: Visual adaptation in Lake Victoria cichlid fishes: depth-related variation of color and scotopic opsins in species from sand/mud bottoms. BMC Evol. Biol., 2017 Aug;17(1):200. doi: 10.1186/s12862-017-1040-x. PMID: 28830359
2. Kawasaki K., Mikami M., Nakatomi M., Braasch I., Batzel P., H Postlethwait J., Sato A., Sasagawa I., Ishiyama M.: SCPP Genes and Their Relatives in Gar: Rapid Expansion of Mineralization Genes in Osteichthyans. J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol., 2017 Jun 22. doi: 10.1002/jez.b.22755. [Epub ahead of print]

臨床では、加齢によって生じる歯肉退縮や過度なブラッシング圧が原因でくさび状欠損が生じ、歯根が露出することで、そこにカリエスが生じることがある。この現象は、プラークによって作られた酸性環境において、歯質（エナメル質と象牙質）の耐酸性に変化が生じていることが考えられる。そのため本研究の目的は、この現象が加齢に伴って変化する歯質と密接に関係し、その溶解性（耐酸性）にも影響を及ぼしているかどうかをしらべることである。

1. 経年的な歯質（象牙質）の石灰化度の詳細

象牙質歯質に含まれる無機質は、加齢と共に歯根表面から石灰化度が上昇する。

歯根象牙質の石灰化度が髄周象牙質よりも高い領域をマイクロ CT をもちいて抽出し、全体に対する高石灰化領域の割合を測定すると、歯根完成後 1～30 年間では高石灰化領域が $33.4 \pm 28.5\%$ 増加し、31～60 年を経過すると高石灰化領域が $72.9 \pm 27.4\%$ にまで上昇する。しかし、歯根完成後 61 年以上を経過すると $74.9 \pm 35.1\%$ と上昇傾向は緩やかになることが明らかとなった。この高石灰化領域について年間の増加率として表すと、歯根完成後 1～30 年は 2.3%/年の割合で石灰化度は急上昇するが、以後、年間上昇率は加齢と共に 1.7%、1.1% と緩やかとなった。

2. *in vitro* でのエナメル質の酸に対する溶解性実験

in vitro で、抜去歯エナメル質表面を継続的に酸（0.1N HCl (pH. 1.8)）により洗い流し方法で溶解すると、毎秒の溶失体積量は脱灰時間の経過に伴い低下し、最終的に平衡状態になる傾向があった。すなわち、1 次関数的にエナメル質は溶解し続けることなく、一定時間後には平衡状態になることが明らかとなった。このことから、脱灰過程で溶出したミネラルは、エナメル質最表層で微小循環しており、溶解した無機質は歯質表層へ移動・再沈着していると考えられた。

3. 口腔内での歯質表面の結晶状態

in vitro での実験結果を受けて、口腔内 *in situ* のエナメル質最表層のリン酸カルシウム結晶にどのような変化が生じているかを透過型電子顕微鏡で観察をおこなった。

観察部位は、エナメル質形成後の歯質表面、萌出後に唾液に晒されたエナメル質表面、および白斑の認められるエナメル質表面である、現在、これら 3 部位から得られた結晶状態の画像について、結晶解析を進めている。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

大規模災害を想定した歯科用コーンビーム CT を活用した身元特定に関する基礎的研究, 歯科放射線 206;56(2):83-89. 伊東宏和、五十嵐千浪、若江（森田）五月、市古敬史、下田信治、小林 馨, 2017

象牙質シアロタンパク質(DSP)および象牙質リントタンパク質(DPP)は象牙質の主要非コラーゲン性タンパク質であり、象牙質中に存在する生理活性物質のトランスフォーミング成長因子ベータ(TGF- β 1)と結合することでその活性を維持する。【目的】本研究では加齢に伴う DSP および DPP の減少が、TGF- β 1 の活性維持にも影響を及ぼすかどうかを明らかにすることを目的とした。【方法】エナメル質形成過程にある生後約6ヶ月のブタ切歯より幼若および成熟エナメル質除去後、歯冠部を3つの領域に切断した歯牙試料から象牙質粉末試料を調製し、それら試料の脱灰不溶物を酢酸-食塩で抽出して可溶性画分(AN画分)を得た。これとは別に生後約6ヶ月のブタ第一、第二大臼歯(6m-1、6m-2)および12ヶ月のブタ第一、第二、第三大臼歯(12m-1、12m-2、12m-3)より歯根分岐部を調整し、同様にAN画分を得た。AN画分に対して電気泳動およびウェスタンブロッティングを行い、DSP および DPP の変化を調べた。またAN画分中のTGF- β 1活性を歯根膜由来培養細胞(PDL細胞)に対するアルカリホスファターゼ(ALP)活性の上昇で評価した。【結果】エナメル質形成過程にある切歯から得た象牙質では3つの領域共にDPP およびTGF- β 1活性に変化は見られなかった。一方、生後6ヶ月および12ヶ月の大臼歯から得た象牙質では、DPP は6m-2=12m-3 > 6m-1 > 12m-2 > 12m-1 の順で多く認められた。またDSP は6m-2 と12m-3においては高分子DSPが観察されたものの6m-1、12m-1、12m-2の試料では分解されたDSPが観察された。また、TGF- β 1活性は6m-2=12m-2=12m-3 > 6m-1 > 12m-1 の順で高く、DPP およびDSPのタンパク質量変化と同じ挙動を示した。【結論】DSP および DPP の加齢に伴う減少は、TGF- β 1活性の減少にも影響することが明らかになった。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

1. Yamazaki H, Beniash E, Yamakoshi Y, Simmer JP, Margolis HC (2017) Protein phosphorylation and mineral binding affect the secondary structure of the leucine-rich amelogenin peptide. *Front Physiol.* 8:450.
2. Kwak SY, Litman A, Margolis HC, Yamakoshi Y, Simmer JP (2017) Biomimetic enamel regeneration mediated by leucine-rich amelogenin peptide. *J Dent Res.* 96(5): 524-530.
3. 山越康雄 (2017) 象牙質シアロリントタンパク質(DSPP), 鶴見歯学 43(1): 1-11.
4. Yamamoto R, Yamakoshi Y (2016) Dentin sialophosphoprotein-derived proteins in porcine pulp and dentin - Gene expression and function -. *J Oral Biosci* 58(4): 120-127.
5. Shimazaki E, Karakida T, Yamamoto R, Kobayashi S, Fukae M, Yamakoshi Y, Asada Y (2016) TGF- β and physiological root resorption of deciduous teeth. *Int J Mol Sci.* 18(1) pii: E49. doi: 10.3390/ijms18010049.

加齢に伴い増加する運動器症候群：ロコモティブシンドロームでは要介護になるリスクが高いことから、その病態の解明や治療法の開発が求められている。中でも運動器を構成する重要な要素の一つである靱帯・腱組織は、骨との付着部において断裂などの障害が発生しやすく、その後の修復が困難である。靱帯・腱組織ならびに骨との付着部の形成・維持機構については不明な点が多い。本研究は、靱帯・腱細胞、骨への付着部組織の機能・分化制御メカニズム解明を目的としている。

細胞の機能・分化調節には epigenetic なレベルでの制御が重要と考えられる。そこで今年度はヒストン H3 の 9 番目のリジン残基 (H3K9) のメチル化酵素 (H3K9MTase) である G9a に着目し、腱細胞におけるその機能について検討した。

我々がこれまで確立した靱帯・腱細胞の単離・純化方法に基づき、G9a flox/flox マウスから尾由来腱細胞の単離、培養を行った。まずそれらの細胞における腱関連遺伝子および H3K9MTase の遺伝子発現を調べた。次に in situ hybridization により腱組織での H3K9MTase の局在を調べた。さらに G9a flox/flox 由来腱細胞に Cre 発現アデノウイルスを感染させることで G9a の機能を消失させた G9a ノックアウト (KO) 腱細胞を作出し、その細胞機能に及ぼす影響を調べた。

培養腱細胞では 6 つの H3K9MTase の発現が認められ、それらは分化に伴い上昇した。その中で G9a について in vivo での局在を調べたところ、tenomodulin 陽性細胞と一致または近接して認められた。次に腱細胞における G9a の役割を調べた。G9aKO 腱細胞において G9a、H3K9me1 および H3K9me2 のタンパクレベルの減少を確認した。G9aKO 腱細胞はコントロール細胞と比べて扁平な細胞形態を示し、細胞増殖抑制が認められた。さらに腱関連遺伝子の発現が減少し、tenomodulin のタンパクレベルでの減少も認められた。また G9a 欠損腱細胞において細胞周期制御因子である p21 の遺伝子発現の増加が認められた。

これらの結果は、G9a が腱細胞の増殖および分化に必須であり、腱組織の形成に重要な役割を果たすことを示唆するものである。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. Essential roles of G9a in cell proliferation and differentiation during tooth development. Kamiyama T, Ideno H, Shimada A, Arai Y, Terashima T, Tomooka Y, Nakamura Y, Nakashima K, Kimura H, Shinkai Y, Tachibana M, Nifuji A., *Exp Cell Res.* 2017. 357(2):202-210
2. Histone deacetylase inhibition enhances in-vivo bone regeneration induced by human periodontal ligament cells. Huynh NC, Everts V, Nifuji A, Pavasant P, Ampornaramveth RS., *Bone.* 2017. 95:76-84.
3. Bardet-Biedl syndrome 3 regulates the development of cranial base midline structures. Kawasaki M, Izu Y, Hayata T, Ideno H, Nifuji A, Sheffield VC, Ezura Y, Noda M., *Bone.* 2017. 101:179-190

現在、アパタイトなどのリン酸カルシウムを主体とする骨補填材が臨床で使用されているが、骨再生が困難な高齢者や骨粗鬆症などの有病者に対する有効性については未だ明確ではない。我々は、DNA/プロタミン複合体を高齢者モデルとしての加齢ラットの骨欠損部に適応して、良好な骨形成を確認している。DNA/プロタミン複合体は水で練和するとペースト状になる特性を有しているが、ペーストの操作性や保存安定性に問題があった。DNA ペーストの改良を試みた結果、DNA 水溶液にプロタミンを添加して、その場でペースト化する方法を考案した。これにより DNA 水溶液/プロタミンペーストを得ることができた。さらに、ゼラチン水溶液に DNA を添加して同様に流動性に優れたペースト（ゼラチン水溶液/DNA ペースト）を得ることができた。

まず、DNA 水溶液/プロタミンペーストの操作性および骨形成能を調べるために、微小な骨欠損モデルとしてラット抜歯窩にペーストを埋入して、ペーストの填入状態や骨形成状態について確認した。その結果、ペーストはラット抜歯窩に適切に埋入されており、骨形成も良好である事がわかった。

DNA の骨形成能を水晶発振子マイクロバランス（QCM, 27MHz）法を用いて基礎的に検討した。チタンセンサーに DNA/プロタミンの積層固定化を行い、セル内には疑似体液としてハンクス溶液を注入した。DNA として 2 本鎖 DNA, 1 本鎖 DNA の 2 種類を用いた。QCM の振動数変化を測定した結果、2 本鎖 DNA, 1 本鎖 DNA どちらもアパタイトの析出開始時間が無処理チタンの 2 倍程度に速くなることがわかり、骨形成への DNA の関与が示唆された。

今後、加齢モデルラットなどを用いて、DNA 水溶液/プロタミンペースト、ゼラチン水溶液/DNA ペーストの骨形成について詳細に検討していく予定である。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. You Kusakawa, Eiji Yoshida, Tohru Hayakawa. Protein adsorption to titanium and zirconia using a quartz crystal microbalance method. BioMedical Research International. Volume 2017, Article ID 1521593, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/1521593>
2. Eiji Yoshida E, Tohru Hayakawa. Quantitative analysis of apatite formation on titanium and zirconia in a simulated body fluid solution using the quartz crystal microbalance method. Advances in Materials Science and Engineering. Advances in Materials Science and Engineering. Volume 2017, Article ID 7928379, 9 pages, <https://doi.org/10.1155/2017/7928379>

厚生労働省が進めている 8020 運動は、「80 歳でも自分の歯を 20 本以上保つことで豊かな人生を」を基本理念として開始された。8020 を達成して、咀嚼機能を維持してきた高齢者は、生活習慣病や心疾患の合併が少ないという疫学調査結果が報告された。一方心疾患は日本人の死亡原因の第 2 位であり、高齢化社会を迎えて年々患者数は増加傾向にある。心不全治療の世界指針は交感神経の遮断であることから、交感神経の過剰刺激状態は心疾患の発症を促進させることが明らかにされている。最近の疫学調査結果から、心疾患と咀嚼機能は密接に関連しているという報告がある。以上の報告は「交感神経の過剰刺激状態が心筋ならびに咬筋に及ぼす効果を解明することの重要性」を示唆している。

平成 29 年度は、交感神経の慢性刺激状態が心筋ならびに咬筋に及ぼす影響を調べるため、アドレナリン受容体 (AR) に対するサブタイプ特異的作動薬 (β_1 -AR: ドブタミン、 β_2 -AR: クレンブテロール) を用いた慢性投与マウスモデルを作成し、咬筋ならびに心筋に及ぼす影響について解析した。その結果交感神経の慢性刺激状態は心筋ならびに咬筋のリモデリング (肥大、アポトーシス、線維化) の形成を促進すること、特に肥大は β_2 -AR シグナル、アポトーシスと線維化は β_1 -AR シグナルが重要であることが明らかになった。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. Umemura M, Kim J-H, Aoyama H, Hoshino Y, Fukumura H, Nakakaji R, Sato I, Ohtake M, Akimoto T, Narikawa M, Tanaka R, Fujita T, Yokoyama U, Taguri M, Okumura S, Sato M, Eguchi H, Ishikawa Y: The iron chelating agent, deferoxamine detoxifies (Salen)-induced cytotoxicity. *J Pharmacol Sci.* 2017 Jul 25. pii: S1347-8613 (17) 30101-9. doi: 10.1016/j.jphs.2017.07.002.
2. Jin H, Fujita T, Jin M, Kurotani R, Namekata I, Hamaguchi S, Hidaka Y, Cai W, Suita K, Ohnuki Y, Mototani Y, Shiozawa K, Prajapati R, Liang C, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Tanaka H, Okumura S, Ishikawa Y: Cardiac overexpression of Epac1 in transgenic mice rescues lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction and inhibits Jak-STAT pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2017 2017 Jul;108:170-180. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.05.014. Epub 2017 Jun 16.
3. Fujita T, Umemura M, Yokoyama U, Okumura S, Ishikawa Y: The role of Epac in the heart. *Cell Mol Life Sci* 2017 Feb;74(4):591-606. doi: 10.1007/s00018-016-2336 -5. Epub 2016 Aug 22.

