

2017年10月23日 — 2018年1月22日

Dental Research Meeting 紹介論文リスト

1. Microscopy 65:145–157, 2016

異なる細胞型におけるゴルジ装置の三次元形状: オスミウム含浸ゴルジ装置の連続断面走査電子顕微鏡法

2. Sci Rep 7:6870, 2017

MTAによるPGE2トランスポーターおよびレセプターを介したラット臼歯歯髄損傷治癒に対する促進効果

3. Clin Oral Implants Res doi: 10.1111/clr.13098 [Epub ahead of print], 2017

異種他家骨 (xenograft) と自家骨の併用 vs. 同種他家骨 (allograft) と自家骨の併用時における上顎洞底挙上術後の治癒に関する病理組織学的比較

4. J Dent Res doi: 10.1177/0022034517735094 [Epub ahead of print], 2017

線維軟骨幹細胞が血管のある骨へ生着して自己組織化する。

5. Biomaterials 140:1-15, 2017

銀ナノ粒子を固定した多孔質金属インプラントのレーザー照射による表面溶融は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を殺菌しバイオフィーム形成を防止する

6. J Dent Res doi/10.1177/0022034517732770 [Epub ahead of print], 2017

ゾレドロネートは実験的歯周炎を有する歯の抜歯窩の治癒を阻害する

7. Theranostics 7:4370-4382, 2017

炎症性歯周炎における歯周組織再生促進のための新しい細胞源としてのヒト臍帯MSC

8. J Dent Res doi: 10.1177/0022034517742631 [Epub ahead of print], 2017

ヒトおよびラットにおけるインプラント部位生存度の比較評価

9. J Dent Res 96:1035-1043, 2017

歯小嚢上皮細胞から唾液腺様の細胞への誘導

10. J Dent Res 97:68-76, 2018

3Dプリンターを用いた下顎骨欠損のカスタム修復

11. J Dent Res 97:14-22, 2018

インプラント表面への抗菌剤の組み込みの影響

12. PLoS One 11:e0162865, 2016

歯石はヒトおよびマウス貪食細胞におけるNLRP3インフラマソームの活性化によるインターロイキン-1 β 分泌を刺激する

1. 2017年10月23日(月) 田所 治抄読

Three-dimensional shape of the Golgi apparatus in different cell types: serial section scanning electron microscopy of the osmium-impregnated Golgi apparatus.

Koga D, Kusumi S, Ushiki T.

Microscopy 65:145–157, 2016

異なる細胞型におけるゴルジ装置の三次元形状: オスミウム含浸ゴルジ装置の連続断面走査電子顕微鏡法

連続切片 SEM 法は、超薄連続切片を硬い基板に載せ、その切片像を走査電子顕微鏡 (SEM) で取得する技法である。この手法は、透過電子顕微鏡による連続切片法より容易であり、収束イオンビーム/SEM (FIB/SEM) のように高価で特殊な装置を用いずに、高精度な 3D 再構築像の作製が可能である。本稿では、この連続切片 SEM 法について、解説すると共に、この手法をゴルジ装置の 3D 構造解析に応用した例を紹介する。この手法は、ゴルジ装置のような空間的に複雑な形状を呈する細胞小器官の 3D 構造解析に最適である。連続切片 SEM 法を用いることで、ゴルジ装置やミトコンドリアなどの細胞小器官の 3D 構造解析の応用に期待できるであろう。

2. 2017年10月30日(月) 荒井 敦抄読

Effects of pulpotomy using mineral trioxide aggregate on prostaglandin transporter and receptors in rat molars

Ohkura N, Edanami N, Takeuchi R, Tohma A, Ohkura M, Yoshiba N, Yoshiba K, Ida-Yonemochi H, Ohshima H, Okiji T, Noiri Y.

