

平成30年度

## 四国歯学会研究奨励事業報告

### 目次

#### 教員の部：

学部長表彰（教育）	新垣 理恵子	1
学部長表彰（研究）	大島 正充	1
学部長表彰（臨床）	二宮 正美	2

#### 大学院生の部：

優秀学位論文	大塚 邦紘	3
	Jung-Hwan Lew	3
	Islamy Rahma Hutami	4
	瀬山 真莉子	4

#### 大学院生の部：

学会発表	中山 慎一郎	5
------	--------	---

## 教員の部：学部長表彰（教育）

受賞者：新垣 理恵子

口腔分子病態学分野・准教授

**推薦（受賞）理由：**歯学部及び大学院口腔科学教育部の教育ならびに学生指導に尽力した。

### Profile:

この度は歯学部学部長表彰（教育）という大変栄誉ある賞をいただき、誠にありがとうございました。これまでご指導いただきました先生がた、推薦していただきました先生がたに厚くお礼申し上げます。

私は、平成12年から口腔分子病態学分野に勤務しておりますが、その以前には鹿児島大学口腔細菌学講座や徳島大学酵素研究施設等で働いておりました。また社会人1年目は、徳島大学歯学部口腔細菌学教室勤務から始まり、遠い昔のことではありますが、当時は何もわからないまま、助手として一期生の方々の学生実習を担当した記憶がかすかに残っています。大学に残っておられる一期生の先生がたを見かけますと、自分も含め、いつの間にか長い年月が流れたものだと、感じております。私は、薬学部出身であります。勤務年数のほとんどが歯学部での勤務となっており、様々な縁によって支えられ、仕事を続けることができた感謝しております。実験方法や実験の組み立て方等は、学部を問わず共通ですので、大学院生やゼミ生には、私なりに少しでも研究に興味を持ってもらえるように、研究に取り組む手伝いができればという思いで、指導をしてきました。一方で、学生への講義には、歯科医師でも病理医でもありませんので、常に緊張もしますし、不安にもなりますが、FDへの参加等を経て、最近では少し凶太くなってまいりました。講義では、基本に沿って、しかし出来るだけ身近な医療問題や最新の研究成果を取り入れた講義を心がけたいと思っています。

最後にこの受賞は、多くの先生がたの御指導の賜物であり、この場を借りて深く感謝いたします。今回の受賞を励みとして、今後とも、より充実した教育を実施出来るよう、微力ながら頑張りたいと思っています。

## 教員の部：学部長表彰（研究）

受賞者：大島 正充

顎機能咬合再建学分野・准教授

**推薦（受賞）理由：**

筆頭著者の論文が *Current Opinion in Cell Biology* (IF 9.937) に掲載されたため。[掲載論文; *Regeneration of complex oral organs using 3D cell organization technology. Current Opinion in Cell Biology, Volume 49, Pages 84–90, 2017.*]

### Profile:

この度は、平成30年度学部長表彰（研究）を頂きまして、大変光栄に存じます。私は平成29年4月より、徳島大学顎機能咬合再建学分野に異動しまして、歯や唾液腺、歯根膜付きバイオハイブリッドインプラントなどの歯科再生治療の研究を進めております。

近年の発生生物学、組織工学的技術の進歩はめざましく、これらを基礎とした次世代医療システムとして、再生医療技術の研究開発が進められています。再生医療の最終目標は、疾患や外傷、加齢に伴う器官の損傷や機能障害に対して、機能的に完全な再生器官で置き換える「器官再生医療」であり、歯科領域においても審美的・生理的・機能的に患者の治療ニーズを十分に満たす新しい治療技術として、近い将来に確立されることが期待されています。

私たちはこれまでに、マウスモデルにおいて、三次元的な細胞操作により歯胚を再生する技術を確認し、この再生歯胚（再生歯）の移植により、正常な歯の組織構造と咀嚼機能、さらには周囲組織と連携機能する歯の再生治療の概念を実証してきました。最近では、大型動物であるイヌモデルにおいて、構造的・機能的に完全な歯の再生技術を実証し、将来の歯科臨床に利用可能な再生治療の確立に向けて、大きな進歩を遂げています。今回の掲載論文はこれらの研究成果をまとめたものです。今後は、上述の歯の再生治療技術の実現を試みるとともに、早期の歯科再生治療の実現に向けたプロジェクトとして、機能的な歯周組織を有するバイオハイブリッドインプラントの開発に取り組んでいく所存です。

