

鹿児島大学歯学部紀要

Annals of Kagoshima University Dental School

Volume 11

1991

—目 次—

- 口腔 *Bacteroides* と歯周組織のサイトカインネットワーク 高 田 春比古... 1
- 顎裂をもつ患者に対する骨移植と矯正治療.....松 田 哲 明...19
- 実験的ラット口腔癌発生におよぼす遺伝的要因.....北 野 元 生・波多野 浩 道...35

鹿 歯 紀

Ann. Kagoshima Dent.

鹿児島大学歯学部紀要投稿規定

1. 本誌は歯科医学の研究や教育に関して特定のテーマに基づき、総説あるいは啓蒙的・解説的な論文を主体に掲載する。本学部の教官は下記の規定に従い、誰でも投稿することが出来る。投稿論文の採否は、編集委員会が決定する。
2. 本誌は年1回発行する。
3. 論文の掲載は受理の順とする。ただし編集委員会より特に依頼した原稿については、別に委員会が定める。
4. 掲載料は無料とし、別刷50部を贈呈する。
5. 和文原稿はA4版またはB5版400字詰め原稿用紙を用いて書き、英文原稿はA4版用紙に10ピッチ、ダブルスペースでタイプする。別にコピー一部をつける。
6. 表紙（原稿第一枚目）には、1)表題、2)著者名、3)所属、4)欄外見出し（和文25字以内）、5)図表の数、6)原稿の枚数、7)別刷請求部数（朱書）、8)編集者への希望などを書く。
7. 英文抄録（Abstract）をつけ、その表紙には、1)タイトル、2)著者名、3)所属、4)Key words（5 words以内）、5)抄録本文はA4版タイプ用紙で250語以内とする。
8. 和文中の外国文字はタイプとし、和綴りにするときは片かなとする。イタリック指定をしたいところは、アンダーラインを引きその下にイタリックと書く。動物名などは原則として片かなを用いる。単位及び単位記号は、国際単位系による。
9. 図表およびその説明は英文で書く。本文の欄外に赤字で図表を挿入すべき位置を指定する。
10. 項目分は、I, II, ……さらにA, B……さらに1, 2……さらにa, b……というように分ける。
11. 文献表の作り方
 - 1) 本文中に文献を引用するときは文中の該当する箇所または著者名の右肩の引用の順に従って、番号を付ける。3人以上連名の場合は、“ら”または“et al.”を用いる。

例1：前田ら³⁾によれば……
例2：Hodgkin & Huxley¹⁾によれば……
 - 2) 末尾文献表は引用の順に整理し、本文中の番号と照合する。著者名は、et al.と略さず全員を掲げる。
 - 3) 雑誌は著者：表題、雑誌名、巻、頁（始一終）、

西暦年号の順に記す。

- 例1：3) 前田敏宏、渡辺 武、水野 介、大友信也：B型肝炎ウイルスに対するモノクローナル抗体、細胞工学1, 39-42, 1982
- 例2：1) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F.: The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* (Lond.) 116, 473-496, 1952
- 4) 単行本は著者名、書名、版数、編集名、章名、引用頁、発行所、その所在地の順に記す。論文集などの場合は雑誌に準じるが、著者名：章名、書名、版数、編集名、引用頁、発行所、所在地、西暦年号の順に記す。

例1：金子章道：視覚；感覚と神経系（岩波講座現代生物化学8），初版、伊藤正男編、38-57、岩波書店、東京、1974

例2：McElligott, J.G.: Chap 13, Long-term spon-taneous activity of individual cerebellar neurons in the awake and unrestrained cat., In ; Brain Unit Activity during Behavior, 1stEd., M. I. Phillips, Ed., M. I. Phillips, Ed. 197-223, Charles C. Thomas, Springfield, 1973
 - 5) 孫引きの場合は原典とそれを引用した文献及びその引用頁を明らかにし、“より引用”と明記する。
 - 6) 雑誌名の省略名は雑誌により決めてあるものについてはそれに従い、決めてないものについては日本自然科学雑誌総覧（1969、日本医学図書館協会編、学術出版会）またはIndex Medicusによる。これらにないものについては、国際標準化機構の取り決めISO R4（ドクメンテーションハンドブック、1967、文部省、大学学術局編、東京電気大学出版局、39-42頁参照）に従う。
12. その他
集會などの内容紹介、海外だより、ニュース、討論、意見、書評、隨筆など歯科医学または歯科医学者に関係あるあらゆる投稿を歓迎する。全て図表、写真などを含めて400字詰原稿用紙5枚以内にまとめる。但し、採否は編集委員会が決定する。

編集委員

浦 郷 篤 史 小 片 丘 彦
末 田 式 三 村 保
(50音順)

口腔 *Bacteroides* と歯周組織のサイトカインネットワーク

——歯周病の機序試論——

高 田 春比古

鹿児島大学歯学部 口腔細菌学教室

Oral *Bacteroides* and Cytokine Network in Periodontal Tissues

—— A Possible Mechanism of Periodontal Diseases ——

Haruhiko Takada

Department of Oral Microbiology, Kagoshima University
Dental School, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

Abstract

Oral *Bacteroides* species represented by *Bacteroides (Porphyromonas) gingivalis* and *Bacteroides intermedius (Prevotella intermedia)*, which are predominant in subgingival plaques of adult periodontitis patients and are possible periodontopathic bacteria, possess bioactive materials such as cytoplasmic membranes, peptidoglycans, outer membrane proteins, lipopolysaccharides (LPS), capsules, and fimbriae on their cell surfaces. These materials may modulate the cytokine network in periodontal tissues and induced excessive production of cytokines. Some cytokines are involved in inflammatory as well as immunological responses, and are designated as inflammatory cytokines. Among the inflammatory cytokines, interleukin (IL) 1 has been the most extensively studied, and its existence in periodontal tissues of periodontitis patients and its etiological correlation with periodontitis have been well demonstrated. We found that oral *Bacteroides* LPS, but not other LPS, induced cell-associated IL-1 α and cell-free IL-1 β and IL-6 in normal human gingival fibroblast cultures. The fibroblasts primed with some cytokines, including interferon (IFN)- β , IFN- γ and tumor necrosis factor, produced much higher cell-associated IL-1 α than the non-primed fibroblasts upon stimulation with *Bacteroides* LPS. The IL-1 is capable of inducing proliferation, matrix formation, and production various

cytokines such as IL-1 itself, IL-6, IL-8, colony stimulating factors in fibroblasts themselves and other cells in periodontal tissues. These cytokines in turn augment the inflammatory responses in periodontal tissues. This vicious cascade may be involved in the initiation and development of periodontal diseases characterized by localized chronic inflammation accompanying bone resorption.

Key words

Bacteroides; Lipopolysaccharide; Cytokine network; Fibroblast; Interleukin 1

はじめに

歯周病患者の歯周ポケット内ではグラム陰性の嫌気性桿菌が優位を占めている。なかでも *Bacteroides* (*Porphyromonas*) *gingivalis* ならびに *Bacteroides intermedius* (*Prevotella intermedia*) を始めとする黒色色素産生性 *Bacteroides* は疫学的研究に基づき、成人性歯周炎との係わりが研究者の間で広く認められている¹⁾。そこで、歯周病発症機序の解明を目指してこれら菌種に関する研究が多方面から活発に展開されてきた^{2,3)}。

生体内の細胞は相互に調節しあいながら調和のとれた共同作用を営み、生体の恒常性を維持している。サイトカインは細胞間の相互作用に重要な役割を演じており、この機構はサイトカインネットワークと呼ばれている。慢性炎症病巣においては、この調節機構に乱れが生じてサイトカインの異常産性が起っていると考えられる⁴⁾。特にインターロイキン (IL)-1, IL-6, IL-8, 腫瘍壊死因子 (TNF) などは炎症性サイトカインと呼ばれ、炎症病巣の形成に深く関わっている。

本稿では、まず炎症性サイトカイン誘導能を示す口腔 *Bacteroides* の菌体表層成分を概観する。次に *Bacteroides* のリポ多糖 (LPS) の歯肉線維芽細胞を廻るサイトカインネットワークに対する影響を、筆者らの研究を中心にして紹介した後、歯周組織におけるサイトカインネットワークの乱れと歯周病成立との係わりについて論じることとする。

II. 口腔 *Bacteroides* の生物学的に活性化菌体成分

細菌細胞表層には生体反応調節物質 (Biological response modifier, BRM) が局在している。むしろ細菌細胞表層に全く生物活性を欠く成分を見出すことは困難であると言える。これは宿主と寄生性あるいは病原性細菌が地球上に誕生して以来、連綿と続いてきた相互作用が両者の進化に及ぼした効果の集積と旨

えよう。これら菌体成分のうちでも細菌細胞壁に普遍的に存在するペプチドグリカンとグラム陰性菌の外膜を構成する LPS については膨大な研究がなされてきた。そして、それぞれの活性中心であるムラミルジペプチド (MDP) とリポド A が化学合成され、種々の合成アナログを供試した研究によって、活性-構造相関が明らかにされている^{5,6)}。これらの研究を通じて菌体成分の生物活性の多くが、それら成分によって宿主細胞に誘導される各種サイトカインの作用に帰することが示唆されている。Fig. 1 はグラム陰性菌のなかでも、最も研究が進んでいる *Escherichia coli* の細胞表層を模式的に示した図である。*Bacteroides* 属の表層構造も基本的には類似のものであるが、いくつかの独特な性状を有している。次に口腔 *Bacteroides* の表層成分について、内側より順次その特徴と生物活性を概説する。

A. 細胞質膜

細胞質膜は動・植物等の真核細胞と細菌等の原核細胞に共通して認められる構造である。しかも細菌では、最内層の膜構造である。そのため生物活性の点ではあまり期待されず、研究は遅れている。しかし、細胞壁を欠き細胞質膜が露出している *Mycoplasma* については、音波破砕物の遠心沈渣が、ヒトならびにマウスのリンパ球 (主として B リンパ球) の増殖を促すマイトジェン作用を示すことが知られている⁸⁾。筆者らは *Staphylococcus aureus* の L 型菌 (細胞壁を欠く) の細胞質膜中に、熱ならびにトリプシン耐性で、クロロホルム・メタノール混液中に可溶の B 細胞マイトジェンを見出した^{9,10)}。最近、熊谷らのグループ¹¹⁾は、種々のグラム陽性菌の細胞質膜がヒト T リンパ球を IL-2 非依存的に増殖させることを明らかにし、その活性は膜に組み込まれた 10~15 KDa のタンパクによることを示した。*Bacteroides* を含めて、グラム陰性菌の細胞質膜については、LPS や外膜タンパクの混入のない標品を調製することが困難なこともあって、これまでのとこ

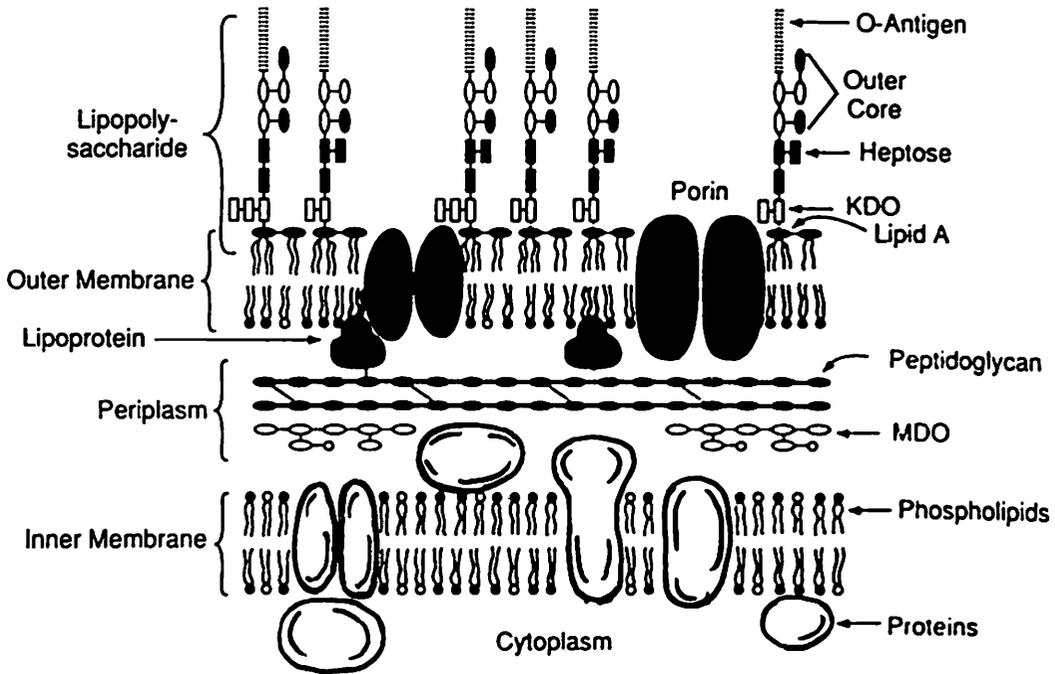


Fig. 1. Schematic structure of the *E. coli* envelope. Ovals and rectangles depict sugar residues. Circles represent the polar headgroups of phospholipids. MDO are membrane-derived oligosaccharides, and KDO is 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid. KDO and heptose make up the inner core of LPS. (Quoted from Raetz, C. R. H.⁷⁾)

ろ生物活性の報告は見られない。

B. ペプチドグリカン

上述のようにペプチドグリカンの活性中心である MDP (*N*-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン) が化学合成されて以後、この方面の研究は急速に進歩した。MDP は極めて多彩な生物活性を発揮する^{5,12,13)}。口腔 *Bacteroides* のペプチドグリカンも MDP 構造を保有しているが、他の構成アミノ酸は必ずしも菌種間で共通ではないようである。例えば、軸ペプチド間の架橋に係わるアミノ酸は、*B. gingivalis* では L-リジンである¹⁴⁾のに対し、*B. intermedius* ではジアミノピメリン酸である¹⁵⁾。しかし口腔 *Bacteroides* のペプチドグリカンを供試してサイトカイン誘導作用等の生物活性を調べた報告は、現在のところ見られない。

C. 外膜タンパク

外膜タンパクで最も研究が進んでいるのはポーリンである。ポーリンは疎水性の脂質二重層である外膜に

透過孔を形成して、菌体内に親水性物質を取り込む役割を担っている。一方、口腔 *Bacteroides* に関しては、*B. gingivalis* を供試して、多くの外膜タンパクが分離・精製されている¹⁶⁾。これらの外膜タンパクは、主として歯周病患者の *B. gingivalis* に対する免疫状態をスクリーニングする抗原として利用されている。しかし、外膜タンパクは抗原として作用するばかりでなく、免疫担当細胞を非特異的に活性化作用を示す¹⁷⁾。実際、*B. gingivalis* の細胞表層をドデシル硫酸ナトリウム (SDS) で処理して調製した外膜タンパクに富む画分は、モルモットの卵白アルブミンに対する抗体応答を高め、遅延型過敏症を誘導するアジュバント活性を示すとともに、マウスに対し強力な B 細胞マイトジェンとして作用する¹⁸⁾。最近、Yoshimura ら¹⁹⁾ は *B. gingivalis* 381 株よりポーリン活性を欠く 75 KDa のタンパクを精製した。この主要外膜タンパクはマウス脾細胞にマイトジェン活性ならびに多クローン性 B 細胞活性化 (PBA) 作用を発揮し、マウス腹腔マクロファージ培養で IL-1 を誘導すると報告されている²⁰⁾。

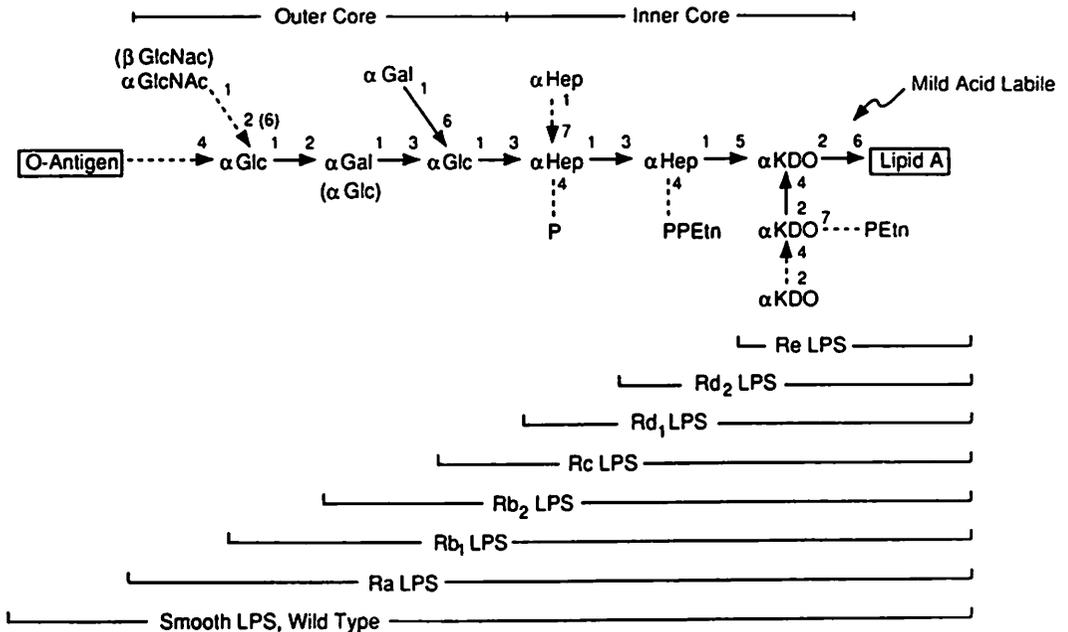


Fig. 2. The core structures of LPS from *S. typhimurium* and *E. coli* K 12 (unique features of *E. coli* in parentheses). (Quoted from Raetz, C. R. H.⁷⁾)

D. LPS

LPSの研究は主として*E. coli*, *Salmonella*属等の腸内細菌科の菌を供試して進められてきた。Fig. 2は*Salmonella typhimurium*あるいは*E. coli*のLPSの化学構造である。またTable 1は、これまでに報告されたLPSないしリビドAの主な生物活性をまとめて示したものである。一方、*Bacteroides*のLPSの化学構造には未解決の部分が多い。しかし、これまでの報告によって少なくとも*Bacteroides*のLPSは化学構造の点でも、生物活性の点でも腸内細菌科のそれとは異なる特異な性状を有していることが明らかにされている。

1. *Bacteroides* LPSの化学構造

最近、DNA相同性分析のデータに基づいて、口腔*Bacteroides*を腸内の*Bacteroides fragilis*群等と区別して、別の菌属に分類することが提唱され、*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*等の菌名が研究者の間で受け入れられつつある。Table 2は従来の菌名と新しい菌名とを対比して示したものである。しかし、これら菌種のLPSは共通する性状を示す場合が多い。そこで本稿では、一括して*Bacteroides* LPSとして論じることとし、従来の菌名を用いることにする。

1968年のHofstadの報告²¹⁾以来、*Bacteroides*のLPS

には腸内細菌科のコア多糖成分に特徴的な成分であるヘプトースとKDO (Fig. 2)が検出されないとされてきた。通常、KDOの分析はLPSを酢酸等の弱酸で加水分解して、KDOとリビドAとの結合を切断した後に実施する。この加水分解を塩酸等の強酸で行うと、*Bacteroides* LPSでもKDOが検出される²²⁻²⁴⁾。これは*Bacteroides* LPSではKDOの4位ないし5位にリン酸が結合している、リビドAとの結合を酸水解に対して抵抗性になっているためと解釈されている。モノクローナル抗体を供試した解析によると、*B. gingivalis*のLPSには少なくとも2種の血清型が存在するようである²⁵⁾が、それぞれのエピトープは不明である。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)の成績は*B. gingivalis*のLPSも他のS型のLPSと同様のラダーパターンを示し、繰り返し構造O多糖の存在が示唆されている²⁵⁾。一方、筆者らのデオキシコール酸(DOC)-PAGEの成績では、*B. gingivalis*を除く口腔*Bacteroides*のLPSにはほとんどラダーパターンが認められず、R型のLPS様の泳動パターンを示している(Fig. 3)。特に*B. intermedius* ATCC 25611株のそれはほぼ単一のバンドとなり、その移動度から見て、*Salmonella minnesota*のRcないしRd1 (Fig. 2)に相当する分子量を有することが示唆された(未発表)。いずれにしても口腔*Bacteroides*のLPSのコア多糖の

Table 1. Bioactivities of LPS or lipid A

Lethal toxicity	Adjuvant (immunomodulating) activity
Pyrogenicity	Increase of nonspecific resistance to infection
Preparative and provocative activity for local Shwartzman reaction	Induction of tumor necrosis
Induction of hypothermia in mice	Induction of tumor necrosis factor (TNF)
Induction of leukocytosis	Induction of interferon (IFN)
Induction of bone marrow necrosis	Induction of colony stimulating factor (CSF)
Depression of blood pressure	Induction of prostaglandin (PG) synthesis
Toxicity enhanced by BCG	Induction of tolerance to endotoxin
Toxicity enhanced by adrenalectomy	Induction of early refractory state to temperature change
Toxicity enhanced by galactosamine	
Enhanced dermal reactivity to epinephrine	Somnogenic effect
	Analgesic effect
Platelet aggregation	
Complement activation	
Hageman factor activation	Mitogenic activity for B lymphocytes
Induction of plasminogen activator	Macrophage activation
Limulus activity (activation of clotting enzyme cascade of amoebocyte lysate of horseshoe crab)	Polymorphonuclear leukocyte activation
	Endothelial cell activation
Embryonic bone resorption	Induction of mouse liver pyruvate kinase
Type C RNA virus release from mouse spleen cells	Inhibition of phosphoenolpyruvate carboxykinase

Quoted from Takada, H. and Kotani, S.⁶⁾

Table 2. Nomenclature of black-pigmented anaerobic rods

Former designation	New designation
black-pigmented <i>Bacteroides</i>	black-pigmented anaerobic rods
<i>B. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>B. asaccharolyticus</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>B. endodontalis</i>	<i>Porphyromonas endodontalis</i>
<i>B. intermedius</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>B. corporis</i>	<i>Prevotella corporis</i>
<i>B. melaninogenicus</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>B. denticola</i>	<i>Prevotella denticola</i>
<i>B. loescheii</i>	<i>Prevotella loescheii</i>

