

-大学院歯学独立研究科-

第 111 回 大学院 研究科 発表会 プログラム  
第 126 回 中間 発表会 プログラム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。  
どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室  
日 時：2023 年 4 月 26 日 (水) 17 時 25 分 開会

-2023 年 4 月 26 日 (水) -

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 平岡研究科長	
1	[大学院] 17:30~18:00 司会:吉成 教授	「モロッコ王国における侵襲性歯周炎患者の唾液細菌叢の解析」 池田 岳史 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	主査:平岡特任教授 副査:平賀教授 :音琴教授
2	[中 間] 18:00~18:30 司会:吉成 教授	「実験的歯周炎、糖尿病、動脈硬化症に対する老化細胞除去効果」 小山 尚人 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	主査:山下准教授 副査:小林教授 :大須賀教授

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1901	入学年 Entrance Year	2019 Year	4年
(ふりがな)	いけだ たけふみ			
氏名 Name in Full	池田 岳史			
専攻分野 Major Field	口腔健康分析学			
主指導教員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫			
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation /The Matsumoto Dental University Society			
演題名 / Title of Presentation				
モロッコ王国における侵襲性歯周炎患者の唾液細菌叢の解析 Analysis of salivary bacterial flora of patients with aggressive periodontitis in the Kingdom of Morocco.				
発表要旨 / Abstract				
<p>侵襲性歯周炎(AgP)は若年者に多く発症し、家族内集積性、少ないプラーク付着、急速かつ限局的な進行を特徴とする歯周炎である。AgP患者のプラーク中で検出頻度の高い<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>が原因細菌として注目され、同細菌とAgPの関連性が多く報告されてきているが、AgPの詳細な細菌叢についてはほとんど解明されていない。一般的にAgPの罹患率は、0.05～0.1%と歯周炎の中では高くないが、地域によって罹患率に差があり、世界の他の地域と比較し、北アフリカでは罹患率が高いことが知られている。</p> <p>今回、全人口の約7.6%がAgPに罹患していると報告されている、モロッコ王国のラバトにあるモハメド5世大学の学生130名(AgP患者:65名、健常者:65名)を被験者として、唾液微生物叢を解析、評価した。AgP罹患の有無は、歯周組織検査で3 mm未満の臨床的アタッチメントロスをカットオフ値とした。</p> <p>被験者から安静時唾液を採取し、OMNIgene ORAL OM-505(Oragene)(DNAを常温で3か月保存可能)の唾液サンプル採取キットに保管して、22時間程度空輸後、MORA-EXTRACT®キットを使用して細菌DNAを抽出した。16S rRNAメタゲノム解析は、北海道システムサイエンス社のIllumina MiSeqプラットフォームを使用した。検出された1,647の口腔細菌の16S rRNA遺伝子の各シーケンスデータはBLASTおよびHOMD(Human Oral Microbiome Database)を用いて97%以上の相同性をもって細菌種、属の同定を行った。統計解析は対応のないt検定を用い、<math>P &lt; 0.05</math>で有意差ありとした。</p> <p>その結果、AgP患者の唾液で<i>Firmicutes</i>、<i>Bacillales</i>、<i>Streptococceae</i>、<i>Staphyrococcaceae</i>科が有意に多く検出された(<math>P &lt; 0.05</math>)。これに対して、健常者の唾液では<i>Proteobacteriaceae</i>、<i>Gummaproteobacteriaceae</i>、<i>Lactobacillaceae</i>が有意に多く検出された(<math>P &lt; 0.05</math>)。属レベルでは、<i>Bacillus</i>、<i>Streptococcus</i>、<i>Staphylococcus</i>属がAgP患者で有意に多く検出され(<math>P &lt; 0.05</math>)、<i>Lactobacillus</i>、<i>Burkholderiales</i>、<i>Porphyromonas</i>属が健常者で有意に多く検出された(<math>P &lt; 0.05</math>)。Shanon indexにおいては、2つの群間で微生物の多様性に有意差は認められなかったが、クラスタ分析では唾液サンプルは7つの異なるクラスタに分けられた。</p> <p>以上の結果より、今回のAgP患者唾液内細菌叢の解析で、群間の多様性に違いはなかったが、AgP群と健常者のそれぞれについて特徴的に多く検出される細菌属、細菌種が同定できた。これまで、AgP患者の歯周ポケットから高頻度で検出された<i>A. actinomycetemcomitans</i>はAgP患者の唾液で有意に多く検出されなかったことは、本細菌のニッチとして唾液は含まれないことを示唆している。</p> <p>今後、歯周ポケット内細菌叢の比較研究を行い、AgPの細菌学的特徴について明らかにしていく予定である。</p>				