Sci Rep 7:6870, 2017

MTAによるPGE2トランスポーターおよびレセプターを介したラット臼歯歯髄損傷治癒に対する促進効果

ミネラル三酸化物凝集体 (MTA) は、修復象牙質形成を促進することが知られており、歯科治療において一般に使用される歯科用覆髄材料である。しかし、MTA が象牙質修復を誘導する機構は不明な点が多い。本研究の目的は、歯髄切断のラットモデルにおいてそのトランスポーター (PGT) とその受容体 (EP2 および EP4) の局在と mRNA の発現レベルを調べることによって、歯髄損傷後の MTA 覆髄による象牙質修復中のプロスタグランジン E2 (PGE2) の役割について解析した。Ep2 発現は、正常および歯髄組織の象牙芽細胞、内皮細胞、および神経線維において検出されたが、Pgt および Ep4 は象牙芽細胞のみに発現が認められた。さらに、Slco2a1 (Pgt)、Ptger2 (Ep2)、および Ptger4 (Ep4) の mRNA 発現は、MTA 覆髄後の髄腔内歯髄および三叉神経節に認められた。今回の結果は、歯髄治癒過程における、象牙質/歯髄複合体の Pgt および Ep 受容体を介した PGE2 の機能について明らかにした。これにより、歯科疾患の新しい治療標的を開発するのに役立つ可能性が示唆された。

3. 2017年11月6日(月) 羽鳥弘毅 抄読

Histopathological comparison of healing after maxillary sinus augmentation using xenograft mixed with autogenous bone versus allograft mixed with autogenous bone
Galindo-Moreno P, de Buitrago JG, Padial-Molina M, Fernández-Barbero JE, Ata-Ali J, O Valle F.

Clin Oral Implants Res doi: 10.1111/clr.13098 [Epub ahead of print], 2017

異種他家骨 (xenograft) と自家骨の併用 vs. 同種他家骨 (allograft) と自家骨の併用時における上顎洞底挙上術後の治癒に関する病理組織学的比較

上顎洞底挙上術において、2種類の異なる移植材料 (allograft と xenograft) を自家骨と併用したときの差異について病理組織学的・組織形態計測学的に比較検討を行った。成人14名を7名ずつに分け、上顎洞底挙上術6か月後の骨組織を採取し観察に供した。xenograft 添加自家骨使用群では、allograft 添加自家骨使用群に比べ、移植片の吸収が有意に遅く ($p=0.026$)、osteoid line および間葉系幹細胞は有意に多かった (それぞれ $p=0.018$, 0.038)。また新生した石灰化組織量および非石灰化組織量に有意な差は認められなかった (それぞれ $p=0.620$, 0.710)。allograft と xenograft の使用により、両群においてインプラント埋入に十分な骨増生量が得られた。また、allograft は xenograft に比べ、より速い骨代謝を起こすことが明らかとなった。

4. 2017年11月13日(月) 荒 敏昭抄読

Fibrocartilage Stem Cells Engraft and Self-Organize into Vascularized Bone.

Nathan J, Ruscitto A, Pylawka S, Sohraby A, Shawber CJ, Embree MC.

J Dent Res doi: 10.1177/0022034517735094 [Epub ahead of print], 2017

線維軟骨幹細胞が血管のある骨へ生着して自己組織化する。

血管新生は骨の発生と形成に重要な過程である。今回、筆者らは骨形成における線維軟骨幹細胞 (FCSCs) と血管内皮細胞の相互作用について検討した。FCSCs をマウス皮下に移植すると一時的に軟骨が形成され、骨組織形成には宿主の血管内皮細胞が関与した。FCSCs はヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) の増殖を促進したが、*in vitro* 血管新生モデルでは FCSCs はコントロール細胞を使用した場合よりも新生血管数が少なく短いことから FCSCs は血管新生を阻害することで軟骨形成を起こすと考えられた。また、FCSCs と HUVEC の接触によって FCSCs の骨芽細胞への分化が促進された。以上の結果から、FCSCs と HUVEC の相互作用が骨形成に必要であることが示された。

5. 2017年11月20日(月) 八上公利抄読

Selective laser melting porous metallic implants with immobilized silver nanoparticles kill and prevent biofilm formation by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

van Hengel IAJ, Riool M, Fratila-Apachitei LE, Witte-Bouma J, Farrell E, Zadpoor AA, Zaat SAJ, Apachitei I.