現在歯数に着目した高齢者施設での食と栄養指導システムの構築
～上下の歯の接触状況と食事形態の関係～

鶴見大学歯学部探索歯学講座
花田信弘

目的

調査対象となる高齢者施設の入所者の介護度、歯の状態、食事形態の状況を把握し、上下の歯の接触状況と食事形態の関係を明らかにする。

研究の背景：

高齢者施設の給食に出される食事は、栄養士・管理栄養士が管理しているが、食事形態の決定方法や決定者はあいまいで、職種は特に定められていない。理想的には、歯科医師が個々の高齢者の口腔の状況を評価し、咀嚼効率を判定して、食事形態の決定を行うことが好ましいと考えられる。しかし、歯科医師の協力が必要であることの根拠は、明確には示されていない。そこで、咀嚼効率に関与する上下の歯の接触状況が高齢者の食事形態の選択に関与しているか否かを通常科学の方法で明らかにする必要があった。

調査方法と対象者：

要介護度、歯の健康状態、可撤性有床義歯の状態、食事形態に関して、調査対象となる高齢者施設（有料老人ホーム）に入居する 276 名を調査した（男性、n=56；女性、n=220；平均年齢、87.68 +/- 5.94 年）。

結果：

調査対象者は要支援 1 の高齢者が 5.8%、要支援 2 が 5.4%、要介護 1 が 18.0%、要介護 2 が 23.0%、要介護 3 が 16.5%、要介護 4 が 16.9%、要介護 5 が 14.4%であった。食事形態は、普通食の高齢者が 52.5%で、刻み食が 39%、残り 9%がミキサー食等であった。歯の残存状態では全体の 28%の高齢者が無歯顎であった。ロジスティック回帰分析において、要支援 1、2 及び要介護 1、2 の高齢者では上下の歯の接触部位数と食事形態に有意差はみられなかったが、要介護 3、4、5 の高齢者では有意差がみられた。

考察：

要介護度、食事形態、上下の歯の接触部位数の 3 者の関連を解析し、要介護 3、4、5 の高齢者は、上下の歯の接触部位数と食事形態に関連が見られた。このことは、要介護 3、4、5 の高齢者には、歯科補綴治療が必要であることを示唆している。

【平成 29 年度 成果の刊行一覧】

1. Arai C, Nomura Y, Matsuzawa M, Hanada N, Nakamura Y. Extracellular HSP72 induces proinflammatory cytokines in human periodontal ligament fibroblast cells through the TLR4/NFκB pathway in vitro. Arch Oral Biol. 2017 Jul 30;83:181-186. [Epub ahead of print]
2. Nomura Y, Takeuchi H, Okamoto M, Sogabe K, Okada A, Hanada N. Chair-side detection of Prevotella Intermedia in mature dental plaque by its fluorescence. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017 Jun;18:335-341. Epub 2017 Apr 27.
3. Okada A, Nomura Y, Sogabe K, Oku H, Sato Gillbreath A, Hino F, Hayashi H, Yoshino H, Utsunomiya H, Suzuki K, Koresawa K, Koba K, Uetani K, Kotoh M, Nishitsuji N, Akutsu S, Nakasone T, Tobi Y, Fukuzawa Y, Yabuki Y, Naono Y, Yajima M, Shimizu K, Hanada N. Comparison of salivary hemoglobin measurements for periodontitis screening. J Oral Sci. 2017;59(1):63-69.
4. Nitta H, Katagiri S, Nagasawa T, Izumi Y, Ishikawa I, Izumiyama H, Uchimura I, Kanazawa M, Chiba H, Matsuo A, Utsunomiya K, Tanabe H, Takei I, Asanami S, Kajio H, Ono T, Hayashi Y, Ueki K, Tsuji M, Kurachi Y, Yamanouchi T, Ichinokawa Y, Inokuchi T, Fukui A, Miyazaki S, Miyauchi T, Kawahara R, Ogiuchi H, Yoshioka N, Negishi J, Mori M, Mogi K, Saito Y, Tanzawa H, Nishikawa T, Takada N, Nanjo K, Morita N, Nakamura N, Kanamura N, Makino H, Nishimura F, Kobayashi K, Higuchi Y, Sakata T, Yanagisawa S, Tei C, Ando Y, Hanada N, Inoue S. The number of microvascular complications is associated with an increased risk for severity of periodontitis in type 2 diabetes patients: Results of a multicenter hospital-based cross-sectional study. J Diabetes Investig. 2017 Sep;8(5):677-686.
5. Kakuta E, Nomura Y, Morozumi T, Nakagawa T, Nakamura T, Noguchi K, Yoshimura A, Hara Y, Fujise O, Nishimura F, Kono T, Umeda M, Fukuda M, Noguchi T, Yoshinari N, Fukaya C, Sekino S, Numabe Y, Sugano N, Ito K, Kobayashi H, Izumi Y, Takai H, Ogata Y, Takano S, Minabe M, Makino-Oi A, Saito A, Abe Y, Sato S, Suzuki F, Takahashi K, Sugaya T, Kawanami M, Hanada N, Takashiba S, Yoshie H. Assessing the progression of chronic periodontitis using subgingival pathogen levels: a 24-month prospective multicenter cohort study. BMC Oral Health. 2017 Jan 16;17(1):46.

加齢に伴い、骨格筋の量は大きく減少し、筋力や身体機能は大きく低下する。口腔内においては、咀嚼筋や舌筋などの筋力や筋機能が低下することにより、十分な咀嚼運動や嚥下機能が困難となり、そのため栄養摂取が十分に行うことができず、さらに筋力や筋機能が低下するという負の連鎖に陥ってしまう。したがって、加齢に伴う筋量、および筋力、筋機能の低下を防ぐことは、個々の高齢者の QOL を向上させるために必要不可欠であり、超高齢化社会においては非常に意義がある。

MITF (Microphthalmia-associated transcription factor) は、ベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 構造を持つ小眼球症関連転写調節因子である。MITF は、心臓でも多く発現しており、心肥大の発症過程に重要であることが報告されている。一方、MITF は骨格筋でも発現していることが報告されているが、その生理的役割には不明な点が多い。

本実験では、 β -AR の慢性刺激により誘発される骨格筋肥大に対する MITF の役割を明らかにするために、*mitf* 遺伝子変異型マウス (*mi/mi*) を用い、クレンプテロール (CB) [β_2 -AR (骨格筋の主要なサブタイプ) アゴニスト] 投与による骨格筋肥大に対する MITF 変異の影響を詳細に解析する予定である。

現在までに、*mi/mi* および野生型 (WT) マウスにおける咬筋 (速筋)、前脛骨筋 (速筋)、ヒラメ筋 (遅筋)、心筋の脛骨長に対する筋重量の比 (筋重量/TL)、各筋の筋線維横断面積 (CSA; μm^2)、および線維化の割合について、CB 投与の影響を調べたところ、WT マウスでは、CB 投与により、咬筋、前脛骨筋、心筋の筋重量/TL が有意に増加 ($p < 0.05$) したのに対し、*mi/mi* マウスでは、これらの筋で有意差な増加はみとめられなかった。筋線維横断面積 (CSA; μm^2) の測定結果からも、WT では CB 投与により咬筋 ($p < 0.01$)、前脛骨筋 ($p < 0.05$) では肥大効果が確認されたが、*mi/mi* では有意な増加は確認されなかった。一方、ヒラメ筋に対する CB の筋肥大効果は WT、*mi/mi* とともにみとめられなかった。また、*mi/mi* の咬筋および心筋では CB 投与に関係なく有意な線維化がみとめられた ($p < 0.01$)。

以上の結果より、*mitf* は心筋同様に、速筋型骨格筋においても β_2 -AR を介した筋肥大および β_2 -AR 非依存性の線維化に重要な役割を果たすことが示唆された。今後、骨格筋肥大に対する MITF の生理機能およびその分子機序について詳細に解析する予定である。

加齢による顎顔面形態や顎機能の変化に調和する補綴装置の製作は補綴学の目的である。特に、顎関節の形態変化を伴う全顎的な補綴処置を行う際に、顎位の設定に苦慮する症例も多く、咬合位の基準となる下顎位の設定は臨床的に重要な課題である。

これまで、下顎位、特に下顎運動データから適切な垂直的顎間関係を明らかにすることを目的に、矢状面内限界運動の終末蝶番運動路と習慣性閉口運動の前後的な位置関係、垂直的な下顎位の範囲について検討を行った。

本年度は、低位咬合の症例に対して術前および術中の顎運動測定を行い、下顎位の妥当性と顎機能の変化について運動論的に検討したので報告する。

患者は64歳女性。前歯部審美性の回復、下顎欠損部補綴治療を希望し当院来院。咬合平面の不正、咬合高径の低下、前歯部切縁の不一致を認める。X線所見にて左側下顎頭変形、運動制限を認める。セファロ、ゴシックアーチなど用いて咬合挙上量を決定後、上顎プロビジョナルレストレーション、下顎リテーナー型義歯により咬合平面および咬合高径の改善を行った。下顎位の妥当性を検討するため下顎運動測定を術前、術中に行った。顎運動測定には磁気式6自由度顎運動測定器を用い、被験運動は矢状面内限界運動、サンプリング周波数100Hzで計3回測定した。

術前の矢状面内限界運動から算出した全運動軸点は、健側では顎機能健常者と同様の顎路を移動するが、患側に向かうほど運動範囲が小さくなり、直線的な顎路上を移動する。プロビジョナル装着5ヶ月後の顎運動から算出した全運動軸点は、患側でも健側に近似した顎路上を移動しており、全ての矢状面内限界運動から全運動軸を算出することができた。

顎運動を計測することで下顎位の妥当性や顎機能の改善を客観的に評価できる可能性が示唆された。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

Keita Sasaki, Shuji Shigemoto, Yuko Shigeta, Rio Hirabayashi, Mitsuyoshi Tsumita, Tomoko Ikawa, Naoko Ikuta, Katsumi Okuma, Yamamoto Takatsugu, Takumi Ogawa. Factors associated with occlusal plane inclination in adults. The Journal of Japanese Society of Stomatognathic Function. In Press.

口腔扁平苔癬に対するサプリメントによる病態改善効果の検討

鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座
園山智生 中岡一敏 濱田良樹

口腔扁平苔癬は、中高年女性の口腔粘膜に多く見られる難治性の慢性炎症性疾患で、その発生メカニズムは不明で治療法は確立されていない。本疾患に対するサプリメントの病態改善効果を検討することは、加齢による口腔粘膜機能低下の軽減につながる臨床技術開発に寄与する可能性がある。近年、口腔粘膜疾患において活性酸素種の関与が報告されており、健常者と比較し口腔扁平苔癬を伴う患者の血液中の酸化ストレスマーカーが高値を呈することが示されている。活性酸素種は、反応性が非常に速く生体の構造や機能の維持に重要な酵素、蛋白質、DNA、脂質に障害を与え、様々な疾患の発症や増悪に関与する事が報告されている。活性酸素種により酸化された脂質を還元状態に戻すことが可能なものにコエンザイムQ10が、抗酸化作用を示すものにビタミンC、脂肪の代謝に関与しているものにビタミンB群がある。これら栄養補助食品を総称してサプリメント（以下、サプリ）と呼ばれる。疾患に対するサプリ有用性に関連する文献は肝機能異常に対するものが多く散見されるが、口腔粘膜疾患と関連する文献は確認できない。そこでわれわれは中高年層の口腔扁平苔癬の患者に対しサプリを服用させ、患者の病態改善の効果について検討することとした。

対象：2015年11月から2017年3月までの間に当科で病理組織学的に扁平苔癬の診断が得られ、疼痛などの自覚症状を有する女性18名（平均60.9歳）とした。

評価方法：対象を対照群とサプリ内服群の2群に分け、対照群には偽薬を用いた。本研究は2重盲験とした。サプリはビタミンB群、CおよびコエンザイムQ10（還元型）を複合内服させた。サプリの内服前、内服開始4週間後にVelezの口腔粘膜炎症の評価に準じて評価し、改善の有無について χ^2 検定を用いて分析した。また同じタイミングに血液を採取し、アミラーゼ、コルチゾール、セロトニン、酸化ストレスマーカー（d-ROMs、BAP）を測定し、2群間でMann-Whitney U検定を用い分析した。いずれも $P<0.05$ を有意差ありとした。統計ソフトはSPSS ver. 17.0を使用した。

結果：口腔扁平苔癬による粘膜炎症はサプリ内服により有意な改善は認められなかった。採血結果はサプリ投与前後の内服群の変化について、すべての項目で有意差は認められなかった。アミラーゼに関してはサプリ投与後の対照群と内服群の間に統計学的有意差を認め改善傾向を示したが、これは正常範囲内での変化であった。

結論：ビタミンB群、CおよびコエンザイムQ10（還元型）の服用と、扁平苔癬の臨床的な改善とを結びつけることはできなかった。他社製品でコエンザイムQ10の内服量が今回の投与量より多く設定されているものもあり、今後、内服量の増量により改善が見込める可能性もあり、検討の余地があるものと考えられた。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

- 1) Hasebe M, Yoshikawa R, Nishii K, Kawaguchi K, Kamada T, Hamada Y. Usefulness of ^{11}C -methionine-PET for predicting the efficacy of carbon ion radiation therapy for head and neck mucosal malignant melanoma. Int J Oral Maxillofac Surg (2017 in press).
- 2) Matsubara R, Kumagai K, Shigematsu H, Kitaura K, Nakasone Y, Suzuki S, Hamada Y., Suzuki R. Fexofenadine suppresses delayed-type hypersensitivity in the murine model of palladium allergy. Int J Mol Sci (2017 in press).

口腔内乾燥感や唾液分泌の異常感などを主訴とする口腔異常感症（口腔セネストパチー）は主に中高年に多発し、若年者にはごく稀なことから何らかの加齢的变化が本症の病態に関与していることが伺われる。我々は脳血流SPECTを行い、本症患者特有の脳血流パターンが認められることを報告した。これらの結果を踏まえて、治療前後の脳血流パターン変化や舌痛症との類似点や相違点を解析した。さらに基礎的研究から三叉神経領域の異所性疼痛/感覚異常についても検討を加え、海外雑誌へ論文投稿した。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

1. Takenoshita M, Miura A, Shinohara Y, Mikuzuki R, Sugawara S, Tu TTH, Kawasaki K, Kyuragi T, Umezaki Y, Toyofuku A. Clinical features of atypical odontalgia; three cases and literature reviews. *Biopsychosoc Med*. 2017 Aug 3;11:21. doi:10.1186/s13030-017-0106-8. eCollection 2017. PubMed PMID: 28785306; PubMedCentral PMCID: PMC5541751.
2. Matsuoka H, Chiba I, Sakano Y, Toyofuku A, Abiko Y. Cognitive behavioral therapy for psychosomatic problems in dental settings. *Biopsychosoc Med*. 2017 Jun 13;11:18. doi: 10.1186/s13030-017-0102-z. eCollection 2017. Review. PubMed PMID: 28630646; PubMed Central PMCID: PMC5470220.
3. Umezaki Y, Uezato A, Toriihara A, Nishikawa T, Toyofuku A. Two Cases of Oral Somatic Delusions Ameliorated With Brain Perfusion Asymmetry: A Case Report. *Clin Neuropharmacol*. 2017 Mar/Apr;40(2):97-99. doi: 10.1097/WNF.0000000000000207. PubMed PMID: 28225385; PubMed Central PMCID: PMC5349303.
4. Mikuzuki L, Saito H, Katagiri A, Okada S, Sugawara S, Kubo A, Ohara K, Lee J, Toyofuku A, Iwata K. Phenotypic change in trigeminal ganglion neurons associated with satellite cell activation via extracellular signal-regulated kinase phosphorylation is involved in lingual neuropathic pain. *Eur J Neurosci*. 2017 Aug 23. doi: 10.1111/ejn.13667. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28834578.

シェーグレン症候群患者の唾液を用いた新しい診断方法の確立
～新規病態関連分子の検索とその応用～

九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野
坂本 瑞樹、森山 雅文、中村 誠司

シェーグレン症候群 (SS) は、唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害を受ける臓器特異的自己免疫疾患であるが、最近では加齢や老化(エストロゲンの枯渇など) もリスクファクターの1つと考えられている。SS の診断基準の項目には、涙腺・口唇腺生検や耳下腺造影検査など侵襲を伴う検査が含まれており、かつ複数の検査結果を組み合わせではじめて診断が確定できる。さらに、ドライマウスはSS以外の原因(ストレス、薬物、全身疾患、放射線など)でも起こりうることから、非侵襲性でSS以外のドライマウスとも鑑別できる診断方法の確立が望まれている。

昨年度までの我々の研究で、非侵襲性で簡便かつ繰り返し採取可能な唾液を用いて可溶性分子(サイトカイン、ストレス関連物質)の検索を行った。その結果、SSでは健常者と比較して、炎症性・ヘルパーT(Th) 1タイプ($\text{INF-}\gamma$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-8) および Th2 タイプ(IL-4 、 IL-10) が有意に高かった。しかし、炎症性・Th1タイプのサイトカインは炎症性唾液腺疾患(閉塞性唾液腺炎、放射線性唾液腺炎など)でも亢進することが推察されるため、よりSSの病態に特異的な分子を同定し、診断能を向上させる必要がある。近年、代謝産物などの内因性リガンドと病原体センサーであるToll様受容体(TLR)の相互作用が自己免疫疾患の発症に関与していることが示唆されている。そこで本研究では、病態形成に関わる新たなTLR関連分子の同定を目的として、SSの口唇腺を用いた網羅的遺伝子解析を行い、発現変動したTLR関連遺伝子を抽出し、機能解析および口唇腺におけるバリデーションを行った。

機能解析では、SSではT細胞活性化、B細胞活性化、ケモタキシスなどの免疫反応に関連する遺伝子群の発現亢進が認められた。発現亢進を認めたTLR関連分子はTLR1、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、MyD88、IRF1、IRF7、およびIRF8が有意な発現亢進を認めた。

これらの結果より、SSの病態形成にはTh細胞などの獲得免疫だけではなく、TLRを介した自然免疫も関与していることが推察される。次年度以降の研究では、発現亢進を認めたケモカインやTLR8に注目し、唾液での測定が可能かを検討し、より診断能の高い診断方法の確立を目指す。

【平成29年度 成果の刊行一覧】

1. Cytokine mixtures mimicking secretomes from mesenchymal stem cells improve medication-related osteonecrosis of the jaw in a rat model. Ogata K, Matsumura M, Moriyama M, Katagiri W, Hibi H, Nakamura S. JBMR plus 2017 in press. DOI: 10.1002/jbm4.10013. (PubMed)
2. cDNA microarray analysis identifies NR4A2 as a novel molecule involved in the pathogenesis of Sjögren's syndrome. Takahashi H, Tsuboi H, Asashima H, Hirota T, Kondo Y, Moriyama M, Matsumoto I, Nakamura S, Sumida T. Clin Exp Immunol 2017 in press. DOI: 10.1111/cei.13000. (PubMed)

3. CD163⁺CD204⁺ tumor-associated macrophages contribute to T cell regulation via interleukin-10 and PD-L1 production in oral squamous cell carcinoma. Kubota K, Moriyama M, Furukawa S, Haque R ASM, Maruse Y, Jinno T, Tanaka A, Ohta M, Ishiguro N, Yamauchi M, Sakamoto M, Maehara T, Hayashida JN, Kawano S, Kiyoshima T, Nakamura S. Sci Rep 7:1755, 2017.