## 発表内容の要旨(課程博士)

### Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 2007	入学年 Entrance Year	2020	4年 Year
(ふりがな)	こやま なおと			
氏名 Name in Full	小山 尚人			
専攻分野 Major Field	健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学			
主指導教員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫			
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 Midterm Meeting /			
演題名 / Title of Presentation				
実験的歯周炎, 糖尿病, 動脈硬化症に対する老化細胞除去効果 Effects of senolytics on experimental periodontitis, diabetes mellitus, and cardiovascular disease in mice.				
発表要旨 / Abstract				
<p><b>【目的】</b>            近年, 歯周炎(Periodontitis; P), 糖尿病(Diabetes Mellitus; DM), 心臓血管疾患(Cardiovascular Disease; CVD)を代表とする生活習慣病に共通した病因として老化が注目されている. また, 老化の基盤病態として, 慢性炎症所見が多数観察されている. この老化に伴う慢性炎症発症の機序には, 加齢に伴い体内に蓄積する老化細胞が深く関与している. すなわち, 老化細胞は, 炎症性サイトカイン, ケモカイン, 細胞外マトリックス分解酵素, 増殖因子, 分泌膜小胞等を分泌する細胞老化随伴分泌現象(senescence-associated secretory phenotype; SASP)を誘導し, IL-6, IL-8, MCP-1, PAI-1, MMP等を分泌することが明らかになっている. 各 SASP 因子は, 生体恒常性維持において重要な役割を担う一方で, 分泌された周辺組織で炎症を誘導し, 加齢性疾患の発症・病態悪化に関与することが示唆されている. 実際, 高齢者では血中炎症マーカーの増加や組織の炎症シグナル活性化がみられ, 低レベルの慢性炎症状態が持続すると報告されている. 我々の先行研究では, 遺伝的高脂血症モデルマウスを用いて, 慢性炎症が本態の P と CVD の関連を確認した. そこで本研究では, 加齢マウスを使用して実験的 P, DM, CVD に対して老化細胞の除去を試み, 老化制御による関連する各疾患の病態改善効果を観察した.</p> <p><b>【方法】</b>            C57BL6 マウス 39 匹と遺伝的高脂血症モデルである ApoE<sup>-/-</sup>マウス 36 匹を実験に供した. これらのマウスをコントロール, P, DM, CVD, P+DM, P+CVD, P+DM+CVD の 7 群(コントロール群: 3 匹, その他の各群: 12 匹)に群分けした, さらにコントロール群を除く 6 群に対し, 老化細胞除去薬投与群: 6 匹と非投与群: 6 匹を設定し, 合計 13 群に割付けたマウスを 72 週(1 年 6 ヶ月)齢まで飼育した. P 群では 70 週齢時に上顎第 2 臼歯に絹糸を結紮し, 実験的歯周炎を誘導, DM 群は 6 週齢時にストレプトゾトシン(100mg/kg)とニコチンアミド(240mg/kg)を 2 日間隔で 2 回腹腔内投与し, 2 型糖尿病を誘導, CVD 群は遺伝的高脂血症モデルで動脈硬化症自然発症の ApoE<sup>-/-</sup>マウスを適用した. 老化細胞除去群には, ダサチニブ®(5mg/kg)とケルセチン®(50mg/kg)溶液を 56 週齢時に 2 週間隔で 4 回, 8 週間にわたり経口投与した. 全群, 72 週(1 年 6 ヶ月)齢で動物を安楽死させ, 臓器を摘出した. すべての動物には <math>\mu</math>-CT 撮影を行い, 3 次元画像を構築した. 上顎骨の臼歯頰側部を計測部位とし, 歯槽骨吸量を計測して実験的歯周炎の病態評価とした. また, 動脈硬化の程度は大動脈内腔の SudanIV 染色から脂肪沈着率を計測することにより評価した. また, DM の状態は毎月空腹時血糖値を測定して評価した.</p> <p><b>【結果と考察】</b>            72 週齢までに 75 匹中, 約 32%にあたる 24 匹が死亡した. 老化による衰弱死以外に死亡したマウスは, DM 誘導時の急激な血糖値上昇による死亡が, 約 30%(8 匹)であった. 歯周組織の <math>\mu</math>-CT 解析では老化細胞除去薬投与による P, CVD 群内での差はみられなかったが, DM 群, P+DM 群, P+DM+CVD 群内で歯槽骨吸量が減少し, 非投与群との間に有意な差がみられた. DM 群では老化細胞除去薬投与による血糖値に変動はみられなかった. 大動脈の脂肪沈着率では老化細胞除去薬投与によって P+DM+CVD 群のみに有意なアテロームの減少がみられた. これらの結果より, P+DM+CVD では老化細胞除去薬投与による病態改善傾向が確認でき, 老化細胞除去効果を研究するモデルになりうると思われた. 今後, 老化程度確認のために, 歯周炎誘発部位, 膵臓, 動脈硬化病変部位の老化マーカー(SA-<math>\beta</math>-gal 活性, p16, p21, p53, )の検出, 老化細胞減少に伴う SASP 因子減少の確認を行う予定である. 現在 n 数が少ない群における試料の追加を行うためのマウスを飼育中である.</p>				