

## 第70回松本歯科大学学会（総会）

■日時：2010年7月10日(土) 13：00～15：50

■会場：講義館201教室

## プログラム

## 評議員会・総会（2010年度）

13：00～13：50 評議員会・総会

## 一般講演

14：00 開会の辞 矢ヶ崎 雅 学長

14：05 座長 土屋 総一郎 講師

## 1. 咬合力によるインプラント体の疲労解析

○永沢 栄<sup>1</sup>, 吉田貴光<sup>1</sup>, 山添正稔<sup>2</sup><sup>1</sup>(松本歯大・歯科理工), <sup>2</sup>(松本歯大院・生体材料)

## 2. 松本歯科大学病院来院患者の60歳以上における

パノラマエックス線写真による歯科実態調

○山田真一郎<sup>1</sup>, 内田啓一<sup>1</sup>, 三木 学<sup>2</sup>, 横井隆政<sup>2</sup>,窪川恵太<sup>2</sup>, 長内 秀<sup>1</sup>, 望月慎恭<sup>1</sup>, 杉野紀幸<sup>1</sup>,黒岩博子<sup>1</sup>, 藤木知一<sup>1</sup>, 田口 明<sup>1</sup>, 吉成伸夫<sup>2</sup><sup>1</sup>(松本歯大・歯科放射線), <sup>2</sup>(松本歯大・歯科保存I)

## 3. 松本歯科大学口腔外科における10年間の初診患者の推移

○宮下みどり<sup>1,2</sup>, 安田浩一<sup>1,3</sup>, 石濱孝二<sup>1,4</sup>, 中山洋子<sup>1,3</sup>, 古澤清文<sup>1,4</sup><sup>1</sup>(松本歯大・口腔顎顔面外科), <sup>2</sup>(松本歯大院・健康分析),<sup>3</sup>(松本歯大院・生体調節), <sup>4</sup>(松本歯大院・機能評価)

14：41 座長 笠原 香 准教授

## 4. PBL (Problem-based learning) 実習で使用された教科書についての検討

○長内 秀<sup>1</sup>, 内田啓一<sup>1</sup>, 三木 学<sup>2</sup>, 山田真一郎<sup>1</sup>, 望月慎恭<sup>1</sup>,杉野紀幸<sup>1</sup>, 黒岩博子<sup>1</sup>, 藤木知一<sup>1</sup>, 吉成伸夫<sup>2</sup>, 田口 明<sup>1</sup><sup>1</sup>(松本歯大・歯科放射線), <sup>2</sup>(松本歯大・歯科保存I)

## 5. 歯学部初年次数物系教養科目における授業改善の試み

○田中忠芳<sup>1</sup>, 大島和成<sup>1</sup>, 増田裕次<sup>2</sup><sup>1</sup>(松本歯大・物理), <sup>2</sup>(松本歯大・総歯研・咀嚼機能)

## 15:05 座長:松浦 幸子 准教授

## 6. 黄色ブドウ球菌 V8 プロテアーゼの A549細胞への影響

—IL-8の誘導を中心として—

○平井 要<sup>1,3</sup>, 菊池有一郎<sup>1,3</sup>, 上田青海<sup>1,3</sup>, 柴田幸永<sup>2,3</sup>, 木曾有紀子<sup>3</sup>,大石真太郎<sup>3</sup>, 宮下みどり<sup>3,4</sup>, 大久保裕一郎<sup>5</sup>, 平岡行博<sup>5</sup>,加藤哲男<sup>6</sup>, 石原和幸<sup>7</sup>, 藤村節夫<sup>1,3</sup><sup>1</sup>(松本歯大・口腔細菌), <sup>2</sup>(松本歯大・総歯研・健康分析),<sup>3</sup>(松本歯大院・健康分析), <sup>4</sup>(松本歯大・口腔顎顔面外科),<sup>5</sup>(松本歯大院・疾患制御), <sup>6</sup>(東歯大・化学),<sup>7</sup>(東歯大・微生物)