From Van Steenberg, T.J.M. et al.¹⁾

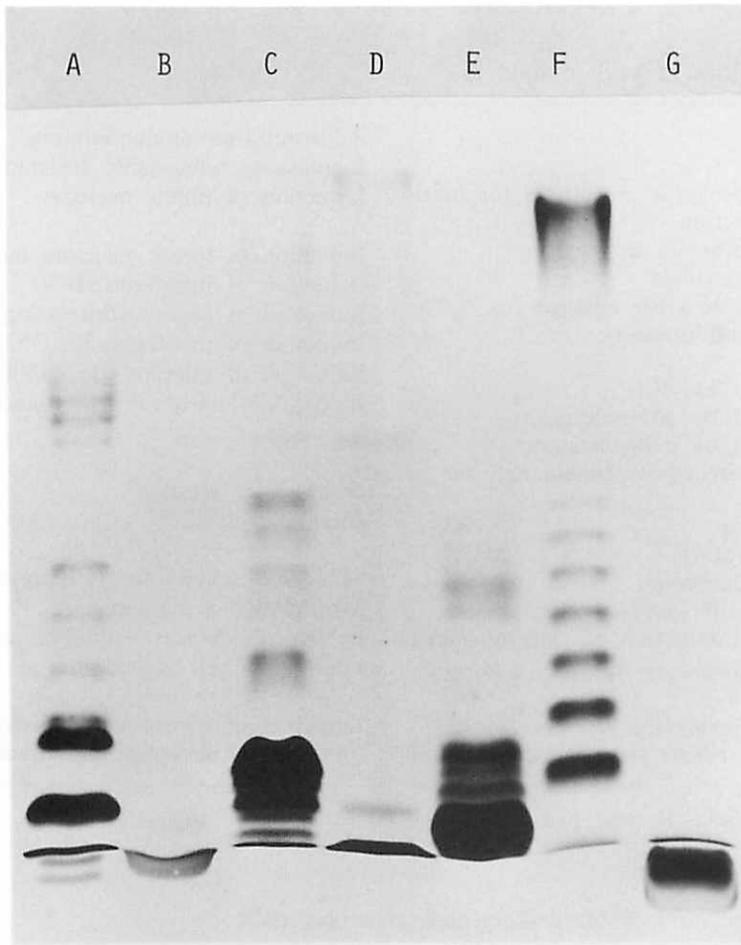


Fig. 3. Migration patterns of LPS from various *Bacteroides* species and reference bacteria. LPS samples (2 μ g each) from *B. gingivalis* 381 (lane A), *B. intermedius* ATCC 25611 (B), *B. loescheii* ATCC 15930 (C), *B. corporis* ATCC 33547 (D), *B. oralis* ATCC 33269 (E), *S. abortus-equi* (F), and *S. minnesota* R595 Re (G) were applied to DOC-PAGE and stained with a silver-stain kit. (Quoted from Takada, H. et al.²⁶⁾)

構造は解明されていない。

Bacteroides LPS のリピド A の構造に関しては、*B. fragilis* 群の LPS を供試した Wollenweber らの先駆的な研究²⁷⁾によって、特異な脂肪酸組成を示すことが明らかにされている。*B. fragilis* 群のリピド A に共通して認められる特徴として、多くの菌種の LPS に広く認められるテトラデカン酸 (ミスチン酸: 14:0) や 3-ヒドロキシテトラデカン酸 (3-OH-14:0) が検出されないこと、13-メチル-テトラデカン酸 (13-Me-14:0) や 3-ヒドロキソ-15-メチル-ヘキサデカン酸 (3-OH-15-Me-16:0) などの分岐脂肪酸が高率に検出されることが挙げられる。口腔 *Bacteroides* の LPS について

も本質的に同様の知見が報告されている^{24,25)}。最近 Weintraub ら²⁸⁾は *B. fragilis* のリピド A の推定構造を提示した。Fig. 4 にその構造と *E. coli* のリピド A の化学構造とを並べて示しておく。両者とも β (1 \rightarrow 6) グルコサミンジサッカリド骨格の 2 および 2' 位にアミド、3 および 3' 位にエステル結合した脂肪酸を有している。しかし、その脂肪酸組成は上述のように著しく異なっている。また *E. coli* では 2' と 3' 位に 2 つのアシルオキシアシル脂肪酸を有するのに対し、*B. fragilis* のリピド A は 2' 位に 1 つのアシルオキシアシル基を有するのみである。さらに *E. coli* のリピド A は 1 および 4' 位に 2 つのリン酸基を有するのに対し、*B. fragilis* のリピド A

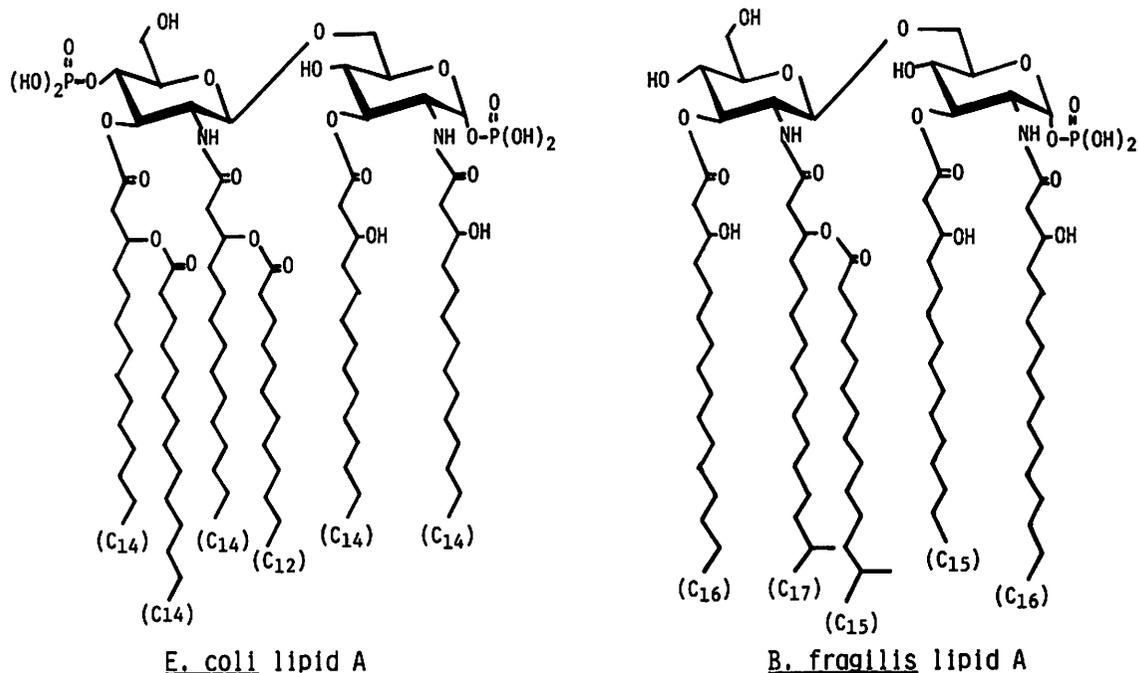


Fig. 4. Proposed chemical structure of *B. fragilis* lipid A as compared with a defined chemical structure of *E. coli* lipid A. (Quoted from Weintraub, A. et al.²⁸)

は4'位のリン酸を欠き、リン酸基は1位の1つだけである。

2. *Bacteroides* LPSの生物活性

Table 1に示したLPSの生物活性のなかで、致死毒性、発熱作用、Shwartzman活性などの“毒性”は一般に内毒素作用と呼ばれている。*Bacteroides* LPSの内毒素作用は極めて弱い^{29,30}。このことは合成リピドA関連化合物を供試した研究の結果^{6,31}とよく一致している。すなわち上述の*Bacteroides*のリピドAの化学構造の特徴である1) 4'位のリン酸を欠くモノリン酸リピドAであること、2) アシル基がテトラデカン酸(C14)より相当に長鎖であること、および3) アシルオキシアシル基が1つしかないことのいずれもが、内毒素活性の減弱をもたらす。このように内毒素活性は極めて構造要求性が厳しく、*E. coli*型のリピドAに近い構造のみが明確な内毒素活性を発現する^{6,31}。一方、免疫増強作用、各種サイトカイン誘導作用などTable 1に示した他の大部分の作用は比較的構造要求性が緩やかで、広範なりピドA関連化合物に共通に認められる^{6,31}。実際、内毒素活性の弱い*Bacteroides*のLPSも*in vitro*培養系でリンパ球やマクロファージを強く活

性化する^{32,33}。さらにマウスの腹腔マクロファージならびにヒト末梢血単球を刺激してIL-1を誘導する³⁴⁻³⁷。

なお、*Bacteroides*のLPSは、通常LPSに対して応答しないC3H/HeJマウスのリンパ球やマクロファージをも活性化すると多数の報告がある^{30,32,33}。しかしこれらの作用はいずれも*in vitro*培養系で調べられたものであり、*in vivo*検定系では、*Bacteroides*のLPSもC3H/HeJマウスには作用しない³⁰。但し、筆者らが見出したMDP前処理マウスにアナフィラキシー様反応と急性死を導く*Bacteroides* LPSの作用に対しては、C3H/HeJマウスも反応性を示す^{26,38}。ちなみに、これらの研究では供試されたLPSはほとんどが熱フェノール・水抽出法³⁹で調製されたものである。筆者らは*B. intermedius* ATCC 25611株より石油エーテル・クロロホルム・フェノール混液でLPSを抽出(PCP法⁴⁰)後、脱塩とトリエチルアミンによる可溶化を繰り返して⁴¹不純物を除去したLPSを調製した。この標品はLPS応答性のC3H/HeNマウスに対するマイトジェン作用を保持しているが、C3H/HeJマウスには同作用を及ぼさなかった⁴²。この所見は*Bacteroides* LPSのC3H/HeJマウスに対する作用が、LPS標品中に混入した他の成分の活性に帰しうる可能性を示唆している。

Table 3. Cytokines and growth factors produced by fibroblasts

CYTOKINES
Interleukin 1 α and β (IL-1 α and β)
Interleukin 6 (IL-6)
Interleukin 8 (IL-8)
Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)
Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)
Interferon β (IFN- β)
GROWTH FACTORS
Epidermal growth factor (EGF)
Insulin-like growth factor (IGF)
Platelet-derived growth factor (PDGF)
Fibroblast growth factor (FGF)
Transforming growth factor β (TGF- β)

Quoted from Takada, H. et al.⁵⁷⁾

E. 莢膜

Bacteroides の多くの菌株が莢膜を有しており熱フェノール・水抽出法で調製した LPS には莢膜が混入している可能性がある^{43,44)}。上述の C3H/HeJ マウスに対する *Bacteroides* LPS の作用もあるいは莢膜成分に帰する可能性もある。しかし、*Bacteroides* の莢膜を精製してその生物活性を調べた研究はこれまでのところ見られない。

F. 線毛

多くの口腔 *Bacteroides* が線毛を有している。Yoshimura ら^{45,46)} は *B. gingivalis* 381 株より線毛を精製し、単位タンパクである fimbrilin の特性を明らかにした (43 KDa で等電点 6)。さらに Dickinson⁴⁷⁾ は同タンパクの遺伝子をクローニングしてアミノ酸配列を明らかにした。その後の研究で *B. gingivalis* の線毛にはアミノ酸配列の点でも抗原性の点でも多用性が認められるという^{48,49)}。同線毛は頬粘膜の上皮細胞に付着する性質を示し、同菌の付着因子として機能していると考えられる⁵⁰⁾。Ogawa ら⁵¹⁻⁵⁴⁾ は同精製線毛 (但し 41 KDa) を抗原として歯周病患者の病巣局所で免疫応答を細胞レベルで解析するとともに実験動物の同抗原に対する免疫応答を多面的に研究している。一方、

Hanazawa ら⁵⁵⁾ は、*B. gingivalis* の線毛がヒト歯肉線維芽細胞を刺激して IL-1 様因子を誘導すると報告している。

III. 歯周組織のサイトカインネットワークの破綻

前節に記した様に、口腔 *Bacteroides* の菌体表層には多様な生物活性物質が局在し、これらはいずれも宿主細胞を刺激して種々のサイトカインを誘導する可能性を有している。従って歯肉溝に *Bacteroides* が増殖した場合、局所で過剰のサイトカインが産生されてサイトカインネットワークに破綻を来す恐れがおる。これが歯周病発症機序の重要な要因と考えられる。このような観点から筆者は菌体成分の中でも生物活性の研究が最も進んでいる LPS を供試し、歯周組織のサイトカインネットワークに対する作用の研究に着手した。これまで、この方面の研究は、実験動物の腹腔マクロファージや脾リンパ球あるいはヒト末梢血中の単球やリンパ球といった全身的な免疫を担当する細胞を供試したものが多かった。しかし、ヒト歯周組織局所での反応を想定したモデルとしては、これらの細胞は必ずしも適当ではない。そこで筆者は歯周組織を構成する主要細胞であり、潜在的に多彩なサイトカイン産生能を有す

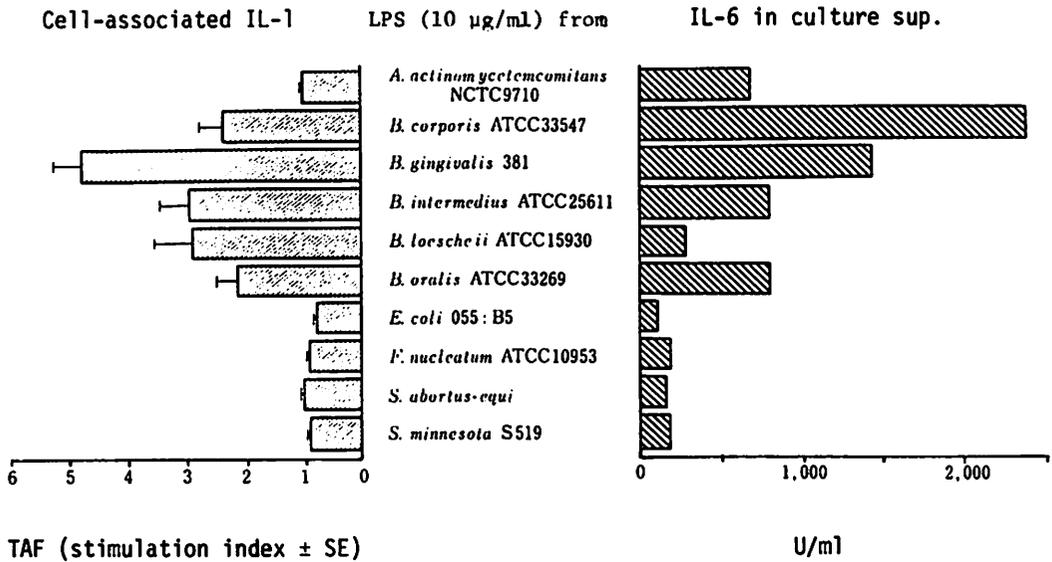


Fig. 5. Induction of IL-1 and human gingival fibroblast cultures by various LPS. (From Takada, H. et al.⁶⁵)

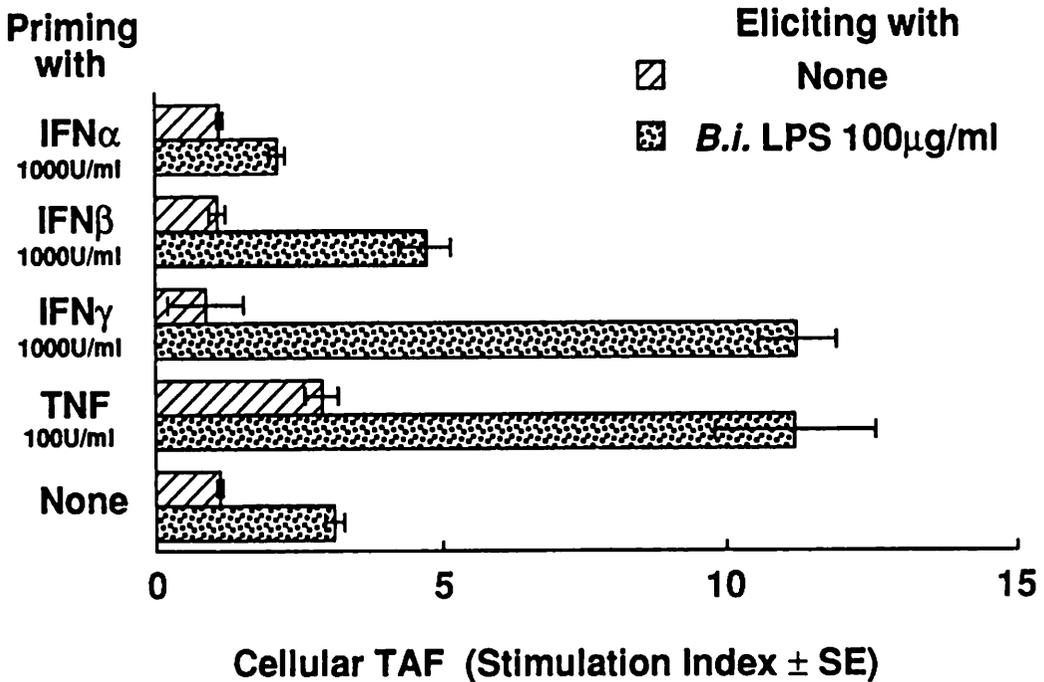


Fig. 6. Priming effects of natural human interferons and recombinant human TNF for generation of cell-associated TAF, which was revealed to be IL-1 α , by human gingival fibroblasts elicited with *B. intermedius* LPS. (Quoted from Hamada, S. et al.³³)

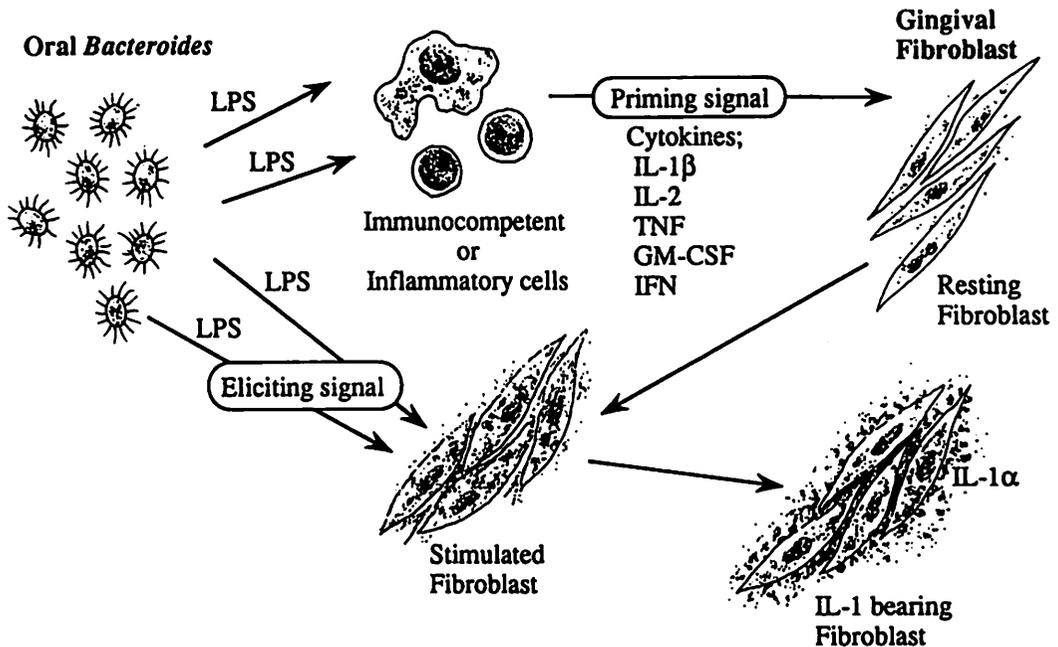


Fig. 7. Fibroblasts under immunological or inflammatory responses generate high levels of IL-1 upon stimulation with bacterial stimuli. Gingival fibroblasts were primed with various cytokines produced by immunocompetent and inflammatory cells stimulated with *Bacteroides* LPS in the periodontal tissues. The stimulated fibroblasts were capable of generating large amounts of membrane IL-1 α upon stimulation of *Bacteroides* LPS. (Quoted from Takada, H. et al.⁵⁷⁾)

る（後述）歯肉線維芽細胞を供試することにした。

A. 線維芽細胞と LPS

歯周病の発症に LPS が重要な役割をはたしているとの考えは研究者の間に広く受け入れられてきた。しかし、これまでのところ LPS を文字通り“毒素”と見なして、培養細胞に対する毒性を調べた研究が多い。この種の研究の標的細胞として、しばしば歯周組織の線維芽細胞が供試され、LPS による増殖抑制、各種マトリックス産生抑制などが報告されてきた^{33,56)}。しかし線維芽細胞は単に結合織の構成要素として物理的バリアを形成するだけではない。Table 3 に示すように、線維芽細胞に適当な刺激を加えれば、他の細胞を凌ぐ多様なサイトカインならびに成長因子を産生する。従って線維芽細胞は炎症・免疫反応に係わる重要な細胞としてサイトカインネットワークの要めの位置を占めている可能性がある。

サイトカインのなかで実際に歯周病患者の病巣中に

検出され、病態との疫学的関係が証明されているものは意外に少なく、現時点では IL-1 と IL-6 のみである⁵⁸⁻⁶²⁾。最近、Kabashima ら⁶³⁾は、慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中の IL-1 様活性は、IL-1 α に基づくもので IL-1 β はほとんど関与していないことを明らかにしている。筆者は歯肉線維芽細胞培養を口腔 *Bacteroides* の LPS で刺激し、IL-1 ならびに IL-6 が誘導されるかどうかを検討した。ちなみに Kurt-Jones ら⁶⁴⁾は *E. coli* の LPS は、ヒト皮膚線維芽細胞に膜結合性の IL-1 を誘導しなかったと報告している。

B. *Bacteroides* LPS によるヒト歯肉線維芽細胞培養系での IL-1 ならびに IL-6 の誘導

口腔由来の 4 菌種を含む種々グラム陰性菌の LPS を正常ヒト歯肉線維芽細胞に作用させて、IL-1 誘導作用を調べた。IL-1 活性は培養上清と凍結融解して得た細胞画分を供試して、フィトヘムアグルチニン (PHA, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 存在下で C3H/HeJ マウスの胸線細胞の増殖

Table 4. Inflammatory activities of IL-1

<i>In vivo</i> activities	<i>In vitro</i> activities
Hematological effects	Immunological activities
Neutrophilia	T cell activation
Increased GM-CSF	IL-2 production and increased IL-2 receptors
Bone marrow stimulation	B cell activation and growth factor for B cells
	Synergism with IL-4
Effects on vascular wall	Induction and synergism with IL-6
Increased leukocyte adherence	Activation of natural killer cells
Increased PGE synthesis	Synergism with IL-2, interferons, on NK cells
Decreased systemic vascular resistance	Increased lymphokine production
Chemoattractant	Macrophage cytotoxicity
	Increased IL-1 production
Metabolic effects	Other activities
Increased acute-phase protein	Basophile histamine release
Decreased albumin synthesis	Eosinophile degranulation
Increased sodium excretion	Increased collagenase production
Increased corticosteroid synthesis	Bone resorption
	Induction of fibroblast and endothelial CSF activity
Effects on central nervous system	Production of PGE ₂ in dermal and synovial fibroblasts
Fever	Increased neutrophile and monocyte thromboxane synthesis
Brain PGE ₂ synthesis	Keratinocyte proliferation
Increased ACTH	Proliferation of dermal fibroblasts
	Increased collagen synthesis

Quoted from Dinarello, C. A.⁷⁰⁾ with modifications.

