

6) 酸性pHeによるMMP-9活性化経路におけるPAKの役割

○川嶋 雅之¹, 前田 豊信², 鈴木 厚子²
加藤 靖正², 高田 訓

(奥羽大・大学院・顎口腔外科,
奥羽大・歯・口腔機能分子生物², 奥羽大・歯・口腔外科²)

【緒言】腫瘍細胞のエネルギー代謝は主に好気的解糖に依存することが知られている。これにより、腫瘍組織の微小環境の1つである細胞外pHが低下すると、がん細胞は極性を失い、線維芽細胞様の形態に変化する上皮間葉転換(EMT)を起こす(Kato Y *et al.* Cancer Cell Int. 2013)。マウスメラノーマ細胞B16-BL6細胞でも、細胞外pHの低下は、細胞形態を変化させ、マトリックスメタルプロテアーゼ-9(MMP-9)の発現促進につながっていた。また、この発現機構は、RhoAの活性化を介し、その下流でホスホリパーゼD1(PLD1)の活性化を伴っていたが、PLD2は関与していなかった(Maeda T *et al.* 2013 Int J Oncol. 2016)。

セリン/スレオニンキナーゼであるPAK(p21 activated kinases)は、ペプチド配列相同性に基づいて2つのグループに分類される。すなわち、グループI(PAK1, PAK2, PAK3)とグループII(PAK4, PAK6, PAK7)である。グループIは、細胞骨格動態、形態学、細胞生存や移動などを含む様々な細胞機能の調節を行っていることが知られている。一方、最近発見されたグループIIは、膵臓癌や結腸直腸癌、胃癌、乳癌などで過剰発現されていると報告されているが、その機能については不明な点が多い。そこで、本研究では、細胞外pHによるMMP-9活性化調節において、グループIIのPAK6, PAK7の役割を解明することを目的とする。

【材料・方法】B16-BL6細胞にCRISPR/Cas9を導入しPAK6, PAK7のノックアウト株を作製し、MMP-9の産生をゼラチンザイモグラフィにて解析した。これらの細胞に野生型、キナーゼ不全型、恒常的活性型のPAK6, PAK7を強制発現させ、MMP-9産生の変化を観察した。

【結果】酸性細胞外pHによって誘導されるMMP-9の発現増加は、PAK6とPAK7の強制発

現で抑制された。PAK6, PAK7ノックアウトは、中性条件下ではMMP9発現を増加しなかったが、酸性により誘導されるMMP-9増加をさらに増加させた。これが、PAKキナーゼ活性と関連しているのかを調べる目的で、ノックアウト細胞に、恒常的活性型のPAK6, PAK7を強制発現させたところ、野生型の強制発現と比較して、MMP-9産生はさらに抑制され、キナーゼ不全型の発現は、mockと同程度までMMP-9産生増加が回復した。

【まとめ】これらの結果からPAK6, PAK7はMMP-9の発現を抑制させるネガティブフィードバック機構があると示唆された。

7) 口腔乾燥の自覚と唾液量、口腔湿度との相関

○高橋文太郎, 高田 訓
(奥羽大・歯・口腔外科)

【緒言】唾液の分泌低下は、口腔乾燥症、カンジダ症、Burning Mouth Syndrome、口臭症、味覚障害などの口腔障害を誘発する。中でも口腔乾燥症は増加傾向が強く、その原因はさまざまである。

口腔乾燥症の診断と評価には唾液分泌機能の測定が一般的であるが、患者の訴えと実際の検査値とが一致しないことも多い。そのため、日常の臨床においても自覚的口腔乾燥症状と検査値との整合が重要となる。そこで本研究では、自覚症状、刺激時唾液量、安静時唾液量、口腔水分度の測定を行い、その整合性を検討した。

【対象および方法】対象は、2014年1月から2018年12月に、口腔乾燥を主訴に奥羽大学歯学部附属病院口腔外科を受診した患者のうち、薬剤性の口腔乾燥やシェーグレン症候群が否定され、全身的既往のない16例(男性:3例, 女性:13例, 平均年齢:62.3±5.4歳)とした。