Biomaterials 140:1-15, 2017

銀ナノ粒子を固定した多孔質金属インプラントのレーザー照射による表面溶融は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を殺菌しバイオフィーム形成を防止する

インプラントと骨の結合には、特殊な形状や多孔性などが表面積の拡大が有効であるが、一方で、細菌感染の危険性が高くなる。従って、この増加した表面積を細を感染から保護することは、不可欠である。そこで、インプラント関連の感染症（メチシリン耐性黄色ぶどう球菌（MRSA）のような最も悪性の病原体による感染症を予防するために、抗菌機能を備えた多孔質金属インプラントを作製し、ヒト細胞への適合と細菌への抑制効果を研究した。著者らが考案したインプラントは、micro-/nano-porous 表面構造を持つ多孔性チタン・インプラント（Ti-6Al-4V）をレーザー照射により表面溶融し作製（SLM）、ハイドロキシアパタイトと銀のナノ粒子 Ag-Nano-Particles をプラズマ電解酸化表面処理（PEO）により固層化して生物機能化した（SLM PEO Ag）。そして、①生体材料適合性について MTT assay による human mesenchymal stem cells (hMSC) の増殖率、②抗菌性の分析は MRSA AMC201 を Petrifilm assay (agar slide film)にて細菌数（細菌の阻止範囲）の計測、③擬似生体細菌阻止検査としてラット死体大腿骨への埋入培養による MRSA のコロニー形成数の計測、④Ag イオンによる MSCs への細胞障害性の有無について検証した。その結果、開発されたインプラント（SLM PEO Ag）は、i) MRSA に対して強い抗菌活性を一貫して示した。また、ii) 放出された Ag イオンは抗菌活性を示し、バイオフィーム形成の予防を示した。iii) SLM PEO Ag は、hMSCs に対して細胞障害効果を示さなかった。SLM PEO Ag は通常チタン表面に Ag 処理したものと比較して、4 倍以上の Ag イオンの放出量、2 倍以上の抗菌領域、CFU 総数の 1 桁の減少を示した。そして、著者らはこれらのデータに基づき、新しいインプラントの臨床開発のために役立つのではないかと報告している。

6. 2017 年 11 月 27 日（月）小出 雅則抄読

Zoledronate Impairs Socket Healing after Extraction of Teeth with Experimental Periodontitis

Soundia A, Hadaya D, Esfandi N, Gkouveris I, Christensen R, Dry SM, Bezouglaia O, Pirih F, Nikitakis N, Aghaloo T, Tetradis S.

J Dent Res, doi/10.1177/0022034517732770 [Epub ahead of print], 2017

ゾレドロン酸は実験的歯周炎を有する歯の抜歯窩の治癒を阻害する

顎骨壊死（ONJ）は、骨悪性腫瘍または骨粗鬆症の治療に使用されるビスホスホネートなどの抗骨吸収薬の投与に引き起こされる稀ではあるが深刻な合併症である。抜歯および歯科疾患は、ONJ の発生と強く関連している。ここでは、ゾレドロン酸（ZA）を投

与した Wistar-Han ラットにおいて、実験的歯周炎（EP）を起こした後、抜歯してその抜歯窩における創傷治癒の分子の発現を調べた。著者らは4つの実験群：健全な歯の抜歯を伴う溶媒投与群、結紮誘発 EP を伴う溶媒投与群、健全な歯の抜歯を伴う ZA 投与群、EP を伴う ZA 投与群を比較した。ラットに溶媒または ZA を1週間前投与し、EP を誘導した。4週後、上顎第1と第2臼歯を抜歯した。4週間後、抜歯窩の治癒を評価した。CT 解析より、1,2 および 3 群の抜歯窩は正常な治癒を示した。4 群の EP を伴う ZA 投与群では、抜歯窩の治癒不全が観察された。組織学的には、4 群で持続性炎症や広範な骨壊死が観察された。コラーゲンネットワークの崩壊、III 型コラーゲンの優位、壊死骨におけるコラーゲン欠如は、抜歯窩の治癒不全と関連していた。MMP-9、MMP-13、および α -SMA 発現が陽性であった細胞は、上皮陥入の領域および骨壊死性骨に隣接して存在した。ONJ 患者の生検においても同様の所見を示した。本論文は、ONJ の病因における歯科疾患および抜歯の重要性を強調し、ONJ 発症中の創傷治癒マーカーの変化情報を提供する。

