

SYIA-01

パー切削と比較したEr:YAGレーザーによる骨組織蒸散後の新生骨形成の評価と遺伝子発現解析

大杉 勇人

キーワード：骨切削, 創傷治癒, Er:YAGレーザー, マイクロCT, マイクロアレイ

【目的】近年Er:YAGレーザーが骨切削に用いられるようになってきている。しかしながらEr:YAGレーザー照射後の骨組織への影響および治癒については未だ詳細は明らかになっていない。本研究では、レーザー照射とパーによる骨切削後の骨組織への影響とその治癒を比較することを目的とした。

【材料および方法】10週齢の雄性Wistar系ラットを用い、全身麻酔下で頭頂骨を剖出し、左側はEr:YAGレーザー照射、右側はパー切削により、共に注水下にて直線状の骨切削を行った。処置後はマイクロCTによる骨修復率の評価、走査型電子顕微鏡 (SEM) による切削後の表面性状の観察、組織学的分析、肉芽組織中の遺伝子発現の評価を行った。骨組織の遺伝子発現の評価については、注水下にて面状の骨切削を行い、また頭頂骨前部の非切削の部位をコントロールとした。マイクロアレイ解析を行い、得られた遺伝子発現を定量的PCRおよびGene Set Enrichment Analysis (GSEA) にて評価した。

【結果と考察】Er:YAGレーザーは、注水下にて明かな熱損傷を生じることなく、効果的に骨切削を行うことができた。マイクロCT解析では、レーザー照射群はパー切削群と比べて、処置後2, 4, 6, 8週のすべての観察時点で有意に高い骨修復率が認められた。SEM観察では、パー切削面はスミア層で覆われるが、レーザー照射面は骨細管や骨小腔の開口を伴った粗造な微細構造を呈し、顕著なフィブリン付着が認められた。組織学的分析では、レーザー照射群では照射面表層に1-4μmの熱変化層が認められた。切削6時間後の骨組織のマイクロアレイ解析およびGSEAでは、IL6/JAK/STAT3 signalingとinflammatory responseの遺伝子群がパー切削群で亢進していたのに対して、レーザー照射群の骨からはE2F targets遺伝子群の亢進が認められた。加えて、レーザー照射群ではパー切削群と比べて*Hspa1a*と*Dmp1*の発現が上昇し、*Sost*の発現が減少していた。レーザー照射1週後に形成された肉芽組織では、*Afp1*と*Gblap*の発現がパー切削群と比較して上昇していた。

【結論】Er:YAGレーザーは、パー切削と比較して創傷治癒に有利な骨処置面の性状変化や骨組織の細胞反応を生じさせ、早期の新生骨の形成を促進する可能性があることが示唆された。

SYIA-03

*Treponema denticola*の表層病原性成分の遺伝子調節機構の解明

北村 友里恵

キーワード：*Treponema denticola*, DNA binding protein, Dentilisin, Stress response, Virulence

【目的】*Treponema denticola*は、慢性歯周炎の主要な病原体である。*T. denticola*菌体表層には、DentilisinやMspなどの病原因子が存在し、本菌の歯肉溝への定着、宿主免疫からの回避に重要な役割を果たしている。本菌の歯肉溝バイオフィーム内への定着プロセスにおいては、酸素ストレスに適応する必要がある。我々は、本菌の酸素ストレスへの適応を解析する目的で、本菌の酸素曝露により発現の変化する遺伝子をスクリーニングし、複数の遺伝子を得た。これらのうち、遺伝子発現の調節を司るDNA binding proteinに焦点を当て、酸素曝露下における*T. denticola*の遺伝子調節機構を解明することを目的とした。

【材料および方法】*T. denticola* ATCC 35405株 (野生株) を供試し、エリスロマイシン耐性遺伝子の相同組み換えによりDNA binding proteinの遺伝子欠損株を作成した。細菌の増殖曲線はOD値を測定することによって評価した。Dentilisin活性は合成基質を用いて測定した。マイクロアレイにより欠損株の遺伝子発現の変化を解析した。

【結果および考察】欠損株の増殖は静止期のみ野生株に比べ有意に大きい値を示した。Dentilisinの活性は、野生株と比較して欠損株で有意な減少を示した。マイクロアレイ解析では、*T. denticola*の定着に関わる遺伝子群の発現に変動が認められた。*T. denticola*のDNA binding proteinは、Dentilisinや定着に関与する遺伝子発現調節に関わることが示唆された。

SYIA-02

口腔歯肉上皮由来細胞による接合上皮細胞置換の可視化

加藤 麻友

キーワード：接合上皮, 口腔歯肉上皮

【目的】歯の萌出直後の接合上皮 (JE) は歯原性上皮に由来し、経時的に口腔歯肉上皮 (OGE) 由来細胞に置換するとされているが、詳細は明らかでない。本研究の目的は歯原性上皮由来JEにおけるOGE由来細胞による置換過程を検証することである。

【材料および方法】C57BL/6N (野生型) およびC57BL/6-KI (ROSA^{mT/mG}) マウス第一臼歯を抜歯し、胎生14日齢C57BL/6-Tg (CAG-EGFP) マウスの歯胚を抜歯窩に移植した。萌出した移植歯のJEを移植後200日までGFP陽性細胞の局在を観察した。さらに、野性型マウスにGFPマウスの歯胚を移植し、萌出完了後口蓋側JE部を切除し、治癒過程の経時的解析を行った。また、切除前である歯原性上皮由来JE、切除30日後のOGE由来JEおよびOGEについて遺伝子発現プロファイルと比較した。

【結果】移植後50日である萌出完了時の移植歯JEは、移植歯胚由来GFP陽性細胞により構成されていた。移植後140日ではJEにおけるGFP陽性細胞の減少を認め、基底層でレシビエント由来細胞の侵入がみられた。移植後200日ではJEにGFP陽性細胞は認められなかった。また、GFP陽性JEの口蓋側切除後に治癒したJEでは、GFP陽性細胞は認められなかった。網羅的遺伝子発現解析の結果では、歯肉切除後のOGE由来JEはいくつかのJE特異的遺伝子の発現を獲得していた。しかし主成分解析の結果、OGEとも歯肉切除術前の歯原性上皮由来JEとも異なる遺伝子発現プロファイルを示していることが明らかとなった。

【結論】移植歯JEは経時的にOGE由来細胞によって基底層より置換され、また切除治癒後のJEはOGE由来細胞によって構成されることが示された。さらに、OGE由来JEは歯原性上皮由来JEの遺伝子発現プロファイルと異なるが、*Odsm*等のJE関連遺伝子の発現が確認され、特有の性質を有する可能性が示唆された。