## 7. 歯髓細胞の高い骨再生能力は, Annexin A8 ロングフォームを介して発揮される

○中道裕子<sup>1</sup>, 萩原貴寛<sup>2</sup>, 中村美どり<sup>3</sup>, 今岡朝代<sup>4</sup>,安孫子宜光<sup>4</sup>, 中村浩志<sup>5</sup>, 高橋直之<sup>1,2</sup>, 宇田川信之<sup>2,3</sup><sup>1</sup>(松本歯大・総歯研・機能解析), <sup>2</sup>(松本歯大院・機能解析),<sup>3</sup>(松本歯大・口腔生化), <sup>4</sup>(日大・松戸歯・生化学分子生物),<sup>5</sup>(松本歯大・総歯研・健康分析)

## 8. 破骨細胞の分化と機能を抑制する天然化合物アルクチゲニンの作用機序の解明

山下照仁<sup>1</sup>, 李 峰<sup>2</sup>, 上原俊介<sup>3</sup>, 小林泰浩<sup>1</sup>,宇田川信之<sup>3</sup>, 門田重利<sup>2</sup>, 高橋直之<sup>1</sup><sup>1</sup>(松本歯大・総歯研・機能解析), <sup>2</sup>(富山大・和漢医薬学研究所),<sup>3</sup>(松本歯大・口腔生化)

## 15:50 閉会の辞 高橋 直之 大学院歯学独立研究科長

## 1. 咬合力によるインプラント体の疲労解析

永沢 栄<sup>1</sup>, 吉田貴光<sup>1</sup>, 山添正稔<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・歯科理工), <sup>2</sup>(松本歯大院・生体材料)

### 【目的】

インプラント治療の成功率は現在では96%~98%と成っている。つまり、失敗率は2~4%となり、この内約1.5%がインプラントの破折によるものである。したがって、失敗例のかなりの部分が破折により生じているものと思われる。

筆者らは、破折しないインプラントを目指して、原材料の検討、荷重破壊試験、衝撃による疲労試験、有限要素法による解析等を既に行ってきた。今回は、インプラントの疲労破壊のメカニズムを探るべく、有限要素法を用いて繰り返し咬合力が働いた場合の解析を行った。

### 【方法】

解析は有限要素法プログラム (ANSYS Ver. 12.0) を用いて、既に解析結果の妥当性が実験にて確認されている、JIS 第4種純チタン製3分割インプラントモデルについて行った。荷重方向は全て45°方向とし、600Nのサイン波 (周波数: 1Hz, 30Hz) と、ネジ部に約120MPaの締結応力をあらかじめ掛けた後、松原<sup>1)</sup>の報告による芋干咀嚼時の最大咬合力 (92.78Kgf) が、佐々木<sup>2)</sup>の報告による時間変化によって生じた場合の咬合力の、0.21, 0.7, 0.7945, 1.0倍とした。解析はパーソナルコンピューター (Endeavor Pro 4300) を使用して行った。

### 【結果】

サイン波荷重では30 Hzの繰り返し荷重の方が1 Hzよりもネジ部に生じる塑性ひずみが大きくなった。

芋干咬合時の荷重では初回にインプラント体の破壊が予測され、疲労解析はできなかった。

サイン波荷重においては、253N, 芋干咀嚼時では194Nにおいて、フィクスチャーとアバットメント間にすべりが生じた。

芋干咀嚼時の最大咬合力の0.7, 0.7945倍の荷重条件において、初回の荷重において大きな塑性変形が生じ、開口期には引張り側であるネジ最上部、フィクスチャーネック部に圧縮応力が生じた。