## 教員の部：学部長表彰（臨床）

受賞者：二宮 雅美

歯周歯内治療学分野・助教

**臨床歴：**26年、日本歯周病学会歯周病専門医、日本歯科保存学会保存治療専門医、日本臨床歯周病学会認定医、厚生労働省認定臨床研修指導歯科医

**推薦（受賞）理由：**歯周病科の外来医長として、新規歯周組織再生剤「リグロス」の臨床試験に携わり、新聞や商業誌などでの広報活動や、学会や歯科医師会などの講演を全国各地で行っており国内外の学会で受賞をしている。リグロスの市販化により、本院歯周病科の再生治療件数も前年比の約2倍となり、歯周病科の収益にも大きく貢献している。

### Profile：

この度は、学部長表彰という大変栄誉ある賞をいただき、誠にありがとうございました。

私は1992年に徳島大学歯学部を卒業後、歯科保存学第2講座に入局し、先代の永田教授のご指導もとで、重度の歯周病症例に対して治療計画の立案から実際の歯周検査、基本治療、再生治療を含む外科治療を一連で行って来ました。2001年から2016年までは歯周組織を再生させる新規治療薬の臨床研究に長年携わってきました。塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）は強力な血管新生作用と未分化間葉系幹細胞の増殖能を有し、臨床試験により通常フラップ手術や既存のエムドゲインゲルよりも有意に歯槽骨再生を促進する効果があることを発表してきました。また、これらの成果は2009年にアメリカ歯周病学会で「R. Earl Robinson Periodontal Regeneration Award」を受賞することができました。さらに、この長年の臨床試験の成果から、2016年9月に薬剤承認が得られ、同年12月には「リグロス歯科用液キット」として市販化されて、患者さんは保険を使って歯周再生治療が受けられるようになりました。これまで大学病院で行った臨床成果に対して各地から多くの講演依頼をいただき、学会や歯科医師会のみならず、マスメディアを通して開業医の先生方や市民に対して情報提供をしております。さらに、歯周病専門医として開業医で治療困難な侵襲性歯周炎や重度の慢性歯周炎の症例に対して治療実績をあげ、2013年には日本歯周病学会優秀臨床ポスター賞を、2017年には最優秀臨床ポスター賞を受賞することができました。今後も、臨床研究と併せて実際の日々の

臨床症例においても治療成果を公表できるよう、歯周病認定医・専門医の育成、認定衛生士の育成にも尽力し、治療計画の立案や技術指導、症例の作成指導を行い、研究と臨床の両輪を備えた人材育成を行いたいと考えております。

## 大学院生の部：優秀学位論文

受賞者：大塚 邦紘

口腔科学教育部口腔科学専攻

口腔分子病態学分野 4年次

受賞論文：Long-term polarization of alveolar macrophages to a profibrotic phenotype after inhalation exposure to multi-wall carbon nanotubes

著者名：Kunihiro Otsuka, Koichi Yamada, Yuhji Taquahashi, Rieko Arakaki, Aya Ushio, Masako Saito, Akiko Yamada, Takaaki Tsunematsu, Yasusei Kudo, Jun Kanno, Naozumi Ishimaru

書名：PLoS One

巻・号：13・10

ページ：e0205702

発行年：2018

### 論文要旨：

【目的】ナノマテリアルは化学物質であり、その有用性から幅広い分野で使用されている。一方で、人体への毒性が指摘され、特にカーボンナノチューブ (CNT) の吸入による呼吸器への悪影響が報告されている。肺において、肺胞マクロファージ (aM $\Phi$ ) は、炎症反応や外来性異物の貪食に重要な役割を担っており、CNT曝露によって、その表現型や機能に大きく影響しているといわれている (*Inhal Toxicol.* 2009 etc.)。しかし、従来のCNT吸入曝露法である咽頭吸入や気管内投与法では、ヒトが吸引する分散状態と異なり、CNTの凝集体や凝固体による病変が誘発される (*Arch Toxicol.* 2016 etc.)。ヒトのCNT吸入による肺病態では、高度に分散されたCNTの単離繊維が肺胞に侵入し誘発されると考えられている (*Toxicol In Vitro.* 2015 etc.)。高橋らは新規の方法として、「Taquann法」と「Taquann直噴全身曝露吸入装置」を考案した。Taquann法は、CNTを高分散性の単離繊維の状態にでき、これをTaquann直噴全身曝露吸入装置を用いて、エアゾルの状態でマウスの肺胞まで到達させる (*J Toxicol Sci.* 2013)。Taquann法にて処理したCNT (T-CNT) の吸入曝露実験はヒトの現状により即した毒性評価を可能としている。本研究では、T-CNT曝露後の長期観察により、aM $\Phi$ の表現型や機能をはじめとした肺の免疫機構への影響を解析し、ナノマテリアルの生体毒性との関連を明らかにすることを目的とした。