を促進する胸線細胞活性化 (TAF) 作用を指標にして測定した。その結果、上述の Kurt-Jones らの報告に一致して、腸内細菌科等の LPS は IL-1 誘導作用を示さなかったが、*Bacteroides* 4 菌種の LPS はいずれも、培養上清ならびに細胞画分に IL-1 活性を誘導した (Fig. 5)。TAF 活性には、IL-1 以外に IL-6 などの他のサイトカインも関与する可能性がある。そこで、特異抗体と各種リコンビナントサイトカインを供試して解析したところ、培養上清の IL-1 活性は IL-1 β が主体でそれを IL-6 が増強しているのに対し、細胞画分の IL-1 活性は全て IL-1 α に基づくことが明らかになった⁶⁵⁾。次に同様にして調製した培養上清ならびに細胞画分を供試して IL-6 活性を測定した。測定は IL-6 依存性細胞株 MH 60. BSF 2⁶⁶⁾ に対する増殖刺激作用を指標に行なった。その結果、*Bacteroides* LPS は他の菌種の LPS よりも強力に IL-6 を培養上清中に誘導することが明らかになった (Fig. 5)。なお、細胞画分にはほとんど IL-6 活性は検出されなかった。

C. 歯肉線維芽細胞を廻るサイトカインネットワーク

1. IL-1 産生増巾システム

歯肉線維芽細胞が生体内で実際に *Bacteroides* LPS の刺激を受けるときには、局所に多少とも炎症・免疫反応が起こり、周囲に種々のサイトカインが存在していると考えられる。従って歯肉線維芽細胞は LPS にさらされるとともに種々のサイトカインにも接しているであろう。線維芽細胞に作用するサイトカインとしては TNF、インターフェロン (IFN) などが知られている。そこで TNF、IFN- β ないし γ で歯肉線維芽細胞を前刺激 (プライミング) した後、*B. intermedius* の LPS で刺激 (惹起刺激) すると、非処理細胞よりも高レベルの細胞画分 IL-1 α が誘導された (Fig. 6)。ちなみに TNF は単独でも線維芽細胞に IL-1 α を誘導する^{64,67,68)} が、IFN- β および γ の単独では IL-1 は誘導されない⁶⁵⁾ (Fig. 6)。また *Bacteroides* の LPS で線維芽細胞に IL-1 α を誘導する際に培養系に IFN- β に対する抗血清を加えておくと IL-1 α が誘導されなくなることから、LPS による IL-1 α の誘導には内在性の IFN- β が介在していることが示唆された⁶⁵⁾。

Huleihel ら⁶⁹⁾ は種々のサイトカイン (IL-1 β , IL-2,

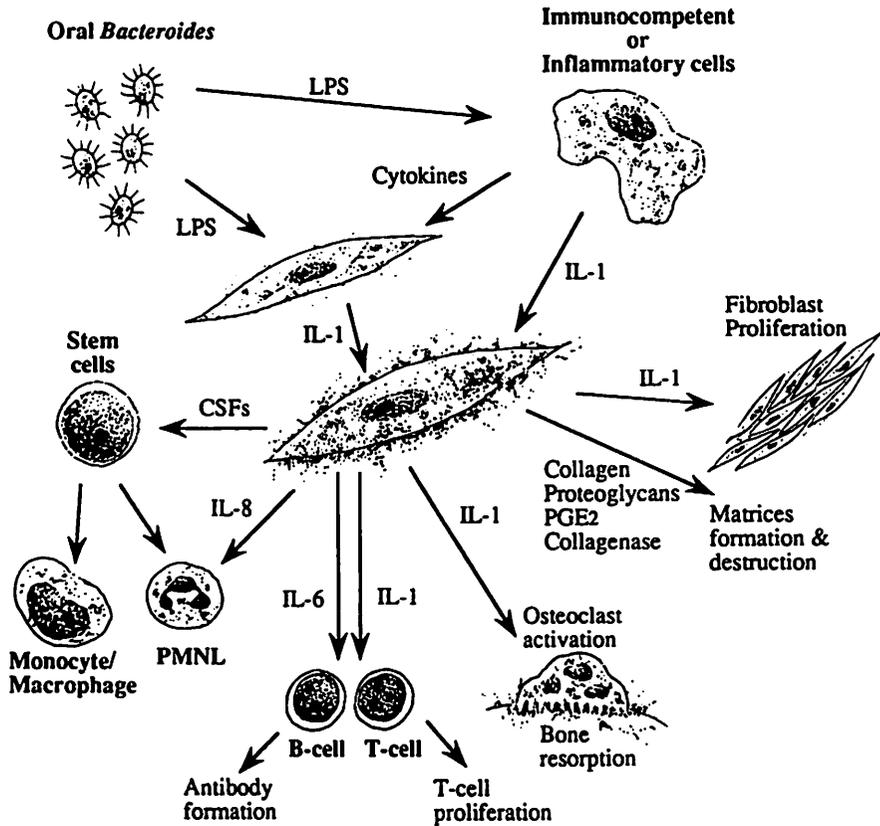


Fig. 8. Cytokine network in the gingival fibroblasts and possible implications in pathogenesis of periodontal diseases. (Quoted from Takada, H. et al.⁵⁷⁾)

顆粒球・マクローファージコロニー刺激因子 (GM-CSF), TNF, IFN- α , および β) でマウスの胎仔線維芽細胞を前処理した後, LPS で惹起刺激すると, 無処理細胞では誘導できなかった IL-1 活性が細胞画分に誘導される (培養上清には活性は検出されないという) こと, さらにこの時点で細胞には IL-1 α と β の両方のメッセンジャー RNA (mRNA) が発現しているが, 実際に出された IL-1 活性の大部分は抗 IL-1 α 抗体で抑制されることを示した。上述の筆者らの成績と考えあわせると, Fig. 7 のような構図を描くことができる。歯周組織の炎症反応の場では線維芽細胞は周囲に存在する免疫担当細胞や炎症性細胞の産生する種々のサイトカインにさらされておりプライミング刺激を受けている。そのため *Bacteroides* を始めとする種々の歯周病関連細菌の LPS に感受性となり, 高レベルの細胞画分 (膜結合性) IL-1 α を産生する。in vitro 系と異なり実際の炎症の場には種々のタンパク分解酵素が存在するので, 細胞画分 IL-1 α は処理されて一部は遊離の形で放出さ

れるであろう。この構図は前述の Kabashima らの成績⁶³⁾ともよく一致する。

2. 歯周組織破壊

上述のような機序により細菌の侵襲した歯周組織で線維芽細胞は IL-1 α を持続的に産生している可能性がある。IL-1 は代表的な炎症性サイトカインであり, 炎症反応に関連する多彩な活発を發揮する (Table 4)。例えば本稿の主題である線維芽細胞に対する作用だけを取りあげても, IL-1 は増殖を促し⁷¹⁾, コラーゲン⁷²⁾ やプロテオグリカン⁷³⁾ などのマトリックス形成を調節する一方で, コラゲナーゼ^{74,75)} などの酵素やプロスタグランジン⁷⁵⁾ 産生を増強する。さらに IL-1 は線維芽細胞を刺激して IL-1 自体 (α および β) の産生を促す^{76,77)} ほか, IL-6⁷⁸⁾, IL-8⁷⁹⁾, GM-CSF⁸⁰⁾, G-CSF⁸¹⁾, M-CSF⁸¹⁾ などの種々のサイトカインの産生を誘導する。要するに IL-1 は炎症の場でサイトカインネットワークを構成する最も重要な要素と言える。

歯周病の最も特徴的な症状である歯槽骨の吸収に関しても IL-1 が中心的な役割を担っている⁸²⁾。IL-1 は *in vitro* 実験系で骨吸収を促す。長管骨を供試した実験では IL-1 β のほうが IL-1 α よりも強い骨吸収作用を示すが、頭蓋骨を供試した実験では両 IL-1 は同程度の活性を示すという⁸²⁾。Nishihara ら⁸³⁾ はマウスマクロファージ系細胞 P338 D₁ の膜結合型 IL-1 α が *in vitro* でマウス頭蓋骨の吸収を促したと報告している。TNF も骨吸収作用を示すことが知られているがその作用は IL-1 よりも弱い^{82,84)}。IL-1 や TNF は破骨細胞に直接作用するよりもむしろ骨芽細胞などに作用して破骨細胞の分化を促すと考えられている。実際に骨髓培養系に L-1 あるいは TNF を加えて長期培養すると多核の破骨細胞様細胞が形成される⁸²⁾。最近、IL-6 も同様な多核細胞の形成を誘導するところが明らかにされた⁸⁵⁾。なお破骨細胞の分化には M-CSF を産生する間葉系細胞の助けが必要と言われている⁸⁶⁾。いずれにしても骨吸収に関しても IL-1 が要めとなっており、自ら IL-1 を産生するとともに、IL-1 に応答して M-CSF を産生する線維芽細胞などの間葉系細胞が重要な役割を担っているものと考えられる。ちなみに、Hopps ら⁸⁴⁾ は *B. gingivalis* LPS ならびに MDP は骨膜の線維芽細胞を刺激して IL-1 やプロスタグランジン E₂ などの骨吸収因子を産生させ、骨吸収を促進すると報告している。

IV. おわりに

以上記載した知見を筆者の視点から総合して Fig. 8 に図解した。この図では菌体成分を *Bacteroides* LPS に代表させているが、II 欄でも論じたように多くの菌体成分が LPS と同様の作用を示す可能性を有している。実際、上述のように *B. gingivalis* の線毛はヒト歯肉線維芽細胞に IL-1 様因子を誘導する⁵⁵⁾。また MDP も線維芽細胞を刺激して IL-1 様因子の産生を促すことが知られている^{84,87,88)}。またサイトカインネットワークの要めの位置に線維芽細胞を配したが、この位置に上皮の角化細胞、血管内皮細胞あるいはマクロファージ系細胞を置いて同様な図を描くことも可能である。要するに歯周局所に細菌が増殖すればサイトカインネットワークの破綻を導き、炎症性サイトカインが過剰に産生され、組織破壊が進行すると考えられる。

文 献

- 1) Van Steenberg, T. J. M., Van Winkelhoff, A. J. & De Graaff, J.: Black-pigmented oral anaerobic rods: classification and role in periodontal disease., In; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Holt & J. R. McGhee, Ed. 41-52, Quintessence, Tokyo, 1991.
- 2) Mayland, D., Mouton, C. & Grenier, D.: Chemical and biological properties of cell-surface components of oral black-pigmented *Bacteroides* species., In; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Holt & J. R. McGhee, Ed. 99-115, Quintessence, Tokyo, 1991.
- 3) Mayrand, D. & Holt, S. C.: Biology of asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species. Microbiol. Rev. 52, 134-152, 1988.
- 4) 宮坂信之: サイトカイン産性調節の逸脱, Mebio 7, 36-43, 1990.
- 5) Takada, H. & Kotani, S.: Immunopharmacological activities of synthetic muramylpeptides., In; Immunology of the Bacterial Cell Envelope, D. E. S. Stewart-Tull & M. Davies. Ed. 119-152, John Wiley & Sons, Chichester, 1985.
- 6) Takada, H. & Kotani, S.: Structural requirements of lipid A for endotoxicity and other biological activities. CRC Crit. Rev. Microbiol. 16, 477-523, 1989.
- 7) Raetz, C. R. H.: Biochemistry of endotoxins. Ann. Rev. Biochem. 59, 129-170, 1990.
- 8) Naot, Y. & Ginsburg, H.: Activation of B lymphocytes by mycoplasma mitogen(s). Immunology 34, 715-720, 1978.
- 9) Takada, H., Hirachi, Y., Hashizume, H. & Kotani, S.: Mitogenic activity of cytoplasmic membranes isolated from L-forms of *Staphylococcus aureus*. Microbiol. Immunol. 24, 1079-1090, 1980.
- 10) Takada, H., Hirachi, Y., Hashizume, H. & Kotani, S.: Mitogenic effect of cytoplasmic membranes and a cytoplasmic fraction of *Staphylococcus aureus* L-forms on human peripheral blood lymphocytes. Microbiol. Immunol. 25, 317-326, 1981.
- 11) 力石秀実, 佐藤秀樹, 熊谷勝男: 細胞質膜タンパク質. 歯科ジャーナル 31, 936-946, 1990.
- 12) 小谷尚三, 高田春比古: 細菌細胞壁ならびに関連

- する合成標品 (ムラミルペプチド) の免疫薬理作用. 薬学誌 103, 1-27, 1983.
- 13) 高田春比古, 小谷尚三: 細菌表層ムラミルペプチドと生体反応. 最新医学 43, 1268-1276, 1988.
 - 14) Shah, H. N., Williams, R. A. D., Bowden, G. H. & Hardie, J. M.: Comparison of the biochemical properties of *Bacteroides melaninogenicus* from human dental plaque and other sites. J. Appl. Bacteriol. 41, 473-492, 1976.
 - 15) Hammann, R. & Werner, H.: Presence of diaminopimelic acid in propionate-negative *Bacteroides* species and in some butyric acid-producing strains. J. Med. Microbiol. 14, 205-212, 1981.
 - 16) Holt, S. C. & Ebersole, J. L.: The surface of selected periodontopathic bacteria: possible role in virulence., In; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Holt & J. R. McGhee, Ed. 79-98, Quintessence, Tokyo, 1991.
 - 17) Takada, H., Ogawa, T., Yoshimura, F., Otsuka, K., Koikeguchi, S., Kato, K., Umemoto, T. & Kotani, S.: Immunobiological activities of a porin fraction isolated from *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953. Infect. Immun. 56, 855-863, 1988.
 - 18) Kato, K., Koikeguchi, S., Ishihara, H., Murayama, Y., Tsujimoto, M., Takada, H., Ogawa, T. & Kotani, S.: Chemical composition and immunobiological activities of sodium dodecyl sulphate extracts from the cell envelopes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. J. Gen. Microbiol. 133, 1033-1043, 1987.
 - 19) Yoshimura, F., Watanabe, K., Takasawa, T., Kawanami, M. & Kato, H.: Purification and properties of a 75-kilodalton major protein, an immunodominant surface antigen, from the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis*. Infect. Immun. 57, 3646-3652, 1989.
 - 20) 渡辺清子, 熊田秀文, 梅本俊夫, 吉村文信: *Bacteroides gingivalis* 菌体成分の免疫生物活性. 歯基礎誌 32 (補), 164, 1990.
 - 21) Hofstad, T.: Chemical characteristics of *Bacteroides melaninogenicus* endotoxin. Arch. Oral Biol. 13, 1149-1155, 1968.
 - 22) Garoff, M., Lebbar, S. & Szabo, L.: Do endotoxins devoid of 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid exist? Biochem. Biophys. Res. Commun. 143, 845-842, 1987.
 - 23) Kumada, H., Watanabe, K., Umenoto, T., Haishima, Y., Kondo, S. & Hisatsune, K.: Occurrence of O-phosphorylated 2-keto-3-deoxyoctonate in the lipopolysaccharide of *Bacteroides gingivalis*. FEBS Microbiol. Lett. 51, 77-80, 1988.
 - 24) Johne, B., Olsen, I. & Bryn, K.: Fatty acids and sugars in lipopolysaccharides from *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides loescheii*. Oral Microbiol. Immunol. 3, 22-27, 1988.
 - 25) Fujiwara, T., Ogawa, T., Sobue, S. & Hamada, S.: Chemical, immunobiological and antigenic characterizations of lipopolysaccharides from *Bacteroides gingivalis* strains. J. Gen. Microbiol. 136, 319-326, 1990.
 - 26) Takada, H., Hirai, H., Fujiwara, T., Koga, T., Ogawa, T. & Hamada, S.: *Bacteroides* lipopolysaccharides (LPS) induce anaphylactoid and lethal reactions in LPS-responsive and -nonresponsive mice primed with muramyl dipeptide. J. Infect. Dis. 162, 428-434, 1990.
 - 27) Wollenweber, H.-W., Rietschel, E. T., Hofstad, T., Weintraub, A. & Lindberg, A. A.: Nature, type of linkage, quantity, and absolute configuration of (3-hydroxy) fatty acids in lipopolysaccharides from *Bacteroides fragilis* NCTC 9343 and related strains. J. Bacteriol. 144, 898-903, 1980.
 - 28) Weintraub, A., Zähringer, U., Wollenweber, H.-W., Seydel, U. & Rietschel, E. T.: Structural characterization of the lipid A component of *Bacteroides fragilis* strain NCTC 9343 lipopolysaccharide. Eur. J. Biochem. 183, 425-431, 1989.
 - 29) Lindberg, A. A., Weintraub, A., Zähringer, U. & Rietschel, E. T.: Structure-activity

- relationships in lipopolysaccharides of *Bacteroides fragilis*. Rev. Infect. Dis. 12 (Suppl.), S133-S141, 1990.
- 30) 高田春比古 : LPS と合成リビド A. 歯科ジャーナル 31, 917-927, 1990.
- 31) Takada, H. & Kotani, S.: Structure function relationships of lipid A., In; Bacterial Endotoxic Lipopolysaccharides. Vol. 1. Molecular Biochemistry and Cellular Biology, D. C. Morrison & J. L. Ryan Ed., CRC Press, Boca Raton, in press.
- 32) Hamada, S., Koga, T., Nishihara, T., Fujiwara, T. & Okahashi, N.: Characterization and immunobiologic activities of lipopolysaccharides from periodontal bacteria. Adv. Dent. Res. 2, 284-291, 1988.
- 33) Hamada, S., Takada, H., Ogawa, T., Fujiwara, T. & Mihara, J.: Lipopolysaccharides of oral anaerobes associated with chronic inflammation: chemical and immunomodulating properties. Int. Rev. Immunol. 6, 247-261, 1990.
- 34) Koga, T., Nishihara, T., Fujiwara, T., Nishizawa, T., Okahashi, N., Noguchi, T. & Hamada, S.: Biochemical and immunobiological properties of lipopolysaccharide (LPS) from *Bacteroides gingivalis* and comparison with LPS from *Escherichia coli*. Infect. Immun. 47, 638-647, 1985.
- 35) Hanazawa, S., Nakada, K., Ohmori, Y., Miyoshi, T., Amano, S. & Kitano, S.: Functional role of interleukin 1 in periodontal disease: induction of interleukin 1 production by *Bacteroides gingivalis* lipopolysaccharide in peritoneal macrophages from C3H/HeN and C3H/HeJ mice. Infect. Immun. 50, 262-270, 1985.
- 36) Lindemann, R.A., Economou, J.S. & Rothermel, H.: Production of interleukin-1 and tumor necrosis factor by human peripheral monocytes activated by periodontal bacteria and extracted lipopolysaccharides. J. Dent. Res. 67, 1131-1135, 1988.
- 37) Garrison, S. W. & Nichols, F. C.: LPS-elicited secretory responses in monocytes: altered release of PGE₂ but not IL-1 β in patients with adult periodontitis. J. Periodont. Res. 24, 88-95, 1989.
- 38) Takada, H. & Galanos, C.: Enhancement of endotoxin lethality and generation of anaphylactoid reactions by lipopolysaccharides in muramyl-dipeptide-treated mice. Infect. Immun. 55, 409-413, 1987.
- 39) Westphal, O., Lüderitz, O. & Bister, F.: Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. Z. Naturforsch. Teil B, 7, 148-155, 1952.
- 40) Galanos, C., Lüderitz, O. & Westphal, O.: A new method for the extraction of R lipopolysaccharides. Eur. J. Biochem. 9, 245-249, 1969.
- 41) Galanos, C. & Lüderitz, O.: Electrodialysis of lipopolysaccharides and their conversion to uniform salt forms. Eur. J. Biochem. 54, 603-610, 1975.
- 42) 沢村彰一郎, 高田春比古, 栗林基博, 小川知彦, 浜田茂幸: *Bacteroides intermedius* ATCC 25611 より熱フェノール・水で抽出される非 LPS 性 B 細胞マイトジェン. 日細菌誌 44, 616, 1989.
- 43) Mansheim, B. J. & Kasper, D. L.: Purification and immunochemical characterization of the outer membrane complex of *Bacteroides melaninogenicus* subspecies *asaccharolyticus*. J. Infect. Dis. 135, 787-799, 1977.
- 44) Mansheim, B. J., Onderdonk, A. B. & Kasper, D. L.: Immunochemical and biological studies of the lipopolysaccharide of *Bacteroides melaninogenicus* subspecies *asaccharolyticus*. J. Immunol. 120, 72-78, 1978.
- 45) Yoshimura, F., Takahashi, K., Nodasaka, Y. & Suzuki, T.: Purification and characterization of a novel type of fimbriae from the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis*. J. Bacteriol. 160, 949-957, 1984.
- 46) Yashimura, F., Takasawa, T., Yoneyama, M., Yamaguchi, T., Shiokawa, H. & Suzuki, T.: Fimbriae from the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis*: physical, chemical, and immunological properties. J. Bacteriol. 163, 730-734, 1985.

- 47) Dickinson, D. P., Kubiniec, M. A., Yoshimura, F. & Genco, R. J.: Molecular cloning and sequencing of the gene encoding the fimbrial subunit protein of *Bacteroides gingivalis*. J. Bacteriol. 170, 1653-1665, 1988.
- 48) Genco, R. J., Lee, J.-Y. & Bedi, G. S.: Comparison of *Bacteroides gingivalis* fimbriin subunit proteins: evidence for sequence, size and antigenic heterogeneity. J. Dent. Res. 68, 1006, 1989.
- 49) Suzuki, Y., Yoshimura, F., Takahashi, K., Tani, H. & Suzuki, T.: Detection of fimbriae and fimbrial antigens on the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis* by negative staining and serological methods. J. Gen. Microbiol. 134, 2713-2710, 1988.
- 50) Isogai, H., Isogai, E., Yoshimura, F., Suzuki, T., Kagota, W. & Takano, K.: Specific inhibition of adherence of an oral strain of *Bacteroides gingivalis* 381 to epithelial cells by monoclonal antibodies against the bacterial fimbriae. Arch. Oral Biol. 33, 479-485, 1988.
- 51) Ogawa, T., Tarkowski, A., McGhee, M. L., Moldoveanu, Z., Mestecky, J., Hirsch, H. Z., Koopman, W. J., Hamada, S., McGhee, J. R. & Kiyono, H.: Analysis of human IgG and IgA subclass antibody-secreting cells from localized chronic inflammatory tissue. J. Immunol. 142, 1150-1158, 1989.
- 52) Ogawa, T., Shimauchi, H. & Hamada, S.: Mucosal and systemic immune responses in BALB/c mice to *Bacteroides gingivalis* fimbriae administered orally. Infect. Immun. 57, 3466-3471, 1989.
- 53) Ogawa, T., McGhee, M. L., Moldoveanu, Z., Hamada, S., Mestecky, J. & McGhee, J. R.: *Bacteroides*-specific IgG and IgA subclass antibody-secreting cells isolated from chronically inflamed gingival tissues. Clin. Exp. Immunol. 76, 103-110, 1989.
- 54) Ogawa, T., Shimauchi, H., Kusumoto, Y. & Hamada, S.: Humoral immune response to *Bacteroides gingivalis* fimbrial antigen in mice. Immunology 69, 8-13, 1990.
- 55) Hanazawa, S., Hirose, K., Ohmori, Y., Amano, S. & Kitano, S.: *Bacteroides gingivalis* fimbriae stimulate production of thymocyte-activating factor by human gingival fibroblasts. Infect. Immun. 56, 272-274, 1988.
- 56) Bartold, P. M.: Modulation of gingival fibroblast function by lipopolysaccharides., In; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Host & J. R. McGhee Ed. 277-290, Quintessence, Tokyo, 1991.
- 57) Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I. & Hamada, S.: Production of cytokines by human gingival fibroblasts., In; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Host & J. R. McGhee Ed. 265-276, Quintessence, Tokyo, 1991.
- 58) Charon, J. A., Luger, T. A., Mergenhagen, S. E. & Oppenheim, J. J.: Increased thymocyte-activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. Infect. Immun. 38, 1990-1195, 1982.
- 59) Masada, M. P., Persson, R., Kenney, J. S., Lee, S. W., Page, R. C. & Allison, A. C.: Measurement of interleukin-1 α and -1 β in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. J. Periodont. Res. 25, 156-163, 1990.
- 60) Hönig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F.: Increased interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. J. Periodont. Res. 24, 362-367, 1989.
- 61) 鎌形有裕, 宮坂信之, 井上裕子, 橋本純子, 飯田正人: ヒト歯周炎歯肉組織から産生されるサイトカインの検討—特にインターロイキン-1 (IL-1 α , β) と腫瘍壊死因子 (TNF α) について—, 日歯周誌, 31, 843-848, 1989.
- 62) 鎌形有裕, 宮坂信之, 井上裕子, 橋本純子, 飯田正人: ヒト炎症歯肉組織から産生されるサイトカインに関する検討—特にインターロイキン-6について—, 日歯周誌 31, 1081-1087, 1989.
- 63) Kabashima, H., Maeda, K., Iwamoto, Y., Hirofuji, T., Yoneda, M., Yamashita, K. &

