

動値に有意差は認めなかった。その中で患者群は、2つの健常者群に対し副交感神経活動レベルの有意な低下を認めた。また患者群の追加項目においては、全項目とも有意差を認めなかった。嚥下体操においては、介入により副交感神経活動の有意な上昇を認めた。

測定した数値は、各個人において安静時を基準値とした副交感神経活動の増減量で比較し、その結果、患者においてその活動レベルの低下を認め、それが摂食嚥下障がいの一要因であると考えられる。また嚥下体操の介入により副交感神経活動に上昇を認めたため、摂食嚥下機能改善策として有用な手段であると考えられる。

5) 高グルコース培養歯肉上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生と抗菌蛋白との関連について

○広瀬 公治
(奥羽大・歯・口腔衛生)

【緒言】糖尿病と歯周病との関連についての知見が蓄積されつつある。歯周病の発症と進行には歯周局所の環境が深く関与することが知られているが、糖尿病患者における高血糖状態が、生体のバリアとして機能している歯肉上皮細胞にどのような影響を与えているのかの検討は不十分である。

そこで今回、歯肉上皮細胞を用い、炎症反応のキーとなる Interleukin-1 (IL-1) と、自然免疫に重要な役割を果たす抗菌タンパク CAP18に着目し、培養環境グルコース濃度がその産生状態にどのような影響を与えるかの検討を行った。

【材料・方法】歯肉上皮細胞として、ヒト歯肉ガン由来の Ca9-22細胞を用いた。歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* の LPS (Pg-LPS) は ATCC33277株由来のものをを用いた。Ca9-22細胞は5.5mM グルコース (100mg/dl) で培養する Nomal Glucose 群 (NG 群)、その約4倍のグルコース濃度の High glucose 群 (HG 群) を設定し実験に供した。その後、それぞれの群に Pg-LPS (100ug/ml) を添加し24時間培養を継続し、培養終了後、細胞から total RNA を回収し、RT-PCR にて同細胞からの IL-1 β および CAP18 の mRNA 発現を検索した。

【結果】Pg-LPS は HG 群において Ca9-22細胞の IL-1 β mRNA の発現を誘導した。一方、NG 群でも IL-1 β mRNA の発現は認められたが、その発現は HG 群に比べ弱かった。CAP18産生に与える培養環境グルコース濃度の影響は、HG 群において CAP18 の mRNA 発現が NG に比べ低下していた。このことは、糖尿病患者において、口腔の自然免疫機能が低下している可能性を示唆する。

【考察】高血糖環境で培養した歯肉上皮細胞では、歯周病原性細菌の LPS による IL-1 β の産生が促進された。このことは、高血糖状態が歯周病の炎症反応を修飾することを示し、糖尿病と歯周病との関連を示す証拠のひとつになると考える。また、高血糖状態における歯肉上皮細胞からの CAP18産生減少は、歯肉上皮上の Toll like Receptor に結合する LPS の増加を招き、その結果、歯周病が進行してしまうという可能性が示された。

6) TLR2リガンドが誘導する炎症性サイトカイン産生における新規骨吸収抑制薬 MPMBPの抑制効果

○玉井利代子, 清浦 有祐
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【背景】骨吸収抑制薬ビスフォスフォネート (BPs) は、窒素を含む BPs と窒素を含まない BPs の2種類がある。窒素非含有 BPs の骨吸収抑制作用は弱い、抗炎症性作用を示すことが多い。本研究では、新規の窒素非含有 BP である [4-(メチルチオ)8 フェニルチオ] メタンビスホスホネート (MPMBP) の抗炎症性作用について検討した。

【材料・方法】TLR2リガンドである Pam3CSK4 は Invivogen から購入した。TLR4リガンドであるリピド A はペプチド研究所から購入した。マウスマクロファージ様細胞 J774.1は、10% ウシ血清添加 RPMI1640培地を用いて、5%CO₂, 37℃ で継代培養後、96穴平底マイクロプレートに1穴あたり2×10⁵個播種、または60 mm ディッシュに3×10⁶個播種した。一晚培養後2回細胞を洗ってから、同細胞を1, 10, 100 μ M MPMBP 含有または不含の培地で5分間培養後、Pam3CSK4ま