インプラントのネジ部にかかる集中応力は、荷重繰り返し数が増加するに従い下方に移動した。

### 【考察】

有限要素法による疲労解析は、実験結果を完全には再現できなかったが、破壊部の移動や、ネジ部に掛かる応力の変化について有益な情報を得ることができた。実験結果の違いはインプラント体の構造と材質が異なっていたことに起因する可能性があり、今後さらに検討する必要があるものと考えられた。解析には Intel X 9650 CPU を用いたが、芋干咀嚼25回の解析に要した時間は約14~25日間、データ量は約100Gバイトと限界的なものであり、今後の検討には64ビット OS の導入が望まれた。

### 【参考文献】

- 1) 松原秀憲 (1981) 食品破壊時に発現する応力が歯牙に及ぼす影響に関する実験的研究. 歯科学報 **81**: 611-77.
- 2) 佐々木慎一 (1992) 食品破壊時における咀嚼力および下顎位の変化が咀嚼筋筋活動の Silent Period に及ぼす影響. 歯科学報 **92**: 67-117.

## 2. 松本歯科大学病院来院患者の60歳以上におけるパノラマエックス線写真による歯科実態調

山田真一郎<sup>1</sup>, 内田啓一<sup>1</sup>, 三木 学<sup>2</sup>, 横井隆政<sup>2</sup>,

窪川恵太<sup>2</sup>, 長内 秀<sup>1</sup>, 望月慎恭<sup>1</sup>, 杉野紀幸<sup>1</sup>,

黒岩博子<sup>1</sup>, 藤木知一<sup>1</sup>, 田口 明<sup>1</sup>, 吉成伸夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・歯科放射線), <sup>2</sup>(松本歯大・歯科保存I)

### 【目的】

近年高齢化社会を迎え、国民すべてが健康で明るく快適に過ごせる社会づくりを進めていくことが重要な課題である。『健康な心と体は口腔から』とも言われているように、口腔の健康が高齢者の生活の質を高める。また、口腔諸機能の低下にも配慮する必要がある。80歳で20本以上の歯を保つことを目標とした8020運動の推進により、高齢者の現在歯数の増加が認められている。松本歯科大学病院来院患者のパノラマエックス線写真による歯科実態調査を行ったので報告する。

### 【方法】

2007年～2009年の2年間に松本歯科大学病院を受診した患者の中で、60歳以上の高齢者442名(男性:213名, 女性:229名)を対象とした。資料はパノラマエックス線写真のみとし、現在歯数, 現在歯の状態(根管充填の有無, 修復・補綴治療の有無), 大臼歯部の歯槽骨吸収について検討を行った。

### 【結果】

現在歯数の最高は32歯, 一人平均現在歯数は19.7歯であった。20歯以上有する者は271名で, 80歳以上の被験者では18名であった。平均現在歯数は, 60～64歳が22.7歯, 65～69歳が21.7歯, 70～74歳が19.7歯, 75～79歳が16.4歯, 80歳以上が14.8歯であった。歯種別では, 最も高いのが下顎犬歯, 次いで下顎側切歯であり, 最も低いのが下顎第二大臼歯, 次いで下顎第一大臼歯であった。補綴・修復処置ではあまり有意差は認められなかったが, 根管充填で現在歯20歯未満の被験者が, 20歯以上の被験者をすべての年齢層で上回った。また, 無歯顎者は10名であった。歯槽骨吸収は, 吸収の程度が高い程欠損歯数が増加する傾向が認められた。

### 【考察】

60歳以上の患者の平均現在歯数は, 2005年歯科疾患実態調査による全国平均現在歯数より多いことがわかった。しかし, 詳細に残存歯の状態の検討を行うと, 高度な歯槽骨吸収, 残根状態のものもあり十分に機能していない残存歯も多く認められた。咀嚼機能等の口腔機能や口腔ケアと全身との関連(ADLの回復, 誤嚥性肺炎予防等)が明らかにされ歯科保健・医療の重要性への認識が飛躍的に向上してきた。日本の歯科保健国民運動として世界にも紹介されている。今後は現在歯数と歯槽骨の状態, 現在歯と全身疾患との関係や高齢者における歯科治療が身体機能改善にどのような影響があるか検討する予定である。

