

不正および咬合異常を認めたため、保護者と相談の上、全身麻酔下にて抜歯術を施行した。特に問題は認められず、現在は紹介元にて経過観察中である。

**【考察】**：全ての永久歯群における過剰歯の発生頻度は約 2～3%とされる。正中過剰歯の出現する歯数は、1 歯が 70～80%で、3 歯以上みられるものは 1%前後と非常に稀である。複数の過剰歯を認める場合は全身疾患や遺伝性疾患に伴い出現することが多いが、今回の症例では全身的な問題は認められなかった。

### 研究助成成果報告（平成 29 年度採択課題）

#### 1. エナメル上皮腫の新規治療法開発に向けての増悪因子の分子生物学的解析

Molecular biological analysis of exacerbation factors for the development of new treatments for ameloblastoma

○石河 太知

岩手医科大学微生物学講座分子微生物学分野

#### 【目的】

エナメル上皮腫の顎骨内の侵襲的な増大や、まれに見られる悪性化・転移には、細胞接着因子である Laminin (LM) 等の発現や、サイトカインの関与が示唆されている。しかし現在、本疾患の分子生物学的なメカニズムについては不明な点が多く残されている。また、その増悪には歯周病原細菌の関与が疑われるものの、これまでそれら細菌の影響は全く検討されていない。そこで本研究では 3 種の細胞株を用い、細胞接着因子、サイトカインに加え、細菌由来因子も含めた本疾患の増悪に関するメカニズムについて明らかにすることを目的とする。

#### 【方法】

同一のエナメル上皮腫から分離され性状の異なる HAM1, HAM2, HAM3 を用いた。トランスウェルカルチャーインサートを LM332 でコーティングし migration assay を行った。細胞数は 400 倍の顕微鏡下で計測した。酪酸や EGF および TGF  $\beta$  で細胞を刺激後、total

RNA を抽出・精製し、quantitative reverse-transcription PCR (qRT-PCR) を行った。さらに 3 次元培養法を確立し、2 次元培養法との比較や酪酸の影響を qRT-PCR により検討した。

#### 【結果】

LM332 が 3 種すべての細胞株の migration に影響を及ぼした。酪酸の刺激により EGF と TGF  $\beta$  の mRNA 発現が HAM2 と HAM3 で有意に増加した。さらに、LM  $\beta$  3 の mRNA 発現は、EGF および TGF  $\beta$  で刺激されたそれぞれの細胞株で増加した。3 次元培養法では 2 次元培養法に比べ遺伝子発現レベルが有意に高く、また酪酸に対する反応性も高い傾向にあった。

#### 【考察】

以上より、酪酸はエナメル上皮腫からの EGF および TGF  $\beta$  の産生を誘導することが示唆された。また、それらがオートクラインに作用することにより LM332 の発現が上昇しエナメル上皮腫の悪性化に強く関与する可能性が示唆された。

#### 2. LPS とチタン粒子を作用させた歯肉上皮細胞の生化学的応答

Biochemical response of gingival epithelial cells to LPS and titanium particles

○菅原 志帆

岩手医科大学歯学部 補綴・インプラント学講座 補綴・インプラント学分野

研究背景および目的：インプラント周囲炎の原因は、歯周炎と同様に口腔内のプラーク細菌叢である。また、歯周炎と比較して骨吸収の進行が早く難治性であることが知られており、この違いは細菌の為害性以外にチタンより（摩擦や溶解で）脱落するサブミクロンチタンが影響している可能性がある。本研究では、インプラント周囲炎と歯周炎に共通して多い歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* のリポ多糖 (LPS) (Pg-LPS) と大腸菌由来のリポ多糖 (Ec-LPS) ならびにサブミクロンチタンが、ヒト歯肉上皮細胞株 (CA9-22) の産生する炎症性サイトカイン mRNA 発現に及ぼす影響を検討したので

報告する。方法：本研究で使用した CA9-22 は、10% FBS および 1% 抗生物質を添加した DMEM 培地に 37 °C、5% 気相下にて継代培養したものをを用いた。24 穴マイクロプレートに  $1.0 \times 10^5$  cells/well で播種し 48 時間培養した。その後、① 10  $\mu\text{g/ml}$  Pg-LPS、② 1  $\mu\text{g/ml}$  Ec-LPS、③ 10 $\mu\text{g/ml}$  と④ 100 $\mu\text{g/ml}$  の濃度のサブミクロンチタンで刺激を行い、1、3、6、24 時間後の炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8) の mRNA 発現量をリアルタイム RT-PCR にて測定した。

結果および考察：Pg-LPS は Ca9-22 細胞に IL-8 の mRNA 発現を誘導し、作用 1 時間後で、発現量は最大となり、以降発現は低下した。同様に、他の 3 つのサイトカインの mRNA の発現

も作用 1 時間後に顕著になり、以降減少した。また、Ec-LPS とサブミクロンチタンによる刺激時でも Pg-LPS 刺激と同様の挙動が観察された。以上より、歯肉上皮細胞の防御反応 (具体的には、活性酸素を放出する好中球の走化性等) は *P. gingivalis* 感染後、早期から惹起されていると推測された。さらに IL-8 については上皮細胞がオートクラインに産生して血管新生を誘導し、インプラント周囲炎の初期生体反応を引き起こしていると考えられた。サブミクロンチタンは、上皮細胞には貪食能は無いので、接触することによって上皮細胞に炎症性サイトカインを産生させることが示唆された。今後、Pg-LPS とサブミクロンチタンの重畳効果の検証も行っていく予定である。