【材料及び方法】T-CNTをTaquann直噴全身曝露吸入装置にて、8週齢メスC57BL/6に全身的に吸入曝露させた。その際、マウスを対照群、低濃度群、高濃度群に群分けした。解析は曝露から12ヶ月後に行い、フローサイトメトリー・走査型電子顕微鏡・共焦点顕微鏡・RT-PCR・H&E染色・Azan染色・免疫組織化学を用いた。

【結果】病理組織学的に、CNT曝露群では、肺胞上皮の肥厚やaM $\Phi$ の集簇、間質の線維化が認められた。気管支洗浄液を採取し、フローサイトメトリー解析を行うと、T-CNT曝露群では対照群に比べaM $\Phi$ が有意に増加し、その表現型はM1とM2を併せ持つような性格であった。また、肺のRT-PCRを行うと、対照群に比べてT-CNT曝露群では、線維化に関する遺伝子群 (Col IV, MMP-12, TIMP-2, TIMP-3) のmRNAレベルが上昇していた。免疫組織化学的にも、T-CNT曝露群の肺の気管支や血管周囲にCol IVの発現がみられた。加えて、T-CNT曝露群の肺では、MMP-12<sup>+</sup> M $\Phi$ の集簇が観察され、T-CNT濃度依存的に増加していた。

【考察】T-CNTの吸入曝露は、肺においてaM $\Phi$ などの慢性炎症を促進することで免疫機構に変化をもたらし、間質における線維化を誘導することが示された。

## 大学院生の部：優秀学位論文

受賞者：Jung-Hwan Lew

口腔科学教育部口腔科学専攻

歯周歯内治療学分野 4年次

受賞論文：High Glucose-Mediated Cytokine Regulation in Gingival Fibroblasts and THP-1 Macrophage: a Possible Mechanism of Severe Periodontitis with Diabetes,

著者名：Lew JH, Naruishi K, Kajiura Y, Nishikawa Y, Ikuta T, Kido JI, Nagata T,

書名：Cellular Physiology and Biochemistry,

巻・号：50(3)

ページ：973-986

発行年：2018

### 論文要旨

歯周病は慢性炎症性疾患であり、様々な細胞が相互に作用して病態が形成される。歯科領域では、以前から糖尿病患者の歯周病は重症化することが知られているが、その細胞生物学的な病態機序は不明である。そこで本研究は、糖尿病患者に見られる歯周病の重症化機序を探ることを目的とし、まず臨床研究として本院歯周病科を受診した70名の慢性歯周炎患者を対象として歯周病および糖尿病関連因子の統計学的関連性の有無を横断的に検討した (倫理委承認番号2325)。その結果、糖尿病患者群と非糖尿病患者群との間におけるSkin AF値 (AGEレベルの指標) に有意差はなかった (P=0.34)。また最深ポケット部位におけるGCF中のIL-1 $\beta$ とsIL-6Rレベルは、糖尿病患者のHbA1c値と有意な相関が見られた (IL-1 $\beta$ : P=0.035, sIL-6R: P=0.040)。次に、基礎研究として歯肉線維芽細胞とマクロファージ (M $\phi$ ) のクロストークにおける高グルコースの影響を調べた。その結果、1. 高グルコース (HG) とカルプロテクチン (CPT) は、THP-1 M $\phi$ のsIL-6R産生を有意に誘導した。2. HGは、歯肉線維芽細胞のIL-1 $\beta$ およびIL-6+sIL-6RによるMAPK/NF- $\kappa$ B系を介するMMP-1の産生誘導を有意に促進した。3. HG下で培養したTHP-1 M $\phi$ の培養上清によって、歯肉線維芽細胞のMMP-1産生は有意に誘導された。なお、このMMP-1産生はIL-1raによって有意に抑制された。以上の結果から、好中球などから産生されるCPTはM $\phi$ に作用してIL-1 $\beta$ やsIL-6Rの産生を誘導し、それらの炎症関連分子の相互作用によって歯肉線維芽細胞のMMP-1産生が誘導され歯周組織が破壊されること、そしてこの線維芽細胞とM $\phi$ のクロストークは、高グルコース下にある歯周組織では、さらに増強されて結果的に糖尿病患者において歯周病の重症化が生じる可能性が示唆された。