7. 2017 年 12 月 4 日（月）尾崎友輝抄読

Human Umbilical Cord MSCs as New Cell Sources for Promoting Periodontal Regeneration in Inflammatory Periodontal Defect

Shang F, Liu S, Ming L, Tian R, Jin F, Ding Y, Zhang Y, Zhang H, Deng Z, Jin Y. Theranostics 7:4370-4382, 2017

炎症性歯周炎における歯周組織再生促進のための新しい細胞源としてのヒト臍帯 MSC
ヒト歯根膜幹細胞（hPDLSCs）移植は、歯周組織再生の有望なアプローチである。しかし、細胞源は、細胞分離に必要とされる侵襲的手順のために制限される。ヒト臍帯間葉系幹細胞（hUCMSCs）は、安価かつ無尽蔵に収穫できるため、hUCMSC を歯周組織再生の新しい細胞源として使用できるかどうかを判断するために、hPDLSC と比較して hUCMSC の再生能力を評価した。

【方法】多分化能および抗炎症能を含む hUCMSC の特徴を、hPDLSC との比較によって決定した。我々は、hUCMSC および hPDLSC をそれぞれ用いて細胞凝集体（CA）を構築した。その後、hPDLSCs-CA および hUCMSCs-CA をそれぞれ β -リン酸三カルシウム（ β -TCP）と組み合わせ、それらの再生能力をラットの炎症性歯槽骨欠損モデルで決定した。【結果】hPDLSC は、hUCMSC よりも高い骨芽細胞分化能を示した。一方、hUCMSC は、hPDLSC よりも高い細胞外マトリックス分泌および抗炎症能を示した。hPDLSC と同様に、hUCMSC は炎症性歯周炎条件下で軟組織および硬組織の再生に寄与することができた。hPDLSC および hUCMSC 群では、非細胞治療群よりも新生骨および歯根膜が多く形成された。さらに、hPDLSC と hUCMSC との間に再生促進効果の有意差は認められなかった。

【結論】hUCMSC は、hPDLSC と比較して歯周組織再生に関して同様の促進効果をも

たらし、歯周組織再生のための新しい細胞源として使用することができる。

8. 2017年12月11日（月）川原一郎抄読

A comparative assessment of Implant Site viability in Human and Rats.

Chen CH, Pei X, Tulu US, Aghvami M, Chen CT, Gaudillière D, Arioka M, Maghazeh Moghim M, Bahat O, Kolinski M, Crosby TR, Felderhoff A, Brunski JB, Helms JA.

J Dent Res. doi: 10.1177/0022034517742631. [Epub ahead of print], 2017

ヒトおよびラットにおけるインプラント部位生存度の比較評価

本研究の最終的な目標は、インプラントの準備である骨切削術式を改善し、オッセオインテグレーションを容易にすることである。本報告では、このプロセスの第一歩として、我々は卵巣摘出ラットにおいて標準化された口腔骨切りモデルを開発した。OVXラットの下肢骨へのオステオーム（インプラントホール）の形成）において、周囲骨組織のダメージを観察した。また、ヒトのインプラント埋植に先立って、植立部位にパイロットホール（ラット実験と同じ穴）をつくり、そのホール周囲骨を取り出して、ラット組織と比較した。分子、細胞、および組織学的分析は、ヒトとラットの歯槽骨の骨切り術部位はよく似た反応を示した。特に患者およびラットの両方において、全ての穿孔ツールは、骨切り術の周りにアポトーシスゾーンが認められ、ラットにおいては経時的な観察を行った。1週間の間に、活発な破骨細胞活性による壊死性骨の吸収と骨芽細胞による新たな骨基質の形成が見られた。これらの結果は、OVXラットモデルはヒトのインプラントモデルとして有効である事を示し、骨切り術に対するヒトの骨の応答についての洞察を得る事ができると考えられる。また、アポトーシスゾーンを減少させることにより、骨切り術の生存率が改善され、インプラントの周りの新しい骨形成がより速くなることを示唆した。