## 3. 松本歯科大学口腔外科における10年間の初診患者の推移

宮下みどり<sup>1,2</sup>, 安田浩一<sup>1,3</sup>, 石濱孝二<sup>1,4</sup>, 中山洋子<sup>1,3</sup>, 古澤清文<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・口腔顎顔面外科), <sup>2</sup>(松本歯大院・健康分析),

<sup>3</sup>(松本歯大院・生体調節), <sup>4</sup>(松本歯大院・機能評価)

### 【緒言】

現在日本は超高齢化社会に突入し, なかでも長野県は高齢者が多い地域として知られている。松本歯科大学病院は県のほぼ中央にあり地域歯科医療の中核を担っている。口腔外科は基礎疾患を抱える患者の観血処置や腫瘍性疾患を取り扱う診療科であるため, 近隣の医療機関との連携が多くされている。そこで過去10年間の初診患者の推移を調査した。

### 【方法】

2000年1月から2009年12月までの10年間に松本歯科大学病院口腔外科の初診患者を患者数・紹介元・紹介元の地域・紹介目的についてそれぞれ調査した。

### 【結果と考察】

松本歯科大学病院全体の初診数は10年間で41,270名, そのうち口腔外科の初診数は17,291名と41.9%を占めていた。口腔外科の紹介患者数は9,936名で, 紹介率は57.5%であった。紹介目的は抜歯依頼が最も多く6,228名(62.7%)で, 智歯抜歯依頼が4,398名(44.3%), 基礎疾患を抱える患者の抜歯依頼が1,830名(18.4%)であった。残りは顎関節疾患(6.4%), 腫瘍性疾患(3.8%), 嚢胞性疾患(2.9%), 粘膜疾患(2.7%)と続いていた。その他の項には, 唇顎口蓋裂患者のHotz床作製依頼や, 交通外傷による骨折などが含まれた。紹介元の地域は, 松本・諏訪・上伊那・木曾地域が多く, 当院を中心に半径40Km圏内がほとんどであった。2004年以降, 病院全体の初診数の減少と同調して口腔外科の初診数も減少に転じ, 主に抜歯目的の紹介患者数の減少が認められた。超高齢化社会という背景から基礎疾患を抱える患者数は増加傾向を示すと予想していたが, 実際には減少していた。

近年の歯科医療は大きく変遷し, 日本歯科医師会が提唱する8020運動によって歯科治療の必要性も啓発され, 高齢者の残根歯率も向上しているため抜歯の適応は少なくなったと推測される。さらに厚生労働省の統計による歯科医院数の年次推移によると, 全国的に歯科医院の増加を認めていた。そのため各医院は医療設備の充実や, 技術向上に努めた結果, 基礎疾患を有する患者に一般開業医で抜歯などの観血処置を含む歯科治療に対応できるようになったことも影響していると思われる。さらに, 口腔外科を標榜する歯科医院数も増加傾向にあるため, 遠方の大学病院よりも近くの通院容易な歯科医療機関へ紹介し, 智歯抜歯を行うケースが増えていることも考えられる。

今後も抜歯目的の患者数は減少することが予想されるため, それに対応した医療形態の提供が求められる。

### 4. PBL (Problem-based learning) 実習で使用された教科書についての検討

長内 秀<sup>1</sup>, 内田啓一<sup>1</sup>, 三木 学<sup>2</sup>, 山田真一郎<sup>1</sup>, 望月慎恭<sup>1</sup>,  
杉野紀幸<sup>1</sup>, 黒岩博子<sup>1</sup>, 藤木知一<sup>1</sup>, 吉成伸夫<sup>2</sup>, 田口 明<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>(松本歯大・歯科放射線), <sup>2</sup>(松本歯大・歯科保存I)