- Aono, M.: Partial characterization of an interleukin-1-like factor in human gingival crevicular fluid from patients with chronic inflammatory periodontal disease. *Infect. Immun.* 58, 2621-2627, 1990.
- 64) Kurt-Jones, E.A., Fiers, W. & Pober, J.S.: Membrane interleukin 1 induction on human endothelial cells and dermal fibroblasts. *J. Immunol.* 139, 2317-2324, 1987.
- 65) Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I. & Hamada, S.: Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblast cultures stimulated with *Bacteroides* lipopolysaccharides. *Infect. Immun.* 59, 295-301, 1991.
- 66) Matsuda, T., Hirano, T. & Kishimoto, T.: Establishment of an interleukin 6 (IL-6)/B cell stimulatory factor 2-dependent cell line and preparation of anti-IL 6 monoclonal antibodies. *Eur. J. Immunol.* 18, 951-956, 1988.
- 67) Hamada, S., Takada, H., Mihara, J., Nakagawa, I. & Fujiwara, T.: LPS of oral *Bacteroides* species: general properties and induction of cytokines in human gingival fibroblast cultures., In; *Cellular and Molecular Aspects of Endotoxin Reactions*, A. Nowotny, J. J. Spitzer & E. Ziegler Ed. 285-294, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- 68) Le, J., Weinstein, D., Gubler, U. & Vilcek, J.: Induction of membrane-associated interleukin 1 by tumor necrosis factor in human fibroblasts. *J. Immunol.* 138, 2137-2142, 1987.
- 69) Huleihel, M., Douvdevani, A., Segal, S. & Apte, R.N.: Regulation of interleukin 1 generation in immune-activated fibroblasts. *Eur. J. Immunol.* 20, 731-738, 1990.
- 70) Dinarello, C.A.: Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* 44, 153-205, 1989.
- 71) Schmidt, J.A., Mizel, S.B., Cohen, D. & Green, I.: Interleukin 1, a potential regulator of fibroblast proliferation. *J. Immunol.* 128, 2177-2182, 1982.
- 72) Goldring, M.B. & Krane, S.M.: Modulation by recombinant interleukin 1 of synthesis of types I and III collagens and associated procollagen mRNA levels in cultured human cells. *J. Biol. Chem.* 262, 16724-14729, 1987.
- 73) Bartold, P.M.: The effect of interleukin 1 β on proteoglycans synthesized by human gingival fibroblasts *in vitro*. *Connective Tissue Res.* 17, 287-304, 1988.
- 74) Postlethwaite, A.E., Lachman, L.B., Mainarde, C.L. & Kang, A.H.: Interleukin 1 stimulation of collagenase production by cultured fibroblasts. *J. Exp. Med.* 157, 801-806, 1983.
- 75) Dayer, J.-M., Zavadil-Grob, C., Ucla, C. & Mach, B.: Induction of human interleukin 1 mRNA measured by collagenase- and prostaglandin E₂-stimulating activity in rheumatoid synovial cells. *Eur. J. Immunol.* 14, 898-901, 1984.
- 76) Mauviel, A., Temime, N., Charron, D., Loyau, G. & Pujol, J.-P.: Interleukin-1 α and β induce interleukin-1 β gene expression in human dermal fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 156, 1209-1214, 1988.
- 77) Dalton, B.J., Connor, J.R. & Johnson, W. J.: Interleukin-1 induces interleukin-1 α and interleukin-1 β gene expression in synovial fibroblasts and peripheral blood monocytes. *Arthritis Rheum.* 32, 279-289, 1989.
- 78) Content, J., De Wit, L., Poupart, P., Opendakker, G., Van Damme, J. & Billiau, A.: Induction of a 26-kDa-protein mRNA in human cells treated with an interleukin-1-related, leukocyte-derived factor. *Eur. J. Immunol.* 152, 253-257, 1985.
- 79) Larsen, C.G., Anderson, A.O., Oppenheim, J.J. & Matsushima, K.: Production of interleukin-8 by human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor. *Immunology* 68, 31-36, 1989.
- 80) Zucali, J.R., Dinarello, C.A., Oblon, D.J., Ann Gross, M., Anderson, L. & Weiner, R.S.: Interleukin 1 stimulates fibroblasts to produce granulocyte-macrophage colony-stimulating activity and prostaglandin E₂.

- J. Clin. Invest. 77, 1857-1863, 1986. 954, 1987.
- 81) Fibbe, W.E., Van Damme, J., Billiau, A., Duinkerken, N., Lurvink, E., Ralph, P., Altrrock, B.W., Kaushansky, K., Willenze, R. & Falkenburg, J.H.F.: Human fibroblasts produce granulocyte-CSF, macrophage-CSF, and granulocyte-macrophage-CSF following stimulation by interleukin-1 and poly (rI). poly (rC). Blood 72, 860-866, 1988.
- 82) Jandinski, J.J.: Osteoclast activating factor is now interleukin-1 beta: historical perspective and biological implications. J. Oral Pathol. 17, 145-152, 1988.
- 83) Nishihara, T., Ishihara, Y., Noguchi, T. & Koga, T.: Membrane IL-1 induces bone resorption in organ culture. J. Immunol. 143, 1881-1886, 1989.
- 84) Hopps, R.M. & Sisney-Durrant, H.J.: Mechanisms of alveolar bone loss in periodontal disease., In ; Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses, S. Hamada, S. C. Holt & J.R. McGhee Ed. 307-320, Quintessence, Tokyo, 1991.
- 85) Kurihara, N., Bertolini, D., Suda, T., Akiyama, Y. & Roodman, G.D.: IL-6 stimulates osteoclast-like multinucleated cell formation in long term human marrow cultures by inducing IL-1 release. J. Immunol. 144, 4226-4230, 1990.
- 86) 能勢誠, 新飯田俊平, 大亀泰久, 梅本俊夫, 小玉博明: 新生仔大理石病 (op/op) マウス頭蓋冠由来の前脂肪細胞株の樹立. 歯基礎誌 32 (補), 63, 1990.
- 87) Iribe, H., Koga, T., Kotani, S., Kusumoto, S. & Shiba, T.: Stimulating effect of MDP and its adjuvant-active analogues on guinea pig fibroblasts for the production of thymocyte-activating factor. J. Exp. Med. 157, 2190-2195, 1983.
- 88) Ohmori, Y., Hanazawa, S., Amano, S., Miyoshi, T., Hirose, K. & Kitano, S.: Spontaneous production of thymocyte-activating factor by human gingival fibroblasts and its autoregulatory effect on their proliferation. Infect. Immun. 55, 947-

顎裂をもつ患者に対する骨移植と矯正治療

松田 哲明

鹿児島大学歯学部 歯科矯正学講座

Bone grafting and orthodontic treatment for patients with alveolar clefts

Tetsuaki Matsuda

Department of Orthodontics, Kagoshima University Dental School

Abstract

Most of cleft lip and palate patients have malocclusions accompanied with alveolar defects and/or depressions, retardation of maxillary growth, tooth malposition, depression of nasal alar base and so on. For the orthodontic and the prosthetic treatments, there are severe restrictions due to the discontinuity of alveolar bone. This article is to report our treatment system which combines the bone grafting with the orthodontic treatment for patients with alveolar clefts and clinical results.

Autogenous iliac cancellous bone was mostly used and has shown viable in high percentage for the unilateral cleft cases. When the grafted bone was viable sufficiently in the cleft site, the alveolar contour was well improved and the eruption or the movement of tooth into the grafted bone was achieved. Furthermore, the fixation of floating premaxilla or the stabilization of advanced maxilla was done by the grafted bone.

The ages from 8 to 10 years are adequate for the bone grafting especially in cases of the guidance of tooth eruption, the tooth movement and the fixation of floating premaxilla. But in cases of the maxillary advancement surgery, the ages from 15 to 17 years are adequate, because the growth of jaw bone has stopped by these ages.

Although the further technical improvements would be recommended, the bone

grafting combined with the orthodontic treatment will be one of the essential treatment procedures for the patients with alveolar clefts.

Key words

Bone grafting, Alveolar clefts, Iliac cancellous bone, Orthodontic treatment.

I. 結 言

唇顎口蓋裂の発現頻度は外表奇形の中では最も高く¹⁾、わが国では欧米諸国より高率で約550人に1人といわれている^{2,3)}。この裂奇形があると哺乳、発音、聴力、咀嚼、審美性、心理性などの障害が起こるため、産科、小児科、形成外科、矯正科、口腔外科、補綴科、耳鼻咽喉科など多方面の専門家がこの治療に関与することになる^{1,4)}。

口唇形成術は生後3カ月前後に、また口蓋形成術は1歳半～2歳頃に行うことが多い。しかし顎裂に対しては粘膜を用いた閉鎖術が行われるが、完全に閉鎖することが難しく成人後に義歯で被うことが多い。顎裂は上顎の側切歯部に起こるため、口腔と鼻腔が残孔により通じていたり、あるいは歯槽堤の陥凹や歯の欠損があったり、顎裂に隣接する歯が傾斜や捻転を起こしている、矯正治療や補綴治療も行にくい。

顎裂部に骨を移植することは古くから試みられてきたが⁵⁻⁷⁾、多くは幼児期に肋骨や腸骨ブロックを移植するもので、顎骨の発育障害、移植骨の吸収などが認められたことから、臨床で広く行われるまでに至らなかった。しかし近年になって海綿骨を移植する方法が確立され、顎発育を障害することなく顎裂の連結、閉鎖が可能となり、顎堤の再建、移植骨への歯の萌出誘導や移動、陥凹した鼻翼基部の形態も修正できるようになってきた⁸⁻¹⁵⁾。

我々も、唇顎口蓋裂の矯正治療の一貫として顎裂部への骨移植に早くから着目し、第一、第二口腔外科と共同で治療法の改良を行ってきた。そこで顎裂をもつ矯正患者の骨移植と咬合の改善について、現在我々が行っている方式とその考え方を解説する。

II. 裂型別の発生頻度と受診状況

最近の全国資料では³⁾、日本人の唇顎口蓋裂の発生率は0.182%で、裂型別の頻度は唇顎口蓋裂48.9%、唇裂29.8%、口蓋裂21.3%である。発生頻度は、唇顎口蓋裂においては男性に高く、唇裂においては男女ほぼ同程度、口蓋裂においては女性に高いと言われている

¹⁶⁾。また片側性が両側性より多く、とくに左側に多くみられる¹⁶⁾。

矯正科を受診する唇顎口蓋裂患者には、前歯部の歯列不正や反対咬合およびこれに伴う顔貌の不調和を主訴とするもののほか、口腔外科から咬合の管理を依頼されるものが多い。いくつかの臨床統計から患者の裂型別受診頻度をみると¹⁷⁻¹⁹⁾、唇顎口蓋裂が59.8～82.7%と最も多く、ついで唇裂が15.5～23.5%、口蓋裂は1.9～16.8%である。唇顎口蓋裂患者の頻度が発生率の裂型別頻度以上であるのは、顎裂があると上顎骨の発育障害による骨格性の異常が強^{17,20-24)}、咬合の異常もそれだけ強いためである。なお矯正科を初診した唇顎口蓋裂患者のうち、治療を中止するものは唇顎口蓋裂、唇顎裂患者に少なく、顎裂のない唇裂、口蓋裂患者に多いが¹⁹⁾、これも同じ理由によるものと思われる。

III. 顎裂と咬合異常

まれに唇裂閉鎖術や口蓋裂閉鎖術を受けずに成人した例の報告があるが、これらの例では上顎骨の発育障害がなく、上下顎の相互関係は比較的良好である^{17,25,26)}。このことから、唇顎口蓋裂患者の顎顔面頭蓋の growth potential にはとくに劣成長の傾向がないとされている¹⁷⁾。しかし多くの例では、哺乳や言語発達などの機能的要請から乳幼児期に唇裂、口蓋裂の閉鎖術が行われ、しかもこの際に破裂部の粘膜を引き寄せて縫合せざるを得ないため、術後の軟組織の緊張によって顎骨の発育障害、歯の位置異常などが起こりやすい^{17-24,27-30)}。

閉鎖術後の顎発育障害の現れ方には、裂型によって特徴がある。例えば唇顎裂患者では健康者とほとんど差はないが²⁸⁾、唇顎口蓋裂患者では、片側性の場合に破裂のある側の歯槽突起が内方に転位し、歯列弓は狭窄して非対称となり、上顎骨の発育は前後的、上下的に阻害される^{17,20-24)}。その結果下顎骨との間に大きさの不調和を生じ、骨格性の反対咬合が起こりやすい (Fig. 1)。唇顎口蓋裂患者の反対咬合の頻度は、武内ら²⁹⁾によれば93.1%と高く、そのうち白歯部も反対咬合を示す割合は55.4%である。一方、両側性の場合には、左



Fig. 1. Intraoral photographs of a unilateral cleft lip and palate patient.
Notice the collapsed asymmetry maxillary dental arch and the anterior cross bite.



Fig. 2. Intraoral photograph of a bilateral cleft lip and palate patient.
Notice the protrusive and dangling premaxilla and the lateral cross bite due to the collapsed maxilla.

右の歯槽突起が狭窄して切歯骨が前方に突出し、その結果側方歯群の狭窄を伴った上顎前突になりやすい (Fig. 2)。しかも切歯骨が下垂していると過蓋咬合となるが、まれに中切歯が極端に舌側傾斜して反対咬合を示すこともある。また両側性の場合には、切歯骨は左右の歯槽突起から分離して鼻中隔だけで支えられているため、可動性のことが多い。

顎裂に隣接する歯の位置異常として、側切歯は舌側傾斜、捻転、傾斜、犬歯は顎裂部への傾斜、捻転を示すことが多い。また中切歯も舌側傾斜、顎裂部への傾斜、捻転を示すことが多い。歯数の異常としては、破

裂側の側切歯に先天性欠損が多発するが^{24,27,28,30}、他に第2小臼歯の先天性欠損も多い²⁴。その他、齶蝕罹患率が高く²⁴、顎裂に隣接する歯には動揺があり、歯髄反応が低い³¹などの特徴も指摘されている。

このような咬合異常の程度には、もとの破裂の大きさ、閉鎖術の時期と術式、歯胚形成の有無や位置、顎發育の方向や量などが関与しているとされている^{17-20,27,30}。

IV. 骨移植と咬合の改善

A. 骨移植の目的

Jolleys & Robertson⁵)によれば顎裂部への骨移植は Drachter (1914)³²)によって行われ、1950年以降から臨床報告が見られるようになったと言われている。骨移植の利点として、Turvey et al.⁹)は残孔閉鎖、顎裂に隣接する歯への骨組織による支持、歯槽突起の連続性、可動性切歯骨の固定、口唇・鼻翼の形態修正などを挙げているが、最近ではさらに移植骨内への歯の萌出誘導や移動、拡大した上顎骨の後戻りの予防、歯槽堤形成などの目的も加えられている⁸⁻¹⁵)。ただし、拡大した上顎骨の後戻りを移植骨の力学的支持によって防ごうとしても、癒着化した口蓋粘膜の緊張によって移植骨が吸収されるので効果的ではないという意見もある⁹)。

我々が行っている骨移植の目的を整理すると、以下のようになる。

1. 歯槽堤の形成

唇顎口蓋裂患者の歯槽堤は、連続性がないため陥凹し、しばしば残孔が開いている。骨移植によって顎裂

を解消すれば、歯槽堤の形態が改善されて陥凹や残孔が消滅する。したがって補綴処置が必要な場合でも、機能的、審美性に優れた補綴物を製作することができる。

2. 側切歯、犬歯の萌出誘導と整列

顎裂は側切歯部に生じるので、側切歯は抜歯され、犬歯は小白歯を抜歯して整列することが多い。しかし顎裂が解消して歯槽突起が連続性を持てば、そこにこれらの歯の萌出を誘導したり、移動して歯列を整えることができる。

3. 外科矯正治療への応用

片側性の唇顎口蓋裂患者には上顎骨の劣成長を伴う骨格性の反対咬合が多く、成長の終了を待って上顎骨の前方移動術を行うことがある。しかし上顎骨が左右に分離しているので、別々に前方へ移動して顎裂部に骨を移植して固定したり、あるいは前もって骨移植を行い上顎骨を一塊として移動する。

両側性の唇顎口蓋裂では、前方に突出したり下垂した切歯骨を回転しながら後上方へ移動し、それを骨移植によって固定する。

4. 鼻翼基部の改善

唇顎口蓋裂患者では鼻翼基部が陥凹し、それが鼻翼や口唇の変形を増長していることが多い。骨移植を鼻翼基部まで行くと鼻翼基部の陥凹が解消されるので、鼻翼、口唇の形態修正が行えて顔貌の改善が得られる。

B. 移植骨

骨移植は、移植する骨によって自家骨移植 (Autograft)、同種骨移植 (Allograft)、異種骨移植 (Xenograft) に分類されている³³⁾。このうち自家骨移植は、骨を採取するために身体の健康部へ外科的侵襲を加える欠点はあるが、免疫反応を考慮しなくてもよいので骨形成細胞を生かさせたまま移植でき、移植床への生着が期待しやすい³⁴⁾。したがって同種骨移植、異種骨移植に比べて広く行われている。

移植骨は患者の肋骨、腸骨から採取することが多い。肋骨は採取量が多く、賦形が容易なため顎裂の形態に合わせやすいが³⁵⁾、移植骨は一旦吸収したのち骨が形成され³⁶⁾、骨架橋は細く⁵⁾、新生骨を介した歯の萌出や移動は見られない^{5,37,38)}。腸骨については、皮質骨を移植する場合と海綿骨を移植する場合がある。皮質骨を移植する場合には、移植骨に骨形成細胞が少なく、骨

吸収が骨形成より先行して移植骨が吸収されやすい。また骨架橋の形成も遅く細い³⁹⁾。一方、海綿骨を移植する場合には、移植骨骨髄の骨形成細胞により造骨能が期待でき⁴⁰⁾、治癒機転が早く⁴⁰⁻⁴²⁾力学的支持も早く得られる³³⁾。また海綿骨は細片状をしているため移植床の隅々にまで填塞でき、ブロック片の皮質骨に比べて成形の必要がない⁴³⁾などの利点が挙げられている。

以上のことから、今日では移植骨として自家腸骨海綿骨が多く用いられている。

C. 骨移植の時期

Boyne & Sands³⁷⁾は移植の時期を primary bone grafting (2.5歳以下)、early secondary bone grafting (2~5歳)、secondary bone grafting (6~15歳)、late secondary bone grafting (成人)の4期に分類している。このうち primary bone grafting と early secondary bone grafting では上顎骨の発育抑制や不正咬合などの不良な経過をたどるが⁶⁻⁷⁾、secondary bone grafting では上顎の成長抑制もなく、歯の萌出誘導や移動の例も多く報告されている^{8-15,44)}。

我々が行っている骨移植の時期は、彼らの分類の secondary bone grafting および late secondary bone grafting の時期に相当するが、具体的に側切歯、犬歯の萌出の時期、永久歯咬合の整列の時期、腸骨の発育の程度、顎発育の終了時期などを考慮して、それぞれの矯正治療のタイミングとの関連で移植の時期を決めている。

すなわち、顎裂に向かって傾斜、捻転、転位した側切歯や犬歯を移植骨内に萌出誘導する場合には、これらの歯の萌出前、すなわち Hellman の歯齡 III A~III B 期に骨移植するのが望ましい。しかし顎裂部へ側切歯、犬歯を移動する場合には、それらが萌出した後の10歳頃となる。両側性唇顎口蓋裂で切歯骨の固定のために骨移植を行う場合には、移植後に歯の萌出誘導や移動を行うことから10歳頃が望ましい。

いずれの場合でも、移植の時期に関わるもう1つの因子として腸骨の発育の程度がある。顎裂が片側性で小さい場合には、8~9歳になれば必要量の自家腸骨海綿骨を採取できるようになる。しかし顎裂が大きい場合や両側性の場合には採取骨量が多いので、十分量の骨採取を見込むために移植の時期を2~3年延期することがある。多くの症例で永久歯の根完成がほぼ終了する12歳頃にマルチブラケット装置を用いて最終的な咬合の整列を行うので、それまでに骨移植が行え

ば、試験や受験などがからんで通院や入院が難しくなるのを避けることができる。

外科矯正治療で左右の上顎骨を前方移動して顎裂部に骨を移植する場合には、外科矯正治療の時期に合わせて顎骨の成長が終了する16~17歳頃となる。ただし前もって骨移植を行っておく場合には、外科矯正治療の術前矯正の前、すなわち15~16歳頃になる。

D. 術前矯正と手術直前の処置

片側性であれ両側性であれ、顎裂のある症例では顎裂部が狭窄しているため、骨移植に先立って手術野の拡大⁹⁾と上顎歯列弓の形態を整えるため、ほとんどの症例で術前矯正が行われる。装置としては、舌側弧線装置、クアドヘリックス、急速拡大装置、マルチブラケット装置などが用いられる (Fig 3)。

術前矯正によって手術野が拡大し上顎が拡大されると、残孔のある症例では残孔が開大し、鼻腔と交通す

ようになる。術前矯正で用いた装置は手術に対して障害となることが多いので、舌側弧線装置、クアドヘリックス、急速拡大装置などはトランスパラタルバーに置き換え、マルチブラケット装置ではアーチワイヤーを術前に除去する。また大きな残孔を舌弁を用いて閉鎖する場合には、舌弁が着着するまで開口を制限する目的で上下の側方歯にブラケットを接着し、顎間固定ができるようにしておく。両側性唇顎口蓋裂の症例で切歯骨を固定する場合には、手術直後に矯正線を装着して切歯骨の安静を図るため、予め上顎の歯にブラケットを接着しておく。

E. 手術術式

顎裂部への骨移植は全身麻酔下で行われ、移植骨として自家腸骨海綿骨が多く用いられる。片側性の唇顎口蓋裂の場合、手術は顎裂部の鼻腔粘膜の閉鎖、口蓋粘膜の閉鎖、採取した腸骨海綿骨細片の填塞、口腔前

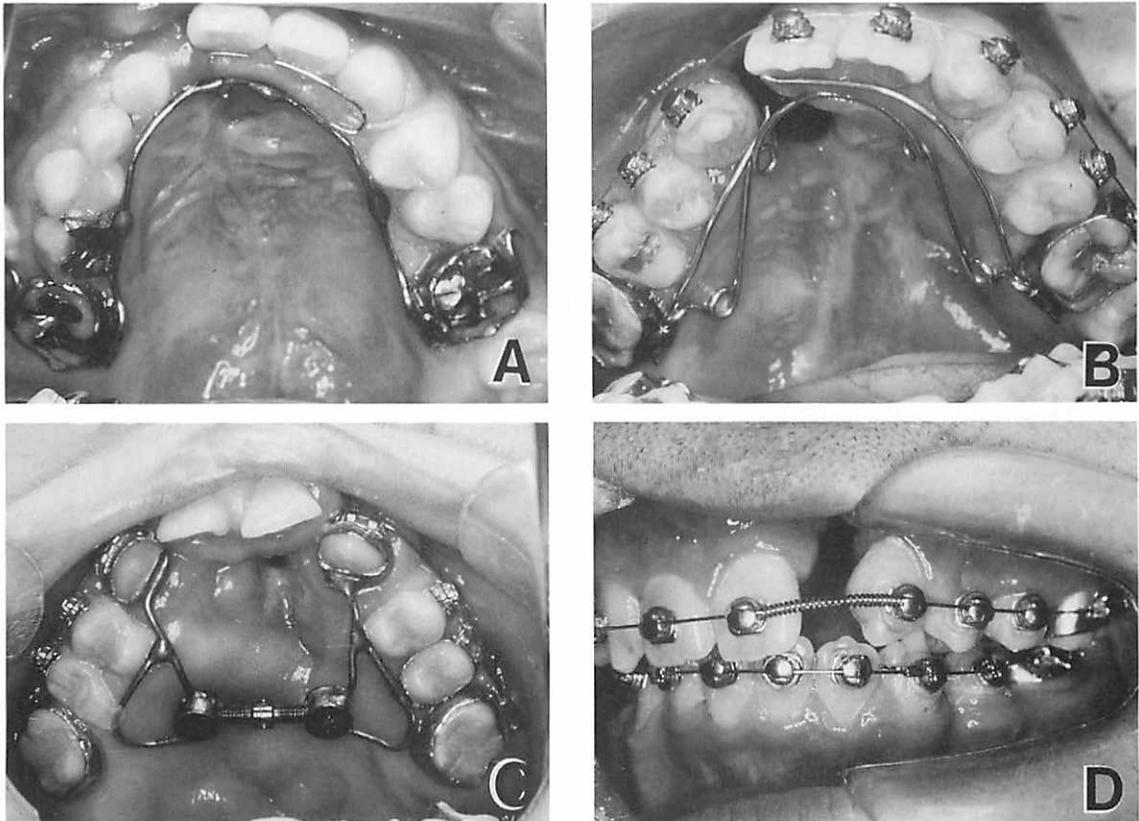


Fig. 3. Appliances used for expanding maxillary dental arches.