DOI: 10.1038/s41598-017-01661-z. (PubMed)

4. Comparison of performance of the 2016 ACR-EULAR classification criteria for primary Sjögren's syndrome with other sets of criteria in Japanese patients. Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Takahashi H, Hirota T, Noma H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Matsumoto I, and Sumida T. Ann Rheum Dis 2017 in press

DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210758. (PubMed)

5. Myeloid dendritic cells stimulated by thymic stromal lymphopoietin promote Th2 immune responses and the pathogenesis of oral lichen planus. Yamauchi M, Moriyama M, Hayashida JN, Maehara T, Ishiguro N, Kubota K, Furukawa S, Ohta M, Sakamoto M, Tanaka A, Nakamura S. PLoS ONE 12(3): e0173017. 2017.

DOI: 10.1371/journal.pone.0173017. (PubMed)

6. Interleukin-33 produced by M2 macrophages and other immune cells contributes to Th2 immune reaction of IgG4-related disease. Furukawa S, Moriyama M, Miyake K, Nakashima H, Tanaka A, Maehara T, Iizuka-Koga M, Tsuboi H, Hayashida JN, Ishiguro N, Yamauchi M, Sumida T, and Nakamura S. Sci Rep 7:42413, 2017

DOI: 10.1038/srep42413. (PubMed)

7. Th1/Th2 immune balance and other T helper subsets in IgG4-Related Disease. Moriyama M and Nakamura S. Curr Top Microbiol Immunol 401:75-83, 2017

DOI: 10.1007/82_2016_40. (PubMed)

8. Lesional CD4⁺ IFN γ ⁺ cytotoxic T lymphocytes in IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis. Maehara T, Mattoo H, Ohta M, Mahajan VS, Moriyama M, Yamauchi M, Drijvers J, Nakamura S, Stone JH, Pillai SS. Ann Rheum Dis 76(2):377-385, 2017 DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-209139. (PubMed)

→ Highlighted in Nat Rev Rheumatol 12(9):500, 2016.

9. 中村誠司：口腔乾燥. 医学書院 夏目長門、池上由美子編：治療を支える. がん患者の口腔ケア(第4章、4-1)、pp53-61、2017.
10. 中村誠司：口腔乾燥症（ドライマウス）について①, ②. 健康教室 798(3): 78-81, 86-89, 2017
11. 中村誠司：IX口腔乾燥 93 唾液. 永末書店 一般社団法人日本口腔ケア学会編：口腔ケア基礎知識、pp274-276、2017.
12. 中村誠司：IIドライマウスはどのような病気か？ 鑑別すべき疾患とは？ ～原因別に考えるドライマウスの診断～ 株式会社ヒョーロン・パブリッシャーズ 超高齢社会におけるドライマウスへの対応 いま、ドライマウスにどう取り組むべきか～ pp17-28、2017

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 30 年度 研究成果報告会

平成 30 年 11 月 17 日（土）

会場：鶴見大学 2 号館 3 階 第 10 講堂
横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

平成 30 年度 研究成果報告会

平成 30 年 11 月 17 日（土）

問い合わせ先：鶴見大学歯学部 病理学講座
230-8501 横浜市鶴見区鶴見 2-1-3 TEL045-580-8362

プログラム

10:00 開会 挨拶

研究代表者 斎藤 一郎

10:05 発表

鶴見大学歯学部病理学講座

口腔微生物学講座

解剖・組織細胞学講座

口腔解剖学講座

分子生化学講座

薬理学講座

歯科理工学講座

生理学講座

探索歯学講座

小児歯科学講座

クラウンブリッジ補綴学講座

口腔顎顔面外科学講座

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

全人的医療開発学講座歯科心身医学分野

九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座

顎顔面腫瘍制御学分野

斎藤 一郎

前田 伸子

黒田 範行

下田 信治

山越 康雄

二藤 彰

早川 徹

奥村 敏

花田 信弘

朝田 芳信

小川 匠

濱田 良樹

豊福 明

中村 誠司

ディスカッション

11:20 特別講演

「唾液腺再生研究の変遷」

昭和大学歯学部口腔病態診断科学講座口腔病理部門

教授 美島 健二先生

12:00 閉会

特別講演

唾液腺再生研究の変遷

昭和大学歯学部
口腔病態診断科学講座口腔病理部門
教授 美島 健二 先生

唾液は1日約1~1.5リットル分泌され、抗菌作用、粘膜保護作用および食塊形成作用などを有することから、口腔内はもとより全身の環境および機能の維持に重要な役割を果たしている。唾液分泌低下により種々の障害が生じることが知られているが、重篤な唾液分泌障害は、齲蝕、口腔内感染症、摂食嚥下障害および誤嚥性肺炎などの一因となり、著しいQOLの低下をもたらすことが知られている。近年、超高齢社会を背景にドライマウス患者の増加が報告されている。これらの患者の多くは唾液分泌を抑制する薬剤などの副作用に起因するものであるが、唾液腺実質組織の障害が原因となることも知られている。唾液腺実質組織の障害を伴うものとしては、自己免疫疾患の1つであるシェーグレン症候群や頭頸部癌の放射線治療の副作用があげられる。これらの症例に対しては、唾液分泌促進薬の服用が治療法として行われているが、すでに腺組織の萎縮・消失の著しい症例においては必ずしも奏効しない重症例が認められる。このことから、これらの重症例においては、失われた腺組織を新たに構築する再生医療の応用が期待されている。再生医療の主体である細胞治療では幹細胞の移入が行われており、これまで放射線照射により唾液腺を損傷した動物モデルにおいて、組織幹細胞、すなわち造血幹細胞（HSC）、間葉系幹細胞（MSC）や唾液腺幹細胞の移入により唾液腺機能が回復することが報告されている。さらに、そのメカニズムについても解析が進みHSCやMSCにおいては、これらの細胞より分泌される液性因子を介した既存の腺組織の保護作用によること、また、唾液腺幹細胞においては、移入細胞自身の腺組織再構築能によることが明らかとなっている。これまで我々も脂肪由来幹細胞や血管内皮様細胞に液性因子を介した損傷唾液腺の回復能があることや、マウス唾液腺幹細胞がCD133陽性細胞として採取可能であり、これらの細胞に腺組織再構築能があることを明らかにしてきた。一方、臨床応用の現状として、HSCやMSCにおいては多くの疾患患者への応用実績が多数認められることから、唾液腺機能障害を有する患者に対しても、これらの細胞を用いた臨床試験が実施されている。しかしながら、唾液腺幹細胞については、これらの細胞の採取方法や採取された細胞のex vivoでの増幅法の開発など解決すべき課題があるため未だ臨床応用には至っていない。

最近我々はマウスES細胞から唾液腺オルガノイドを作出することに成功した。作出した唾液腺オルガノイドは胎生期のマウス唾液腺の18日齢の発達段階に相当することが明らかとなり、マウス口腔内に同所性に移植することにより唾液を分泌することが確認された。このように唾液腺オルガノイドは生体内の唾液腺の動態をよく反映したものと考えられた。したがって、本オルガノイドは、新たな細胞治療のソースとして再生医療への応用はもとより、唾液腺発生・再生段階の解明、疾患の病態解明あるいは新たな創薬への強力な技術基盤になり得ると考えられる。また、これらの技術を応用することにより将来的にはヒトiPS細胞から唾液腺オルガノイドを作成し、ドライマウス患者への治療へ応用したいと考えている。

略 歴

氏 名 美島 健二 (みしま けんじ)

現 職 昭和大学歯学部口腔病態診断科学講座口腔病理学部門 教授

学歴 及び 職歴 等

1991 年 3 月 徳島大学歯学部卒業
1995 年 3 月 奈良県立医科大学大学院医学部医学研究科博士課程修了
1995 年 4 月 奈良県立医科大学医学部病理学講座助手
1998 年 1 月 米国 NIH/NIDCR ポスドク研究員
2001 年 8 月 徳島大学歯学部口腔病理学講座助手
2002 年 7 月 鶴見大学歯学部口腔病理学講座助手
2003 年 4 月 鶴見大学歯学部口腔病理学講座講師
2005 年 7 月 鶴見大学歯学部口腔病理学講座助教授
2011 年 10 月 昭和大学歯学部口腔病態診断科学講座口腔病理学部門教授
現在に至る。

主要論文

- 1 Tanaka J, Ogawa M, Hojo H, Kawashima Y, Mabuchi Y, Hata K, Nakamura S, Yasuhara R, Takamatsu K, Irié T, Fukada T, Sakai T, Inoue T, Nishimura R, Ohara O, Saito I, Ohba S, Tsuji T, Mishima K. Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells. *Nature Communications*. 2018, 9(1):4216
- 2 Seki T, Aizawa R, Tanaka J, Yajima-Himuro S, Kato M, Tanaka K, Mishima K, Yamamoto M. Establishment of mouse gingival junctional epithelial cell line using a bioengineered tooth system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018, 497:167-172
- 3 Bin B, Bhin J, Takaishia M, Toyoshima K, Kawamata S, Ito K, Hara T, Watanabe T, Irié T, Takagishi T, Lee SH, Jung HS, Rho S, Seo J, Choi DH, Hwang D, Koseki H, Ohara O, Sano S, Tsuji T, Mishima K, Fukada T. Requirement of zinc transporter ZIP10 for epidermal development: implication of the ZIP10-p63 axis in epithelial homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017, 114:12243-12248
- 4 Yasuhara R, Irié T, Suzuki K, Sawada T, Miwa N, Sasaki A, Tsunoda Y, Nakamura S, Mishima K. The β -catenin signaling pathway induces aggressive potential in breast cancer by up-regulating the chemokine CCL5. *Exp Cell Res*. 2015, 338:22-31.
- 5 Yajima-Himuro S, Oshima M, Yamamoto G, Ogawa M, Furuya M, Tanaka J, Nishii K, Mishima K, Tachikawa T, Tsuji T, Yamamoto M. The junctional epithelium originates from the odontogenic epithelium of an erupted tooth. *Sci Rep* 2014, 4:4867.
- 6 Hayashi S, Tanaka J, Okada S, Isobe T, Yamamoto G, Yasuhara R, Irie T, Akiyama C, Kohno Y, Tachikawa T, Mishima K. Lin28a is a putative factor in regulating cancer stem cell-like properties in side population cells of oral squamous cell carcinoma. *Exp Cell Res*. 2013, 319:1220-1228.
- 7 Mishima K, Inoue H, Nishiyama T, Mabuchi Y, Amano Y, Ide F, Matsui M, Yamada H, Yamamoto G, Tanaka J, Yasuhara R, Sakurai T, Lee M, Chiba K, Sumimoto H, Kawakami Y, Matsuzaki Y, Tsubota K, Saito I. Transplantation of side population cells restores the function of damaged exocrine glands through clusterin. *Stem Cells*, 2012; 30:1925-1937.
- 8 Inoue H, Mishima K, Yamamoto S, Nakayama R, Nakagawa Y, Yamamoto K, Ryo K, Ide F, Saito I. Aryl Hydrocarbon Receptor-Mediated Induction of Epstein-Barr Virus Reactivation as a Risk Factor for Sjogren's Syndrome. *J. Immunol*, 2012, 188:4654-4662.

研究分担者抄録

鶴見大学歯学部病理学講座

松本 直行, 斎藤 一郎

加齢に伴い発症頻度が増す 2 型糖尿病を介した口腔乾燥症は周知であるがその成立機序については不明な点が多い。一方、高血糖状態におけるグルコーススパイクによる細胞傷害の機序が近年、示されており、これらのことから本研究では 2 型糖尿病モデルマウス (db マウス) を用い、腺組織傷害の病態の成立機序について検討を行った。その結果、1) db マウスでは増齡的な血糖値の上昇に伴い唾液腺組織でのアポトーシスの増加と共に唾液量が減少し、2) 蛍光抗体法によりヒストン 2A の 40 番セリン残基への *O*-GlcNAc 修飾が検出された。さらに 3) アポトーシスおよびヒストン 2A の 40 番セリン残基への *O*-GlcNAc 修飾と血糖値は正の相関を示す傾向であった。従来、2 型糖尿病患者における口腔乾燥症状は高血糖における脱水とされているが、本研究では慢性的な高血糖状態がヒストン 2A の *O*-GlcNAc 修飾を介しヌクレオソームの構造が変化することで腺組織傷害を生じた可能性が示唆され現在その詳細を検討している。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Tanaka J., Ogawa M., Hojo H., Kawashima Y., Mabuchi Y., Hata K., Nakamura S., Yasuhara R., Takamatsu K., Irié T., Fukada T., Sakai T., Inoue T., Nishimura R., Ohara O., Saito I., Ohba S., Tsuji T., and Mishima K.: Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells, **Nature Commun.** 2018 Oct 11;9(1):4216. doi: 10.1038/s41467-018-06469-7.
2. Sumida T., Azuma N., Moriyama M., Takahashi H., Asashima H., Honda F., Abe S., Ono Y., Hirota T., Hirata S., Tanaka Y., Shimizu T., Nakamura H., Kawakami A., Sano H., Ogawa Y., Tsubota K., Ryo K., Saito I., Tanaka A., Nakamura S., Takamura E., Tanaka M., Suzuki K., Takeuchi T., Yamakawa N., Mimori T., Ohta A., Nishiyama S., Yoshihara T., Suzuki Y., Kawano M., Tomiita M., Tsuboi H.: Clinical practice guideline for Sjögren's syndrome 2017, **Mod. Rheumatol.** 2018 May;28(3):383-408. doi: 10.1080/14397595.2018.1438093.
3. 斎藤一郎: 特集: 口腔疾患のサイエンス 総論 歯科医学研究の最前線、月刊 細胞、50:2-3, 2018.
4. 斎藤一郎: 6 ドライマウスと慢性炎症、別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患、7: 33-35, 2018
5. 斎藤一郎 (分担): シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル 改訂第 3 版、**診断と治療社**、2018. 9. 20.
6. 斎藤一郎 (分担): 小児期シェーグレン症候群 (SS) 診療の手引き 2018 年版、**羊土社**、2018. 5. 15.

