

## 27. 歯周炎患者における -デフェンシン発現状態の解析(東日本歯学会第17回学術大会)

著者名(日)	中島 啓介, 井上 真希, 三田村 治郎, 安彦 善裕, 加藤 幸紀, 賀来 亨, 小鷲 悠典
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	18
号	1
ページ	241-242
発行年	1999-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008425/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008425/</a>

細胞がごく僅か認められた。胎生13日では分化し始めた骨芽細胞集団内やその周囲に沿ってTRAP陽性細胞が配列し、長い突起を伸していた。基質形成がみられる胎生14日には多核の破骨細胞も観察された。また、胎生13-14日には骨形成領域近傍の血管周囲や内壁にも付着してTRAP陽性細胞が観察された。TRAP陽性前駆細胞の三次元的形態は長い突起をもち複雑であった。また、破骨細胞や長い突起をもつ前駆細胞はMac-2抗体陽性であり、TRAP陽性を示した。さらにF4/80陽性細胞もしばし

ば骨形成領域でみられ、なかには骨基質に接して観察された。しかし、Mac-1陽性細胞はその形成領域には見られなかった。

【結論】下顎骨の初期膜内骨化では破骨細胞前駆細胞は骨芽細胞の分化と同時に多数出現し、長い突起をもつ特異な形態を示した。また、マクロファージ系の表現型を発現するが、それは従来in vitroで報告されている画一的な表現型を発現することはなかった。

## 26. 実験的歯の移動に対するラット歯槽骨骨細胞の形態変化に関する免疫組織化学的研究

○浜谷 明里, 坂倉 康則\*, 矢嶋 俊彦\*,  
溝口 到

(北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座, 口腔解剖学第一講座\*)

【目的】骨細胞は、骨基質内において互いに、あるいは骨表面の細胞とネットワークを形成し、骨改造に重要な役割を担っていることが指摘されている。本研究では、ラットの歯の移動時における歯槽骨の骨細胞の経時的な形態変化を免疫組織化学的にならびに蛍光核染色を用いて検討した。

【方法】生後8週齢のWistar系雄性ラットを用い、割田らの方法(1996年)に準じ、加工硬化型Ni-Ti合金ワイヤーを用いて、初期荷重10gfで上顎第一臼歯の近心移動を行った。実験期間は、歯の移動開始から1, 3, 6, 12時間, 1, 2, 4, 7, 10, 14日とした。実験終了後、4% paraformaldehyde - 0.5% glutaraldehyde 固定液(0.1MPB, pH7.4)で灌流固定、浸漬固定を施した。10%ギ酸クエン酸溶液(4°C)で脱灰後、厚さ6 $\mu$ mの水平断切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、アクチン抗体による免疫染色ならびにpropidium iodide

(PI)による蛍光核染色を施した。

【結果】(1)歯に荷重負荷後3時間で、第一臼歯遠心頬側根近心歯根膜に一部圧迫像がみられ、6時間で硝子様変性組織が出現し、7日後にはほぼ消失した。(2)荷重負荷後6時間で、変性組織に対応する歯槽骨骨細胞の一部に核の濃縮が認められた。荷重負荷後1日目では核の断片化および骨細胞の消失が見られ2日目、4日目では骨細胞の消失範囲が広がっていた。(3)アクチン抗体による免疫染色、PI染色では、変性組織に対応する歯槽骨骨細胞の一部に、細胞質の変性、消失及び核の濃縮、断片化が認められた。

【結論】実験的歯の移動によって、硝子様変性組織に隣接する歯槽骨の一部に骨細胞の形態変化が認められたことから骨細胞間あるいは骨表面の細胞とのネットワークに変化が生じているものと思われる。

## 27. 歯周炎患者における $\beta$ -デフェンシン発現状態の解析

○中島 啓介, 井上 真希, 三田村治郎\*,  
安彦 善裕\*, 加藤 幸紀, 賀来 亨\*,  
小鷲 悠典

(北海道医療大学歯学部歯科保存学第一講座, 口腔病理学講座\*)

【目的】抗菌ペプチドであるデフェンシンは、好中球のリソゾーム内に認められる $\alpha$ -デフェンシンと一部の上皮細胞に認められる $\beta$ -デフェンシンに分類されている。近年、ヒト $\beta$ -デフェンシン1(hBD-1)に加えてサ