## 大学院生の部：優秀学位論文

受賞者： Islamy Rahma Hutami  
口腔科学教育部口腔科学専攻  
口腔顎顔面矯正学4年次

受賞論文： Fas/S1P<sub>1</sub> crosstalk via NF-κB activation in osteoclasts controls subchondral bone remodeling in murine TMJ arthritis

著者名： Islamy Rahma Hutami, Takashi Izawa\*, Akiko Mino-Oka, Takehiro Shinohara, Hiroki Mori, Akihiko Iwasa, Eiji Tanaka

書名 Biochemical and Biophysical Research Communications.

巻・号： 490(4)

ページ： 1274-1281

発行年： 2017

### 論文要旨

Rheumatoid arthritis (RA), a chronic inflammatory disease, mainly affects several joints of the body. Increased subchondral trabecular bone turnover due to imbalanced bone-resorbing and bone-forming activities is a hallmark of RA. It has been previously postulated that aberrant apoptosis or migration of cells from the subchondral bone may be responsible for the pathogenesis of RA. The temporomandibular joint (TMJ) is frequently affected in human RA. However, the involvement of TMJ in RA remains unclear. The aim of this study was to investigate the effects of the Fas and Sphingosine-1-phosphatase (S1P) signaling pathways on osteoclast precursors that participate in the pathogenesis of RA in the TMJ.

TMJs were resected from 8-22 weeks old female MRL/lpr (n=30) and MRL+/+ (n=25) mice. Micro-computed tomography (CT), histological, and immunohistochemical analyses were performed to assess subchondral bone resorption. Bone marrow macrophages (BMMs) from MRL/lpr and MRL+/+ femur were harvested for tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) stain and western blot analysis. RNA isolation from cartilage/subchondral bone interface of the TMJ was carried out to examine the expression of osteoclastogenic markers and S1P/S1P-receptor genes.

Micro-CT and TRAP stain revealed more severe subchondral bone resorption in MRL/lpr than in MRL+/+ mice, with a greater number of osteoclasts in the subchondral bone. As MRL/lpr mice contain increased numbers of osteoclast *in vitro* compared with MRL+/+ mice, this increased number is due to the hypersensitivity of precursors receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL). The phosphorylation of NF-κB, as well as Akt and MAPK of RANKL-stimulated BMMs from MRL/lpr mice, were significantly upregulated. The western blot analysis showed higher protein expression levels of osteoclastogenic markers (e.g NFATc1, c-Fos, and c-Src) in MRL/lpr than in MRL+/+. On the other hand, lower levels of collagen type II, aggrecan, and osteoprotegerin and higher levels of MMP9, MMP13, VEGF, and S1P-receptor-1 (S1P<sub>1</sub>) were detected in the mandibular condyles of MRL/lpr mice.

Furthermore, expression of S1P<sub>1</sub>, but not S1P<sub>2</sub> or S1P<sub>3</sub> was significantly upregulated in the condylar cartilage of MRL/lpr mice. S1P<sub>1</sub> was found to be required for S1P-induced migration of osteoclast precursors and downstream signaling via Rac1. When SN50, a synthetic

NF-κB-inhibitory peptide, was applied to the MRL/lpr mice, subchondral trabecular bone loss was reduced and both productions of osteoclastogenesis markers and sphingosine kinase (Sphk) 1/ S1P<sub>1</sub> signaling were reduced. Taken together, these results indicate that Fas/S1P<sub>1</sub> signaling pathway via activation of NF-κB in osteoclast precursors plays an important role in the pathogenesis of TMJ-RA.