検査項目はvisual analogue scale(以下VAS)、刺激時唾液量、安静時唾液量、口腔水分度、血清亜鉛値とした。Spearman順位相関係数で相関関係を検討した。

【結果】VASとサクソテストは相関を示さなかった。安静時唾液量、口腔水分度、血清亜鉛はいずれもVASと負の相関を認めた。口腔水分

度は刺激時唾液量、および安静時唾液量と正の相関を示した。しかし、刺激時唾液量と安静時唾液量は相関を示さなかった。

VASと安静時唾液、口腔水分度、血清亜鉛では口腔水分度が強く相関を示していた。また口腔水分度と刺激時唾液量、安静時唾液では安静時唾液がより強い相関を示していた。

【結論】口腔乾燥に対するVASはサクソテストとは相関を示さなかったが安静時唾液とは相関を示していた。患者の自覚症状は刺激時唾液よりも安静時唾液量が反映されていると考えられた。血清亜鉛の低下が口腔乾燥感に影響を与えていること示唆された。

口腔乾燥症を評価する際の簡便な方法として、分泌能検査とともにVAS、口腔水分度を測定することが有用と考えられた。

8) 窒素非含有ビスフォスフォネートによる炎症性サイトカイン産生抑制のメカニズム

○北條健太郎, 玉井利代子, 清浦 有祐
(奥羽大・大学院・口腔感染症)

【背景】骨吸収抑制薬ビスフォスフォネート(BP)は、窒素を含むBPと窒素を含まないBPの2種類がある。窒素非含有BPの骨吸収抑制作用は弱い、抗炎症性作用を示す。本研究では、国内で唯一承認されている窒素非含有BPであるエチドロネート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60mm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 μM エチドロネート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2~24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-κBをELISAで定量した。細胞傷害は上清中の

乳酸デヒドロゲナーゼを指標にして検討した。転写因子NF-κBの活性化は、核内に移行したp65を比較した。

【結果・考察】エチドロネートは、Pam3CSK4が誘導したJ774.1細胞のIL-6, MCP-1, MIP-1αおよびTNF-α産生を抑制した。また、エチドロネートは細胞傷害を起こさなかった。さらに、エチドロネートは、Pam3CSK4によって増強したNF-κB p65の活性化を抑制したが、p38分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼの活性化は抑制しなかった。そして、エチドロネートは、リピドAが誘導したJ774.1細胞のIL-6, MCP-1, MIP-1αおよびTNF-α産生とNF-κBの活性化は抑制しなかった。以上の結果から、エチドロネートはTLR2シグナル伝達を抑制することで抗炎症性作用を示すことが示唆された。

9) 歯科用コーンビームCT画像による下顎無歯顎前歯部領域の顎骨構造の観察

○田中 直毅¹, 船川 竜生¹, 酒井 悠輔¹
河村 享英², 宇佐美晶信³, 関根 秀志^{1,2}
(奥羽大・大学院・咬合機能修復,

奥羽大・歯・歯科補綴², 奥羽大・大学院・口腔機能解剖³)

【緒言】下顎無歯顎症例に対しては、多くのインプラント支持型固定性補綴装置に加えて、少数のインプラント支持型オーバーデンチャー(以下、IOD)の適用で、患者の満足度が増加するとされている。一般に2本のインプラントによるIOD(以下、2IP-IOD)では、両側の側切歯-犬歯間部付近にインプラントを設置するが、インプラント治療の負担の更なる軽減を期待して正中部への1本のインプラントによるIOD(以下、1IP-IOD)の応用が注目されている。

そこでこのたび、2IP-IODに対する1IP-IODの治療成績を推察するための基礎的研究として、下顎無歯顎の両側側切歯-犬歯間部と正中部の顎骨構造を比較することを目的に歯科用コーンビームCT(以下、CBCT)による形態計測をおこなった。

【材料・方法】試料は本学歯学部実習用無歯顎の奥羽大学歯学部実習用遺体10体を用いた。通法に従いFH平面が床と平行になるように頭部を