イトカインや細菌により誘導されるヒト $\beta$ -デフェンシン2(hBD-2)が報告されている。本研究では、これらのhBDが患者の歯周炎に対する感受性と関連している可能性を探る目的で歯周炎患者の歯肉においてhBDの

発現状態を検討した。

**【方法と結果】**北海道医療大学歯学部附属病院に来院した歯周炎患者からインフォームドコンセントを得た後、歯周外科処置時に歯周ポケット内上皮を含む歯肉片を採取し-80°Cにて保存した。その後、歯肉片からtotal RNAを抽出しOligo(dT)による逆転写後、5種のプライマー(GAPDH, hBD-1, hBD-2, IL-1 $\beta$ , IL-8)を用いてRT-PCR法を行った。2%アガロースゲルにて電気泳動後、ゲルをポラロイドカメラで撮影した。また、ゲルを撮影したポラロイド写真をコンピュータに取り込み画像解析を行った。

16のサンプルの大部分においてhBD-1, hBD-2, IL-1 $\beta$ , IL-8各mRNAの発現が認められた。各サンプルのGAPDHのバンド量が均一ではなかったため、画像解析によりGAPDHのバンド量当たりの各サンプルのバンド量を算出した。その結果、hBD-1発現量とIL-1 $\beta$ およびIL-8の発現量との間には有意な正の相関関係が認められた。しかし、hBD-2と発現量とこれらサイトカイン発現量の間には相関関係は認められなかった。

**【結語】**歯周炎患者から分離した歯肉組織は、hBD-1, hBD-2を発現しており歯肉局所の防御機構に関わっていることが示唆された。

## 28. 口腔扁平上皮癌における $\beta$ -ディフェンシンの発現

○安彦 善裕, 三田村治朗, 西村 学子,  
賀来 亨  
(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座)

**【目的】**細菌感染から生体を防御する抗細菌性の蛋白にディフェンシン(hBD)がある。hBDには $\alpha$ と $\beta$ があるが、 $\beta$ の一部は正常上皮細胞で発現していることが知られてきている。近年、ウイルス感染のみならず、細菌感染も癌の発生進展に関与しているとの報告がなされてきており、生体の細菌感染からの防御機構の発癌への係わりも議論されてきている。本研究では、hBDがこれらに大きく関わっているものと考え、口腔由来扁平上皮癌(OSCC)におけるhBDの発現様式を検索した。

**【材料および方法】**OSCC細胞株(SCC-9, SAS, Ca-9, HSC-4, KB), および扁平上皮癌と診断された手術材料を用い、いずれもtotal RNAを抽出した後、hBD-1 mRNAおよびhBD-2 mRNAの発現をRT-PCR法によって半定量的に検索した。一部の細胞には炎症性の刺激としてLPS, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ を添加し12時間後に、total

RNAを抽出して、同様にhBD-1および-2の発現を検索した。

**【結果】**OSCCでは、いずれにもBD-2の発現は観察されたが、SAS, KBではhBD-1の発現は認められなかった。SCC-9ではLPS, TNF- $\alpha$ の添加でhBD-2のup-regulationがみられたが、SASにはhBD-2の発現の変化はみられなかった。手術材料では、発現のレベルは様々であったが、いずれもhBD-1およびhBD-2の発現が確認された。

**【考察】**OSCCの中にはBD-1の発現の減弱しているものや、hBD-2の発現が炎症性刺激によるregulationされないものがあり、細菌感染に対するリスクの高いことが示唆された。

**【結語】**口腔扁平上皮癌のhBD-1および-2の発現様式を実証した。

## 29. PSK (免疫賦活剤) によるMn-SODの誘導と癌細胞の悪性化進展の抑制

○小林 徳栄, 柴田 敏之, 中井 一元,  
永易 裕樹, 河野 峰, 青山 哲也,  
中田 大地, 有末 眞  
(北海道医療大学・歯・口腔外科第二講座)

**【目的】**口腔癌を含む癌の悪性化進展に炎症が深く関与することが知られている。我々は、これまで、マウス線維肉腫BMT-11より得られた退縮型QR癌細胞を用いて炎

症と癌悪性化進展の関連を検討してきた。その結果、癌細胞の悪性化進展が、免疫賦活剤のPSKによって抑制されること、この悪性化進展には炎症細胞の産生する活性