#### 【目的】

松本歯科大学歯科放射線学講座では, 歯科臨床における知識の必要性や役割を理解して自ら学習するために, 2007年度より実習班別にシナリオの提示するPBL (Problem-Based Learning) 実習をおこなってきた。このPBL実習において引用された教科書について, アンケートから検証を行なったのでその内容を検討し報告した。

#### 【方法】

2007年度1月から2009年度2月の期間にPBL実習を行った第5学年臨床実習生187名である。PBL実習は臨床症例ファイルをもとに作成したシナリオを使用し, 実習最終日に教授, 担当医局員と合同発表会を含めて3.5日間で行った。PBL実習において実習生が引用した全ての教科書をアンケート調査(複数回答)し, 検討を行った。

#### 【結果】

PBL実習において引用した教科書の総数は832で, 歯科放射線学は303, 口腔外科学は281, 口腔病理学は134, 口腔診断学が41, その他が73であった。歯科放射線学での引用頻度の高かった教科書は, 歯科放射線の臨床診断: 86, エッセンス歯科放射線学: 76, 歯科放射線学: 64であった。口腔外科では, KEY WORDS 4: 48, 口腔外科学: 41, 口腔外科マニュアル: 36, ハンディ口腔外科学: 35であった。口腔病理学では, 口腔病理アトラス: 39, わかる病理組織像: 30, 口腔病理カラーアトラス: 10であった。口腔診断学その他の教科書で引用頻度が高かったものは, 口腔病変の鑑別診断: 10, リスク患者の歯科治療ハンドブック: 10, 新常用歯科辞典: 10であった。

#### 【結論】

PBL実習で引用された教科書は, 幅広い領域で多くの教科書との引用頻度が高かったことが解っ

た。しかしながら、特に口腔外科領域においては、国家試験対策に準じた参考書の引用がとくに目立ったことから、PBL 実習の意義と実施方法あるいはシナリオの内容について検討する必要があると思われる。

5. 歯学部初年次数物系教養科目における授業改善の試み

田中忠芳<sup>1</sup>, 大島和成<sup>1</sup>, 増田裕次<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・物理), <sup>2</sup>(松本歯大・総歯研・咀嚼機能)

【背景・目的】

大学初年次で大学教養レベルの物理学およびそれに必要となる数学を学ぶための readiness は必ずしも十分でなく、大学入学前に数学や物理を履修していても、その定着度や興味・関心が高くないのは、全国的な傾向である。大学入学後、学びのパラダイムはシフトすると考えられ、それを無理なく効果的に行うこと、また、大学初年次として補完的内容を組み込んだ数物系教育プログラムを構築すること、これらを目的とした授業改善の必要がある。