高齢者における口腔内微生物叢の解析

前田伸子、大島朋子、高橋靖治、細見晃司*、國澤純*、朴鐘旭*、水口賢司*

鶴見大学歯学部口腔微生物学講座

*国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

【緒言・目的】

日本は現在、高齢人口の急速な増加により総人口における割合は27%と超高齢社会となっている。また歯科・口腔外科を受診する高齢患者の多くに口腔カンジダ症や舌炎、粘膜炎といった病態が認められる。全身疾患、免疫力の低下や唾液の分泌量の変化により口腔内微生物叢が変化している事が原因と考えられる。今回、加齢に伴う口腔内微生物叢の特徴変化を明らかにするため本研究を行った。

【対象】

2016年10月～2018年4月までに一般財団法人脳神経疾患研究所附属総合南東北病院 歯科・口腔外科を受診した80名を対象に調査を行った。

〈適格基準〉40歳以上で癌罹患既往のない男女

〈除外基準〉唾液採取の指示に従えない者、唾液分泌量低下により十分量(1ml)を採取出来ない者、過去4週間に抗菌薬の使用がある者、重度の免疫抑制状態にある者

【方法】

対象者より唾液サンプル(ガム咀嚼による刺激時唾液)及び、粘膜上皮の菌サンプル採取を行った。採取した唾液のメタゲノム解析、菌培養を行い微生物叢の解析を行い、65歳未満と65歳以上で比較した。唾液サンプルからのDNA抽出はクラボウ社製核酸自動分離装置: GENE PREP STAR PI-80Xを用いて行った。抽出したDNAからillumina社製MiSeqを用いて16sメタゲノム解析を行った。また、舌背のスワブを採取し、CHROMagar培地で48時間培養し、Candida種の検出を行なった。

【結果・考察】

- ① 65歳未満と65歳以上で多様性に差は認められなかった。
- ② 65歳以上では高血圧、糖尿病などの罹患率が多く有病者率が高かった。
- ③ CHROMagar培地で培養したCandida種の検出率は65歳未満で28.9%、65歳以上で47.6%となった。また、CFU値の平均値は65歳未満で 1.657 ± 3.982 、65歳以上で 21.47 ± 59.83 であった。したがって、検出率、検出菌数共に高齢者群で多いことが示された。
- ④ 65歳未満、65歳以上ともに、Neisseria属、Veillonella、Streptococcus属が多く認められ、中高年層では年齢に関わらず優勢な菌種であることが示された。
- ⑤ 65歳以上の群では65歳未満の群と比較してPorphyromonas属、Prevotella 2属、Prevotella属、Dialister属、Mycoplasma属の検出率が少なかった。

以上より、2群間で多様性には有意な差を認めなかったが、一部の細菌では属レベルで加齢に伴い検出率が減少していた。加齢による免疫力の低下により、真菌であるCandida数が増加したことで、細菌叢の一部に変動が生じた可能性が考えられた。

【平成30年度 成果の刊行一覧】

- 1) Ohshima, T., Ikawa, S., Kitano, K., & Maeda, N. A proposal of remedies for oral diseases caused by Candida: A mini review. Frontiers in microbiology, 9, 1522. (2018).

老化の原因の一つとして、細胞内における不要タンパク質などの処理がうまくいかずに蓄積されていく事が指摘されている。生体内で産生されたタンパク質はその役割を終えると、ユビキチン・プロテアソーム系、もしくはオートファジーの系によって分解されることが知られているため、これらのタンパク質分解系を促進させることによって不要タンパク質を迅速に分解することで、老化の一部を防止することができる可能性が示唆されている。

漢方薬として様々な場面で用いられる甘草の主成分として知られるグリチルリチンは、肝炎などに対して処方されているが、その作用機序などは詳細な部分に関しては未だに判明していない。

これまでにグリチルリチンが細胞内において HMGB1 (High Mobility Group Box 1) のアセチル化を通じて、HMGB1 の細胞内での局在を変化させ、その結果として Gsto1 (Glutathione S-Transferase Omega-1) の発現を制御することで細胞のアポトーシスを防いでいる可能性を示してきた。

このグリチルリチン投与によって発現が変化する遺伝子を網羅的に解析した結果、オートファジー関連遺伝子である Atg5, Rab24 が候補として上がってきたので、マウス肝細胞由来のセルラインである Hepa1-5 にグリチルリチンを添加した場合としなかった場合での Atg5 遺伝子の発現量を real time PCR を用いて定量した結果、グリチルリチンの添加によって有意に Atg5, Rab24 遺伝子の発現は亢進していた。

またオートファゴソームに特異的に結合する蛍光色素を用いて、オートファゴソームの生成を確認してみたところ、グリチルリチンの投与によって、培地から血清を除くことによって飢餓状態にしたポジティブコントロールと同程度のオートファゴソームの生成が確認された。

今後オートファゴソームの定量などを通じて、グリチルリチンのオートファジー活性化能を評価し、これまでに知られているオートファジー活性化剤との比較検討を行う予定である。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

Noriyuki Kuroda, Tetsuji Sato

Novel Mechanism Supporting Therapeutic Effects of Glycyrrhizin in Acute or Chronic Hepatitis

DOI: 10.5772/67078

In book: Biological Activities and Action Mechanisms of Licorice Ingredients: Chapter9

平成 27～29 年度にわたり若年者から高齢者までの抜去歯を用い、歯質の組成（有機質・無機質・水分）変化について、物理化学的性質（石灰化度・硬度・構造）変化について、溶解性（耐酸性）変化について検討をおこなってきた。その結果、歯は骨と異なり経年的、加齢に伴い無機質の占める割合の増加、硬度の上昇が認められた。さらに、加齢に伴い変化する歯質は溶解性にも影響を及ぼし、その溶解性は個体差が大きく現われてくる 1) ことが明らかとなった。

そこで、平成 30 年度は個人差の大きな溶解性（耐酸性）に着目し、無機質の脱灰と再石灰化現象について詳細な検討をおこなった。ヒト第三大臼歯を用いて、形成直後のエナメル質表面、萌出後に唾液に晒されたエナメル質表面、および白斑の認められるエナメル質表面から得られた結晶状態について TEM を用いて観察、および EPMA による元素分析から組成の解析をおこなった。その結果、形成直後のエナメル質表面は Mg が多量に検出されたことから、非晶質リン酸カルシウム（ACP）が存在していた可能性が示唆された。しかし、萌出後に唾液に晒されたエナメル質表面では Mg はごく微量に存在しており低分子酸性リン酸カルシウム（TCP/OCP）が認められた。さらに、白斑の認められるエナメル質表面では個体差が大きく、Mg の含有量と TCP/OCP の含有量も平均誤差が大きかった。従って、経年的、加齢に伴い変化する歯質の変化とは異なり、その歯のおかれている環境要因（萌出前後、脱灰）によりエナメル質表面の結晶相は変化していると考えられた 2, 3)。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

- 1) Takehiro Sekimizu, Shinji Shimoda, Noriyasu Hosoya, Age-related Changes in Root Dentin - Measurement of Hypercalcified Root Dentin Using Monochromatic Synchrotron Radiation X-ray Micro-CT -, Journal of Hard Tissue Biology , 27 (2), 2018
- 2) 浅田由佳, 千葉敏江, 下田信治, 桃井保子, 山本雄嗣, エナメル質最表層界面に見られる酸性リン酸カルシウム結晶層について, 第 27 回 硬組織再生生物学会 学術大会・総会, 於: 東京歯科大学 8. 18. 2018
- 3) Yuka Asada, Toshie Chiba, Shinji Shimoda, Yasuko Momoi, Takatsugu Yamamoto, Acidic calcium phosphate crystal layer at the interface seen on the enamel surface, Journal of Hard Tissue Biology (submitted). 2018

我々はこれまでに象牙質中の生理活性物質であるトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β 1) は、象牙質シアロタンパクおよび象牙質リンタンパク質 (DPP) と結合することで活性が維持され、それらタンパク質の加齢に伴う分解と共に TGF- β 1 活性も減少していくことを明らかにした。In vitro の研究において、TGF- β 1 はエナメルシン (MMP20) によって活性化されることが報告されているので、【目的】本研究では、MMP20 ノックアウト (MMP20-KO) マウスを用いて象牙質基質中の MMP20 による TGF- β 1 の活性化に関する in vivo の知見を得ることを目的とした。【方法】生後 8 週齢の MMP20 野生型マウス (MMP20-WT) および MMP20-KO マウスの下顎切歯の形態をマイクロ CT (μ CT) によって観察した。形態観察後、MMP20-WT および MMP20-KO マウス下顎切歯の根尖部から 1 mm の長さ間隔で切断して、それぞれ 7 領域の象牙質断面試料 (DS1-7) を作製し、エナメル象牙境から歯髄腔の象牙質表面までの象牙質の厚みを μ CT によって測定した。さらに生後 5 日齢と 11 日齢の MMP20-WT および MMP20-KO マウスの第一大臼歯象牙質中の TGF- β 活性について調べた。【結果】MMP20-WT マウスでは、高度に石灰化したエナメル質層が観察されるが、MMP20-KO マウスでは全く認められなかった。象牙質の厚みは、MMP20-WT および MMP20-KO マウス共に根尖部から直線的に増加したが、MMP20-KO マウスの DS2 から DS4 領域の厚みは、MMP20-WT マウスに比べると有意に低かった。生後 5 日および 11 日齢の象牙質から抽出したタンパク質の電気泳動では、MMP20-WT および MMP20-KO マウス共に DPP のバンドに変化は見られなかった。また、TGF- β 1 抗体を用いた ELISA でも両者の TGF- β 1 の量に変化が認められなかった。しかしながら、TGF- β 活性は、生後 5 日齢では、各タイプのマウスで変化は見られなかったが、生後 11 日齢マウスでは、MMP20-WT マウスに比べて、MMP20-KO マウスでは有意に低かった。【結論】TGF- β は象牙質中の MMP20 によって活性化される。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】 (*)は Corresponding Author を示す。

1. Niwa T, Yamakoshi Y*, Yamazaki H, Karakida T, Chiba R, Hu J-C, Nagano T, Yamamoto R, Simmer JP, Margolis HC and Gomi K (2018) The dynamics of TGF- β in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Sci Rep.* 8 (1):4450. Doi:10.1038/s41598-018-22823-7.
2. Kobayashi S, Yamakoshi Y*, and Asada Y (2018) TGF- β autocrine signaling at secretory-stage enamel. *J Oral Biosci.* 60 (3): 70-75.
3. Yamakoshi Y* and Simmer JP. (2018) Structural Features, Processing Mechanism and Gene Splice Variants of Dentin Sialophosphoprotein. *Japanese Dental Science Review* (in press).
4. Yamakawa S, Niwa T, Karakida T, Kobayashi K, Yamamoto R, Chiba R, Yamakoshi Y* and Hosoya N. (2018) Effects of Er:YAG and Diode Laser Irradiation on Dental Pulp Cells and Tissues. *Int. J. Mol. Sci.* 19 (8), 2429. doi.org/10.3390/ijms19082429.

加齢に伴い増加する運動器症候群：ロコモティブシンドロームでは要介護になるリスクが高いことから、その病態の解明や治療法の開発が求められている。中でも運動器を構成する重要な要素の一つである靱帯・腱組織は、骨との付着部において断裂などの障害が発生しやすく、その後の修復が困難である。靱帯・腱組織ならびに骨との付着部の形成・維持機構については不明な点が多い。本研究は、細胞機能・分化制御を介した靱帯・腱・骨ユニットの形成・維持のメカニズム解明を目的としている

これまでの研究を発展させ、今年度は、靱帯・腱と骨の付着部に強発現するアネキシン A5 (Anxa5) の機能を詳細に検討した。Anxa5 は関節軟骨、骨膜、および骨と腱・靱帯付着部に強く発現するが、Anxa5^{-/-}マウスは発生期ならびに出生直後においては、筋・骨格系組織含めて大きな変化は認められない。ところが、生後 7 週以降の Anxa5^{-/-}マウスにおいては、野生型に比べて腱・靱帯の骨への付着部の肥大、しかも石灰化の亢進を認めた。この表現型は脛骨、大腿骨、上腕骨、下顎骨など、調べた骨でいずれも同様に認められた。

Anxa5^{-/-}マウスの骨格系組織の変化が生後直後には無く、成長するに従って変化が認められることから、骨格系組織への力学的負荷の関与が想定された。そこで、前脛骨筋の腱組織を切除することで、骨への付着部への力学的負荷を軽減し、その影響を調べたところ、Anxa5^{-/-}マウス、野生型マウスともに同部位の大きさが減少していた。さらに、尾部懸垂によって下肢への力学的負荷を減少させた場合も同様の結果を得た。これらの結果は、力学的負荷を介して Anxa5 が腱・靱帯の骨への付着部の形成・維持を制御することを示唆するものである。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Annexin A5 Involvement in Bone Overgrowth at the Enthesis. Shimada A, Ideno H, Arai Y, Komatsu K, Wada S, Yamashita T, Amizuka N, Pöschl E, Brachvogel B, Nakamura Y, Nakashima K, Mizukami H, Ezura Y, Nifuji A. J Bone Miner Res. 2018 Aug;33(8):1532-1543. doi: 10.1002/jbmr.3453.
2. Possible association of oestrogen and Cryba4 with masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia. Hayashi N, Sato T, Kokabu S, Usui M, Yumoto M, Ikami E, Sakamoto Y, Nifuji A, Hayata T, Noda M, Yoda T. Oral Dis. 2018 Apr 23. doi: 10.1111/odi.12876.

DNA/プロタミン複合体は、骨形成に優れ、粉体や多孔体、インプラントのコーティング材としての有用性が報告されている。また、高齢者モデルとしての加齢ラットの骨欠損部に DNA/プロタミン複合体を埋入した所、良好な骨形成が確認できた。DNA/プロタミン複合体は、水で練和することによってペースト状になる特性を有しているが、ペーストの賦形性の保持や操作性に問題があった。そこで、その場で DNA ペーストを合成する方法、On the spot 合成法を考案した。

従来の DNA/プロタミン複合体ペーストは、まず、DNA とプロタミンから複合体を合成し、その複合体パウダーに大量の水を加えて作製していた。この方法では、臨床応用に向けて幾つかの課題があった。On the spot 合成法では、DNA の粘調水溶液にプロタミンを添加するだけで、その場でペーストを合成する事が可能であり、複合体合成の手間が省け、調度や調整が簡便であり、少量のペースト作製が可能であるなどの利点を有している。カチオン性化合物として塩基性ゼラチンに注目し、DNA/ゼラチンペーストの合成も試みた。この場合、ゼラチンの粘調水溶液への DNA の添加により DNA/ゼラチンペーストを作製することに成功した。

今回合成した DNA/プロタミンペースト、DNA/ゼラチンペーストは従来の DNA/プロタミン複合体から作製したペーストより流れの良いペーストであった。

微小な骨欠損モデルとしてラット抜歯窩に DNA/プロタミンペースト、DNA/ゼラチンペーストを埋入後、マイクロ CT 観察および非脱灰薄切研磨標本、脱灰薄切標本観察により、骨形成状態について確認した。埋入 2 週間後で、DNA/プロタミンペースト、DNA/ゼラチンペースト、どちらも良好な骨形成が確認された。特に DNA/ゼラチンペースト埋入の場合には、抜歯窩表面に骨組織が明瞭に観察され、DNA/プロタミンと比較すると骨髓腔が広く確認できた。また、新生骨形成量も DNA/ゼラチンペーストの方が多かった。

今後、加齢モデルラットなどを用いて、DNA 水溶液/プロタミンペースト、ゼラチン水溶液/DNA ペーストの骨形成についてさらに詳細に検討していく予定である。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Nagahiro Miyamoto, Rina Yamachika, Toshitsugu Sakurai, Tohru Hayakawa, Noriyasu Hosoya. Miyamoto Bone response to titanium implants coated with double- or single-stranded DNA. BioMed Research International. Volume 2018, Article ID 9204391, 11 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/9204391>.