A: Lingual arch appliance, B: Quad helix appliance, C: Rapid expansion appliance, D: Multi-brackets appliance.

庭粘膜の閉鎖の順で行われる。口蓋に残孔がある場合には口蓋粘膜で同時に閉鎖するが、残孔が大きいと舌弁による閉鎖を行う。なお口腔前庭側の閉鎖には、歯肉弁あるいは口唇粘膜弁を用いる。

両側性の唇顎口蓋裂で切歯骨移動術と同時に骨移植を行う場合には、まず上顎中切歯唇側の歯肉口唇移行部で縦切開を行い、切歯骨を鼻中隔から切り離して予測模型上で設定した位置へ移動し、金属線で骨結紮する。次に顎裂部の鼻腔粘膜と口蓋粘膜を閉鎖し、腸骨海绵骨を填塞する。最後に口腔前庭粘膜を閉鎖し、線副子あるいは矯正線で切歯骨を固定する。

片側性の唇顎口蓋裂を伴う骨格性の反対咬合で上顎骨の前方移動術と同時に骨移植を行う場合には、左右の上顎骨を移動した後、顎裂部の鼻腔粘膜と口蓋粘膜の閉鎖、骨移植、口腔前庭粘膜の閉鎖を行う。最後に矯正線で顎間固定を行い、上顎骨を固定する。

骨移植後7～10日間は腸骨の骨採取部に疼痛があり、一時的に歩行が困難となるが、手術から退院までの期間は3週間前後である。

F. 術後矯正

骨移植2～3カ月後に咬合法や口内法のX線写真で骨の生着を確認し、舌側弧線装置やクアドヘリックスなどを用いて移植骨内への歯の移動を開始する。症例によっては犬歯や小白歯の萌出を待ってマルチブラケット

装置による最終的な咬合の整列を行う。外科矯正症例においては、手術後約1カ月で顎間固定を外し、マルチブラケット装置による咬合の整列を継続する。

G. 治療の流れ

我々が第一、第二口腔外科と共同で行っている骨移植症例の治療の進め方を Fig. 4 に示した。

矯正科の定期検査およびカンファランスで、顎裂部の歯槽堤形成や、顎裂部への歯の萌出誘導や移動が必要と判断された症例では、口腔外科との対診、合同カンファランスによって骨移植の目的、手術の術式や時期、術前・術後矯正について打ち合わせを行う。打ち合わせに従って術前矯正が終わると、術前の最終打ち合わせを行い骨移植ができる状況の確認、残孔閉鎖の術式、矯正装置の置き換え、両側性の場合には切歯骨の移動位置や固定法などについて協議する。手術時に矯正装置の取り扱いが必要な症例では、矯正科の担当医が手術に立ち会う。手術後2～3カ月から術後矯正を開始する。

V. 臨床成績

A. 対象

鹿児島大学歯学部附属病院において、1984年12月から1990年7月の間に矯正科が係わって骨移植を行った症例について、以下に臨床成績をまとめた。

1. **Examination and conference in the orthodontic and the surgical departments**
Discussion on procedure and timing of grafting and presurgical orthodontic treatment.
2. **Preoperative orthodontic treatment**
3. **Preoperative conference and procedures**
Final decision on the operation, such as closure of oronasal fistula, stabilization of premaxilla and so on.
4. **Bone grafting**
With or without the closure of oronasal fistula and the stabilization of premaxilla.
5. **Postoperative orthodontic treatment**
Guidance of tooth eruption or tooth movement into the new bone.

Fig. 4. A interdisciplinary treatment system for the bone grafting in the orthodontic and the surgical departments.

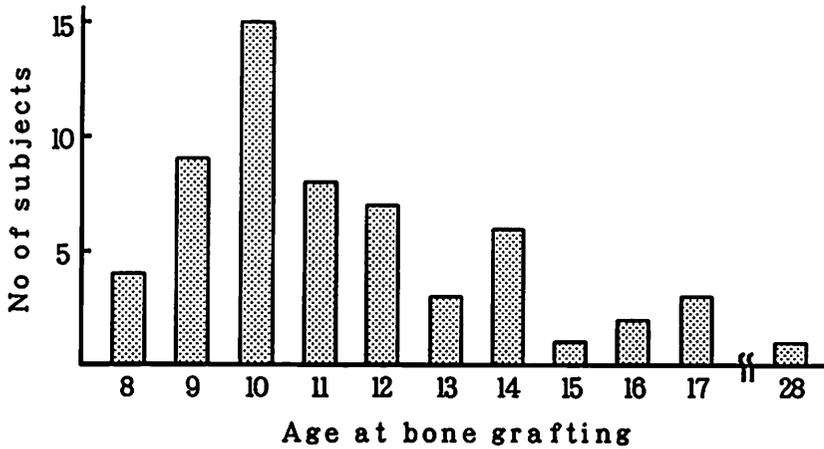


Fig. 5. Distribution of ages at the bone grafting.

対象は、男子37名、女子22名、計59名である。骨移植時の年齢は8歳6カ月～28歳2カ月（平均12歳1カ月）で、多くは9歳から12歳の間にあった（Fig. 5）。例数は片側性が44例44顎裂、両側性が15例29顎裂であった（Table 1）。片側性において2例は上顎骨前方移動術を行い、両側性において1例は片側のみ移植、2例は切歯骨移動術を行っている。移植骨は全て自家腸骨で、皮質骨を移植したものは10例13顎裂、そのうち片側性は7例7顎裂、両側性は3例6顎裂であった。海綿骨を移植したものは49例60顎裂で、片側性は37例37顎裂、両側性は12例23顎裂であった。当初はおもに皮質骨が移植されたが¹⁴⁾、最近ではほとんどの例で海綿骨が移植されている。

B. 移植骨の生着率

術後3カ月以上経過したX線写真で移植骨の生着を判定し、Table 2に示した。判定は山内らの方法¹⁴⁾に従い、移植骨が顎裂部に留まって内部に骨梁の形成が認められたものを生着とした。

裂型別にみると、片側性では95%が生着しているが、両側性では66%と生着率が低い。移植骨別にみると、皮質骨を移植した場合には54%、海綿骨を移植した場合には90%に生着し、どちらも片側性の方が高い生着率を示し、しかも片側性の顎裂に海綿骨を移植した場合に最も高い生着率が得られている。

なお、両側性唇顎口蓋裂で切歯骨移動術を行った2例4顎裂のうち3顎裂で骨が生着し、片側性唇顎口蓋裂では上顎骨前方移動術を行った2例で骨が生着して

Table 1. Number of alveolar clefts into which bone was grafted

Type of clefts	Kind of grafted bone		Total
	Cortical	Cancellous	
Unilateral	7 (7)	37 (37)	44 (44)
Bilateral	6 (3)	23 (12)	29 (15)
Total	13 (10)	60 (49)	73 (59)

() : Number of subjects.

Table 2. Percentage of viable grafting in the clefts

Type of clefts	Kind of grafted bone		Average
	Cortical	Cancellous	
Unilateral	71	100	95
Bilateral	33	74	66
Average	54	90	84

いた。

C. 歯槽堤の形成

骨が生着した61顎裂のうち、48顎裂で歯槽堤の陥凹が消失していたが、残り13顎裂では骨移植前とほとんど変化がなかった (Table 3)。一方、骨が生着しなかった12顎裂のうち、6顎裂で歯槽堤が改善されていた。生着例で歯槽堤の陥凹が消失しなかったのは骨の移植量が少なかったためであり、また生着しなかった例で歯槽堤が改善されたのは、破裂が小さく粘膜閉鎖で陥凹が消失したものと考えられる。

D. 症例

骨移植のもたらす優れた効果の例として、移植骨内へ歯の萌出を誘導した症例、歯を移動した症例、および切歯骨を移動して移植骨で固定した症例を以下に示す。

症例1: K. N. 初診時年齢6歳8カ月 女子

右側唇裂、左側唇顎裂を伴う反対咬合で、上顎歯列弓を拡大して顎裂部に自家腸骨海綿骨を移植し、そこへ犬歯の萌出を誘導した。

術前矯正としてクアドヘリックスによる上顎の側方拡大を9カ月間行い、舌側弧線装置による保定を7カ月間行った。骨移植の1カ月前に装置を撤去し、8歳9カ月の時点で自家腸骨海綿骨を移植した。上顎左側犬歯の萌出空隙を確保するため、術後4カ月に舌側弧線装置を装着し、1年8カ月後に犬歯の萌出が完了した。

Fig. 6, 7は骨移植1カ月前と2年1カ月後の口腔内写真とパノラマX線写真である。歯槽堤には僅かな陥凹が残っているが、左側犬歯は移植骨を通して萌出し、左側中切歯の低位、捻転、遠心傾斜は改善されている。移植骨は左側犬歯根尖部の深さまで達し、顎裂は消失して歯槽堤で埋まっている。

症例2: T. A. 初診時年齢7歳5カ月 男子

左側唇顎口蓋裂を伴う反対咬合で、上顎歯列弓を拡大して顎裂部に自家腸骨海綿骨を移植し、そこへ左側側切歯を移動した。

術前矯正としてクアドヘリックスによる上顎の側方拡大を5カ月間行った。術直前にトランスパラタルバーに置き換え、10歳9カ月の時点で自家腸骨海綿骨を移植した。拡大した上顎骨の保定のため同装置を8カ月間使用し、その後上顎のみマルチブラケット装置を12カ月間装着して側切歯を移植骨内に移動、整直させた。

Table 3. Number of improvements of alveolar contour following bone grafting

Alveolar contour	Number of grafting		Total
	Viable	Failed	
Improved	48	6	54
Not improved	13	6	19
Total	61	12	73

Fig. 8は側切歯の移植骨内への移動前とマルチブラケット装置による移動終了後の口腔内写真である。Fig. 9は骨移植直前と移植骨内へ側切歯が移動した時 (骨移植後2年) のデンタルX線写真である。歯槽堤の形態は改善され、顎裂は消失して歯槽堤で埋まっている。側切歯は移植骨内に整列、整直している。

症例3: K. U. 初診時年齢6歳3カ月 女子

両側性唇顎口蓋裂および白歯部交叉咬合を伴う上顎前突で、白歯部側方拡大後に切歯骨の回転移動術を行い、自家腸骨海綿骨を移植して顎裂の閉鎖と切歯骨の固定を行った。

術前矯正としてクアドヘリックスによる上顎の側方拡大を1年2カ月間、マルチブラケット装置によるレベリングを3カ月間行った。ただし、上顎中切歯と側方歯は、セクショナルアーチで別々にレベリングした。切歯骨の固定と移植骨の生着のため、手術前日に上顎は大臼歯を除いてすべてプラスチックブラケットに置き換え、切歯骨移動後の予測模型上で歯列に適合する0.9mmの矯正線を屈曲した。なおブラケットの溝は0.9mmの矯正線が入るように広げた。手術は12歳9カ月に行った。中切歯の根尖が舌側に位置するように切歯骨を回転し、さらに全体として後上方に移動して顎裂部に自家腸骨海綿骨を移植した。そして上記の矯正線をブラケットに接着剤で固定した。術後3カ月目に矯正線を撤去し、再度上顎に金属ブラケットを接着して咬合の整列を行った。

Fig. 10, 11は骨移植直前と4カ月後の口腔内写真と咬合法X線写真である。切歯骨は後上方に回転して移動し、顎裂部は骨で埋まり、上顎中切歯の切縁は咬合線に並んでいる。



Fig. 6. Intraoral photographs in Case 1.

Above: Preoperative condition at the age of 8 years and 8 months.

Below: Two years and 1 month postoperative condition at the age of 10 years and 10 months.

Notice the eruption of left canine close to the central incisor.

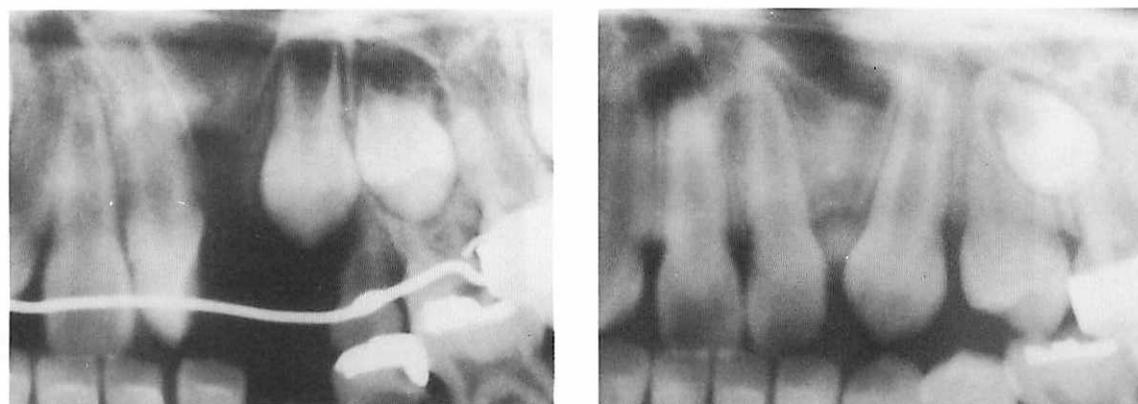


Fig. 7. Panoramic radiographs in Case 1.

Left: Preoperative condition at the age of 8 years and 8 months.

Right: Two years and 1 month postoperative condition at the age of 10 years and 10 months.

Notice the eruption of left canine through the grafted bone.



Fig. 8. Intraoral photographs in Case 2.

Above: Eight months postoperative condition at the age of 11 years and 5 months before the movement of left lateral incisor.

Below: Two years postoperative condition at the age of 12 years and 9 months.

The lateral incisor was moved into dental arch and well aligned after the postoperative orthodontic treatment.



Fig. 9. Dental radiographs in Case 2.

Left: Preoperative condition at the age of 10 years and 9 months.

Right: Two years postoperative condition at the age of 12 years and 9 months.

Alveolar cleft has been filled up with new bone and the tooth root has been moved in it.

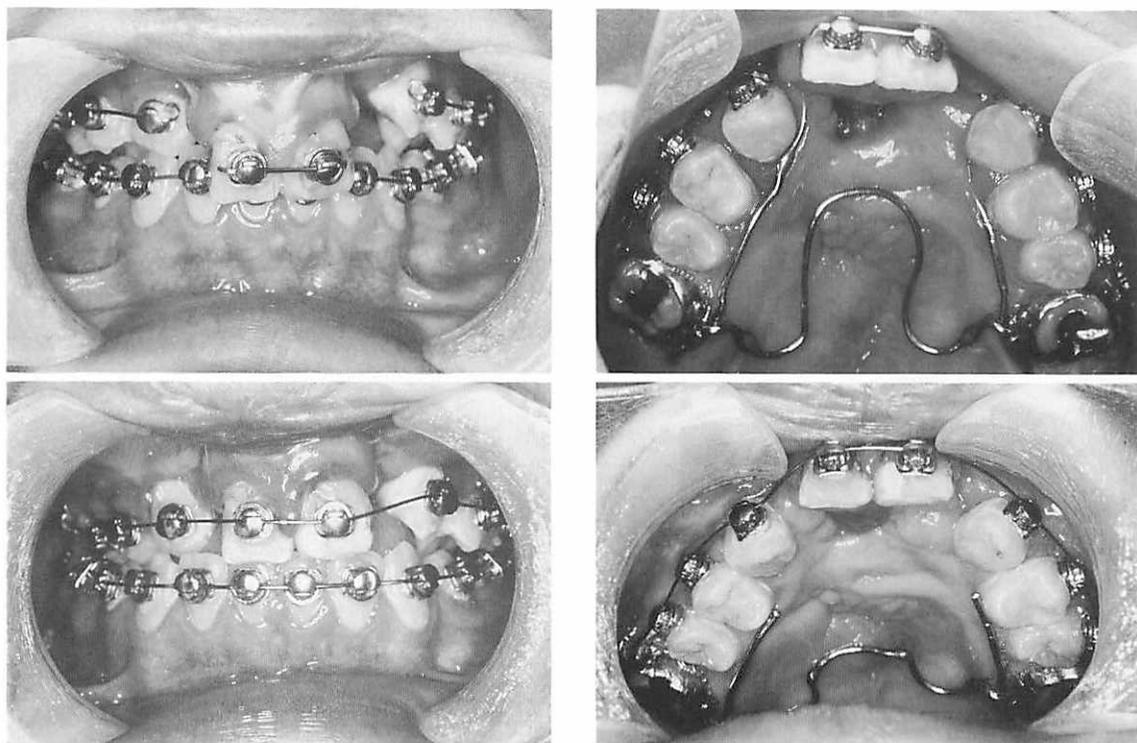


Fig. 10. Intraoral photographs in Case 3.

Above: Preoperative condition at the age of 12 years and 9 months.

Below: Four months postoperative condition at the age of 13 years and 1 month.

Notice upward and backward repositioned premaxilla and the well alignment of central incisors.

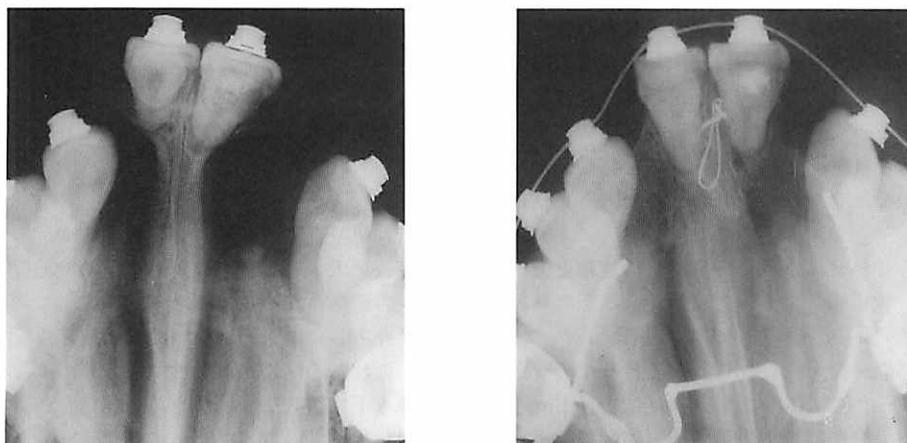


Fig. 11. Occlusal radiographs in Case 3.

Left: Preoperative condition at the age of 12 years and 9 months.

Right: Four months postoperative condition at the age of 13 years and 1 month.

Notice that the premaxilla became continuous with adjacent alveolar bone.



Fig. 12. Dental radiograph of anterior teeth fixed with the adhesive bridge to prevent the relapse after the orthodontic treatment.

Without bone grafting, the bone support was insufficient especially on the distal surface of central incisor, which showed a half level of the normal supporting bone.

VI. まとめと問題点

A. 骨移植の効果

唇顎口蓋裂患者の多くに、上顎骨の発育障害や歯の位置異常、顎裂部の歯槽堤の陥凹、鼻翼基部の陥凹を伴う咬合異常があり、審美的および咀嚼、発音などの機能的障害をもっている。また、顎裂部に隣接する歯は支持骨が薄く (Fig. 12), そこへ歯を移動したり整直することができないため咬合の改善に大きな制約がある。

顎裂部への骨移植によって、歯槽骨の連結と歯槽堤形態の改善、骨組織による歯の支持、陥凹した鼻翼基部の膨隆などが得られる⁸⁻¹⁴⁾。また、移植骨内への歯の萌出誘導や移動、整直を行うことができるため咬合を整えやすく (Fig. 8), 補綴処置も容易となる (Fig. 13)。

さらに、切歯骨移動術や上顎骨前方移動術のような外科矯正症例においても、切歯骨や上顎骨の固定に骨移植が適用できる。今回の臨床成績からも判るように、片側性顎裂に自家腸骨海綿骨を移植すれば100%生着し、



Fig. 13. Improvement of alveolar contour following the bone grafting.

Above: Before the bone grafting.

Below: After the bone grafting.

The alveolar contour was improved and the prosthetic procedure would be done much easier.

しかも生着すれば上記の効果が得られるので、積極的に取り入れて行くべきであろう。

B. 現時点での問題点と今後の方向

破裂が大きい場合、口蓋および口腔前庭を閉鎖する粘膜の組織量が不足することがある。この場合に口唇粘膜弁あるいは舌弁を用いて歯槽突起付近を閉鎖するが、これらの粘膜は可動性で付着肉肉になりにくく、形態も不自然となり、また口腔前庭が浅くなるなどの問題が生じている。これらの問題に関しては、骨移植後に付着肉肉獲得術、口腔前庭拡張術などを検討する必要があると考える。

移植骨が生着したあとのX線写真をみると、顎裂部

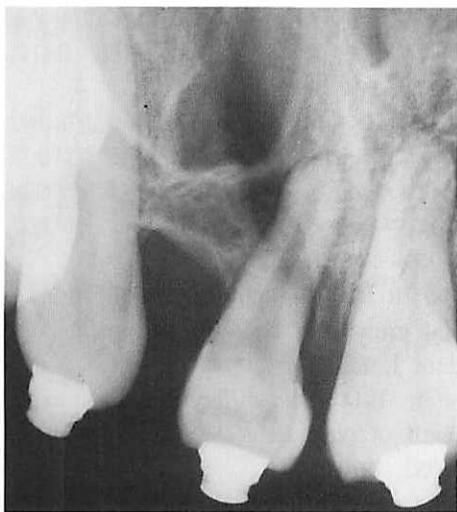


Fig. 14. Dental radiograph representing a bone bridge.