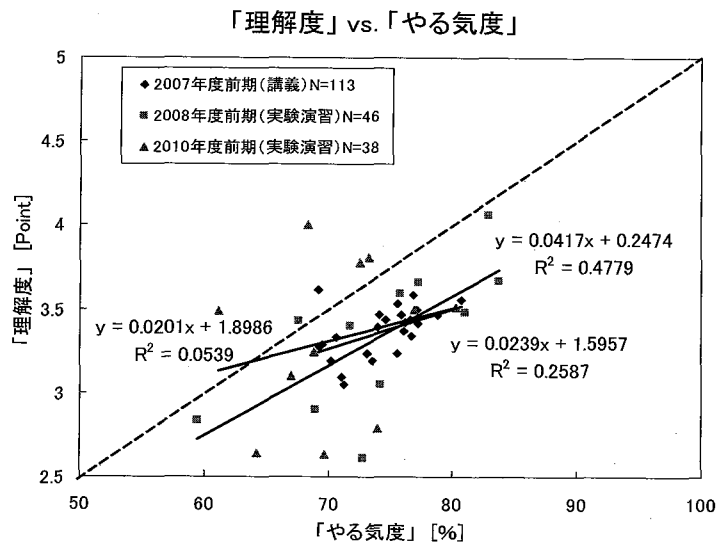
【改善内容】

松本歯科大学では2006年度から順次、初年次教育プログラムを改訂し、多様な学生に対応すべく取組みを行っている。2008年度以降、補完的内容の整備・充実と、座学と実験実習の効果的融合を図り、初年次数物系教養科目を「基礎自然科学（数理系）Ⅰ」（週2コマ，第1学年前期）、「基礎自然科学（数理系）Ⅱ」（週2コマ，第1学年後期）とし、物理学的内容と数理的内容を融合させた内容で実施している。週2コマのうち、1コマは講義、もう1コマは演習とし、講義で演示実験を取入れた解説を行っている。その後の演習では、講義で扱われた事項をグループで実験実習し、その内容に準拠した問題演習をグループで相談しながら行い、教員はこれらを支援する、という方式を採っている。講義や演習の履修内容を確認するために、毎週 Weekly Test を実施し、定期試験は Weekly Test と履修内容全般を踏まえた出題としている。課外の学生の学びを支援するために、毎週、演習問題などの解答例、授業の動画を学生イントラ等に掲載している。

また、第1学年の学生の多くが Campus Inn に寄宿していることから、そこでの学生間の学び合いも奨励している。

【結果・考察】

2008年度以降、演習として実験実習をグループで行うようになってから、授業に取り組む姿勢がより積極的になる学生の割合が増加した。また、授業内容に対する学生の「理解度」と「やる気度」を調べたところ、授業で扱う内容により「やる気度」も「理解度」も大きく変化することから、教授内容のさらなる精選と教授方法のさらなる工夫が必要であると考えられる。



## 6. 黄色ブドウ球菌 V8 プロテアーゼの A549 細胞への影響

### —IL-8 の誘導を中心として—

平井 要<sup>1,3</sup>, 菊池有一郎<sup>1,3</sup>, 上田青海<sup>1,3</sup>, 柴田幸永<sup>2,3</sup>,  
木曾有紀子<sup>3</sup>, 大石真太郎<sup>3</sup>, 宮下みどり<sup>3,4</sup>, 大久保裕一郎<sup>5</sup>,  
平岡行博<sup>5</sup>, 加藤哲男<sup>6</sup>, 石原和幸<sup>7</sup>, 藤村節夫<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>(松本歯大・口腔細菌), <sup>2</sup>(松本歯大・総歯研・健康分析),  
<sup>3</sup>(松本歯大院・健康分析), <sup>4</sup>(松本歯大・口腔顎顔面外科),  
<sup>5</sup>(松本歯大院・疾患制御), <sup>6</sup>(東歯大・化学),  
<sup>7</sup>(東歯大・微生物)

#### 【緒言】

細菌性プロテアーゼは、組織破壊に関連すると思われていたが、近年の報告では炎症反応とも密接に関わっている事が示されている。トリプシンなどは、マクロファージや上皮細胞のプロテアーゼ活性化型受容体 (PAR) などを介して細胞の生理活性に影響を与えている。歯周病原菌でもすでに報告があり、*Porphyromonas gingivalis* などでは、反応する受容体の種類も確かめられており、動物実験で歯周病に影響を与えることが確認されている (Infect. Immun. Vol. 69 5121-5130 2001, Am J Pathol Vol.168 1189-1199 2006)。黄色ブドウ球菌もすでに研究がある (Clin Exp Immunol Vol.144 534-542 2006) が、トリプシンと比較すると黄色ブドウ球菌のプロテアーゼの反応は弱く遅いように思える。そこで本研究は、黄色ブドウ球菌 V8 プロテアーゼのヒト細胞への影響について IL-8 産生を指標にして検討した。