[背景] 高齢化社会を迎え歯周病や不正咬合に代表される口腔疾患と死亡原因が第2位の心疾患の関連性についての研究は重要である。そこで我々は高齢化社会を迎え近年増加傾向にある歯周病ならびに不正咬合と心疾患の関連を解析するため歯周病モデルならびに不正咬合モデルを作成して心臓に及ぼす影響について検討した。

[方法] 歯周病モデルは歯周病菌 (*Porphyromonas gingivalis*: PG) 由来の lipopolysaccharide (PG-LPS) を4週間連日腹腔内投与 ($20\mu\text{g/day}$) する方法で作成した (Physiol Rep 2013)。不正咬合モデルは、マウスの前歯に歯科用樹脂 ((株)GC ユニファースト) を装着して1mmの開咬負荷(BO:Bite opening)を行う方法で作成した (Umeki D, Okumura S et al. J Pharmacol Sci 2013)。

[結果] 歯周病モデルの解析ではPG-LPS投与群では投与1週目から心機能の低下がみられ、4週目まで持続した。組織学的解析では心臓リモデリング(心肥大、心臓線維化、心筋細胞アポトーシス)の所見が見られた。不正咬合モデルの解析では、BO群で心機能の低下がみられ、組織学的解析の結果心臓リモデリングの所見が見られた。

[考察] 我々が作成した口腔疾患モデルは歯周病ならびに不正咬合と心疾患の関連を解析するのに有用なモデルであり、その解析結果は新規治療方法開発に貢献することが期待される。

【平成30年度 成果の刊行一覧】

1. Shiozawa K., Mototani Y., Suita K., Ito A., Kawamura N., Yagisawa Y., Matsuo I., Hayakawa Y., Nariyama M., Umeki D., Saeki Y., Ohnuki Y., Okumura S. : Relationship between bite size per mouthful and dental arch size in healthy subjects. **J Physiol Sci** Jul 2018. (in press)
2. Mototani Y., Okamura T., Goto M., Shimizu Y., Yanobu-Takanashi R., Ito A., Kawamura N., Yagisawa Y., Umeki D., Nariyama M., Suita K., Ohnuki Y., Shiozawa K., Sahara Y., Kozasa T., Saeki Y., Okumura S. : Role of G protein-regulated inducer of neurite outgrowth 3 (GRIN3) in β -arrestin 2-Akt signaling and dopaminergic behaviors. **Plufingers Arch** 2018 Jun; 470, 937-946. doi: 10.1007/s00424-018-2124-1. [Epub 2018 Mar 2].
3. Suita K., Fujita T., Cai W., Hidaka Y., Jin H., Prajapati R., Umemura M., Yokoyama U., Sato M., Knollmann BC., Okumura S., Ishikawa Y. : Vidarabine, an anti-herpesvirus agent, prevents catecholamine-induced arrhythmia without adverse effect on heart function in mice. **Plufingers Arch** 2018 Jun 470, 923-935. doi: 10.1007/s00424-018-2121-4. [Epub 2018 Feb 16].
4. Jin H., Fujita T., Jin M., Kurotani R., Hidaka Y., Cai W., Suita K., Prajapati R., Liang C., Ohnuki Y., Mototani Y., Umemura M., Yokoyama U., Sato M., Okumura S., Ishikawa Y. : Epac activation inhibits IL-6-induced cardiac dysfunction. **J Physiol Sci** 2018 Jan 68, 77-87. doi: 10.1007/s12576-016-0509-5. [Epub 2016 Dec 19].

本講座では、ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDLf) から iPS 細胞 (HPDL-iPS 細胞) の樹立に国内で初めて成功した (Nomura Y, et al. Histochem Cell Biol. 2012)。

本年度の研究プロジェクトでは、歯根膜 (Periodontal ligament ; PDL) の再生医療の実用化を目指す目的で HPDLf から樹立した HPDL-iPS 細胞を歯根膜線維芽細胞 (HPDLf) に再分化させることを試みた。HPDLf の形態は歯肉線維芽細胞と同様の紡錘形の細胞だが、複雑な歯根膜組織の維持を担う細胞であり、多能性を有する。HPDLf は、骨芽細胞に関連する細胞外マトリックスタンパク質を産生し、歯肉線維芽細胞より高いアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を示す。さらに HPDLf は、type I コラーゲン、type II コラーゲンの代謝を行う。また歯周組織における免疫応答や炎症反応に強く関与し、ディフェンシンなどの自然免疫物質を分泌している。そこで、HPDL-iPS 細胞を用いて、iPS 細胞の培養液と PDL 細胞の培養液の違いから、HPDL-iPS 細胞を HPDLf に分化させることができるか、否かを検討した。PDL の培養液として、Clonetics Human Periodontal Ligament Fibroblast Cell Systems (Lonza 社) を使用した。iPS の培養液である Primate ES medium (ReproCELL 社) には、Insulin-like growth factor が含まれていないのに対して、Clonetics Human Periodontal Ligament Fibroblast Cell Systems には Insulin-like growth factor が含まれているのが大きな違いである。Insulin-like growth factor は、インスリン様増殖因子受容体に結合し、細胞の増殖・分化や組織発生に深く関わる。IRS/PI3 キナーゼを介したインスリンシグナル伝達経路から、mRNA 翻訳 (タンパク質合成) ・アポトーシスの抑制・細胞増殖に関与している。PDL においては、コラーゲン生成が高まるとされている物質である。培養の結果、分化細胞 iPDL-1 が生育した。iPDL-1 の形態的特徴は、紡錘形だが、細胞の長径が短く、小さかった。また、異常な増殖能があるため、目的とする HPDLf ではない、何かの fibroblast に分化したと結論づけた。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Kuroiwa A, Nomura Y, Ochiai T, Sudo T, Nomoto R, Hayakawa T, Kanzaki H, Nakamura Y, Hanada N. Antibacterial, Hydrophilic Effect and Mechanical Properties of Orthodontic Resin Coated with UV-Responsive Photocatalyst. **Materials (Basel)**. 2018; 11(6). pii: E889.
2. Suma S, Naito M, Wakai K, Naito T, Kojima M, Umemura O, Yokota M, Hanada N, Kawamura T. Tooth loss and pneumonia mortality: A cohort study of Japanese dentists. **PLoS One**. 2018; 13(4):e0195813.
3. Nomura Y, Okada A, Miyoshi J, Mukaida M, Akasaka E, Saigo K, Daikoku H, Maekawa H, Sato T, Hanada N. Willingness to Work and the Working Environment of Japanese Dental Hygienists. **Int J Dent**. 2018 Aug 26;2018:2727193.
4. 花田信弘 : 歯周病 第 1 回 歯周病と生活習慣病 : **アニムス (Animus)**, 2018; 23 (2) :29-32.

窒素含有 bisphosphonates (N-BP) 投与によるマウスにおける IL-1 β , IL-18 および
TNF- α の産生 : lipopolysaccharide (LPS)による増強と non-N-BP による抑制

鶴見大学歯学部小児歯科学講座
船山 ひろみ, 朝田 芳信

Bisphosphonates (BPs) は骨転移性の癌 (乳癌, 前立腺癌, 肺癌など), 多発性骨髄腫, 骨粗鬆症, 小児領域では骨形成不全など, 骨吸収亢進を伴う疾患に広く応用されている。しかし, 2003 年, 顎骨壊死 (BP-related osteonecrosis of the jaw) (BRONJ) が報告され (Marx 2003; Migliorati, 2003), 以後多数の BRONJ 症例が報告されている (Fliefel et al., 2015)。高齢化社会において BPs は骨粗鬆症治療薬として極めて重要な薬物であり, BRONJ は緊急に解決すべき問題と思われる。

BPs はピロリン酸類似化合物であるが, 非加水分解性の P-C-P 構造をもつ。BPs は骨に強く結合し, 骨吸収の過程で破骨細胞に取り込まれ, 骨吸収を強く持続的に抑制する。BPs には分子内に窒素を持つ N-BPs と持たない non-N-BPs があり, N-BPs の骨吸収抑制作用は non-N-BPs よりも遥かに強いが, 副作用としてはインフルエンザ様の炎症反応 (発熱や急性期タンパクの増加など) や消化管傷害などが従来から知られており, BRONJ の殆どは N-BPs により発症する。

私達はマウスを用いた実験で現在まで以下の結果を得ている。実験は BALB/c マウスを用い, 尾静脈注射後の血清, および皮下注射後の耳介組織内の炎症性サイトカインを ELISA kit を用いて測定した。N-BPs として zoledronate (Zol), Non-NBP として clodronate (Clo), LPS は *E. coli* 055:B5 (Westphal による方法)を使用した。

- (a) N-BPs 自体の炎症・壊死作用には IL-1 β に加え, IL-18 が関与する。
- (b) 感染 (LPS) により増強される (IL-1 β , IL-18 および TNF- α の産生増強)。
- (c) non-N-BPs の clodronate (Clo)は, この取り込みを抑制して N-BPs の炎症・壊死作用を抑制する。

Clo は NBP の骨吸収抑制作用を抑制しない (以前に報告済み)。従って, N-BPs の強力な骨吸収抑制作用を維持し, 且つ, N-BPs の炎症・壊死作用を予防するために, Clo は NBP 併用薬として有効であると考えられる。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Danielsson J, Vink J, Hyuga S, Fu XW, Funayama H, Wapner R, Blanks AM, Gallos G.: Anoctamin Channels in Human Myometrium: A Novel Target for Tocolysis. *Reprod Sci.* 2018 Jan 1:1933719118757683. doi: 10.1177/1933719118757683. [Epub ahead of print].

木原琢也, 井川知子, 佐々木圭太, 平井健太郎, 伊藤光彦, 伊藤崇弘, 重本修伺, 重田優子, 小川 匠

過大な咬合力やブラキシズム等のパラファンクションは補綴装置や残存組織の破折・摩耗など悪影響を及ぼすことから, 長期的な口腔機能の回復と維持には, 個々の患者の機能を把握し, それに応じた材料による補綴装置の製作が求められる. しかし, 咬耗や摩耗の定量的な評価は困難であることが多い. 本研究では, 易摩耗性スプリントで使用するソフトレジンと暫間修復や補綴装置で使用される材料の耐摩耗性および対合歯の咬耗に与える影響について検討した.

GC 社製ファセットレジンと松風社製エアフローパウダーPERIO を 1 : 1 で混和したソフトレジン (SR), 暫間修復用レジンとして GC 社製ユニファストⅢ (UF), 松風社製プロビナイス (PN), 山八歯材工業社製レジンディスク (RD), 金銀パラジウムとして GC 社製キャストウェル M.C. 金 12%(CW), ジルコニアとして松風ディスク ZR ルーセント FA (ZR), ハイブリッド型コンポジットレジンとして松風ブロック HC (HC) を用いた. 上部試料は, ステンレス製スタイラス (SUS303, 東京技研) とした. 下部試料はアクリルチューブ内に包埋し, 各材料は 10 個製作した. 摩耗試験は衝突摩耗試験機 (K655-05, 東京技研) を用い, 37℃水中において荷重 25 N, ストローク幅 4 mm, 5000 サイクルの条件下で試験を行った. 試験後, 走査型共焦点レーザー顕微鏡 (LEXT, Olympus) を用いて, 下部試料の摩耗痕の最深部の深さを測定し, 下部試料の最大摩耗深さとした. 上部試料は摩耗痕断面の直径を測定し, 上部試料の最大摩耗高さを算出した.

下部試料の最大摩耗深さは, SR が最も深く, 暫間修復用レジンに UF, PN, RD であり, CW, ZR, HC はほとんど摩耗が見られなかった. 上部試料の最大摩耗高さは, ZR を下部試料としたスタイラスが最も大きく, HC, CW の順にスタイラスが摩耗しており, UF, PN, RD, SR を下部試料としたスタイラスの摩耗はほとんど見られなかった. CW, HC, ZR の順に対合歯を咬耗させる傾向があると考えられた. 本研究により易摩耗性スプリントで用いる SR の耐摩耗性は暫間修復用レジンより低く短期間で摩耗を評価できることが認められた. また, 歯冠修復に用いる材料によっては対合歯を咬耗させる可能性が示された.

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

Saulo L. Sousa Melo, Zhimin Li, Kivanç Kamburoğlu, Yuko Shigeta, Takumi Ogawa, Reyes Enciso, and William C. Scarfe: Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome. In: Scarfe, William C., Angelopoulos, Christos, editor. Maxillofacial Cone Beam Computed Tomography -Principles, Techniques and Clinical Applications-. Springer; 2018, p1071-1108

下顎の機能回復やインプラントによる咬合再建は、患者の食生活を豊かにし健康寿命や口腔関連 QOL に貢献し、またインプラントによる顎骨への機械的刺激は骨量維持に寄与すると考えられる。本研究では、インプラントによる咬合再建が再建顎骨に与える影響と口腔関連 QOL や精神的状態に与える影響について検証する。

対象は、顎骨腫瘍により広範囲に顎骨欠損した患者のうち、カスタムメイドチタンメッシュトレイと骨髄海綿骨細片 (PCBM) により再建された顎骨にインプラント治療を行った 17 名を対象とした。研究方法は、再建顎骨の評価とインプラント成功率、再建顎骨の経時的変化について臨床的、画像診断学的に検討を加えた。また、顎骨再建およびインプラントによる咬合再建が口腔関連 QOL や精神状態に与える影響について、OHIP によるアンケート調査とストレス関連ホルモン動態調査を行った。

再建顎骨にインプラント治療を行った患者 17 名のうち、良性腫瘍患者は 11 名、悪性腫瘍患者は 6 名だった。このうち上部構造装着による咬合再建が終了した患者は 13 名で、良性腫瘍患者 9 名、悪性腫瘍患者 4 名であった。PCBM で再建された顎骨は、CT 値は低い傾向にあるものの、インプラント埋入時のドリリング感触評価は CT 値に反して良好であった。またインプラント安定指数測定器により十分な骨内安定性が確認できた。上部構造による負荷されたインプラント総数は 46 本で、インプラント周囲炎で除去した 1 本以外は全て機能しており、インプラント成功率は 98% であった。インプラントによる咬合回復がされた再建顎骨は、術後の骨量は維持されており、経時的に再建顎骨の成熟度が増す傾向が見られた。

インプラントによる咬合再建前後の口腔関連 QOL のアンケートは、9 名より回収が可能であり、咬合再建前後の OHIP 合計平均値は、63 から 51 へと低下が見られた。このうち良性腫瘍患者 6 名の OHIP 合計平均値は、40 から 23 へ改善がみられたが、悪性腫瘍患者 3 名の OHIP 合計平均値は、108 から 108 へと変化が見られなかった。広範囲軟組織欠損が見られる悪性腫瘍患者では、硬組織再建のみではなく軟組織再建の必要性が示唆された。なお、咬合再建が精神状態へ与える影響に関するストレス関連ホルモンの動態調査は、現在サンプル蓄積中で今後解析予定である。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. Lip Morphology in Patients With Facial Asymmetry Can Be Corrected by 2-Jaw Surgery. Aoyama I, Oikawa T, Nakaoka K, Sekiya T, Hamada Y, Nakamura Y. J Oral Maxillofac Surg in press 2018.
2. Possible involvement of invariant natural killer T cells and mucosal-associated invariant T cells in a murine model of titanium allergy. Kumagai K, Matsubara R, Nakasone Y, Shigematsu H, Kitaura K, Suzuki S, Hamada Y, Suzuki R. J Oral Maxillofac Surg Med Pathol 30: 1, 1-9, 2018.

歯の咬み合わせの異常感を訴える phantom bite syndrome は、歯科で最も対応に苦慮する病態の一つである。我々は臨床的研究から、本症の精神科的併存症や薬剤反応性を明らかにしてきた。これらの知見をもとに脳機能画像研究を進め、本症特有の脳機能回路の解明に取り組んでいる。その中で長期の罹患患者の難治性には、機能不全の持続による脳の構造的変化が示唆されてきた。そこで頭部 MRI 画像を拡散テンソル画像法などの手法を用いて脳形態の経時的変化を追ひ、難治化の要因を明らかにしていく基盤作りを進めた。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

- 1: Suga T, Watanabe T, Aota Y, Nagamine T, Toyofuku A. Burning Mouth Syndrome: the challenge of an aging population. *Geriatr Gerontol Int.* (in press)
- 2: Umezaki Y, Miura A, Shinohara Y, Mikuzuki L, Sugawara S, Kawasaki K, Tu TT, Watanabe T, Suga T, Watanabe M, Takenoshita M, Yoshikawa T, Uezato A, Nishikawa T, Hoshiko K, Naito T, Motomura H, Toyofuku A. Clinical characteristics and course of oral somatic delusions: a retrospective chart review of 606 cases in 5 years. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018 Aug 13;14:2057-2065.
- 3: Tu TTH, Uezato A, Toyofuku A. Psychology: Psychiatric dimension to oral pain. *Br Dent J.* 2018 Aug 24;125(4):276.
- 3: Kawasaki K, Nagamine T, Watanabe T, Suga T, Tu TTH, Sugawara S, Mikuzuki L, Miura A, Shinohara Y, Yoshikawa T, Takenoshita M, Toyofuku A. An increase in salivary flow with amitriptyline may indicate treatment resistance in burning mouth syndrome. *Asia Pac Psychiatry.* 2018 Sep;10(3):e12315.
- 4: Miura A, Tu TTH, Shinohara Y, Mikuzuki L, Kawasaki K, Sugawara S, Suga T, Watanabe T, Watanabe M, Umezaki Y, Yoshikawa T, Motomura H, Takenoshita M, Maeda H, Toyofuku A. Psychiatric comorbidities in patients with Atypical Odontalgia. *J Psychosom Res.* 2018 Jan;104:35-40.
- 5: Sugawara S, Okada S, Katagiri A, Saito H, Suzuki T, Komiya H, Kanno K, Ohara K, Iinuma T, Toyofuku A, Iwata K. Interaction between calcitonin gene-related peptide-immunoreactive neurons and satellite cells via P2Y(12) R in the trigeminal ganglion is involved in neuropathic tongue pain in rats. *Eur J Oral Sci.* 2017 Dec;125(6):444-452.
- 6: Tu TTH, Miura A, Shinohara Y, Mikuzuki L, Kawasaki K, Sugawara S, Suga T, Watanabe T, Watanabe M, Umezaki Y, Yoshikawa T, Motomura H, Takenoshita M, Toyofuku A. Evaluating Burning Mouth Syndrome as a Comorbidity of Atypical Odontalgia: The Impact on Pain Experiences. *Pain Pract.* 2018 Jun;18(5):580-586.

