

| | |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ふりがな氏名 | つもり のりまさ 津守 紀昌 |
| 学位の種類 | 博士（歯学） |
| 学位記番号 | 甲 第 771 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 28 年 3 月 11 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項に該当 |
| 学位論文題目 | VEGF Expression in Diabetic Rats Promotes Alveolar Bone Resorption by <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS (糖尿病ラットにおける VEGF 発現は <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS による歯槽骨破壊を促進する) |
| 学位論文掲載誌 | Journal of Hard Tissue Biology 第 25 巻 第 1 号 平成 28 年 1 月 |
| 論文調査委員 | 主査 梅田 誠 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 馬場 俊輔 教授 |

論文内容要旨

糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターの 1 つであり、糖尿病患者では高頻度で歯周病を発病し、またその病状が重篤化することが以前から知られている。血管内皮細胞増殖因子（VEGF）は、血管内皮細胞の増殖・分化、および血管透過性の亢進、血管拡張作用などを持つ糖タンパクで、非常に重要な血管新生因子である。VEGF は、胎生期の血管形成、組織構築、黄体形成などの健全な血管新生に関与するだけでなく、固形腫瘍、慢性関節リウマチ、糖尿病性網膜症、炎症、創傷治癒などの病的な状態での血管新生や血管透過性亢進にも重要な役割を果たす。糖尿病の合併症は脳梗塞、心筋梗塞、網膜症、腎症、神経障害、歯周病などがあげられるが、そのすべてが血管障害に起因し、VEGF と深い関係がある。

Porphyromonas gingivalis は代表的な歯周病原細菌であり、その LPS は歯槽骨破壊に関与することは報告されているが、糖尿病により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨破壊にどのような影響を与えるかはまだ明らかになっていない。そこで、本研究では *P. gingivalis* LPS を歯肉に注射することにより実験的歯周炎を作成して、歯周組織での VEGF 発現と破骨細胞の局在を観察することにより、糖尿病によって起こった歯周組織での VEGF 発現が歯周病による骨吸収にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

8 週齢の血糖値 200mg/dL 以上の 2 型糖尿病モデルである GK 雄性ラットを実験群、Wistar 系雄性ラットを対照群とし、両群の両側第二臼歯口蓋側歯間乳頭部に *P. gingivalis* LPS を注射し、さらに同部歯肉溝に 4-0 絹糸を結紮することにより実験的歯周炎を作成した。その後ラットを安楽死させ、マイクロエックス線 CT にて、両群の骨吸収像を撮影し、セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離を

測定した。測定部位は第一臼歯遠心根、第二臼歯近心根・遠心根、第三臼歯近心根とした。試料は EDTA にて 1 ヶ月脱灰し、脱水、パラフィン包埋後、連続切片を作成した。切片は抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色および酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い光学顕微鏡にて観察し、両群を比較、検討を行った。マイクロ CT 画像では対照群と比べ実験群で顕著な骨吸収がみられた。セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定すると第二臼歯近心根、第二臼歯遠心根、第一臼歯遠心根、第三臼歯近心根の順で大きく、対照群と比べて実験群の方が有意に高い値を示した。抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色では歯槽骨の骨縁上および歯肉結合組織中の血管周囲および骨膜上に、対照群と比較して VEGF が強く発現していた。TRAP 染色では歯槽骨の骨膜上には実験群、対照群ともに TRAP 陽性細胞の局在がみられた。

以上の結果から、糖尿病ラットでは高血糖状態により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨吸収に影響を与えることがうかがわれた。今後、糖尿病による歯周病の増悪のメカニズムを解明する上で、VEGF の働きをより明らかにすることが重要であると考えられる。

論文審査結果要旨

糖尿病により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨破壊にどのような影響を与えるかはまだ明らかになっておらず、本論文では *P. gingivalis* LPS を歯肉に注射することにより実験的歯周炎を作成して、歯周組織での VEGF 発現と破骨細胞の局在を観察することにより、糖尿病によって起こった歯周組織での VEGF 発現が歯周病による骨吸収にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

実験群、対照群とし、両群の両側第二臼歯口蓋側歯間乳頭部に *P. gingivalis* LPS を注射し、さらに同部歯肉溝に 4-0 絹糸を結紮することにより実験的歯周炎を作成した。その後ラットを安楽死させ、マイクロエックス線 CT にて、両群の骨吸収像を撮影し、第一臼歯遠心根、第二臼歯近心根・遠心根、第三臼歯近心根でセメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定した。試料は脱灰、脱水、パラフィン包埋後、連続切片を作成し、抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色および TRAP 染色を行い光学顕微鏡にて観察し、両群を比較、検討を行った。

その結果、マイクロ CT 画像では対照群と比べ実験群で顕著な骨吸収がみられた。セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離は、4 根ともに対照群と比べて実験群の方が有意に高い値を示した。抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色では歯槽骨の骨縁上および歯肉結合組織中の血管周囲および骨膜上に、対照群と比較して VEGF が強く発現していた。TRAP 染色では歯槽骨の骨膜上には実験群、対照群ともに TRAP 陽性細胞の局在がみられた。

これにより、糖尿病ラットでは高血糖状態により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨吸収に影響を与えることがうかがわれた。今後、糖尿病による歯周病の増悪のメカニズムを解明する上で、VEGF の働きをより明らかにすることが重要であると考えられる。

以上の結果から、糖尿病による歯周病の増悪することに対して、VEGF が関係する可能性を明らかにした点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。