の歯槽突起間を比較的薄い骨で連結している場合 (Fig. 14) と、顎裂が消失し歯槽骨で埋まっている場合 (症例 1, 2, 3) がある。前者は bone bridge (骨架橋) と呼ばれているが、ここへ側切歯や犬歯を移動することは難しく、また歯槽堤の形態の改善も得られにくい。これらのことから、顎裂が歯槽骨で埋まるように十分な填塞を行ったほうがよいと考える。

骨移植は 8 歳～9 歳頃から行われるが、この時期ではまだ腸骨の発育が十分でなく、顎裂の大きい症例や両側性唇顎口蓋裂症例では必要量の海綿骨を採取することが困難なことがある。移植骨の必要量の算定、腸骨の大きさと可能な骨採取量との関係などについても検討が必要である。

骨移植に要する入院期間は 3 週間前後であるが、舌弁による残孔閉鎖術や上顎骨前方移動術などの外科矯正手術を同時に行う症例ではより長期間の入院が必要である。また腸骨からの骨採取により健康な体に手術痕を残し、術後 7～10 日間は歩行が困難な事から、患者の負担は少なくない。したがって、骨移植術や腸骨採取を行わないで顎裂を閉鎖する方法も検討する必要があるであろう。例えば、骨膜の骨誘導を利用した periosteoplasty⁴⁵⁻⁴⁸⁾ による顎裂の閉鎖や、骨代替材料 (人工骨)⁴⁹⁻⁵²⁾ を用いた閉鎖などである。前者は破裂の程度が比較的小さいものに用いられているが、歯の萌出誘導や移動が可能かどうか、また破裂の大きい症例で骨が十分に形成されるかなどが不明である。後者については、アパタイトなど非吸収性の骨結合性材料⁴⁹⁾

だけでなく、骨と置換する吸収性 (biodegradable) 材料⁵⁰⁾ も考えられる。歯の萌出誘導、歯の移動を考えた場合には、これを障害しないことが条件となる。さらに今後の開発が待たれるものとして、短期間に骨誘導を引き起こす骨形成因子 (Bone morphogenetic protein, BMP)⁵³⁾、これとアテロコラーゲンを混合したもの⁵³⁾、また自家骨芽細胞を *in vitro* で人工骨上で増殖したハイブリッド型人工骨 (細胞組み込み型人工骨)⁵⁴⁾ なども挙げられよう。

VII. 結 語

顎裂部への骨移植はわが国ではまだ広く行われておらず、我々もようやく 5 年半経過した臨床成績が出せるようになった。今回の臨床成績から片側性の顎裂に自家腸骨海綿骨を移植すれば高い生着率が得られ、しかも十分量の骨が生着すれば歯槽堤の形態が改善され、歯の萌出を誘導したり移動を行うこともできる。さらに切歯骨移動術や上顎骨前方移動術など外科矯正治療にも適用でき、咬合の改善に大きな効果がある。このことから顎裂部への骨移植は唇顎口蓋裂患者の咬合の改善に広く取り入れられるべきであり、併せて技術的、材料的な改善も推進する必要があると考えられる。

本稿をまとめるにあたり、ご校閲を頂いた鹿児島大学歯学部歯科矯正学講座の伊藤学而教授に、深い感謝の意を表します。

文 献

- 1) 宮崎 正：口蓋裂の治療体系，口蓋裂一その基礎と臨床一，第 1 版，宮崎 正編，521-529，医歯薬出版，東京，1982。
- 2) 待田順治：口唇裂口蓋裂の分類と統計，口蓋裂一その基礎と臨床一，第 1 版，宮崎 正編，40-57，医歯薬出版，東京，1982。
- 3) 宮崎 正，小浜源郁，手島貞一，大橋 靖，高橋庄二郎，道 健一，待田順治，河合 幹，筒井英夫，下里常弘，田代英雄，田縁 昭，西尾順太郎：我が国における口唇裂口蓋裂の発生率について，日口蓋誌，10，191-195，1985。
- 4) 伊藤学而：唇顎口蓋裂のリハビリテーション，保健の科学，26，754-758，1984。
- 5) Jolleys, A. and Robertson, N. R. E.: A study of the effects of early bone-grafting in complete clefts of the lip and palate-Five year study, Br J Plast Surg, 25, 229-237, 1972.

- 6) Pickrell, K., Quinn, G. and Massengill, R.: Primary bone grafting of the maxilla in clefts of the lip and palate, A four year study, *Plast Reconstr Surg*, 41,433-443,1968.
- 7) Rehrmann, A. H., Koberg, W. R. and Koch, H.: Long-term postoperative results of primary and secondary bone grafting in complete clefts of lip and palate, *Cleft Palate J*, 7, 206-221, 1969.
- 8) Bergland, O., Semb, G. and Åbyholm, F. E.: Elimination of residual alveolar cleft by secondary bone grafting and subsequent orthodontic treatment, *Cleft Palate J*, 23, 175-205, 1986.
- 9) Turvey, T. A., Vig, K., Moriarty, J. and Hoke, J.: Delayed bone grafting in the cleft maxilla and palate: A retrospective multidisciplinary analysis, *Am. J. Orthod.*,86, 244-256, 1984.
- 10) Jackson, I. T., Vandervord, J. G., Mclennan, J. G., Christie, F. B. and Mcgregor, J. C.: Bone grafting of the secondary cleft lip and palate deformity, *Br J Plast Surg*, 35, 345-353, 1982.
- 11) Stenström, S. J. and Thilander, B. L.: Bone grafting in secondary cases of cleft lip and palate, *Plast Reconstr Surg*, 32, 353-360, 1963.
- 12) Lehman, Jr. J. A., Curtin, P. M. B. and Haas, D. G.: Closure of anterior palate fistulae, *Cleft Palate J*, 15 33-38, 1978.
- 13) 伊吹 薫, 松矢篤三, 西尾順太郎, 浜村康司, 井上一男, 古郷幹彦, 宮崎 正: 唇裂外鼻変形に対する自家腸骨移植の効用, *日口外誌*, 31, 812-821, 1985.
- 14) 山内和久, 丸田裕子, 上村健太郎, 伊藤学而: 顎裂部に対する骨移植の術後経過, *日矯歯誌*, 48, 546-552, 1989.
- 15) 幸地省子, 越後成志, 猪狩俊郎, 飯野光喜, 安藤良晴, 高橋長洋, 飯塚芳夫, 松田耕策, 山口 泰, 手島貞一: 顎裂部に対する自家腸骨海綿骨細片移植, 第2報 骨架橋形成について, *日口外誌*, 33, 2152-2158, 1987.
- 16) 岡 一郎, 藤田晉也: 唇裂・口蓋裂の疫学, *産婦人科治療*, 52, 182-186, 1986.
- 17) 作田 守: 口蓋裂の基礎と臨床—顔面の成長を中心に—, *日矯歯誌*, 37, 139-160, 1978.
- 18) 富澤康彦, 幸地省子, 東福寺直道, 門馬祐子, 松尾ゆき子, 真柳秀昭: 唇顎口蓋裂者に発現する永久歯の歯数の異常, 第一報 発現頻度, *日口蓋誌*, 14, 132-148, 1989.
- 19) 河野紀美子, 鈴木 陽, 渡辺美恵子, 近藤由紀子, 向井 陽, 大溝法孝, 高濱靖英: 口唇裂口蓋裂患者の矯正受診と咬合の実態—九州大学歯学部附属病院矯正科における19年間の統計—, *日口蓋誌*, 14, 159-170, 1989.
- 20) Ross, R. B.: The clinical implications of facial growth in cleft lip and palate, *Cleft Palate J*, 7, 37-47, 1970.
- 21) Foster, T. D.: Sex differences in maxillary growth of cleft subjects, *Cleft Palate J*, 7, 347-352, 1970.
- 22) Blaine, H.: Differential analysis of cleft palate anomalies, *J Dent Res*, 48, 1042-1048, 1969.
- 23) 林 勲: 片側性完全唇・顎・口蓋裂者の顎・顔面頭蓋の成長—頭部X線規格写真法による研究—, *日矯歯誌*, 34, 33-65, 1975.
- 24) 中川皓文, 丹根一夫, 大山芳明, 前田早智子, 大前博昭, 作田 守, 黒田康子, 本多 肇: 唇顎口蓋裂患児の歯と咬合の異常に関する調査, *日口蓋誌*, 7, 155-171, 1982.
- 25) Bishara, S. E., Krause, C. J., Olin, W. H., Weston, D., Ness, J. V. and Felling, C.: Facial and dental relationships of individuals with unoperated clefts of the lip and/or palate, *Cleft Palate J*, 13, 238-252, 1976.
- 26) Fukuhara, T., Hanada, K., Suzuki, H., Ryokawa, H., Sasakura, H., Kasano, H. and Wakui, Y.: Cephalometric and dental arch analysis on an adult patient of non-operated cleft palate and review of the references, *J. Jap. Orthod. Soc.*, 33, 56-62, 1474.
- 27) Ranta, R.: A review of tooth formation in children with cleft lip/palate, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 90, 11-18, 1986.
- 28) 大山紀美栄, 本橋信哉, 黒田敬之: 唇顎裂患者の咬合の不正とその処置について, *日口蓋誌*, 10, 169-176, 1985.
- 29) 武内 豊, 永坂 倡, 高橋雅一, 工藤章修, 今井徹, 村上 賢, 中村進治: 北海道大学歯学部附属病院矯正科における唇顎口蓋裂患者の受診状態について, *日口蓋誌*, 9, 166-171, 1984.

- 30) 大山紀美栄, 本橋信義, 黒田敬之: 顎裂に近接する歯の不正とその矯正学的処置について, 日口蓋誌, 6, 40-49, 1981.
- 31) 出村 昇, 香林正治, 中川 真, 勝田 誠, 須佐美隆三: 口唇口蓋裂患者の顎裂に近接する歯の態様について, 近東矯歯誌, 24, 46-52, 1989.
- 32) Drachter, R.: Die Gaumenspalte und deren Operative Behandlung, Dtsch Zeitsch Chir, 131, 1-89, 1914. (文献5より引用)
- 33) 高橋栄明: 骨移植の病態生理, 骨の科学, 第1版, 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明著, 222-230, 医歯薬出版, 東京, 1988.
- 34) 井上 孝, 山村武夫: 移植骨の運命と治癒機転, 歯科ジャーナル, 25, 147-157, 1987.
- 35) Skoog, T.: The management of the bilateral cleft of the primary palate (lip and alveolous), Part II. Bone grafting, Plast Reconstr Surg, 35, 140-147, 1965.
- 36) Vargervik, k.: New bone formation secured by oriented stress in maxillary clefts, Cleft Palate J, 15, 132-140, 1978.
- 37) Boyne, P.J. and Sands, N.R.: Combined orthodontic-surgical management of residual palato-alveolar cleft defects, Am. J. Orthod., 70, 20-37, 1976.
- 38) Epstein, L. C. L. I., Davis, M. W. B. and Thompson, L. W.: Delayed bone grafting in cleft palate patients, Plast Reconstr Surg, 46, 363-367, 1970.
- 39) 幸地省子, 越後成志, 普天間朝義, 猪狩俊郎, 手島貞一, 糠塚重徳: 顎裂部への新鮮自家腸骨ブロック片移植を施行した2症例について, 日口蓋誌, 13, 262-270, 1988.
- 40) 伊藤信明: ラット下顎骨内空洞状骨欠損に対する新鮮自家腸骨移植に関する病理組織学的研究-特に細片海綿骨・骨髄と破砕皮質骨の比較観察-, 日口外誌, 29, 411-419, 1983.
- 41) 山根源之: PCBM 移植 (細片骨移植), 歯科ジャーナル, 25, 179-189, 1987.
- 42) 清水博文: 骨移植に関する実験的研究, 日口外誌, 14, 2-16, 1968.
- 43) 越後成志, 猪狩俊郎, 下田 元, 飯野光喜, 五十嵐隆, 安藤良晴, 高橋長洋, 飯塚芳夫, 松田耕策, 山口 泰, 幸地省子, 手島貞一: 顎裂部に対する自家腸骨海綿骨細片移植-第1報 手術手技について-, 日口外誌, 32, 1442-1446, 1986.
- 44) Enemark, H., Pedersen, S. S. and Bundgaard, M.: Long-term results after secondary bone grafting of alveolar clefts, J Oral Maxillofac Surg, 45, 913-918, 1987.
- 45) 越後成志, 東福寺直道, 幸地省子, 松井桂子, 奥田まゆみ, 五十嵐隆, 手島貞一, 糠塚重徳: 骨移植を行わない二次的顎裂閉鎖, 第一報 術後の骨形成について, 日口外誌, 35, 974-977, 1989.
- 46) Skoog, T.: The use of periosteum and surgical for bone restoration in congenital clefts of the maxilla, A clinical report and experimental investigation, Scand J Plast Reconstr Surg, 1, 113-130, 1967.
- 47) Ritsilä, V., Alhopuro, S., and Rintala, A.: Bone formation with free periosteum, An experimental study, Scand J Plast Reconstr Surg, 6, 51-56, 1972.
- 48) Hellquist, R. and Skoog, T.: The influence of primary periosteoplasty on maxillary growth and deciduous occlusion in cases of complete unilateral cleft lip and palate, A longitudinal study from infancy to the age of 5, Scand J Plast Reconstr Surg, 10, 197-208, 1976.
- 49) 大西正俊: 各種人工骨の特徴と現状, 歯科ジャーナル, 25, 201-206, 1987.
- 50) Levin, M. P., Getter, L., Cutright, D. E. and Bhaskar, S. N.: Biodegradable ceramic in periodontal defects, Oral Surg., 38, 344-351, 1974.
- 51) Matsuda, T. and Davies, J. E.: The in vitro response of osteoblasts to bioactive glass, Biomaterials, 8, 275-284, 1987.
- 52) Ito, G., Matsuda, T., Inoue, N. and Kamegai, T.: A histologic comparison of the tissue interface of bioglass and silica glass, J. Biomed. Mater. Res., 21, 485-497, 1987.
- 53) 朝比奈泉, 榎本昭二: 骨形成因子 (BMP) - コラーゲン複合体における骨誘導-, 歯科ジャーナル, 28, 141-146, 1988.
- 54) 久保木芳徳, 水野守道, 周 海燕: 歯科領域におけるコラーゲンの展望-人工臓器学としての歯学の側面-, 歯科ジャーナル, 28, 132-140, 1988.

実験的ラット口腔癌発生におよぼす遺伝的要因 ——付・4NQO誘発ラット口腔癌について

北野元生¹⁾・波多野浩道²⁾

Genetic background of susceptibility to experimental oral carcinoma in rats with an overview on studies of 4NQO-induced carcinoma

Abstract

The genetic background in relation to the susceptibility to experimental oral carcinogenesis in rats was reviewed. As an experimental model, 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)-induced rat carcinoma is thought to be excellent. Because it demonstrates obvious organotropic, species and strains specificity in its carcinogenesis. Administration of 4NQO-solution as drinking water produces oral carcinomas in rats with a high incidence. We described strain differences on susceptibility to 4NQO-induced rat carcinoma especially of the tongue concerning 1) enzymal activity of 4NQO metabolism, 2) 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO)-DNA adduct formation (4HAQO is the proximate carcinogenic derivative from 4NQO), 3) DNA repair processes, and 4) immunological response comparing various strains of rats, to clarify the genetic controls on the experimental carcinogenesis in rats.

はじめに

癌は遺伝するかという問いかけが古くからされてきた。発癌は細胞のDNA即ち遺伝子レベルに生じた変異を源とすると理解すれば、事象としては間違いなく「遺伝(子)的」であるということが出来るが、発癌の多くは個々の体細胞におこった事件であるので、それ自身は「遺伝性」とはいえない。しかしながらその反面、両眼性の網膜芽細胞腫のような遺伝性の癌の存在があることも認められてきており、また色素性乾皮症のようないわゆる高発癌性遺伝性疾患も存在する。このほかにも広い意味での発癌に対する宿主の抵抗性あるいは感受性が存在し、これが遺伝的に規定されているこ

とが推定されている。癌と遺伝ということを論ずるとき、発癌遺伝子における分子レベルでの機構、遺伝性癌、高発癌性遺伝性疾患、癌に対する生体の抵抗性あるいは感受性の遺伝子支配(Fig. 1)¹⁾といった広い観点からの概観が必要であると思われる。

ナポレオンは流されたセントヘレナ島で胃癌で死亡したが、彼の家系は胃癌の多発家系であったといわれている。この例で示されるような癌の多発家系は確かに存在するけれども古典的遺伝疫学による解析は多くの場合、このような家系における遺伝要因の関与を示唆するにとどまっていた。その中で網膜芽細胞腫はもっとも詳細な解析がされ、メンデルの法則に従った常染

1) 鹿児島大学歯学部口腔病理学講座*

*住所：(〒890)鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1

2) 鹿児島大学歯学部予防歯科学講座

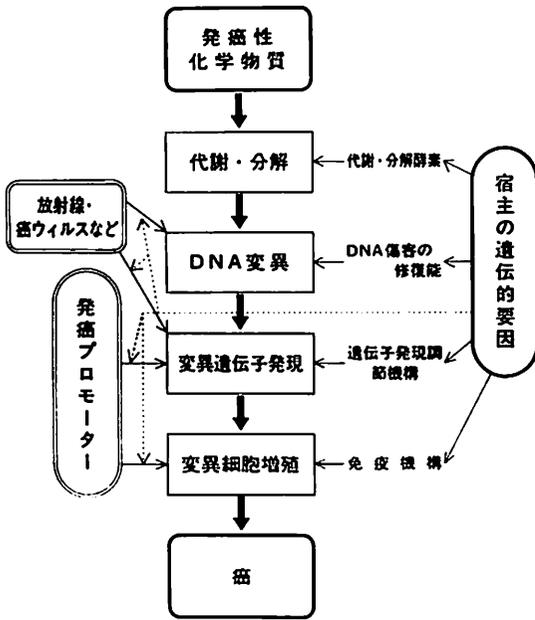


Fig.1. Schema of the genetic controls on chemically induced carcinogenesis (modified from Moriwaki, 1985).

色体性優性遺伝疾患であることが示された^{2,3)}。家族性乳癌⁴⁾、家族性悪性黒色腫⁵⁾、などが常染色体優性遺伝様式を示すとされている。

遺伝性疾患のうちでそれ自身は癌とはいえないが高い癌化のリスクを負っていると考えられる高発癌性遺伝性疾患がある。家族性大腸腺腫症^{6,7)}、色素性乾皮症^{8,9)}、末梢血管拡張性運動失調症^{10,11)}、Bloom 症候群¹²⁾、Fanconi 症候群¹³⁾などがこれに含まれる。これらのうち家族性大腸腺腫症は常染色体優性遺伝様式を示し、他は常染色体劣性遺伝を示す。これらの患者は DNA 損傷の修復機構に欠陥を有するものが多い。また高度の染色体異常を伴うものもある。

Burnet (1970)¹⁴⁾ などによって提唱された免疫監視機構 immunological surveillance の仮説は宿主が免疫学的防衛機構をもって癌に抵抗しているであろうとの多数の証拠を基盤として成立している。免疫抑制療法を受けている移植患者¹⁵⁾や獲得性免疫不全症候群 (AIDS)¹⁶⁾ の患者に高頻度に癌の発生をみる事が知られている。先に述べた末梢血管拡張性運動失調症は先天免疫不全症候群の一つでもあり、発癌には DNA 損傷の修復

機構の欠陥とともに免疫的要因が強く関与していると考えられる。その他の種々の型の先天性免疫不全症候群の患者は正常対照群と比較して極めて高い発癌率を示す¹⁷⁾。以上の事項から免疫応答系が発癌に対して一般に抑制的に(稀に促進的に)機能していることが推察されている。従って免疫不全と発癌との関係を考察する場合、1) ある突然変異遺伝子が免疫不全をもたらすと同時に、免疫担当細胞またはその他の細胞を癌化せしめるのか、2) 免疫不全によって二次的に悪性腫瘍の発生が促進されるのか、との2つの側面を分析する必要があると思われる。

癌に対する感受性と抵抗性についての遺伝的支配に関しては、マウスを中心とした動物における実験発癌の系で多方面からの研究がされている。一般に発癌性化学物質は生体の高分子特に DNA に作用して、正常細胞とは異なった形質発現を惹起し、細胞を癌化へ導くと考えられる。ある種の化学物質はそれ自身が発癌性を示すが、多くは生体内で代謝的な活性化をうけることによって、より発癌力に富んだ究極型化合物に変換されてから DNA などの高分子に作用する。チトクローム P 450 などの薬物代謝酵素活性が動物の系統間で差があり従って化学発癌に対する感受性についても差があることが認められている^{18,19)}。

癌ウイルスによる発癌の機構は癌ウイルスによって宿主細胞にウイルス性癌遺伝子が導入されるか、あるいは宿主の既存の細胞性癌遺伝子が活性化するためであると考えられている。宿主はこれらのウイルスの増殖抑制、ウイルスの排除、またはウイルスに誘発された癌に対する抵抗性(免疫機構)で対応すると考えられるが、これらが遺伝的支配を受けている例があることがわかっている。たとえば Gross ウイルス²⁰⁾や Friend 白血病ウイルス²¹⁾で誘発されるマウス白血病には H-2 ハプロタイプの異なるマウスの系統間で潜伏期間や発癌率に差がある。ヒト癌ウイルスにおいても、例えば HTLV-1 ウイルスによる ATLL の発症は HLA ハプロタイプとかなり相関することがわかってきた。HTLV-1 ウイルスの感染者の全てが ATLL を発症するのではなく、HLA ハプロタイプによっては発症しやすく、また異なったハプロタイプで脊髄症という全く別のタイプの疾患を示すことが鹿児島大学第3内科が中心に行っている研究によって明らかにされつつある²²⁾。外来抗原に対する免疫応答に依存した疾患群や自己免疫疾患の中には HLA クラス II 抗原と有意な相関を示すものがあり、HLA と連鎖した免疫応答遺伝子や免疫抑制遺伝子が発癌に密接にかかわっている可能性が指摘される。

癌化過程には、多面的な機能をもった複数の遺伝子の活性化が必要であり癌化機構は癌遺伝子が発見された当初の予想よりはるかに複雑であると思われる。われわれ人類はいつ活性化されるともわからない癌遺伝子や、いつ失活化または脱落するかわからない癌抑制遺伝子およびそれらの関連遺伝子をゲノムの中に温存することが運命づけられている。またそれら遺伝子を取り巻く細胞内外の環境要因がいつどのように癌化にとって都合の良い方向へ変化するかもわからない。

最近分子生物学の発展に伴って多数の癌遺伝子や癌抑制遺伝子およびそれらの関連遺伝子が同定されている。本来これらの遺伝子とは正常細胞にあって細胞増殖や器官形成、成熟、老化といった生命現象に重要な役割を果たしていると考えられるが、癌とはそのような遺伝子の変調によってもたらされた細胞の異常増殖であることが多くの人々に容認されるようになってからそんなに日時は経っていないのである。

ヒトの口腔癌

東南アジアからインドにかけての地方および南太平洋諸島の人々には口唇および口腔癌が多発し、とくに口唇・口腔癌が全癌症例のうち最高の頻度を示すことは良く知られている。全癌症例のうち口腔癌症例は日本人ではせいぜい0.6%であるのに対してインドやタイでは15%にも達するという報告がある。単純に考えると口唇・口腔癌発生率に明白な人種間の差が存在すると思えるが、betel nutや煙草などを口内に長時間含んで噛む習慣^{23,24)}がこれらの地方に住む人々の発癌に寄与していることが明らかにされている。また欧米人はパイプ煙草を好んで吸うが、これも口唇癌を誘発しやすいといわれている。日本では口腔癌の発生率は男性は女性の約2倍であるが、これは性素因を考えるより、喫煙や飲酒などの嗜好や習慣によるものであろうと考える方が合理的である。従ってヒトでは癌の発生率についての人種間の差異や性差を云々するのは極めて困難な場合も多く、上に述べたように口腔癌については、人種要因や性要因よりもはるかに風俗・習慣要因がそれを左右しているようである。