唾液を用いたシェーグレン症候群の新たな診断方法の確立
～シェーグレン症候群の発症における Toll 様受容体を介した自然免疫の関与～

九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野
森山 雅文、坂本 瑞樹、中村 誠司

シェーグレン症候群 (SS) は、唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害される臓器特異的自己免疫疾患であるが、主に高齢の女性に発症することから、加齢や老化 (エストロゲンの枯渇など) がリスクファクターの 1 つと考えられている。SS の診断基準の項目には、涙腺・口唇腺生検や耳下腺造影など侵襲を伴う検査が含まれており、かつ複数の検査結果を組み合わせはじめて診断が確定できる。さらに、SS の主症状であるドライアイ・ドライマウスは SS 以外の原因 (ストレス、薬物、全身疾患、放射線など) でも起こりうることから、非侵襲性で SS 以外のドライマウスとも鑑別できる診断方法の確立が望まれている。

昨年度までの我々の研究では、非侵襲性で簡便かつ繰り返し採取可能な唾液に注目し、唾液中のサイトカイン濃度を網羅的に検索し、SS では健常者と比較して $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{INF-}\gamma$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-4 、 IL-8 、 IL-10 が有意に高かった。さらに、より SS の病態に特異的な分子を同定するため、近年自己免疫疾患の発症に関与していることが指摘されている Toll 様受容体 (TLR) に注目し、SS の口唇腺を用いて網羅的遺伝子解析およびバリデーションを行った結果、TLR8 のみに発現亢進を認めた。

そこで今年度の研究では、SS の唾液腺における TLR8 の発現細胞の同定と機能解析を行い、TLR8 が SS の特異的疾患関連分子になり得るかを検討した。まず、蛍光二重染色法およびフローサイトメトリー法にて SS の口唇腺における TLR8 発現細胞の検索を行った。その結果、CD68 陽性の単球/マクロファージが主な発現細胞であった。そこで、単球の細胞株である U-937 細胞株 (TLR8 過剰発現 or ノックアウト) に対する TLR8 アゴニスト (R848) による刺激実験を行ったところ、TLR8 過剰発現させた細胞株のみに、炎症性サイトカインである $\text{TNF-}\alpha$ の産生亢進を認めた。

これらの結果より、SS の病態形成には T 細胞などの獲得免疫だけではなく、TLR8 を介した自然免疫も関与していることが推察される。現在、SS 患者の唾液を用いて可溶性 TLR8 を測定・解析中である。次年度以降の研究では、さらに症例数を増やして SS 以外のドライマウス患者の可溶性 TLR8 も測定し、より診断能の高い唾液を用いた診断方法の確立を目指すとともに、ヒト TLR トランスジェニックマウスを作成し、SS の発症機序についても検討を行う予定である。

【平成 30 年度 成果の刊行一覧】

1. 森山雅文、中村誠司 第 3 章 診断手技・手法：1. 唾液分泌量の測定、第 5 章 対応と治療 2. 口腔乾燥症の対応と治療、シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル改訂第 3 版、診断と治療社、p44-47, p187-191, p214-218、2018

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

令和元年度 研究成果報告会

令和元年 10 月 26 日（土）

会場：鶴見大学 2 号館 3 階 第 10 講堂
横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

鶴見大学歯学部
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「口腔の加齢制御を目指した集学的研究拠点の形成」

令和元年度 研究成果報告会

令和元年 10 月 26 日（土）

問い合わせ先：鶴見大学歯学部 病理学講座
230-8501 横浜市鶴見区鶴見 2-1-3 TEL045-580-8362

プログラム

10:00 開会 挨拶

研究代表者 斎藤 一郎

10:05 発表

鶴見大学歯学部病理学講座

口腔微生物学講座

解剖・組織細胞学講座

口腔解剖学講座

分子生化学講座

薬理学講座

歯科理工学講座

生理学講座

探索歯学講座

小児歯科学講座

クラウンブリッジ補綴学講座

口腔顎顔面外科学講座

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

全人的医療開発学講座歯科心身医学分野

九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座

顎顔面腫瘍制御学分野

斎藤 一郎

大島 朋子

黒田 範行

下田 信治

山越 康雄

二藤 彰

早川 徹

奥村 敏

花田 信弘

朝田 芳信

小川 匠

濱田 良樹

豊福 明

中村 誠司

ディスカッション

12:00 閉会

研究分担者抄録

加齢に伴い発症する難治性の唾液腺疾患の病因・病態解析により得られた研究成果として 1) ジフテリア毒素による組織特異的細胞死誘導システム (TRECK) を用いた唾液腺組織障害遺伝子改変モデルマウスを作出し、その解析を行ったところ唾液腺疾患の病態モデルとしての有用性が確認出来た。次にその治療法の開発として 2) 加齢に伴い減少する一酸化窒素 (NO) の低下により唾液腺等の血流障害を引き起こすことが知られていることから、重炭酸ナトリウム (NaHCO₃) の NO 産生を介した血流促進効果を検討したところ血流量の増加が確認出来た。3) 加えて増齢的にユビキノールの体内量が減少することやその作用機序として唾液腺における ATP 産生の増強や腺組織の活性酸素を除去し過酸化脂質の生成ならびにタンパク質の酸化修飾を抑制することによる唾液分泌能の活性化が想定されていることから健常者を対象とした臨床研究と *in vitro* 試験を行なったところ、その有効性が明らかとなった。4) さらに高齢者や唾液分泌障害に併発する口腔カンジダ症の対処法として乳酸菌 (EF2001) の有効性をヒト試験にて検証したところ有意にカンジダ菌の増殖が抑制されることが明らかとなった。5) 加齢に伴うビタミン D の摂取量の低下は骨粗鬆症だけでなく免疫能の低下等様々な病態形成に関与していることから経口摂取した Cholecalciferol (VD₃) の効果を検討したところ bleomycin 誘導肺線維症モデルマウス等において著効を示したことから高齢者にみられる肺線維症の予防に対する有効性が示された。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Ushikoshi-Nakayama R., Ryo K., Yamazaki T., Kaneko M., Sugano T., Ito Y., Matsumoto N., **Saito I.** : Effect of gummy candy containing ubiquinol on secretion of saliva: A randomized, double-blind, placebo-controlled parallel-group comparative study and an in vitro study. **PLoS One**, 2019 Apr 3;14(4):e0214495. doi: 10.1371/journal.pone.0214495. eCollection 2019.
2. Yamazaki T., Ushikoshi-Nakayama R., Shirone K., Suzuki M., Abe S., Matsumoto N., Inoue H., **Saito I.** : Evaluation of the effect of a heat-killed lactic acid bacterium, Enterococcus faecalis 2001, on oral candidiasis. **Benef. Microbes**, 2019. July 10 (6): 661-669. doi.org/10.3920/BM2018.0115
3. Tsujino I., Ushikoshi-Nakayama R., Yamazaki T., Matsumoto N., **Saito I.** : Pulmonary activation of vitamin D3 and preventive effect against interstitial pneumonia. **J. Clin. Biochem. Nutr.**, 2019 65 (2) :1-7.

プロバイオティクスを利用した高齢者の食生活による 口腔カンジダ症予防戦略確立のための基礎的研究

鶴見大学歯学部口腔微生物学講座

大島朋子、小島由佳子、河井智美、草塩英治、前田伸子

今までの臨床研究より、高齢者の口腔には *Candida* が多く常在し、全身の健康状態や口腔衛生状態が悪化すると増殖する傾向が示されて来た。そこで、要介護高齢者への抗真菌薬（アムホテシリン B）の介入試験を行ったところ、*Candida* の減少傾向と口腔内の状態の改善傾向が見られたが、有意差を示すには至らなかった。これは試験前の被験者の口腔衛生管理が非常に悪い状態で、薬剤濃度と試験期間が不十分だったためと思われた。しかし、当該介護施設では介護士による口腔衛生管理にかかる時間が十分取れない現状があった。そこで、日常の食生活により *Candida* を抑制することを考え、抗真菌効果と免疫活性化効果の両方が期待できるプロバイオティクスの確立を試みるための基礎研究を行った。プロバイオティクスは乳酸菌などの発酵食品で、古くから人類の食経験があり、有効性と安全性が経験的に確かめられている。しかし、そのメカニズムについてはほとんどわかっておらず、*Candida* を抑制できる可能性も考えられているが、検証例は少ない。そこで、*Lactobacillus* 属の中で抗 *Candida* 活性をもつ真菌株を *in vitro* 増殖抑制試験で選抜した。

C. albicans の菌糸型への移行抑制効果は Probiotics 候補菌 5 株において認められたが、各株間での有意な差はなかった。一方、酵母型の増殖抑制効果は、LF103、LP108、LP122 の 3 株で強く発揮され、殺菌効果も認められた。口腔カンジダ症では *C. albicans* 感染状態は菌糸型であるので、候補 *Lactobacillus* 属 3 株がどのようなメカニズムで *C. albicans* の菌糸型増殖の抑制効果を示すかを解明するために、*Lactobacillus* 培養上清の存在下での *C. albicans* 発現遺伝子を RNA シークエンス法によりトランスクリプトーム解析した。乳酸をコントロールとして比較したところ、発現が低下していた遺伝子は 113 遺伝子認められ、それらで特に変動が大きかったものは *C. albicans* の代謝活性、増殖性、病原性に関わるものであった。今後は有効成分を特定し、そのメカニズムをさらに明らかにする必要があると考えられる。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Takahashi, Y., Park, J., Hosomi, K., Yamada, T., Kobayashi, A., Yamaguchi, Y., Iketani, S., Kunisawa J., Mizuguchi K., Maeda N. & Ohshima, T. (2019). Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing. *J Oral Biosci.* 2019 61(2). 120-128. doi.org/10.1016/j.job.2019.03.003
2. Ohshima, T., Kawai T & Maeda N., Chapter; Biogenics: Bacterial cell-free probiotics using effective substances produced by probiotic bacteria, for application in the oral cavity. In *Prebiotics and Probiotics - Potential Benefits in Human Nutrition and Health*. Intech Open (2019) DOI: 10.5772/intechopen.89008

生体内で産生されたタンパク質はその役割を終えると、ユビキチン・プロテアソーム系、もしくはオートファジーの系によって分解されることが知られている。このような老廃物の分解が迅速に行われず、蓄積してしまうことがいくつかの疾患の原因として知られており、老化現象の一つの原因である可能性が示唆されている。そのためこれらのタンパク質分解系を促進させることによって不要タンパク質を迅速に分解することで、老化の一部を防止することができる可能性が示唆されている。

漢方薬として様々な場面で用いられている甘草の主成分として知られているグリチルリチンは肝炎などに対して臨床的に用いられているが、その作用機序などは詳細な部分に関しては未だに不明な点が多数ある。

これまでに我々はグリチルリチンが細胞内において HMGB1 (High Mobility Group Box 1) のアセチル化を通じて、HMGB1 の細胞内での局在を変化させ、その結果として *Gsto1* (*Glutathione S-Transferase Omega-1*) の発現を制御することで細胞のアポトーシスを防いでいる可能性を示してきた。

またグリチルリチンの投与によって、発現量が変動している遺伝子を網羅的に解析することによりオートファジー関連遺伝子である *Atg5*、*Rab24* の発現量がグリチルリチンの投与によって亢進している事が示唆されたので、マウス肝細胞由来のセルラインである Hepa1-5 にグリチルリチンを添加した場合としなかった場合での *Atg5*、*Rab24* 遺伝子の発現量を real time PCR を用いて定量した結果、グリチルリチンの添加によって有意に発現は亢進していた。

このようなグリチルリチンによるオートファジーの誘導が、臓器特異性を持っているのかどうかを検討するために、MEF (マウス胎児線維芽細胞) を用いて、グリチルリチンを添加した場合としなかった場合での *Atg5* 遺伝子の発現量を定量したところ有意に発現量が亢進しており、同時にオートファゴソームに特異的に結合する蛍光色素を用いてオートファゴソームの生成を確認してみたところ、グリチルリチンの投与によって、培地から血清を除くことによって飢餓状態にしたポジティブコントロールと同程度もしくはそれ以上のオートファゴソームの生成が確認された。

以上の結果より、グリチルリチンはオートファジー亢進作用があり、その作用は細胞特異性がない可能性が示唆された。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Kouji Inoue, Noriyuki Kuroda and Tetsuji Sato : Elastic fiber system evaluated in the digestive organ of rats **Microscopy**, 2019, *in press*

加齢変化にともなうエナメル質および象牙質の無機質量の
X線マイクロCTによる定量測定法確立のための基礎的研究

鶴見大学歯学部口腔解剖学講座

下田 信治、浅田由佳、塩崎一成
石川美佐緒、千葉敏江、吉野文貴

これまでヒトの歯の無機質量の加齢にともなうエナメル質および象牙質の無機質量・水分・タンパク質の変化について定量分析をおこなってきた。その中で歯の無機質量の定量値については、重量比 (g:weight/g:weight) で表される場合や、X線画像により無機質量を著す場合の ($\text{g:weight/cm}^2\text{:Volume}$) や ($\text{g:weight/cm}^3\text{:Volume}$) などがある。生化学的な分析では重量比で表されることが多く、一方、歯科臨床ではX線画像検査によりう蝕や病変を評価、診断することから体積密度で表されることが多い。歯科医臨床では、もちろん歯を破壊して測定し重量比を求めることはできないが、X線を用いた無機質の定量測定では、研究用あるいは実験目的であればX線マイクロCTを用いることが可能である。このように歯の無機質量の変化を非破壊的かつ定量的に評価する技術の確立は、歯科における研究面で有用なばかりでなく、臨床的な応用方法の開発につながる可能性がある。

X線マイクロCTを用いた歯や骨などの硬組織の相対的な半定量分析では、象牙質についてはいくつかの方法が報告されているものの、エナメル質に関しては相対的な体積密度を求めるためには、1) 適切な参照体の選定、2) 散乱X線によるアーティファクトの除去、3) X線装置の性能、などが関与するため妥当な半定量値を得ることは困難であった。

今年度、ヒトのエナメル質の加齢にともなう無機質量の推移変化をX線マイクロCTにより定量評価するため、散乱線の補償体および参照体を含む定量測定用の治具を開発した。この治具を用いて被検試料の体積密度 (g/cm^3) 測定をおこなったところ、参照体4点の密度検量線のCT値と相関係数は $R^2=0.996$ を示し、試験測定では天然FAPの密度は3.40、歯のエナメル質3.01と比較的良好な値を示した。

現在、歯のエナメル質および象牙質の多数の被検試料についてX線マイクロCTによる試験測定を繰り返し、その信頼性について検討を加えている。また、参照体およびエナメル質に含まれるカルシウム分析により、重量比 (Ca量mg/試料重量mg) の測定をおこない、本法による無機質量の密度測定の妥当性および信頼性について検証をおこなっている。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Yuka Asada, Toshie Chiba, Shinji Shimoda, Yasuko Momoi, Takatsugu Yamamoto: Acidic Calcium Phosphate Crystals Observed on the Outermost Layer of Human Enamel. **Journal of Hard Tissue Biology.**, 2019. 28 (2) : 139-146. doi.org/10.2485/jhtb.28.139
2. Yasuharu Tai, Yuka Asada, Toshie Chiba, Yasuo Miake, Shinji Shimoda, Noriyasu Hosoya: Electron Microscopic Study on the Formation of Hardened Molds of Calcium Phosphate Crystals Containing Gelatin. **Journal of Hard Tissue Biology.**, 2019. 28 (2) : 165-174. doi. doi.org/10.2485/jhtb.28.165

