

*anginosus* は長らく病原性が無いと考えられていたが、1998年に食道癌組織への感染が明らかにされて以来、*Helicobacter pylori* 同様、感染発癌の原因細菌の一つとして注目されている。分子微生物学分野の佐々木准教授らの研究グループも口腔癌を対象に *S. anginosus* 感染について検討し、口腔扁平上皮癌の約45%で *S. anginosus* 感染が見られることを報告した (Sasaki M et al., 2005)。感染発癌のメカニズムは必ずしも明確にはなっていないが、近年、マウスの胃粘膜上皮細胞への *H. pylori* 感染で活性化誘導シチジン脱アミノ酵素 (AID: activation-induced cytidine deaminase) の過剰発現が誘導されることが明らかにされ、AIDの異所性発現と感染発癌の関連性が強く示唆されるにいたっている (Matsumoto Y et al., 2007)。そこで本研究では、*S. anginosus* による口腔癌発癌機序の解明を目的として、口腔癌組織中の *S. anginosus* の感染実態と AID 発現の関連性について検討した。さらに、*S. anginosus* 菌体およびその生理活性物質で刺激した株化上皮細胞における AID 発現誘導についても検討を行った。

方法：本研究は岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った (#01177)。岩手医科大学附属病院歯科医療センター口腔外科を受診した口腔癌患者を対象に、インフォームドコンセントを得た後、biopsyあるいは外科処置時に口腔癌組織を採取した。癌組織中の *S. anginosus* 感染および AID 発現は、ゲノム DNA および RNA を抽出後、*S. anginosus* および AID に特異的なプライマーを用いて PCR および real time PCR で検討した。培養菌株は *S. anginosus* NCTC 10713 株を、その生理活性物質としては SAA (Sasaki M et al., 2001) を用いた。株化上皮細胞はヒト咽頭上皮 HEp-2 細胞、ヒト胃上皮 HGC-27 細胞、ヒト舌上皮 DOK 細胞およびヒト食道上皮 OE21 細胞を用いた。*S. anginosus* 菌体および SAA 刺激による株化上皮細胞での AID 発現誘導は real time PCR で解析した。

結果：口腔癌組織9例中6例で *S. anginosus* のゲノム DNA が検出され、そのうち5例では AID 発現誘導が観察されたことから、*S. anginosus* 感染と AID 発現誘導の関連性が示唆された。一つの口腔癌組織サンプルで病変中

心部と周辺的正常域に近い部位での AID 発現を比較した結果、口腔癌病変中心部での AID 発現が高かった。*In vitro* 実験系では、*S. anginosus* 菌体、SAA のいずれの刺激によっても HEp-2 細胞、HGC-27 細胞、DOK 細胞では AID 発現が誘導された。

考察及びまとめ：これらの成績より、*S. anginosus* およびその生理活性物質 SAA は粘膜上皮細胞に AID の異所性発現を誘導し、本菌による発癌機序に関与している可能性が示唆された。

### 演題3. 骨再生組織への血管系構築のイメージング解析

○増田 智幸, 大津 圭史\*, 藤原 尚樹\*, 坂野 深香\*, 星 秀樹, 杉山 芳樹, 原田 英光\*

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座  
口腔外科学分野, 同解剖学講座発生生物・再生医学分野\*

背景・目的：血管は再生組織への酸素や栄養供給、骨髄間葉系幹細胞の遊走など様々な働きをしており、骨再生の過程において血管の構築は欠かせない。しかし、骨新生と血管新生の過程でどのように誘導されるかは完全には明らかになっていない。そこで本研究は、骨再生と血管構築の関係を明確に解明するために、骨再生の実験モデルの確立と血管網構築のイメージング法を開発し、効果的な骨再生方法を開発することを目的に研究を行った。

方法：8週齢の ddY マウスの頭頂骨に直径 2.4 mm の骨欠損を左右対称に2カ所形成し、実験群には bFGF (basic fibroblast growth factor) 10 µg, BMP-2 (bone morpho-genetic protein 2) 1 µg 含有 MedGel または HGF (hepatocyte growth factor) 200 ng, BMP-2 1 µg 含有 MedGel を埋入した。また対照群には、BMP-2 1 µg 含有 MedGel を埋入した。埋入直後、2週、3週、4週、8週に同一マウスをµCTにて撮影して三次元的に骨再生の経過を観察した。

次に、Flk1-GFP 遺伝子改変マウスの背部皮下に E18.5 のマウス歯胚を移植し、移植歯胚に周囲の血管を観察した。さらに全身麻酔下に左

心室より、赤色蛍光色素 DiI を全身に灌流することで微小血管造影を行った。Flk1-GFP を観察することで血管内皮細胞ならびにその前駆細胞の存在を観察した。

結果：CT 所見において、対照群と比較して、HGF と BMP-2 を使用した群は 2 倍以上の骨再生を認めた。

DiI を用いた血管造影法により、マウス歯胚および頭頂骨骨欠損部位周囲の血管を 3D でイメージングを行うことができた。さらに、背部皮下に移植した歯胚内に侵入してくる Flk1-GFP 陽性の血管内皮細胞を観察できた。

考察及びまとめ：HGF と BMP-2 を使用した群では、BMP-2 単独の群よりもはるかに短時間で顕著な骨新生が認められた。この結果より、これらの実験群を比較することで骨再生のスピードと血管構築との関係を検討する実験系が確立できた。また DiI を用いた血管造影法と Flk1-GFP マウスを組み合わせることにより、新生血管の形成過程を検出することが可能になったと考えられた。

今後、上記の二つの方法を用いて骨新生の過程と構築される血管を詳細に調べ、骨再生と血管新生の関係を明らかにする。その結果を基に、効果的な骨再生方法を検討していく予定である。