ヒトは遺伝学的に不均質であり、交配を人為的にコントロールできないこと、ほかの生物に比較して子供の数も少なく、1世代の期間が長い。しかも癌は成人の後期に発生すること（あるいは発見されること）が多く、動物における発癌実験に比較して正確なデータの集積作業が困難である。これらの困難さのゆえに、ヒトの癌の遺伝学的研究の発展は遅く、むしろ、はじ

めは実験動物における研究が先行していた。しかし最終的にヒトの癌を理解するためには、ヒトの癌についての全容を明らかにすべく研究を行わなければならない。

口腔癌はわが国や欧米諸国において発生頻度も低く、古典的な統計遺伝学的アプローチの対照になじまなかった感がある。その意味で先にも触れたが、鹿児島大学歯学部口腔外科の国芳の研究²⁵⁾は重要である。即ち悪性口腔腫瘍患者で本籍が鹿児島県にある48人中20人(41.7%)はHLA-DRw8を有しており、これは鹿児島在住の日本人成人110人中17人(15.5%)、一般日本人成人1998人中369人(19.8%)に比較して有意に高い頻度であった。即ちHLA-DRw8を有する人は口腔癌に患いやすいかも知れないということを示したことは極めて画期的であった。HLAに関する遺伝子はNo.6染色体に座があるが、本染色体にはこれまでのところ発癌遺伝子は存在していないようである。従って口腔癌とHLAを問題にする場合、癌免疫にHLAが関与していると考えるのが妥当であるかも知れない。それはともかくとして、今後これを突破口にしてヒトの口腔癌と遺伝とのかわかりがより詳細に研究されることが望まれる。

高発癌性遺伝性疾患の中で常染色体性優性遺伝を示すCowden病は乳癌を発症するリスクの大きい高発癌性遺伝性疾患であるが、口腔乳頭腫を発生しやすいといわれている。Bloom症候群は劣性遺伝性疾患で白血病やリンパ腫を発生するリスクの大きい舌癌も生じた例がある。遺伝型式は不明であるが遺伝要因が強く発癌にかかわっていると考えられているPlummer-Vinson症候群では口腔に前癌病変や癌が生じやすいといわれている。常染色体性優性遺伝型式を示すGardner症候群は大腸腺腫症や多発性骨腫などを発生することが特徴であるが、顎骨には骨腫や歯牙腫がみられる。Gorlin症候群は基底細胞性母斑症候群とも呼ばれている常染色体優性遺伝性疾患であるが顎骨内に角化嚢胞を形成しやすい。また歯肉肥大症を有す種々の遺伝形成を示す症候群などが報告されているが成骨²⁶⁻²⁸⁾などを参照していただきたい。

化学発癌実験

ヒトの癌の原因として、自然界を含む環境中の化学発癌物質の関与が強く示唆されている。ヒトの癌の発生要因として明らかにされた化学物質もある。動物に化学物質または化学発癌物質を投与して行う実験は、従って目的意識はしばられてくる。要約すれば、環境

中の化学発癌物質の臓器特異性についての検索, 実験モデルの確立, 組織発生の追求, 発癌修飾因子に対する検索などが実験の目的としてあげられる。当然これらの相互間の移行もありうる。

1つの実験から得られる知見は当然極めて少数の現象にすぎないが, その知見を基盤に研究を進展させることで研究成果は少しずつ蓄積され, 上の目的意識に合致した多方面に貢献しうる有用な情報が得られることが期待されよう。

マウスでは, 自然発生腫瘍, ウィルス・放射線誘発腫瘍とくに白血病については遺伝学的分析が進みウィルス遺伝子の発現, 腫瘍細胞の増殖, 免疫能などに関する宿主遺伝子が多数報告されている。化学発癌剤誘発腫瘍発生については感受性や抵抗性に系統差が認められるとの報告が多いにもかかわらず, 遺伝的支配がはっきりしているものは少ない²⁹⁾。

ラットは比較的近年に至るまで近交系が開発されていなかった事情もあり, マウスにおけるほどの研究成

果は得られていない。しかし最近では, 多数の近交系が開発されてこの方面の研究の進展は目を見はるものがある³⁰⁻³⁶⁾。しかし化学発癌剤誘発腫瘍発生については, マウスと同様感受性や抵抗性に系統差が認められる³⁷⁻⁴¹⁾との報告に止まっている。

その中で Shisa and Hiai の研究³³⁾は注目に値する。propylnitrosoarea (PNU) を飲料水に混じて投与するといずれの系統のラットも高率に白血病を発症する。ところが, Fischer 344 系ラットでは胸腺リンパ腫型の白血病がほぼ100%であるのに比較し, Long-Evans/stm 系ラットではこの型の白血病は非常に少なく赤芽球性白血病が発生しやすい。そこでこれら Fischer 344 系ラットと Long-Evans 系ラットを交配して F1, F2-hybrid を造りこれらのグループと F1-hybrid を Long-Evans へ退交雑 (back cross) したグループに同様の実験をした。各群の胸腺リンパ腫型白血病の発生頻度を調べた結果, PNU-誘発ラット胸腺リンパ腫型白血病は単一常染色体性優性遺伝子によって支配され (Table

Table 1 (a): Strain difference in susceptibility to PNU-induced leukemias among 6 strains of rats

Strain	No. of rats	All leukemias (%)	Latent period (days)	Thymic lymphomas (%)
Fischer 344	42	41 (98)	105	41 (98)
Wistar/Furth	41	36 (88)	152	29 (71)
Sprague-Dawley	41	34 (83)	135	12 (29)
Donryu	49	44 (90)	150	12 (24)
ACI/Ms	44	43 (98)	130	10 (23)
Long-Evans/stm	42	40 (95)	151	4 (10)

(from Shisa and Hiai, 1985)

Table 1 (b): Genetic segregation of susceptibility to PNU-induced thymic lymphoma in F1 hybrid, backcross and F2 generation between Fischer 344 and Long-Evans/stm rats

Rats	No. of rats	All leukemias (%)	Thymic lymphomas	
			observed (%)	Expected (%) ^{a)}
F1 hybrid rats between Fischer 344 and Long-Evans/stm	76	73 (96)	73 (96)	76 (100)
Backcross to Long-Evans/stm	154	138 (90)	73 (47)	77 (50)
F2 generation	92	80 (87)	65 (71)	69 (75)

a) Theoretical incidence obtained on the assumption that the difference in susceptibility to PNU-induced thymic lymphomas of Fischer 344 and Long-Evans strains is controlled by a single dominant gene.

(from Shisa and Hiai, 1985)

1 a, b), かつこの遺伝子の座と体毛の色を支配する2つの遺伝子の座とは連鎖関係があることが明らかになった。体毛の色と胸腺リンパ腫型白血病の発症の交叉率からPNU誘発胸腺リンパ腫型白血病を支配する遺伝子の座が求められた。彼らは基本的には古典的遺伝疫学的手法を用いたのであるが、ラットの発癌実験で明瞭な遺伝支配や遺伝子の座を決定した研究はほかに類がない。

常染色体劣性遺伝を示す無アルブミン血症ラット(NAR)⁴²⁾はSprague-Dawleyラットの変異種で近交系化された。ラットの無アルブミン血症をきたす変異遺伝子についてはDNAレベルまでの解析が進んでいる。血清アルブミンは内因性または外来性の種々の物質、例えば胆汁酸、ホルモン、毒物や薬剤、さらには発癌性化学物質などの血液中の運搬を担っていると考えられているので、発癌実験にもNARが応用されている^{43,44)}。発癌物質のあるものはアルブミンに包含されて標的臓器にまで運ばれるので正常ラットに比較してNARでの標的臓器が同じであるかどうかを調べることは極めて意味深いことである。また、アルブミン欠乏に伴って脂質代謝や血清蛋白含量の異常、細胞の膜系における変化、異常栄養状態などが招来されるが、これらの影響下で発癌の頻度変動するかどうかなどを検索するのに都合が良い。

このような既知の異常遺伝子を有す(または明瞭な表現形質を示す)系統のラット(あるいはマウスなど他の実験動物も含めて)を用いて正常ラットにおける発癌物質に対する感受性や抵抗性と比較することによって、その遺伝子(または形質)の発癌における機能を明らかにすることができれば発癌のメカニズムや癌にかかりやすさの要因の本体も次第に明らかになるであろう。

4NQO誘発ラット口腔癌について

ラットを含めて実験に用いる小動物には口腔癌の自然発生は極めて稀である。従来これらの小動物に実験的に口腔癌を高頻度で作ることは難しく、ハムスターの類へ20-MC, 3, 4-BP, DMBAを塗布(Salley)⁴⁵⁾、マウス舌に20-MCを塗布(Levy)⁴⁶⁾などが最初の成功例であろう。Fujino⁴⁷⁾は4NQOをマウス口腔内局所塗布により、Herold⁴⁸⁾はMNUのハムスター静注によって、いずれも口腔粘膜に癌を発生せしめた。舌癌や歯肉癌などはハムスターの人工的に作成した擦過創へのDMBA塗布によって作ることができる⁴⁹⁾。しかしこれらの方法は動物に加える人工的操作が複雑な上、

癌発生については再現性に欠けるきらいがあった。

4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)水溶液を飲料水として投与することでラットに高頻度に口腔癌を作成する方法を確立したのは大根ら⁵⁰⁻⁵²⁾の功績である。本発癌実験の方法は簡単でしかも癌の発生頻度は高く発癌についての再現性に極めてすぐれている。ただし癌の発生部位は口唇から前胃までの上部消化管に広く亘っており、舌なら舌、歯肉なら歯肉というように口腔の中の一定の標的臓器に絞ることが難しいこと、ほかの発癌実験に比較して発癌までにやや長時間を要することなどが難点ではある。

4NQO^{53,54)}は中原ら⁵⁵⁾が開発した人工的発癌物質であり自然界には存在しない。水にも溶けるが脂溶性の性格が強い。皮膚や上部消化管粘膜の扁平上皮細胞が高感受性を示すが⁵⁶⁻⁵⁹⁾、間葉細胞とくに線維芽細胞も感受性は高いようである^{60,61)}。また気管や気管支の粘膜上皮や脾臓の腺細胞も腫瘍化することが知られている⁶²⁻⁶⁵⁾。4NQOは細胞内で4-hydroxyamino-quinoline 1-oxide (4HAQO)に還元され⁶⁶⁻⁶⁸⁾、4HAQOが核内DNAのプリン体と結合し4HAQO-DNA付加体を形成する^{62,69-74)}。このDNA損傷を修復する際にエラーを生じこれが癌化を招来するものであると信じられている。従って癌化に至るまでに細胞体内の4NQO還元酵素活性やDNA損傷の修復能が重大にかかわってくるようである。4NQOによるDNA損傷の修復能については紫外線照射によって生じるピリミジン二量体の除去修復とかなり相関していると考えられる人が多い。色素性乾皮症はピリミジン二量体の除去修復能に欠陥を伴っているが、この患者から得られた培養細胞は正常人のそれと比較して4NQOに対しても感受性が高いことが示されている⁷⁵⁻⁸⁰⁾。これとは別に、先に述べた家族性大腸腺腫症、家族性悪性黒色腫、および末梢血管拡張性運動失調症の患者から得られた培養細胞も4NQOによるDNA損傷に対する修復能に欠陥があることが示されている。また本修復能には動物種間でも大きく異なりラットはヒトの5分の1であることなどが明らかにされている⁸¹⁾。

われわれは⁸²⁻⁸⁴⁾大根らの投与方法(一部改変)で0.001%の4NQO水溶液を7系統の雌雄ラットに生後6週目から死亡するまで飲料水として投与すると、全例に口唇から前胃までの上部消化管に扁平上皮癌が多発性に発生したことが剖検によって確かめられた(Fig. 2, 3, 4, 5)。実験開始から死亡するまでの生存期間には性差はみられなかった。そこで雌雄を合わせて、系統間の差異を一元配置分散分析により検定したところ系



Fig. 2. Photomicrograph of a 4NQO-induced tongue carcinoma in an ACI rat. Invasive growth of a well differentiated squamous cell carcinoma is noted. Hematoxylin-eosin, $\times 35$.



Fig. 3. Photomicrograph of 4NQO-induced gingival carcinoma in a D-A rat. Destructive growth of an invasive squamous cell carcinoma is seen in the mandibular bone and periodontal tissue. Hematoxylin-eosin, $\times 17$.



Fig. 4. 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the oropharynx in a D-A rat. The carcinoma presents as a polypoid growth. Hematoxylin-eosin, $\times 85$.

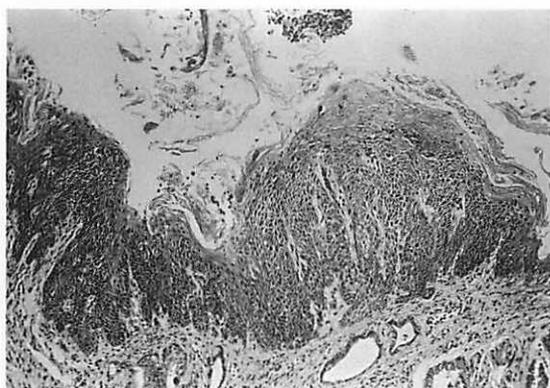


Fig. 5. 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the upper esophagus in a W/F rat. Hematoxylin-eosin, $\times 85$.

統間に生存期間の有意な差がみられた（有意水準 1 %）。すなわち Dark-Agouti (D-A) では平均生存期間はもっとも短く、Wistar/Furth (W/F) ではもっとも長く、Scheffe の S-testにより対比較の結果からは

W/F とその他の Strain では、有意な差があることが示唆された (Table 2)。ところが発生した癌には部位差がみられ (Fig. 6, 7), とくに舌においては生存期間の短い D-A ラットでは直径 7 mm 以上の巨大な塊状

Table 2: Survival Time of Seven Strains of Rats Treated with 4NQO

Strain	Sex	No. of rats	Survival Time (days)	Average (days)	Average, M+F (days)	S. D.						
Dark-Agouti	M	12	130-206	173.92	176.78 *	31.37						
	F	11	120-226	179.91								
Long-Evans/stm	M	12	129-234	176.58		182.00 *	38.80					
	F	10	126-257	188.50								
Sprague-Dawley	M	12	142-235	174.92			186.21 *	31.21				
	F	12	151-241	197.50								
ACI/Ms	M	28	141-270	186.14				189.44 *	27.42			
	F	13	130-226	196.54								
Fischer 344	M	12	147-217	193.08					199.54 *	30.13		
	F	12	154-266	206.00								
Donryu	M	11	130-243	195.55						205.39**	31.02	
	F	12	190-157	214.42								
Wistar/Furth	M	14	213-290	236.50							238.24	23.55
	F	15	182-290	239.87								

Scheffe's S-test: * P < 0.01

** P < 0.05

癌を作るのに対し (Fig. 8, 9) W/F ラットでは生存期間が長いにも拘らず巨大な塊状癌を作る傾向は低く、全く癌発生を示さないものもあった (Fig. 10, 11)。生存期間と塊状癌を指標にすると 4NQO 誘発扁平上皮癌の舌粘膜上皮についての感受性は雌雄間で性差は全くみ

られないが系統間でかなりの差があるといつて良いようであった (Table 3)。とくに D-A ラットと W/F ラット間の系統差は大きいようであった (Table 4)。

そこで、これら両系統の 6 週齢雌性ラットに 4 週間だけ 4NQO を先と同様の方法で投与したのち、

Dark-Agouti	Tongue	Floor of mouth	Mandibular gingivae	Buccal mucosa	Maxillary gingivae	Hard palate	Pharynx	Larynx	Trachea	Esophagus	Forestomach	Others	Survival Time (days)
Male-1	●*	○			○	○	○*			○		Lip	217
3	●*	○	●		○	○					○		136
5	●*		●		○	○						Pn	190
7	●*		●		○	○	○						196
9	●*	●		○		○							189
11	●*				○	○	○						206
13	●*				○	○	○*						179
15	●*				○	○							130
17	●*		○	●	○	○						Pn	171
19	●												126
21	○*		●			○							158
23	○*				●	○	○*			○			189
Female-2	○*		●			○							154
4	●*					●	○						181
6	●*				○	●							200
8	●*				○	○	○					Pn	120
10	●*				○	○	○					Pn	158
12	●*			●	○	○	○						190
14	●*				○	○	○*					Lip	226
16	●*				○	○	○						175
18	●*				○	○	○*					Lip	226
20	●*				○	○	○*					Lip	212
22	●*	○	○			○	○			○		Pn	137

● Massive carcinoma measuring more than 7 mm in its largest diameter.
 ●* Multiple carcinomas with one or more massive carcinoma(s).
 ○ Carcinoma measuring less than 7 mm in its largest diameter.
 ○* Multiple carcinomas without a massive carcinoma.
 Lip Carcinoma of the lip.
 Pn Pneumonia.

Fig. 6. Summary of the autopsy findings of D-A rats treated with 4NQO.

Wistar Furth	Tongue	Floor of mouth	Mandibular gingivae	Buccal mucosa	Maxillary gingivae	Hard palate	Pharynx	Larynx	Trachea	Esophagus	Forestomach	Others	Survival Time (days)
Male-1	○*		●		○	○	○						232
3	○		●		○	○	○*					Asp	246
5	●*		○		●	○		○	○	○		Asp	290
7		○	●		○	○	○*						217
9	○		●			○	○*					Asp	230
11						○	○*	○*	○				222
13	○				○	○	○	○*	○*			Asp	262
15						○	○	○				Asp	213
17		●				○	○*	○				Larynx with metastases	231
19	○				○	○	○	○				Asp	217
21	●*		●			○	○	○	○			Lip	246
23	○	○*	●	○	○	○	○	○	○			Asp	230
25	●					○	○	○		○			246
27	○				○	○	○*	○*	○			Asp	229
Female-2	○			○	○	○	○*	○*	○*			Asp	273
4	○				○	○	○	○*	○	○		Asp	262
6	○		○		○	○	○	○*	○*		○ diffuse	Asp	246
8	●				○	○	○*						258
10	●		●			○	○						217
12			●		○	○	○	○		○			230
14	○	○	●			○	○	○					246
16	○		○		○	○	○*	○	○		○	Asp	256
18	●		●	○	○	○	○*	○	○				230
20	●				○	○	○	○	○*			Asp	215
22	○*				●	○	○*	○	○				239
24	○		○		○	○	○	○*	○			Asp	290
26			●			○	○	○					182
28					●	○	○*	○				Asp	208
30	○				●	○	○*	○*				Asp	246

● Massive carcinoma measuring more than 7 mm in its largest diameter.
 ●* Multiple carcinomas with one or more massive carcinoma(s).
 ○ Carcinoma measuring less than 7 mm in its largest diameter.
 ○* Multiple carcinomas without a massive carcinoma.
 Lip Carcinoma of the lip.
 Asp Aspiration pneumonia.

Fig. 7. Summary of the autopsy findings of W/F rats treated with 4NQO.



Fig. 8. A massive carcinoma of the posterior half of the dorsal aspect of the tongue of a D-A rat (D-A 19) treated with 4NQO for 126 days.

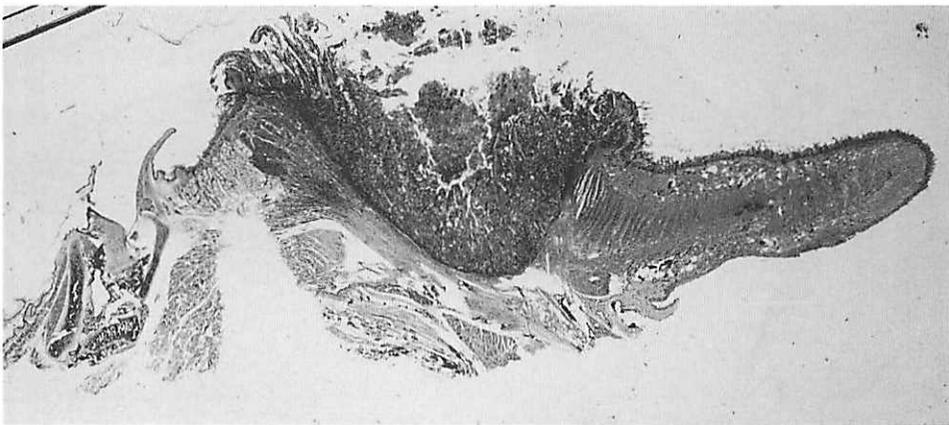


Fig. 9. Low-magnification photomicrograph of a histological section of the tongue of the case seen in Fig. 8. Deep invasion with muscular involvement is prominent. Hematoxylin-eosin, $\times 5$.

DNA 合成の際 Thymidine と競合して DNA 鎖に取り込まれることが知られている bromodeoxyuridine (BrdU)⁸⁵⁻⁸⁷⁾ を腹腔内に投与し、舌粘膜上皮細胞における BrdU の核内取り込みを調べたところ、両系統の間で明らかな差があることがわかった。すなわち 4NQO を投与すると両系ラットともに BrdU を取り込んだ核数は 4NQO を投与指定内対照ラットに比較して有意に増加するものの、D-A ラットは W/F ラットにくらべると増加ははるかに高いのである (Fig. 12, 13, 14)。同様

に舌粘膜上皮細胞中の核分裂像の数⁸⁸⁾にも BrdU の取り込みと同様の傾向を示し、両系ラット間に有意差がみられた (Fig. 15)。これらのことから 4NQO に対する舌粘膜上皮細胞の感受性には D-A ラットと W/F ラットの間はかなり明確な系統差があると結論して差し支えないと思われる。

次に現在われわれは両系統のラットを交配して F1-hybrid ラットを作成して同様の方法を用いて上部消化管癌を作成している。まだ予備実験が終わった段階で

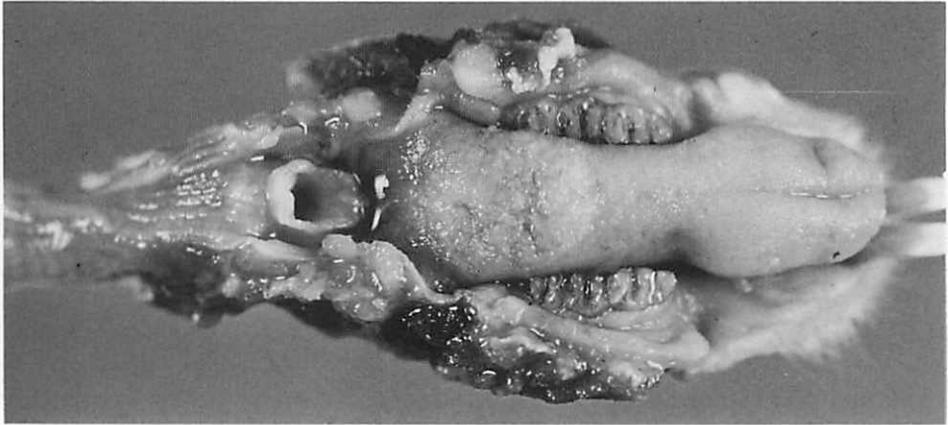


Fig. 10. Dorsal aspect of the tongue without a carcinoma in a W/F rat (W/F 15) treated with 4NQO for 213 days.