9. 2017年12月18日（月）定岡 直抄読

Induction of Salivary Gland-Like Cells from Dental Follicle Epithelial Cells

Xu QL, Furuhashi A, Zhang QZ, Jiang CM, Chang TH, Le AD.

J Dent Res 96:1035-1043, 2017

歯小嚢上皮細胞から唾液腺様の細胞への誘導

歯の発生初期に歯芽を取り囲む細胞外間充織の凝集であるヒト歯小嚢（Human Dental follicle;hDF）から分離した上皮幹細胞様細胞(Epithelial Stem-like cells;EpiSCs)が唾液腺（SG）細胞へ分化能を実証した。歯小嚢からコラゲナーゼを用いて分離された細胞を解析すると E-カドヘリンや幹細胞関連の遺伝子群(CK14、LGR5、BMI-1)の発現を示した。この分離細胞は生体外での培養が可能であり、クローン原性や球体形成能力を備えた幹細胞特性（hDF-EpiSCs）を示した。Matrigel (Corning Inc., Corning, NY, USA)を用いた三次元条件下で培養された hDF-EpiSCs は α -アミラーゼ活性の発現が確認された。

3次元培養により唾液腺房・管細胞に分化する能力が確認された。脱細胞化した耳下腺を足場として、hdF-EpiSCsを組み込んだヒト hDF-EpiSCs を8匹の4~5w雌マウスの腎線維膜中に移植すると α -アミラーゼやヒトミトコンドリア活性の発現、腺細胞が確認される唾液腺に分化した。

10. 2017年12月25日(月) 塚崎敬介抄読

Custom Repair of Mandibular Bone Defects with 3D Printed Bioceramic Scaffolds

Shao H, Sun M, Zhang F, Liu A, He Y, Fu J, Yang X, Wang H, Gou Z.

J Dent Res 97:68-76, 2018

3Dプリンターを用いた下顎骨欠損のカスタム修復

生体材料を歯槽骨の欠損部に埋入するためには、各々の欠損の形状に合わせることで機械的強度が要求される。当研究では、下顎骨の欠損にマクロ的にもミクロ的にも適合する形状のバイオセラミックの足場をCTイメージから3Dプリント技術により製作した。下顎骨を欠損させたうさぎをモデルとして使用し、評価した。埋め込んだのは、新たに開発されたウォルスナイト中のCaの10%をMgに置き換えたもの(CSi-Mg10)を使用した。また、典型的なリン酸カルシウム、ケイ酸カルシウムの多孔性バイオセラミックも評価した。具体的には β TCP、ウォルスナイト(CSi)、角閃石(Bred)も用いた。6週間の物理化学的な試験では、CSi-Mg10は初期には大きな孔を示していたが、焼結後は収縮により多孔性が最も低くなった。比較すると、溶解性ではTCPが2%の重量減少、CSiは12%、Bredは14%であったが、CSi-Mg10は7%の重量減少を示した。また、CSi-Mg10は初期に高い曲げ強度(31MPa)を持ち、Tris bufferへの浸漬後も高い数値を維持した。生体を用いた試験でもCSi-Mg10は16週経過後TCP,CSi, Bredより高度な骨形成能があることを示した。これらの結果は、臨床においてCSi-Mg10は歯槽骨の欠損修復に高い応用の可能性を示唆している。

11. 2018年1月15日(月) 川原一郎抄読

The Impact of Incorporating Antimicrobials into Implant Surfaces

kok NJ, Shapiro IM, Chen AF.