#### 【方法】

供試細胞は PAR 1-4 を持つ A549細胞を用いた。V8 プロテアーゼは、和光社製のものを用いた。最初に、24ウェルプレートに播種する形で実験を行った。次にケモタキセル (クラボウ) およびピュアマトリックス (Becton Dickinson) を用いて、A549細胞を中空に懸架する形で培養を行い、培養に使うウェルの上層と下層を分け、上層にプロテアーゼを投入し、下層からサンプルを回収した。IL-8 は ELISA 法により測定した。V8 プロテアーゼ刺激は  $5 \times 10^4$  細胞あたり 0.1~1 unit の範囲で行った。ペプチドアンタゴニストによる阻害実験は、中空懸架時にのみ行い、添加量は 50 $\mu$ M とした。

#### 【結果と考察】

V8 プロテアーゼの IL-8 の誘導能は、16時間後まで、濃度依存的に高かった。しかし、24時間後では、濃度依存的な誘導は起こらず、プロテアーゼ量 1 unit の刺激は無刺激より IL-8 量が少なかった。サンプル中のプロテアーゼ残存活性を測定したところ 0.1-1.0 unit の刺激では、0.05-0.20 unit の範囲内でサンプル中のプロテアーゼ活性が残存することが分かった。ペプチドアンタゴニストによる阻害実験では、16時間後までは、PAR-1, 2 アンタゴニストでの阻害も認められたが、PAR-4 アンタゴニストによる阻害が最も大きかった。24時間後では、ポジティブコントロールと比較して PAR-4 アンタゴニストに有意な阻害が認められた。以上の結果から、黄色ブドウ球菌 V8 プロテアーゼは、PAR-4 を利用して A549細胞より IL-8 を誘導していると考えられた。トリプシンは PAR-2 を利用していることが知られており、利用する受容体のタイプによってどのような差があるか検討が必要と思われる。

#### 【謝辞】

本研究は08年09年松本歯科大学推進研究費によって行った。

## 7. 歯髄細胞の高い骨再生能力は、Annexin A8ロングフォームを介して発揮される

中道裕子<sup>1</sup>, 萩原貴寛<sup>2</sup>, 中村美どり<sup>3</sup>, 今岡朝代<sup>4</sup>,  
安孫子宜光<sup>4</sup>, 中村浩志<sup>5</sup>, 高橋直之<sup>1,2</sup>, 宇田川信之<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・総歯研・機能解析), <sup>2</sup>(松本歯大院・機能解析),

<sup>3</sup>(松本歯大・口腔生化), <sup>4</sup>(日大・松戸歯・生化学分子生物),

<sup>5</sup>(松本歯大・総歯研・健康分析)

### 【目的】

歯髄細胞は多分化能を有し採取が容易であるため、再生医療の材料として注目されている。本研究は、マウス歯髄細胞を用いた骨再生系を確立し、その再生機構を明らかにすることを目的とした。

