

4) 炎症性サイトカイン産生におけるアジスロマイシン水和物の抑制効果

○玉井利代子, 清浦 有祐
(奥羽大学・歯・口腔病態解析制御)

【目的】アジスロマイシンは、マクロライド系抗菌薬だが、炎症性サイトカイン産生を抑制することでも広く知られている。本研究では、細菌の菌体成分が引き起こすJ774.1細胞の炎症性サイトカイン産生に対するアジスロマイシン水和物の作用を検討した。

【方法】アジスロマイシン水和物は蒸留水で溶解後、0.22 μ mフィルターでろ過してから用いた。菌体成分の合成品は、Toll-like receptor 4リガンドであるリピドAを使用した。マウスマクロファージ様細胞J774.1は、10%ウシ血清含有RPMI1640培地を用いて、37°C、5%CO₂インキュベーターで継代培養後供試した。すなわち、同細胞を96穴プレートに1穴あたり2 \times 10⁶播種して18時間培養した後、無血清RPMI1640培地で3回細胞を洗い、リピドA 100 ng/mlとアジスロマイシン水和物 (0, 12.5, 25 および 50 μ M) を含む培地で6時間培養後、上清を回収した。上清中の炎症性サイトカイン、IL-6, MCP-1, MIP-1 α および TNF- α 産生はELISAで検討した。また、J774.1細胞を60 mmディッシュに1枚あたり5 \times 10⁶播種して18時間培養した後、無血清RPMI1640培地で3回細胞を洗い、リピドA (100ng/ml) とアジスロマイシン水和物 (50 μ M) を含む培地で6時間培養後、核タンパク抽出を行い、ELISAで転写因子NF- κ BとAP-1の活性化を検討した。

【結果と考察】アジスロマイシン水和物は、リピドAによるJ774.1細胞のIL-6とMIP-1 α の産生が濃度依存的に抑制した。しかしながら、リピドAによる同細胞のMCP-1産生はアジスロマイシン水和物で増加した。一方、TNF- α ではアジスロマイシン水和物による産生の変化がみられなかった。さらに、アジスロマイシン水和物によってAP-1は活性化したが、同抗菌薬はNF- κ Bを活性化しなかった。今後は、同転写因子の抑制剤または上記サイトカインに対する抗体を用いた抑制実験を試みて、アジスロマイシン水和物の炎症性サイトカイン産生制御の機序を検討する。

5) Mineral Trioxide Aggregate セメントの骨形成作用

○前田 豊信¹, 鈴木 厚子², 湯澤 仁¹
馬場 優¹, 木村 裕一¹, 加藤 靖正^{1,2}

(奥羽大・歯・口腔機能分子生物学¹,
奥羽大・大学院・口腔生化学²,
奥羽大・歯・総合臨床医学³,
奥羽大学・大学院・歯科保存学⁴)

【目的】Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は象牙質再生作用にあることはよく知られており、アベキシフィケーションや根尖孔症例などにも応用される。最近の研究では、MTAに骨形成能や幹細胞分化誘導能があることがわかってきた。しかし、骨形成能に関して、その分化促進機構については依然として不明点が多い。今回、私たちは、*in vitro* でMTAによる骨芽細胞の石灰化促進機構について詳細に解析したので報告する。

【方法・結果】マウス骨芽細胞様細胞であるMC3T3-E1細胞にMTAの懸濁培養液 (1または2.5 μ g / mL) を添加すると、有意な石灰化促進が認められた。最も多い骨基質であるコラーゲンの分解に関与する、MMP-13, MMP-9はMTAの添加で遺伝子発現と活性は有意な上昇を示した。それにも関わらず、基質中に蓄積されるコラーゲン量はMTAの添加で上昇した。これは、MTAによってCol-1, Col-3の遺伝子発現が上昇した結果である。骨基質中の非線維性タンパクで主要なものの一つであるオステオカルシン (OCN) は、MTAの刺激により、遺伝子発現量と培地中への分泌量共に有意な上昇をみせた。しかし、一般にOCNの上流シグナル分子であるBMP-2への影響は認められなかった。一方、小胞体ストレスに深く関与するATF6の遺伝子発現と、タンパクの発現は有意な上昇を認めた。そこで、ATF6がOCN遺伝子発現に関与するのかを調べる目的で、ATF6の活性型であるp50を一過性に強制発現させたところ、OCNの遺伝子発現が上昇した。そこで、MTAの影響によって、OCNプロモーターに結合するATF6の増減を調べる目的で、クロマチン免疫沈降を行った。その結果MTAの刺激でOCNプロモーターに結合するATF6が増加していることが分かった。さらにATF6を活性化する酵素であ

るS2Pのインヒビターを添加すると、MTAによって誘導されたOCN遺伝子発現が有意に減少し、さらに石灰化も抑制された。

【考察】MTAによる骨芽細胞の石灰化促進機構の1つには、ATF6の発現亢進に伴うOCN転写促進が考えられる。

6) 人工的微小運動による骨結合（骨結合不全に対する骨結合促進作用の研究）

○佐藤 篤

(あつ歯科)

近年、インプラント治療に対してより進化した術式・材料・診断法が開発されている。それらによって従来では困難であった症例に対しても安全で確実なインプラント治療が可能になった。さらに、低侵襲な治療や短期間での治療も可能となってきた。インプラント体の表面性状の進化は確実に短期間での骨結合を可能とし、免荷期間の短縮を実現した。埋入術式と診断法の進化はより低侵襲で患者負担の少ない治療可能とし、治療期間の短縮を実現した。補填材や血液製材などの材料やそれに伴う技術の進化はより適応範囲の拡大を可能とし、難症例への対応を実現した。

短期間で難症例への治療が可能になってきた反面、骨結合に対する評価は従来の免荷期間を基準とする評価が主流である。免荷期間終了後に締結トルク測定による評価法や動揺度測定器による骨結合評価法も有効であり、これらすべての項目での総合した骨結合評価が必要である。

骨結合評価が免荷期間のみによる判断の場合は、免荷期間終了後の骨結合不全の可能性も否定できない。

今回、①Socket lift, ②Immediate loading, ③Socket preservationの症例に於いて免荷期間終了後にペリオテストを用いて動揺度を測定した結果、骨結合不全の評価であった。

これらの症例に対して12~18週間動揺度を1回/週の間隔で測定した結果、すべての症例に於いて動揺度が改善し25~28から-1~-5となり、骨結合促進を確認できた。これは、骨のリモデリングサイクル休止層において骨細胞に存在するとされるMechano Sensorに対するMechanical

Forceを人工的負荷として作用させたと考えられる。

これまでに骨結合不全症例に対しての有効な治療法は報告されていない。

今回、人工的な微小運動により骨結合促進作用を認めたことにより、従来では抜去適応であったインプラントを救済できる可能性も示唆された。今後さらなる検証が必要と思われる。