たはリピド A (1, 10, 100 ng/ml) 含有または不含培地で 3 ~ 24 時間インキュベートした。そして、上清または核タンパクを回収し、炎症性サイトカインまたは核内に移行した NF- κ B を ELISA で定量した。生細胞数は MTS 法で検討した。転写因子 NF- κ B の活性化は、核内に移行した p65, p50, p52 および RelB を比較した。

【結果・考察】MPMBP は、Pam3CSK4 が誘導した J774.1 細胞の IL-6, MCP-1, MIP-1 α および TNF- α 産生を抑制した。また、MPMBP は細胞傷害を誘導しなかった。さらに、MPMBP は、Pam3CSK4 によって増強した NF- κ B p65 の活性化を抑制した。しかしながら、NF- κ B p52 と RelB の活性化は抑制しなかった。一方、MPMBP は、リピド A が誘導した J774.1 細胞の IL-6, MCP-1, MIP-1 α および TNF- α 産生と NF- κ B の活性化は抑制しなかった。以上の結果は、新規の窒素非含有 BP である MPMBP の抗炎症作用を示す。慢性炎症による過剰な炎症性サイトカインは、動脈硬化プラーク形成にも関連することが分かっている。本研究の結果は、MPMBP が動脈硬化プラーク形成の緩和剤として使用できる可能性を示唆する。

7) 口腔 *Veillonella* の新規エネルギー代謝経路の探索

○眞島いづみ

(奥羽大・歯・口腔病態解析制御・口腔感染免疫)

【緒言】口腔 *Veillonella* は、糖を消費することが出来ず、う蝕の直接的原因となる「乳酸」を主なエネルギー源として消費することから、「抗う蝕作用」が示唆されてきた。しかし、その代謝経路を含め、詳細は明らかになっていない。

本研究は、口腔 *Veillonella* のユニークな生理作用を利用した新規う蝕予防法の開発を目的とし、本発表ではその基礎研究として、口腔 *Veillonella* 全 7 菌種のエネルギー代謝経路を in silico アプローチにより再解析した結果を報告する。

【材料・方法】

1. ドラフトゲノムを利用した代謝経路解析

口腔 *Veillonella* 全 7 菌種の供試株には標準株を用いた。ゲノミック DNA を抽出後、Illumina

NextSeq 500 を用いて、ドラフトゲノム解析を行った。更に、得られた CDS 情報を KEGG で照会し、代謝経路毎に該当酵素のマッピングを行った。

2. 糖代謝関連酵素の進化系統解析及び終末代謝産物の測定

上記代謝経路解析によって、その存在が明らかになった糖代謝関連酵素の進化系統解析を行い、特徴的進化系統を示した菌種の培養上清を用いて、その終末代謝産物の HPLC 解析を行った。

【結果】ゲノム解析結果から、口腔 *Veillonella* 全 7 菌種において、ホスホグルコムターゼ、ヘキソキナーゼ、グルコキナーゼ、フルクトキナーゼの糖代謝関連酵素の遺伝子の保存が確認された。

また、遺伝子の保存が確認された上記酵素のうち、スクロース代謝に関連するホスホグルコムターゼにおいて、*V. denticariosi* が特徴的進化系統を辿っていた。さらに、その培養上清を HPLC 解析した結果、スクロースを基質として「乳酸」を産生していることが明らかとなった。

【考察】糖代謝関連酵素の遺伝子の保存が全 7 菌種で認められ、口腔 *Veillonella* の新規エネルギー代謝経路の存在が明らかになった。更に、スクロース代謝に関しては、*V. denticariosi* においてホスホグルコムターゼが機能し、終末代謝産物として「乳酸」を産生したことから、口腔 *Veillonella* は「糖」と「乳酸」の両者をエネルギー源として消費することが可能であり、「抗う蝕性」と「う蝕病原性」の二面性を持ち合わせることが示唆された。

8) 当科における耐性菌検出状況および分離菌の検出状況

○神林 直大^{1,2}, 川崎カオル², 小嶋 忠之²

金 秀樹^{1,2}, 高田 訓^{1,2}, 柴田由美子³

(奥羽大・大学院・顎口腔外科, 奥羽大・歯・口腔外科,

奥羽大・歯・附属病院³)

【緒言】本邦では抗微生物薬の乱用により薬剤耐性菌が増加しており、2016 年には薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランが策定された。今回われわれは、当科において膿瘍から検出された分離菌と、その菌の感受性検査を検索し、抗菌