### 【方法と結果】

歯髄細胞をマウス切歯より調整し、歯髄細胞の生存や形質の維持に最適な培養条件を検討した。マウス歯髄細胞の生存は細胞密度に依存し、高密度培養のみ生存が維持された。また、高密度培養下の歯髄細胞は骨芽細胞の60倍のアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を示した。高密度培養歯髄細胞は、骨芽細胞とほぼ同様の細胞外基質タンパクを発現していた。しかし、培養歯髄細胞は歯髄組織マーカーである象牙質シアロリントタンパク (DSPP) mRNAの発現を消失していた。さらにマイクロアレイ解析により、培養歯髄細胞は骨芽細胞に比べて、カルシウムチャネルである Annexin A8 およびリン酸トランスポーターである Slc 20 a2 の mRNA 発現が高いことが分かった。また、培養歯髄細胞は骨芽細胞に比べて石灰化抑制因子であるピロリン酸合成酵素およびマトリックス Gla タンパク質の発現が低いことが分かった。このように歯髄細胞が骨芽細胞より石灰化促進因子を高レベルで発現する一方、石灰化抑制因子を低レベルで発現するため、歯髄細胞は非常に石灰化に有利な細胞であることが示唆された。骨芽細胞の石灰化は BMP に依存していた。一方歯髄細胞は、BMP 非添加および BMP アンタゴニストである Noggin 存在下においても、著しく高い石灰化能を有していた。そこで骨芽細胞に Annexin A8 の2つのアイソフォーム (ロング(L)およびショートフォーム(S)) 及び Slc 20 a2 をそれぞれ過剰発現させたところ、BMP 非存在下で著しい石灰化能を有するようになった。特に Annexin A8 (L) の過剰発現による石灰化亢進がもっとも顕著であった。Annexin A8 のアイソフォームの発現を RT-PCR 法により解析したところ、歯髄細胞は骨芽細胞に比べ、Annexin A8 (L) を優位に発現していた。また、培養歯髄細胞を重度免疫不全マウス (NOD/Scid-IL2R $\gamma$  KO マウス) 筋膜下に移植すると、3週間で硬組織を形成した。2ヵ月後には、造血機能を伴った完全な骨が形成された。

### 【結論】

以上本研究により、歯髄細胞は Annexin A8 (L) を介して、高い骨再生能力を発揮する特徴的な細胞であることが明らかとなった。

## 8. 破骨細胞の分化と機能を抑制する天然化合物アルクチゲニンの作用機序の解明

山下照仁<sup>1</sup>, 李 峰<sup>2</sup>, 上原俊介<sup>3</sup>, 小林泰浩<sup>1</sup>, 宇田川信之<sup>3</sup>,

門田重利<sup>2</sup>, 高橋直之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(松本歯大・総歯研・機能解析), <sup>2</sup>(富山大・和漢医薬学研究所),

<sup>3</sup>(松本歯大・口腔生化)

### 【目的】

破骨細胞の分化や機能に関わる遺伝子群の発現は、転写因子 NFATc1 に依存している。我々は、破骨細胞の分化と骨吸収を抑制する天然化合物アルクチゲニンを見出し、その作用機序を解析したところ、NFATc1 蛋白質の機能阻害の可能性が示唆された。

### 【方法】

牛蒡子から精製したアルクチゲニンを用いた。破骨細胞分化はマウス骨芽細胞/骨髄細胞の共存培養系および M-CSF/RANKL 誘導骨髄マクロファージ系を用いた。また、コラーゲンゲル共存培養系で



形成した破骨細胞を象牙切片上に播種し、アクチンリング形成と骨吸収窩を定量化した。破骨細胞関連遺伝子の発現は定量的 RT-PCR 法で定量した。NFATc1 蛋白質はウェスタンブロット法で解析した。

#### 【結果】

アルクチゲニンは共存培養および骨髄マクロファージからの破骨細胞分化を強く抑制した。培養後期のみにも添加しても破骨細胞分化を抑制した。アルクチゲニンは破骨細胞分化に伴う NFATc1, TRAP, カルシトニン受容体, カテプシン K の発現亢進を抑制した。アルクチゲニンは象牙切片上の骨吸収を抑制した。アルクチゲニンは成熟破骨細胞の NFATc1 発現を抑制せずに, NFATc1 標的遺伝子群の発現を抑制した。破骨細胞の NFATc1 蛋白質は, 5 分間のアルクチゲニン処理により低分子量化し, RANKL 刺激非依存的に核に蓄積した。

#### 【考察】

アルクチゲニンは分化後期の破骨細胞形成と破骨細胞関連遺伝子の発現を抑制したことより, NFATc1 活性を阻害することが予想される。アルクチゲニンは NFATc1 の核移行を促進するにもかかわらず, その標的因子発現を抑制したことより, ドミナントネガティブ型 NFATc1 の生成の可能性はある。以上より, アルクチゲニンは新たな機序で NFATc1 蛋白質の機能を阻害する可能性が示唆された。