## 大学院生の部：優秀学位論文

受賞者： 瀬山 真莉子

口腔科学教育部口腔保健学専攻

口腔保健支援学分野2年次

受賞論文： *Porphyromonas gingivalis* の分泌小胞が肝臓の糖代謝に与える影響

著者名： 瀬山 真莉子 (単著)

### 論文要旨：

歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) は、細菌外膜から構成される膜小胞 (outer membrane vesicle, OMV) を分泌する。*Pg* OMV が持つ細菌凝集能や細胞侵入能は歯周病の進行に関与するとされているが、全身疾患への影響は知られていない。そこで本研究では、*Pg* OMV が virulence 因子を含有して肝臓に移行し、糖代謝を変化させるという仮説を立て、*Pg* OMV の肝臓糖代謝調節に対する影響を検討した。その結果、S-*Pg* [SNAP26 蛋白発現ベクターを挿入した *Pg* ATCC33277 (親株) の形質転換株] が産生し分泌する OMV に gingipain が含まれていることが明らかになった。また、*in vitro* 解析においてインスリンにより亢進した Akt と GSK-3β のリン酸化が S-*Pg* OMV によって減弱することが示され、S-*Pg* OMV が HepG2 細胞におけるインスリンシグナルを抑制することが示唆された。さらに gingipain 発現が欠損した形質転換株から抽出した OMV は、親株が有する Akt/GSK-3β のリン酸化減弱効果を呈さなかったことから、S-*Pg* OMV に含まれる gingipain がリン酸化減弱効果をもたらすことが示唆された。一方、*in vivo* 解析においてマウスの腹腔内に投与した S-*Pg* OMV が肝臓に移行・集積することが確認され、またグルコース負荷試験とインスリン抵抗性試験から、軽度な随時血糖の上昇とインスリン抵抗性の惹起が示された。以上から、*P. gingivalis* が gingipain を含有した OMV を産生・放出し、HepG2 細胞におけるインスリンシグナルを gingipain 依存的に減弱すること、また OMV がマウス生体において肝臓に移行し、インスリン抵抗性を惹起し血糖値を上昇させることが明らかになった。この結果は、歯周病原菌の OMV が糖尿病重症化に関与することを示す新たな知見である。

## 学部学生の部：学会発表

発表者：中山 慎一郎（歯学科4年次）

指導教員：新垣理恵子，口腔分子病態学分野・准教授

発表題目：The role of the IL-33/ST2 axis in pathogenesis of Sjögren's syndrome (SS)

発表者：中山 慎一郎

共同発表者：新垣理恵子（口腔分子病態学）、牛尾綾（口腔分子病態学）、大塚邦紘（口腔分子病態学）（口腔分子病態学）、常松貴明（疾患病理学）、工藤保誠（口腔分子病態学）、石丸直澄（口腔分子病態学）

学会名：第107回日本病理学会総会

開催場所：ロイトン札幌（札幌市）

開催期間：平成30年6月21日-23日

発表方法：ポスター発表

発表内容：IL-33は、IL-1ファミリーに属するサイトカインであり、免疫制御機構に重要な役割を果たしている。近年、シェーグレン症候群において、唾液腺におけるIL-33発現が高いことが報告されたが、IL-33によるシェーグレン症候群発症メカニズムは未だ不明である。シェーグレン症候群患者の小唾液腺を用いた免疫染色では、発症初期に多くの唾液腺上皮の核にIL-33陽性を認め、病態の進行とともに陽性率は減少することを見出した。またシェーグレン症候群疾患モデルNFS/*sId*マウスを用いて、唾液腺組織でのIL-33高発現、唾液腺マクロファージにおける分断化IL-33の存在を確認した。

発症初期にIL-33が高発現していた患者小唾液腺の免疫染色の結果から、IL-33はシェーグレン症候群の発症に関わっていることが示唆された。また炎症性刺激によりモデルマウス唾液腺上皮細胞からIL-33は分泌される一方、唾液腺組織では、病態に応じてマクロファージに分断化フラグメントIL-33がより多く検出され、IL-33がシェーグレン症候群発症に関与する可能性を提示することが出来たと感じている。私ができる範囲での実験結果ですが、その中で何とかまとめ発表することがとても良い経験になりました。IL-33によるシェーグレン症候群発症メカニズム解明まではまだまだですが、一つずつ実験と考察を積み重ねていくことが大事だと学びました。