

| | |
|-----------|---|
| Title | 4 : 抗酸化アミノ酸誘導体を用いたヒト小気道上皮細胞の細菌性炎症反応と粘液過剰分泌の回避 |
| Author(s) | 小泉, ちあき; 山田, 将博; 上田, 貴之; 石崎, 憲; 櫻井, 薫 |
| Journal | 歯科学報, 114(5): 503-503 |
| URL | http://hdl.handle.net/10130/3447 |
| Right | |

No.3 : *Treponema denticola* の抗菌薬感受性

関野 仁¹⁾²⁾, 柴山和子³⁾, 藤瀬和隆³⁾⁴⁾, 中川種昭⁵⁾, 齋藤 淳²⁾⁴⁾, 石原和幸³⁾⁴⁾
 (東京都立心身障害者口腔保健センター)¹⁾ (東歯大・歯周)²⁾ (東歯大・微生物)³⁾
 (東歯大・口科研)⁴⁾ (慶応大・医・歯科・口腔外科学教室)⁵⁾

目的 : *Treponema denticola* は慢性歯周炎の病巣より高頻度に分離され, その発症と進行に関与している。現在, 歯周病治療における抗菌療法は十分な科学的根拠に基づいて行われているとはいえない。抗菌薬適用に際し, 各抗菌薬が歯周病原細菌の発育をどの程度抑制するのか, またその発育阻止濃度を知ることが重要となるが, *T. denticola* についての情報は少ない。そこで今回, 歯周病患者における適正な抗菌療法を明確にする足掛かりを得るため, *T. denticola* 2菌株について抗菌薬感受性を評価し比較検討を行った。

方法 : *T. denticola* ATCC 35405株と GM-1株を使用した。供試菌株の培養および希釈には TYGVS 培地を用いた。

評価対象の抗菌薬は, マクロライド系のアジスロマイシン (AZM) とエリスロマイシン (EM), セフェム系のセファレキシシン (CEX), リンコマイシン系のクリンダマイシン (CLDM), クロラムフェ

ニコール (CP), テトラサイクリン系のドキシサイクリン (DOXY) とミノサイクリン (MINO), アミノグリコシド系のカナマイシン (KM), キノロン系のオフロキサシン (OFLX) である。

最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は, 各種抗菌薬の2倍連続希釈系列を用いた微量液体希釈法にて実施した。

結果および考察 : AZM は両菌株で高い MIC を示した。CEX, CLDM, CP, DOXY, EM, MINO は両菌株に対していずれも 2 μ g/mL 以下の濃度で発育を阻止した。OFLX の MIC は16~64 μ g/mL であった。CP は株間で感受性に8倍の差が認められた。その他, KM も株間で MIC が著しく異なっていた。

T. denticola は深い歯周ポケットに多く存在するとされており, その感受性レベルの把握は臨床的に有用である。今後, 他の *Treponema* 菌種についても抗菌薬感受性を精査する予定である。

No.4 : 抗酸化アミノ酸誘導体を用いたヒト小気道上皮細胞の細菌性炎症反応と粘液過剰分泌の回避

小泉ちあき, 山田将博, 上田貴之, 石崎 憲, 櫻井 薫 (東歯大・有床義歯補綴)

目的 : 気道上皮組織での粘液 (ムチン) の過剰分泌は, 誤嚥性肺炎の発症と進行に関与する。その原因は酸化ストレスを介した気道上皮細胞の炎症反応であり, 未だ効果的な予防法はない。N-acetyl-L-cysteine (NAC) は細胞の抗酸化能を向上させ酸化ストレスを抑制する。本研究の目的は, NAC を気道上皮細胞に取り込ませることで, 細菌曝露後の酸化ストレスを介した炎症反応による粘液過剰分泌を防ぐことができるかどうか培養試験的に検証することである。

方法 : NAC (20mmol/L) 含有, もしくは非含有の小気道上皮細胞用増殖培養液中で, ヒト小気道上皮細胞を3時間培養した後, *Streptococcus pneumoniae* 添加もしくは無添加の培養液に交換し, 6時間培養した。NAC 含有培養液での前培養を NAC 処理とした。培養後, 細胞内酸化ストレスレベル, ムチンの比色定量, 分泌型および膜結合型ムチンの免疫組織化学染色によるムチン定量, 炎症性サイトカイン分泌定量およびプロスタグランジン (PG) E2 産生蛍光定量を行った。また, ムチンおよび炎症性サイトカインの遺伝子発現量を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応により解析した。統計解析は, 一元配置分散分

析後に Bonferroni 検定を行った ($\alpha=0.05$)。

結果および考察 : 細菌共培養により, 細胞内 ROS 量の増加と細胞内抗酸化物質量の低下を認めた。しかし, NAC 処理した細胞では, 細菌による細胞内 ROS 量の増加は認めず, また, 抗酸化物質量は非細菌共培養下よりも高かった。細菌との共培養により, インターロイキン (IL)-6 および-8 の分泌量と PGE2 合成量は増加した。また, IL-6 と-8 の遺伝子発現は増加した。しかし, NAC 処理した細胞では, 細菌と共培養しても, それらの発現は増加しなかった。NAC 処理した細胞では, 細菌共培養による非特異的ムチンの増加を認めなかった。ムチン発現に関して, 細菌共培養下の細胞で分泌型が増加し, 膜結合型は低下した。一方, NAC 処理した細胞で, 分泌型は低下し膜結合型は増加した。これらから, NAC を取り込むことで, 膜結合型ムチンの発現向上に伴う細菌感染の阻止と酸化ストレスへの抵抗性の増大により, アラキドン酸カスケードの進行が抑制され, 気道上皮細胞における酸化ストレスを介した細菌曝露後の炎症反応による粘液の分泌増加を防ぐことが示された。