我々はこれまでに象牙質中の生理活性物質であるトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β 1) は、象牙質中のエナメルシン (MMP20) によって活性化され、加齢に伴う象牙質中のタンパク質の分解と共にその活性も減弱していくことを見出した。【目的】本研究では、歯髄組織および象牙芽細胞中の TGF- β 1 の活性化に関する知見を得ることを目的とした。【方法】生後約 6 ケ月のブタ永久切歯より調製した歯髄組織先端部 (PT) および本体部 (PB) と象牙芽細胞 (OD) から total RNA を調製して、ゲラチナーゼ A (Mmp2)、ストロムライシン 3 (Mmp11)、Mmp20 の遺伝子発現を定量 PCR (qPCR) にて調べた。次いでリコンビナント MMP2 と MMP11 を用いて *in vitro* で TGF- β 1 の活性化を調べた。さらにブタ歯髄組織から分離して不死化させた細胞 (PPU7 細胞) に活性化した TGF- β 1 を作用させて象牙芽細胞分化マーカーである 2 種類の象牙質シアロリントランパクのスプライシングバリエーション (*Dspp-v1*, *Dspp-v2*) と Mmp20 の遺伝子発現の影響を qPCR にて調べた。【結果】3 種類の MMP の遺伝子発現は、PT および PB では Mmp11 が、OD では Mmp2 と Mmp20 の発現が優位であった。次に、*in vitro* での活性化実験では、MMP11 および MMP2 共に TGF- β 1 を活性化できた。さらに活性化した TGF- β 1 は、PPU7 細胞中の *Dspp-v1*, *Dspp-v2* および Mmp20 の発現を促進した。【結論】歯髄組織中では主に MMP11 が、象牙芽細胞中では MMP2 が TGF- β 1 を活性化させ、活性化した TGF- β 1 が歯髄細胞から象牙芽細胞への分化に伴って *Dspp-v1*, *Dspp-v2*, Mmp20 の遺伝子発現を制御することが示唆された。これにより、5 年間に渡る私立大学戦略的研究基盤形成支援事業において、TGF- β 1 の象牙質形成と加齢に伴う消失に関する動態解明の一助となる結果を得ることができた。

【令和元年度 成果の刊行一覧】 (*)は Corresponding Author を示す。

1. Karakida T, Onuma K, Saito MM, Yamamoto R, Chiba T, Chiba R, Hidaka Y, Fujii-Abe K, Kawahara H and **Yamakoshi Y*** (2019) Potential for Drug Repositioning of Midazolam for Dentin Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 20 (3). Doi:10.3390/ijms20030670.
2. **Yamakoshi Y***, Hu JC, Saito MM and Simmer JP (2019) Protocol for Studying Formation and Mineralization of Dental Tissues In Vivo: Extraction Protocol for Isolating Dentin Matrix Proteins from Developing Teeth. *Methods Mol. Bio.* 239-250.
3. Okubo M, Chiba R, Karakida T, Yamazaki H, Yamamoto R, Kobayashi S, Niwa T, Margolis HC, Nagano T, **Yamakoshi Y*** and Gomi K. (2019) Potential function of TGF- β isoforms in maturation-stage ameloblasts. *J Oral Biosci.* 61(1):43-54.

加齢に伴い増加する運動器症候群：ロコモティブシンドロームでは要介護になるリスクが高いことから、その病態の解明や治療法の開発が求められている。運動器を構成する重要な要素の一つである靱帯・腱組織は、骨に付着し力学的負荷を受けるが、その形成・維持機構については不明な点が多い。本研究は、靱帯・腱・骨ユニットの形成・維持のメカニズム解明を目的としている。

これまでの研究でアネキシン A5 (Anxa5) が関節軟骨、骨膜、および骨と腱・靱帯付着部に強く発現することを明らかにし、機能的にも生後の成長期以降の Anxa5^{-/-}マウスで腱・靱帯の骨への付着部の肥大、しかも石灰化の亢進を認めたことから過剰な石灰化の抑制に働く可能性を示した。さらにこの変異マウスで見られる表現系は、力学的負荷が必須であることを力学的負荷減少させる2つのモデルマウスで示した。そこで本年度においてはそのメカニズムを追求した。Anxa5^{-/-}マウスの付着部付近の組織を調べたところ、alkaline phosphatase の強陽性細胞が優位に増加していた。alkaline phosphatase は pyrophosphate から phosphate を生じ石灰化に寄与することから pyrophosphate 制御分子の発現に注目した。まずそれらの発現を enthesis の構成細胞である腱細胞、軟骨細胞、骨芽細胞で調べた。Anxa5 ノックダウンすると、3種の細胞において tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) の遺伝子である Akp2 の発現が上昇した。軟骨細胞では pyrophosphate 産生に関わる Ank や Enpp1 の遺伝子発現が減少した。すなわち、Anxa5 ノックダウンにより、pyrophosphate を負に作用する分子が上昇し、正に作用する分子が減少した。さらに腱細胞、軟骨細胞で細胞外の phosphate、pyrophosphate レベルを調べたところ、Anxa5 ノックダウンにおいて phosphate が増加し一方 pyrophosphate が減少する傾向が見られた。また Anxa5^{-/-}マウスの腱付着部での免疫組織学的解析から、Ank や Enpp1 の陽性細胞が減少していることがわかった。これらのことから Anxa5 が phosphate/pyrophosphate 制御分子の発現調節を介し、細胞外 phosphate/pyrophosphate のレベルを制御する可能性が示唆された。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. SIRT7 has a critical role in bone formation by regulating lysine acylation of SP7/Osterix
Fukuda M, Yoshizawa T, Karim MF, Sobuz SU, Korogi W, Kobayasi D, Okanishi H, Tasaki M, Ono K7, Sawa T, Sato Y, Chirifu M, Masuda T, Nakamura T, Tanoue H, **Nakashima K**, Kobashigawa Y, Morioka H, Bober E, Ohtsuki S, Yamagata Y, Ando Y, Oike Y, Araki N, Takeda S, Mizuta H, Yamagata K. Nat Commun. 2018 Jul 19;9(1):2833. doi: 10.1038/s41467-018-05187-4.

DNA はプロタミンなどの塩基性タンパク質と容易に複合体を形成する。DNA/プロタミン複合体から多孔質ディスク体を成形し、高齢者モデルとしての加齢ラットの骨欠損部に埋入した結果、良好な骨形成が確認できた。DNA/プロタミン複合体は、水で練和することによってペースト状となる特性を有しており、インジェクタブル骨補填材としての有効性が期待される。しかしながら、従来のペースト作製方法ではペーストの賦形性の保持や操作性に問題があり、さらに必要量だけのペースト作製が困難であった。そこで、その場で DNA ペーストを合成する方法、すなわち、on-the-spot 合成法を考案した。

新たに開発した on-the-spot 合成法では、DNA の粘調水溶液に塩基性タンパク質を添加するだけで、その場で DNA 複合体ペーストの作製が可能である。DNA の濃度や塩基性タンパク質の添加量を調整することでペーストの稠度を調整でき、必要量のペースト作製が可能であるなどの利点も有している。

塩基性タンパク質としてプロタミンおよび塩基性ゼラチンを用いて、on-the-spot 合成法で DNA/プロタミンペースト、DNA/ゼラチンペーストを作製し、ラット抜歯窩に埋入して、骨形成状態について検討した。その結果、埋入2週間後で、DNA/プロタミンペースト、DNA/ゼラチンペースト、どちらも良好な骨形成が確認された。両ペーストを比較すると DNA/ゼラチンペースト埋入群の方が、DNA/プロタミンペースト埋入群よりも骨形成状態が良好であった。抜歯窩の骨形成量について画像解析ソフトを用いて定量的に解析した結果でも、DNA/ゼラチンペースト埋入群の方が DNA/プロタミンペースト埋入群よりも有意に高い値を示した。詳細は未だ不明であるが、DNA ペーストの生分解性が骨形成に影響している可能性が示唆された。

本研究で作製した DNA/プロタミンペーストおよび DNA/ゼラチンペーストには成長因子の添加も可能である。今後は加齢モデルラットなどを用いて、抜歯窩のみならず、垂直性骨欠損などへの応用についても検討して行く予定である。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Rina Yamachika, Nagahiro Miyamoto, Hiroyuki Mishima, Tohru Hayakawa, Noriyasu Hosoya. Effects of DNA/protamine and DNA/gelatin paste on bone formation at tooth extraction wound sites. J. Hard Tissue Biology. 2019; 28: 191-198.
2. 鈴木 一, 高橋 璋, 三島弘幸, 早川 徹. DNA/プロタミン複合体ペーストによるラット抜歯窩の骨形成. 歯産学誌. 2019; 33: 15-21.

【背景】 高齢者での罹患率が高い歯周病と死亡原因第2位の心疾患との関連性が指摘されている。しかしながらその分子レベルでの関連性や予防に関する研究は不十分である。歯周病患者では高率に β_1 -AR 自己抗体が検出され、心筋に発現するベータアドレナリン受容体 (β -AR) の強力なリガンドとして作用することが最近報告された。本研究では「歯周病は心疾患（心不全、心房細動）を誘導し、その過程で β -AR シグナルの活性化が重要である」という仮説をたて、その検証を行った。

【方法】 歯周病モデルは歯周病菌 (*Porphyromonas gingivalis*: PG) 由来の lipopolysaccharide (PG-LPS) を腹腔内投与 (0.8mg/kg/day 7日間) する方法で作成した。歯周病モデルで観察される変化と β -AR シグナルの関連を調べるため歯周病モデルに β ブロッカー (プロプラノロール) を併用投与した群も作成した。

【結果】 PG-LPS 投与群では心房ならびに心室筋で組織リモデリング (線維化、アポトーシス) と酸化ストレス障害の所見が観察された。心エコーを用いた生理学的解析では PG-LPS 投与群で有意な心機能低下がみられ、経食道的心房頻回刺激で誘発される心房細動持続時間は PG-LPS 投与群で有意に増加していた。興味深いことにプロプラノロール併用投与した PG-LPS 投与群ではこれらの変化は観察されなかった。

【考察】 歯周病による心疾患発症には β -AR シグナルの活性化が重要であり、その治療薬として β ブロッカーの有用性が示唆された。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Ito A, Ohnuki Y, Suita K, Ishikawa M, Mototani Y, Shiozawa K, Kawamura N, Yagisawa Y, Nariyama M, Nakamura Y, Okumura S ; Role of β -adrenergic signaling in masseter muscle
PLoS One 2019 Apr 15; 14(4): e0215539. doi: 10.1371/journal.pone.0215539. eCollection 2019.
2. Kawamura N, Ohnuki Y, Matsuo I, Suita K, Ishikawa M, Mototani Y, Shiozawa K, Ito A, Yagisawa Y, Hayakawa Y, Nariyama M, Ujiie Y, Gomi K, Okumura S: Effects of chronic *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide infusion on skeletal muscle
J Physiol Sci 2019 May; 69(3):503–511. doi: 10.1007/s12576-019-00670-z. Epub 2019 Mar 8.
3. Shiozawa K, Mototani Y, Suita K, Ito A, Kawamura N, Yagisawa Y, Matsuo I, Hayakawa Y, Nariyama M, Umeki D, Saeki Y, Ohnuki Y, Okumura S: Relationship between bite size per mouthful and dental arch size in healthy subjects
J Physiol Sci 2019 Jan;69(1):159–163. doi: 10.1007/s12576-018-0630-8. Epub 2018 Jul 28.
4. Prajapati R, Fujita T, Suita K, Nakamura T, Cai W, Hidaka Y, Umemura M, Yokoyama U, Knollmann BC, Okumura S, Ishikawa Y: Usefulness of exchange protein directly activated by cAMP (Epac)1-inhibiting therapy for prevention of atrial and ventricular arrhythmias in mice
Circ J 2019 Jan 25;83(2):295–303. doi: 10.1253/circj.CJ-18-0743. Epub 2018 Dec 6.

口腔の加齢制御を目指して、食と栄養指導システムの構築、食の影響を受ける口腔細菌叢の解析から iPS 細胞を用いた口腔機能の再建戦略まで、保健・医療・福祉の 3 分野にわたって、幅広い研究を実施し、将来の高齢者の口腔と全身の健康を維持する方策を探索するのが当講座の研究プロジェクトの最終目的である。本年度の研究プロジェクトでは、健康な 100 歳長寿者の口腔細菌叢の網羅的分析を行い、口腔細菌叢の加齢制御を目指して若年者から高齢者に至るまでの理想的な口腔細菌叢の組成のありかたについて検討した。

目的：口腔微生物叢は、腸管の健康と腸管の細菌叢の組成にも影響を与えており、人間の健康と病気に重要な役割を果たす。口腔微生物叢の特別な組成（共生細菌と病原性共生細菌の割合）は、100 歳以上の被験者の一般的な健康状態に関連していると推測される。したがって、健康な 100 歳以上の高齢者の口腔微生物叢の特徴と加齢的变化を知るために実地調査を実施し、ピロシーケンシング法により解析した。

方法：岩手県農村部に居住する健康な 100 歳長寿者（ $n = 4$ ）の口腔のプラークサンプルを解析対象にした。歯肉縁上プラークと舌背部のプラークサンプルを、歯ブラシの擦過によって収集した。細菌 DNA を Promega Maxwell 16 で抽出し、PCR により 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 超可変領域を増幅した。ピロシーケンシングは、MiSeq を使用して行った。操作的分類単位：operational taxonomic unit (OTU) は、EzTaxon-e データベースからの 97% の ID 検索に基づいて割り当てた。

結果：健康な 100 歳長寿者のプラークサンプルをピロシーケンシングにより解析した結果、歯肉縁上のプラークの平均 OTU は 265.5 ± 112.1 で、舌背部のプラークの OTU は 206.5 ± 29.3 であった。舌背部の優勢な「属」はストレプトコッカス属 (46.6%) であり、続いてロチア属 (17.8%)、ベイヨネラ属 (9.0%)、ナイセリア属 (6.8%)、放線菌属 (3.4%)、プレボテラ属 (3.0%) および乳酸菌属 (2.0%) の順であった。義歯上または歯肉縁上プラークの優勢な「属」はストレプトコッカス属 (36.5%) であり、続いてベイヨネラ属 (15.2%)、乳酸菌属 (11.4%)、プレボテラ属 (7.4%)、ロチア属 (5.0%)、ナイセリア属 (4.1%) および放線菌属 (3.2%) の順であった。フゾバクテリウム属は比較的低いレベル (0.5%) で検出された。興味深いことに、ある被験者は、*Lactobacillus salivarius* (14.4%)、*L. fermentum* (6.9%)、*L. reuteri* グループ (7.2%)、*L. gasseri* グループ (5.4%) の菌種を含む、高レベルの乳酸菌属 (42.2%) を保有していた。

考察：100 歳長寿者の口腔細菌叢を以前に論文公開された 20 歳代の成人の口腔細菌叢データと比較した場合、乳酸菌属とベイヨネラ属は健康な 100 歳長寿者においてより豊富であった。一方、100 歳長寿者のフゾバクテリウム属は若い被験者よりも少なかった。京都大学霊長類研究所のチンパンジー 15 個体 (15 歳から 45 歳) のコアミクロビーム (すべての個体から分離される細菌) の解析データと比較した場合でも同様の傾向を示した。

結論：岩手県在住の健康な 100 歳長寿者の口腔細菌叢には若年者あるいはチンパンジーに比べて乳酸に関連する細菌が多く生息している印象を得た。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Murata T, Yamashita M, Ishikawa M, Shibuya K, Hanada N. Purification of a High Molecular Mass Protein in *Streptococcus mutans*. J Vis Exp. 2019 Sep 14;(151).
2. Nomura Y, Matsuyama T, Fukai K, Okada A, Ida M, Yamauchi N, Hanamura H, Yabuki Y, Watanabe K, Sugawara M, Imanishi Y, Koizumi N, Murano Y, Nishiyama A, Fukukawa Y, Otsuka R, Hanada N. Precede-Proceed model based questionnaire and saliva tests for oral health checkup in adult. J Oral Sci. 2019 Sep 20. [Epub ahead of print]
3. Hanioka T, Morita M, Yamamoto T, Inagaki K, Wang PL, Ito H, Morozumi T, Takeshita T, Suzuki N, Shigeishi H, Sugiyama M, Ohta K, Nagao T, Hanada N, Ojima M, Ogawa H. Smoking and periodontal microorganisms. Jpn Dent Sci Rev. 2019 Nov;55(1):88-94.
4. Nomura Y, Okada A, Kakuta E, Otsuka R, Sogabe K, Yamane K, Yamamoto T, Shigeta Y, Shigemoto S, Ogawa T, Hanada N. Consistency of supplied food and dentition status of the elderly in residential care homes. BMC Oral Health. 2019 May 2;19(1):74.
5. 花田信弘：特定健康診査・特定保健指導に参加する歯科衛生士の将来と問題点. 日本歯科衛生学会雑誌 (1884-5193)14 巻 1 号 Page50-55 (2019. 08)
6. 武内博朗、花田信弘 栄養・運動と全身の健康の架け橋を担う歯科補綴 咀嚼機能回復と保健指導の組み合わせは、体組成と代謝指標を改善する. 日本補綴歯科学会誌 (1883-4426)11 巻 3 号 Page206-214(2019. 07)