J Dent Res 97:14-22, 2018

インプラント表面への抗菌剤の組み込みの影響

人口関節置換、脊髄の手術、および歯科インプラントの数が増加している今日、インプラント関連感染症への対策は急務である。抗菌特性をもった新しいインプラントの開発は、インプラントの合併症の予防に極めて効果的である。特に、唾液中の細菌の付着、増殖、バイオフィルム形成に曝される歯科インプラントにおいて期待が大きい。しかしながら、抗菌性表面の設計には、抗菌活性とオッセオインテグレーションとの間にバラ

ンスをとらなければならない。これまで、オッセオインテグレーションを維持しながら、バイオフィルムの形成を阻害する3種類の構造が設計されている。1) 細菌付着を阻害するナノスケール構造体を表面に付与されたインプラント体：2) 細菌付着の回避と滅菌を促進するために積極的に抗菌剤を溶出する表面インプラント体：3) 長期間細菌の付着を防ぐ抗菌性表面を生成する永久結合剤を含有するインプラント体である。これは、抗菌剤が表面に結合されていて溶出はしないが、細菌が触れると抗菌活性を示す表面である。1) および2)の両方は、*in vitro* で抗菌活性を示すが、安定性と有効性に大きな欠点も認められた。一方、3) では、長期的な抗菌環境を維持するための研究が活発に行われており、新たな抗菌インプラント誕生の可能性が期待できる。

12. 2018年1月22日(月) 高橋直之抄読

Dental Calculus Stimulates Interleukin-1 β Secretion by Activating NLRP3 Inflammasome in Human and Mouse Phagocytes.

Ziauddin SM, Yoshimura A, Montenegro Raudales JL, Ozaki Y, Higuchi K, Ukai T, Kaneko T, Miyazaki T, Latz E, Hara Y.

PLoS One 11:e0162865, 2016

[歯石はヒトおよびマウス貪食細胞における NLRP3 インフラマソームの活性化によるインターロイキン-1 \$\beta\$ 分泌を刺激する](#)

歯石は歯周病に関連した石灰化物である。歯石に含まれる細菌成分は、Toll様受容体(TLRs)などの宿主免疫センサーによって認識され、IL-1 β などの炎症誘発性サイトカインの転写を誘導する。本研究は、結晶粒子の細胞取り込みがNLRP3インフラマソーム活性化を引き起こし、IL-1 β 前駆体の成熟形態への切断をもたらすことを示す。したがって、歯周ポケットにおける歯石の食作用は、IL-1 β の分泌をもたらし、歯周組織における炎症反応を促進する。歯周炎患者から採取した歯石を有するヒト多形核白血球(PMN)および末梢血単核細胞(PBMC)を刺激し、ELISAによってIL-1 β 分泌を測定した。歯石がヒトPMNおよびPBMCの両方においてIL-1 β 分泌を誘導することを見出した。歯石はまた、野生型マウス由来のマクロファージにおいてIL-1 β を誘導したが、NLRP3およびASC欠損マウス由来のマクロファージでは誘導せず、NLRP3およびASCの関与が示唆された。また、IL-1 β 誘導はポリミキシンBによって阻害されるため、LPSはpro-IL-1 β 転写を誘導する歯石の成分の1つであることが示唆された。無機構造体の影響を分析するために、歯石を250°Cで1時間焼成した。この焼結体はpro-IL-1 β 転写を誘導できなかった。しかし、リポドAの前刺激する場合、焼結体はIL-1 β 分泌を誘導した。このことは、焼成石の結晶構造がインフラマソーム活性化を誘導することを示唆する。さらに、歯石の構成要素であるヒドロキシアパタイト結晶も、リポドAで処理されたマウスマクロファージにおいてIL-1 β を誘導した。これらの結果は、歯石がヒトおよびマウスの食細胞中のNLRP3インフラマソームを介してIL-1 β 分泌を刺激す

ること、およびヒドロキシアパタイトの結晶構造は NLRP3 インフラマソームの活性化に部分的な役割を果たすことを示している。