加齢に伴い、骨格筋の量は大きく減少し、筋力や身体機能は大きく低下する。口腔内においては、咀嚼筋や舌筋などの機能が低下することにより、十分な咀嚼運動や嚥下機能が困難となり、そのため経口摂取が十分に行うことができず、さらに機能が低下するという負の連鎖に陥ってしまう。したがって、加齢に伴う骨格筋の重量および機能の低下を防ぐことは、高齢者の QOL 維持に必要不可欠であり、重要である。

小眼球症関連転写調節因子 MITF (Microphthalmia-associated transcription factor) は慢性カテコラミン刺激による心肥大および線維化、アポトーシスの発症過程に重要であることが報告されているが、骨格筋における生理機能については不明である。そこで、今回我々は、*mitf* 遺伝子変異型マウス (*mi/mi*) を用いて、筋肥大効果のあるクレブテロール[CB, β 2-AR (アドレナリン受容体) 作動薬]を持続的に投与し、骨格筋の筋線維横断面積 (CSA; μ m²)、線維化、アポトーシスおよびシグナル因子の活性化レベルについて解析した。CSA の測定結果から、WT では CB 投与により咬筋 ($p < 0.01$)、前脛骨筋 ($p < 0.05$) では肥大効果が確認されたが、*mi/mi* では筋肥大は確認されなかった。*mi/mi* の咬筋では CB 投与に関係なく線維化がみとめられた ($p < 0.01$)。*mi/mi* の咬筋では WT と比較してアポトーシスの増加がみとめられ ($p < 0.01$)、その増加は CB 投与により抑制された ($p < 0.01$)。また、ウェスタンブロッティングを行った結果、オートファジー抑制因子である Akt のリン酸化レベルは、WT と比較し、*mi/mi* では有意に増加していた ($p < 0.05$)。一方、オートファジー促進因子である p62 のリン酸化レベルは WT と比較し、*mi/mi* では有意に減少していた ($p < 0.01$)。加えて、p62 のレベル (P62/GAPDH) は WT と比較し、*mi/mi* では有意に増加していた ($p < 0.01$)。MITF は心筋だけでなく、咬筋などの速筋型骨格筋においても、 β 2-AR 依存性の筋肥大とアポトーシス抑制に重要な役割を果たすことが示唆された。また、MITF が Akt 依存性にオートファジーを抑制することが示唆された。今後、MITF とオートファジー、およびアポトーシスや線維化などのリモデリングの関連性について詳細に解析する予定である。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Kawamura N., Ohnuki Y., Matsuo I., Suita K., Ishikawa M., Mototani Y., Shiozawa K., Ito A., Yagisawa Y., Hayakawa Y., Nariyama M., Ujiie Y., Gomi K., Okumura S.: Effects of chronic Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide infusion on skeletal muscle in mice. J. Physiol. Sci., 2019 May 69 (3): 503-511. doi: 10.1007/s12576-019-00670-z.

鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座

小川 匠, 伊藤崇弘, 重本修伺, 重田優子, 平井真也, 平林里大, 井川知子,
佐々木圭太, 木原琢也, 伊藤光彦

自分の歯や義歯などの補綴装置によって十分咀嚼し、適切に嚥下することができることが、高齢者の QOL や健康を維持、すなわち、健康余命を獲得する上で重要な要件であることの医学的根拠は、現在十分に示されている。しかし、現実には咀嚼が十分にできない、嚥下に困難が伴うなどの理由により経口の食事が適切に行われない高齢者は少なくない。そこで、摂食・咀嚼・嚥下機能を咀嚼能力だけでなく、咀嚼関連器官の働きを記録解析できるシステムの開発とその臨床応用から加齢制御の要因について明らかにすることを目的に、平成 27 年度以降、摂食・咀嚼・嚥下機能記録解析システムの開発を行っている。このシステム構成には、顎運動測定技術、CT や歯科用スキャナーを用いて頭蓋骨や歯列などの形態を測定する三次元形状測定技術、および顎運動と形態情報の重ねあわせ技術が必須である。顎運動測定技術と形態計測技術およびこれらの情報の重ね合わせ技術については、技術的には完成しており、国際的にも高く評価されている（EPA : European prosthodontic association Best Poster Presentation Prize, Joint meeting of the ICP and EPA 2019 in Amsterdam “NEW CONCEPT OF ROTATION AXIS FOR ANALYZING MANDIBULAR MOVEMENT”）。また、食塊粒度解析法を用いた咀嚼能率の基礎データとその解析手法について検討するとともに、咀嚼による補綴装置や残存歯への影響を検討するため、暫間修復や補綴装置に用いる材料との二体摩耗試験を行い、その摩耗特性を明らかとしてきた。

平成 31 年度は、総合的な咀嚼機能評価と加齢制御因子との関連性を検討するために顎運動測定と形態計測に加え、術前術後の咀嚼機能検査（食塊粒度など）や咬合接触関係について情報の蓄積を実施している。9 月 26 日現在で延べ 109 名の顎運動計測を実施している（その内 78 名は CT 撮影を実施している。2019 年度は 14 名実施済）。今後もデータの蓄積を継続するとともにデータの取りまとめを実施する。

【2019 年度 成果の刊行一覧】

1. Kihara T, Ikawa T, Shigeta Y, Shigemoto S, Nakaoka K, Hamada Y, Ogawa T: Mandibular 3-dimensional finite element analysis for a patient with an aggressive form of craniofacial fibrous dysplasia. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology. in press (Available online 25 June 2019)
2. Nomura Y, Okada A, Kakuta E, Otsuka R, Sogabe K, Yamane K, Yamamoto T, Shigeta Y, Shigemoto S, Ogawa T, Hanada N. Consistency of supplied food and dentition status of the elderly in residential care homes. BMC Oral Health. 2019 May 2;19(1):74.

加齢変化によって唾液分泌量が低下して口腔乾燥を来たと、摂食や会話に支障があるばかりでなく、歯周病やカリエスが増加や口腔粘膜の違和感や疼痛が生じることが分かっている。更に唾液分泌量が低下するシェーグレン症候群、唾液腺腫瘍の摘出術や頭頸部領域への放射線療法においては、口腔乾燥に加えて吐気や心窩部痛、消化管症状（便秘・下痢）などの症状も出現することが報告されている。しかし唾液流出量と消化管粘膜の組織学的変化の関連性については不明な点が多い。

そこで本研究では、唾液流出量低下が消化管粘膜ならびに糞便の菌叢へ及ぼす影響を解明することを目的として、唾液腺摘出モデルマウスを作製、舌、空腸、回腸、大腸それぞれの消化管粘膜の病理組織学的解析と糞便の菌叢解析を行った。

マウス（C57BL/6、8週令、オス）を用いて唾液腺摘出群とシャムオペ群を作製、唾液腺摘出によって有意に唾液流出量が低下することを確認した上で、術後1か月目ならびに6か月目における粘膜の組織学的変化について比較検証した。その結果、唾液腺摘出群において、①舌乳頭の萎縮、②空腸絨毛長・回腸絨毛長・大腸絨毛長の有意な短縮、③糞便長の有意な短縮が認められた。

更に術後6か月目の糞便の菌叢解析の結果、唾液腺摘出群では細菌叢が複雑化し、Actinobacteria 門 Coriobacteriia 綱, Firmicutes 門 Bacilli 綱, Firmicutes 門 Clostridia 綱の減少、Bacteroidetes 門 Bacteroidia 綱, Firmicutes 門 Erysipelotrichi 綱, Proteobacteria 門 Deltaproteobacteria 綱の増加が認められた。乳酸産生菌・酪酸産生菌などのいわゆる善玉菌に該当する菌が減少し、リウマチやII型糖尿病、心血管障害との関連が報告されている菌が増加していることが分かった。

従ってマウスの唾液腺摘出術によって、舌、空腸、回腸、大腸それぞれの消化管粘膜に組織学的変化を来すだけでなく、腸内細菌叢への影響を通して疾患にも関与する可能性が示唆された。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Fujihara H, Nozaki T, Tsutsumi M, Isumi M, Shimoda S, Hamada Y, Masutani M : Spontaneous Development of Dental Dysplasia in Aged Parp-1 Knockout Mice. **Cells**. 2019 in press
2. Kihara T, Ikawa T, Shigeta Y, Shigemoto S, Nakaoka K, Hamada Y, Ogawa T : Mandibular 3-dimensional finite element analysis for a patient with an aggressive form of craniofacial fibrous dysplasia. **Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol.** 2019 Jun 25. (Epub ahead of print)
3. Eguchi T, Basugi A, Kanai I, Miyata Y, Hamada Y. : Multiple oral ulcers caused by incorrect use of oral bisphosphonate in a patient with dementia: A case report. **Gerodontology**. 2019 Mar;36(1):82-84. doi: 10.1111/ger.12378.

口腔領域の“不定愁訴”である歯科心身症は、我が国では年々、患者の高齢化が進んでいる。加齢とともに基礎疾患や常用薬との薬物相互作用など種々の制約が増え、治療薬の選択に苦慮する症例が増加している。1998年に我が国の研究者（櫻井ら）が発見したオレキシンは、視床下部ニューロンから産生される神経ペプチドであり、睡眠-覚醒の調整の他に三叉神経の過敏性にも関連しているのではないかとされている。近年上市されたオレキシン受容体拮抗薬は、高齢有病者で抗うつ薬などが使用しづらい歯科心身症に有効な可能性がある。しかし、2017年の臨床研究法の公布により、当初策定した臨床試験の計画が非常に実行困難な状況に陥った。そこで本年度は、既に本学歯科心身医療外来に蓄積された既存薬の臨床データをレトロスペクティブに解析するとともに、モノアミン作動性システムとの関連性からオレキシン受容体拮抗薬の有効性を検討した。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

- 1: Suga T, Takenoshita M, Toyofuku A. Medical Comorbidities of Patients with Burning Mouth Syndrome. *Oral Dis.* 2019 Aug 29. doi: 10.1111/odi.13186. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31466124.
- 2: Shinohara Y, Umezaki Y, Minami I, Watanabe M, Miura A, Mikutsuki L, Kawasaki K, Sugawara S, Trang TTH, Suga T, Watanabe T, Yoshikawa T, Takenoshita M, Motomura H, Toyofuku A. Comorbid depressive disorders and left-side dominant occlusal discomfort in patients with phantom bite syndrome. *J Oral Rehabil.* 2019 Aug 9. doi: 10.1111/joor.12872. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31398263.
- 3: Uezato A, Toyofuku A, Umezaki Y, Nishikawa T. Oral dysesthesia associated with autistic traits: a retrospective chart review. *Eur J Oral Sci.* 2019 Aug;127(4):347-350.
- 4: Tu TTH, Miura A, Shinohara Y, Mikuzuki L, Kawasaki K, Sugawara S, Suga T, Watanabe T, Aota Y, Umezaki Y, Takenoshita M, Toyofuku A. Pharmacotherapeutic outcomes in atypical odontalgia: determinants of pain relief. *J Pain Res.* 2019 Feb 27;12:831-839.
- 5: Umezaki Y, Tu TTH, Toriihara A, Sato Y, Naito T, Toyofuku A. Change of Cerebral Blood Flow After a Successful Pharmacological Treatment of Phantom Bite Syndrome: A Case Report. *Clin Neuropharmacol.* 2019 Mar/Apr;42(2):49-51.
- 6: Tu TTH, Takenoshita M, Matsuoka H, Watanabe T, Suga T, Aota Y, Abiko Y, Toyofuku A. Current management strategies for the pain of elderly patients with burning mouth syndrome: a critical review. *Biopsychosoc Med.* 2019 Jan 31;13:1.
- 7: Suga T, Watanabe T, Aota Y, Nagamine T, Toyofuku A. Burning mouth syndrome: The challenge of an aging population. *Geriatr Gerontol Int.* 2018 Dec;18(12):1649-1650.

シェーグレン症候群における非侵襲性の診断方法の確立と病態解明
～新規病態関連分子の検索とその応用～

九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野
森山 雅文、中村 誠司

シェーグレン症候群 (SS) は、唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害を受ける臓器特異的自己免疫疾患であるが、最近では加齢や老化(エストロゲンの枯渇など) もリスクファクターの1つと考えられ、増齢的な発症傾向がある。しかし、発症の詳細なメカニズムは未だ不明であり、診断にも侵襲を伴う検査を行う必要があることから、病態解明と非侵襲性の診断方法の確立が望まれている。

これまでの我々の研究では、非侵襲性で簡便かつ繰り返し採取可能な唾液に注目し、唾液中のサイトカイン濃度を網羅的に検索し、一部の炎症性サイトカイン (TNF- α 、INF- γ 、IL-1 β 、IL-4、IL-8、IL-10) が有意に高かった。さらに、より SS の病態に特異的な分子を同定するため、近年自己免疫疾患の発症に関与していることが指摘されている Toll 様受容体 (TLR) に注目し、SS の口唇腺を用いて網羅的遺伝子解析およびバリデーションを行った結果、TLR8 のみに発現亢進を認めた。

そこで昨年度の研究では、病変局所の TLR8 発現細胞の同定と機能解析を行った。その結果、CD68 陽性の単球/マクロファージが主な発現細胞であった。そこで、単球の細胞株である U-937 細胞株に対する TLR8 アゴニスト (R848) による刺激実験を行ったところ、TLR8 過剰発現させた細胞株のみに、TNF- α の産生亢進を認めた。

さらに今年度の研究では、ヒト TLR8 トランスジェニック/マウス TLR8 ノックアウト (huTLR8 Tg/mTLR KO) マウスを作成し、その表現型を検証した。その結果、mTLR8 KO マウスと比較して、顎下腺のリンパ球浸潤および線維化が亢進していた。これらの結果より、SS の発症には TLR8 を介した自然免疫が関与していることが示唆される。今後は炎症性サイトカインに加え TLR8 に注目し、唾液を用いた新たな診断方法を確立するとともに、新規標的分子治療への展開を目指す。

【令和元年度 成果の刊行一覧】

1. Ishiguro N, Moriyama M, Furusho K, Furukawa S, Shibata T, Murakami Y, Chinju A, Rafiul Haque ASM, Gion Y, Ohta M, Maehara T, Tanaka A, Yamauchi M, Sakamoto M, Mochizuki K, Ono Y, Hayashida JN, Sato Y, Kiyoshima T, Yamamoto H, Miyake K, Nakamura S. Activated M2 macrophage contributes to the pathogenesis of IgG4-related disease via TLR7/IL-33 signaling. *Arthritis Rheumatol* 2019. in press. (doi: 10.1002/art.41052)
2. Sakamoto M, Moriyama M, Shimizu M, Chinju A, Mochizuki K, Munemura R, Ohya Y, Maehara T, Ogata K, Ohta M, Yamauchi M, Ishiguro N, Matsumura M, Ohya Y, Kiyoshima T, Nakamura S. The diagnostic utility of submandibular gland sonography and labial salivary gland biopsy in IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis: its potential application to the diagnostic criteria. *Mod Rheumatol* 2019. in press. (doi: 10.1080/14397595.2019.1576271)
3. Cytidine deaminase enables Toll-like receptor 8 activation by cytidine or its analogs. Furusho K, Shibata T, Sato R, Fukui R, Motoi Y, Zhang Y, Saitoh S, Ichinohe T, Moriyama M, Nakamura S, Miyake K. *Int Immunol* 31(3):167-173, 2019. (doi: 10.1093/intimm/dxy075)
4. Pathogenesis of IgG4-related disease: a critical review. Maehara T, Moriyama M, Nakamura S. *Odontology* 107(2):127-132, 2019. (doi: 10.1007/s10266-018-0377-y)