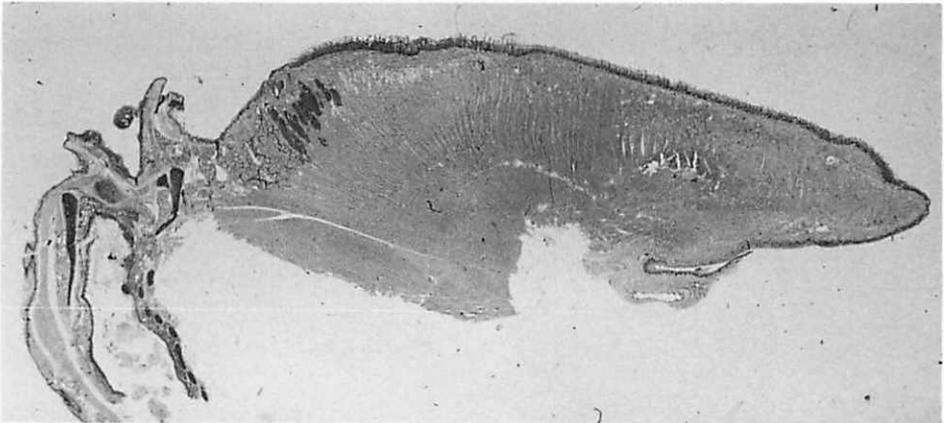


Fig. 11. Low-magnification photomicrograph of a histological section of the tongue of the case seen in Fig. 10. There is no detectable carcinoma in the tongue. Hematoxylin-eosin, $\times 5$.

確実なことはいえないが、F1 ラットについては生存期間は延長するものの、舌については塊状癌を作る傾向が強い（頻度：81%）。即ち生存期間を無視すれば（生存期間単独で舌癌発生の感受性の高低を云々できないことは明らかである）、舌癌発生の感受性はF1 ラットにおいてはD-A ラットに近似しているといえそうである。すなわち発癌傾向は優性遺伝を示すのではないかと推定している。今後さらにF1 ラットのデータを増やすとともに、Backcross-hybrid ラットやF2-hybrid

ラットについての検索を行って遺伝様式を明らかにする予定である。

さて、4NQO 誘発ラット舌癌発生に対する感受性の系統差をもたらす要因については現在までのところ全く未明である。先に述べたように、4NQO は細胞内で4HAQO に還元され、これが核膜を通過して核内DNA のピリン体と結合して4HAQO-DNA 付加体を形成することが癌化に密接に関連していると考えられる。そこで舌粘膜上皮細胞の胞体内における4NQO 還元酵素

Table 3: Massive Carcinomas of the Tongue in Seven Strains of Rats Treated with 4NQO

Strain	Sex	No. of rats (Total)	No. of rats with carcinoma(s) (Total)	No. of rats with massive carcinoma(s) (Total)	No. or rats without a carcinoma (Total)
Dark-Agouti	M	12 (23)	12 (23, 100%)	10 (20, 87%)	0 (0, 0%)
	F	11	11	10	0
Long-Evans/stm	M	12 (22)	12 (22, 100%)	7 (10, 45%)	0 (0, 0%)
	F	10	10	3	0
Sprague-Dawley	M	12 (24)	12 (24, 100%)	8 (15, 62%)	0 (5, 0%)
	F	12	12	7	0
ACI/Ms	M	28 (41)	28 (41, 100%)	24 (32, 78%)	0 (0, 0%)
	F	13	13	8	0
Fischer 344	M	12 (24)	12 (24, 100%)	9 (19, 79%)	0 (0, 0%)
	F	12	12	10	0
Donryu	M	11 (23)	11 (23, 100%)	6 (14, 61%)	0 (0, 0%)
	F	12	12	8	0
Wistar/Furth	M	14 (29)	10 (22, 76%)	3 (7, 24%)	4 (7, 24%)
	F	15	12	4	3

Table 4: Comparison of the Number of Rats with or without Massive Carcinoma(s) of the Tongue between Dark-Agouti and Wistar/Furth Strains

	Dark-Agouti	Wister/Furth	Total
With Massive Carcinoma(s) of the Tongue	20	7	27
Without a Massive Carcinoma of the Tongue	3	22	25
Total	23	29	52

Chi-square test: $P < 0.01$

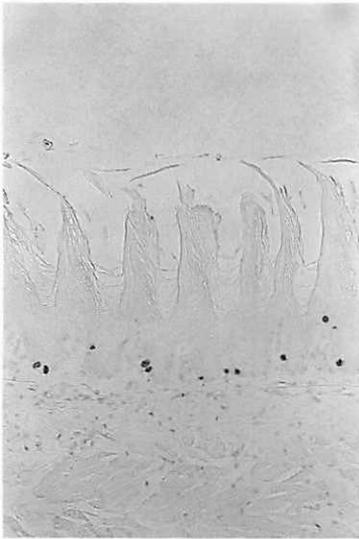


Fig. 12. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a control D-A rat (D-A 63) without 4NQO-treatment. The cells with BrdU-positive nuclei represent S-phase cells. Immunostaining for BrdU using monoclonal antibody (mouse IgG) against BrdU, $\times 35$.

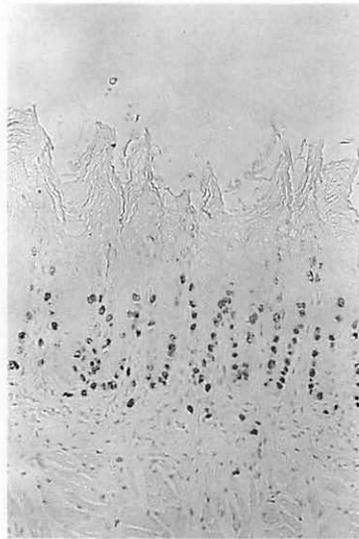


Fig. 13. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a D-A rat (D-A 75) treated with 4NQO for 4 weeks. A much higher incorporation rate of BrdU is noted in this case in comparison with the control of Fig. 12. Immunostaining for BrdU, $\times 35$.

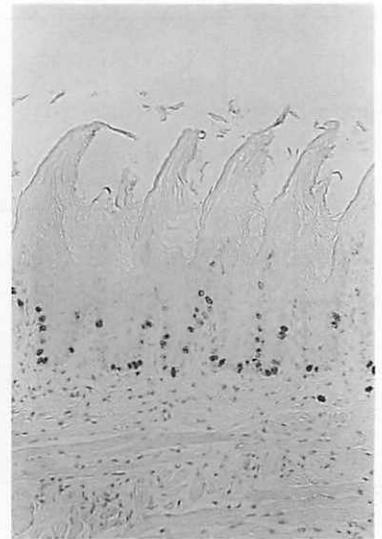


Fig. 14. Distribution of BrdU-incorporating nuclei in the dorsal epithelium of the tongue of a W/F rat (W/F 43) treated with 4NQO for 4 weeks. Note the less numbers of positive nuclei than in Fig. 13. Immunostaining for BrdU, $\times 35$.

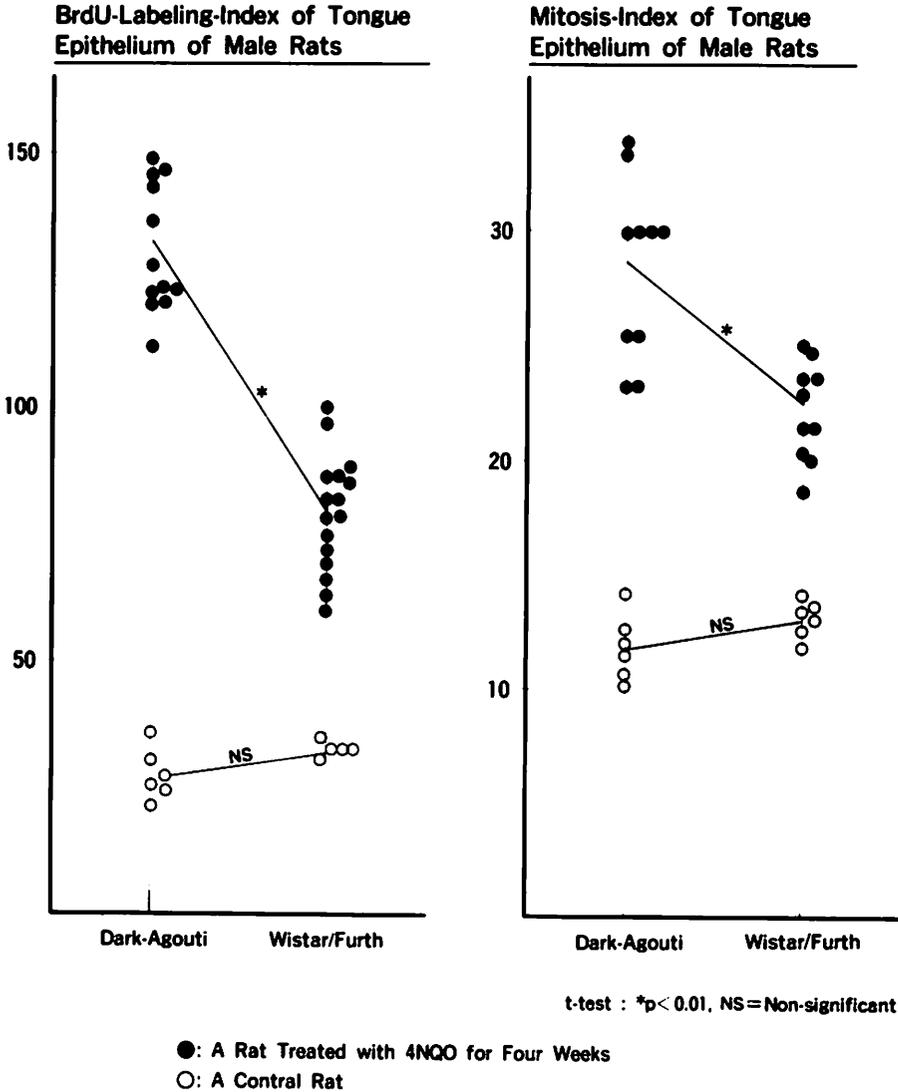


Fig. 15. BrdU-labeling (left)-, and Mitosis (right)-Indices of the surface epithelium of the tongues of D-A and W/F rats with or without 4NQO-treatment for 4 weeks. The Indices are expressed in terms of the number of epithelial cells in 1 mm. length of the tongue surface. Both Indices are statistically significantly different between the two treated rat strains and also between the treated rats and the non-treated rats of each strain.

活性に上記2系統のラットで差がみられるのかどうかを検討する必要がある。現在これについての実験プロトコールを作成中である。さらに、4 HAQO-DNA 付加体形成に両系統間に差があるのかも検討すべき

である。現在われわれは愛知がんセンター生化学部の多田万里子博士から抗 4 HAQO-DNA 付加体ウサギ IgG⁴⁵⁾の恵与を得て、免疫組織化学的検索を行っているが、それによると 4 NQO 水溶液を飲料水として投与するわ

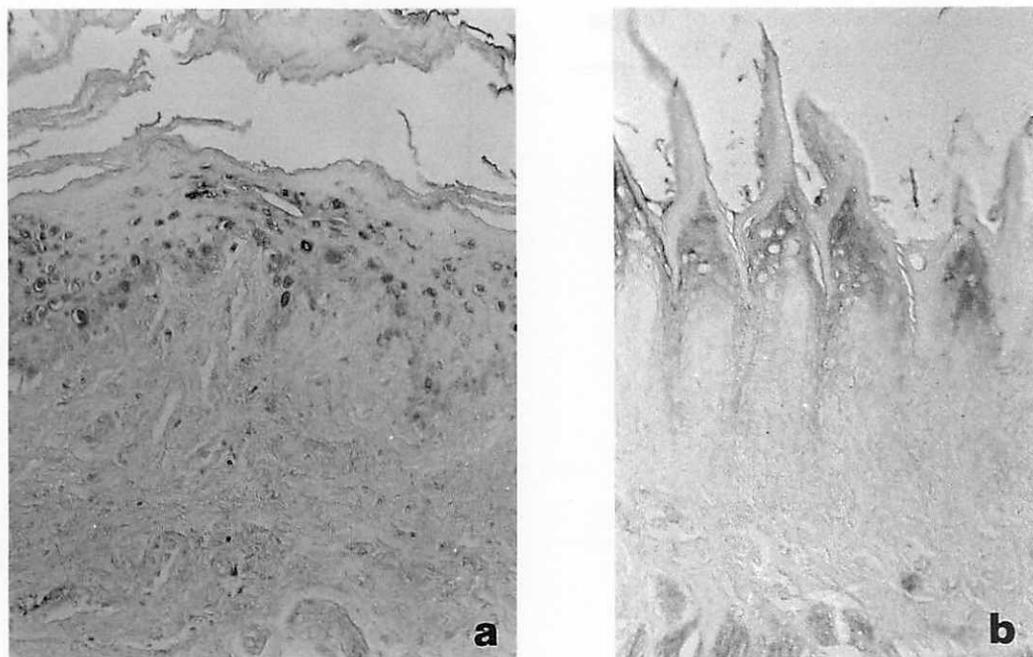


Fig. 16. Distribution of cells with nuclei positive for 4HAQO-DNA adducts in the tongue epithelium showing dysplastic changes of a D-A rat (D-A 147) treated with 4NQO for 114 days (left : a) and in a control D-A rat (D-A 121) without 4NQO-treatment (right : b). Immunostaining using anti-4HAQO-DNA adduct-rabbit IgG, $\times 35$.

れわれの方法でラットの舌粘膜上皮細胞の核内に 4 HAQO-DNA 付加体が形成されることが明らかになった (Fig. 16 a, b)。

次に考えなければならないことは付加体形成によって生じた DNA- 損傷の修復能に両系ラット間に差があるかどうかということである。これについても適当な実験系を組み立てる必要があると思われる。

4 NQO 誘発舌癌好発性の D-A ラットはアジュバント関節炎をきたしやすい系統としてオーストラリアで開発され日本へ導入されたものである⁸⁹⁾。アジュバント関節炎は当然免疫学的機構のかかわりの下で発症すると考えられるので、4 NQO 誘発舌癌の発生や発育にも免疫学的機構が強いかかわっている可能性が考えられる。現在生後48時間以内に胸腺を摘出した D-A 系および W/F 系のラットについて、先と同様の方法で発癌実験を行っているところである。もし胸腺摘出と 4 NQO 誘発舌癌発生との相関関係がはっきりすれば、免疫機構と発癌とのかかわりに何らかの示唆が与えられるだろう。さらにこれとは別にラットの MHC であ

る RT-1 のパプロタイプを調べてみることで系統差をもたらす要因についての何らかの手懸かりが得られるかも知れない⁹⁰⁾。

癌細胞にしばしば染色体異常がみられ、また種々の発癌因子によって染色体異常がひきおこされることから、染色体異常と発癌とは何らかの因果関係があることは否めない事実である。近年細胞性癌遺伝子が数多く発見され染色体上にマッピングされたことによっていくつかの染色体異常を伴う悪性腫瘍と細胞性癌遺伝子との関係がクローズアップされてきた。例えば、慢性骨髄性白血病におけるマーカー染色体である Ph¹ 染色体⁹¹⁾ は22番目の染色体の長腕の1部が9番目の染色体の長腕の1部と相互転座 [t(9; 22)(q34; q11)] することによって形成される。c-abl 癌遺伝子領域を含んだ9番目の染色体の1部が転座した結果、c-abl 癌遺伝子の遺伝子活性の発現が増幅されることが明らかにされ、これが慢性骨髄性白血病の発生要因として重要な意味を持ってきている⁹²⁾。われわれは Donryu 系ラットに発生した 4 NQO 誘発舌癌から継代培養系

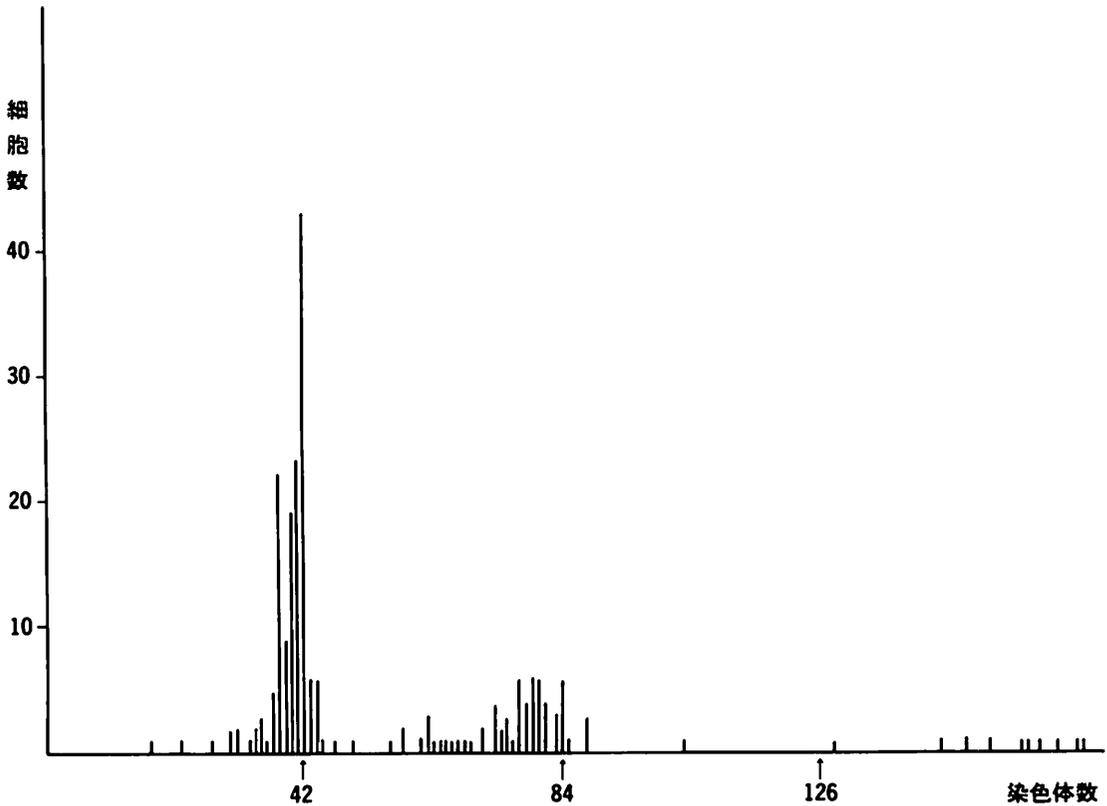


Fig. 17. Distribution of the numbers of chromosomes of the cultured cells from a 4NQO-induced squamous cell carcinoma of the tongue of a Donryu rat.

に移すことが成功した癌細胞での分析では、染色体数は高度のばらつきがみられるものの (Fig. 17)⁹³⁾、明瞭なマーカー染色体はこれまでのところ見出すことはできなかった。

近年ヒト口腔癌の癌遺伝子についてかなり詳細な研究が進められている⁹⁴⁾。4NQO誘発癌についても癌遺伝子に関する広般な検索が必要であると思われる。

しかしながら、上で述べた染色体の異常にしても、癌遺伝子についても完成した癌細胞での解析が基になっている。これらの解析結果と発癌に対する感受性や抵抗性の遺伝的背景を今のところ同一に論ずることはできない。将来それらの相互関係が解明されなければならないが、それに至るまでには気の遠くなるほどの膨大なデータの積み重ねが必要であろう。

おわりに

癌は遺伝しないことは自明の理であるが、癌になりやすさは(癌に患りやすい体質と言い換えても良いが)遺伝する。これらはヒトから得られた数多くの臨床的および疫学的データと、動物実験でうず高く積み上げられたデータが証明している。

生命は水と光、熱、放射線、無機物質などの環境から複雑な相互作用によって誕生したものである。しかもその環境は発癌要因そのものであるともいえる。加えて長年月をかけて進化した生物のあるものはウィルスの如き微生物となって発癌要因の中に介入し、発癌機構に干渉してきた。生命体はしかしその誕生の初期の段階から発癌要因に対する防御機構を身に付けて、これら発癌要因に抵抗してきたに違いない。この意味でわれわれヒトを含めた生物には発癌に対する抵抗性あるいは逆にいえば感受性が存在し、これが遺伝的に

規定されてきたのであろう。

口腔癌については、ヒトでは発生頻度の低さから、動物ではこれまで良い実験モデルが確立されなかったこともあって発癌におよぼす遺伝的背景についての解析が遅れていた。しかし最近になってヒトについては口腔癌と HLA との相関関係が少しずつ明らかにされてきた。また、実験的には 4NQO 誘発ラット口腔癌のモデルが確立された。今度はたとえ遅々とはあるにしても、ヒトにおいても実験動物においてもこの分野での精度の高いデータが少しずつ積み上げられてくるであろう。その意味で展望は開けてきたといえる。

謝 辞

本論文作成にあたって鹿児島大学歯学部口腔病理学教室の教員諸氏の御教示御協力をいただきました。また本教室に所属するゼミ生諸氏の実験協力をいただきました。培養技術については歯科放射線学教室の河野一典学士の御指導御協力を得ました。

4NQO 誘発ラット口腔癌発癌実験は埼玉県立がんセンター研究所病理部志佐 湍博士との共同研究によるものです。また実験をはじめにあたり東北歯科大学口腔外科学教室の大根光朝教授から示唆に富んだ多くの御教示御忠告をいただきました。

愛知県がんセンター研究所生化学部の多田万里子博士から抗 4HAQO-DNA 付加体抗体の御恵与をいただきました。

本研究は文部省科学研究費補助金に負う所が大きい。記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 森脇和郎：発癌に関与する宿主の遺伝的要因。実験医学 3: 167-168, 1985.
- 2) Knudson, Jr., A. G.: Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 68: 820, 1971.
- 3) Knudson, Jr., A. G.: Genetics and etiology of human cancer. Adv. Human Genet. 8: 1-66, 1977.
- 4) King, M.: Genetic influences in breast cancer susceptibility in "high-risk" families. Natl. Cancer Inst. Breast Cancer Tash. Force Intercom. 9: 13 (abstract), 1980.
- 5) Smith, P. J., Greene, M. H., & Adams, D., Paterson, M. C.: Abnormal responses to the carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide of cultured fibroblasts from patients with dysplastic nevus syndrome and hereditary cutaneous malignant melanoma. Carcinogenesis 4: 911-916, 1983.
- 6) Barfknecht, R. T., & Little, J. B.: Abnormal sensitivity of skin fibroblasts from familial polyposis patients to DNA alkylating agents. Cancer Res. 42: 1249-1254, 1982.
- 7) Akamatsu, N., Miyaki, M., Suzuki, K., Ono, T., & Sasaki, M. S.: Mechanism of increased susceptibility to 4-nitroquinoline-1-oxide in cultured skin fibroblasts from patients with familial polyposis coli. Mutation Res. 120: 173-180, 1983.
- 8) Cleaver, J. E.: Devective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. Nature 218: 652-656, 1968.
- 9) 武部 啓：色素性乾皮症の分子機構と異質性。人類遺伝学雑誌 22: 129-136, 1977.
- 10) Smith, P. J., Paterson, M. C.: Defective DNA repair and increased lethality in ataxia telangiectasia cells exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide. Nature 287: 747-749, 1980.
- 11) Paterson, M. C., Smith, B. P., Lohman, P. H. M., Anderson, A. K., & Fishman, L.: Defective excision repair of X-ray damaged DNA in human (ataxia telangiectasia) fibroblasts. Nature 260: 444-446, 1976.
- 12) German, J.: DNA repair defects and human disease. In Hanawalt, P. C., Friedberg, E. C., & Fox, C. F. eds. DNA Repair mechanisms. Academic press, New York. pp625-631, 1978.
- 13) Swift, M.: Fanconi's anemia in the genetics of neoplasia. Nature 233: 370-373, 1971.
- 14) Burnet, F. M.: The concept of immunological surveillance. Progr. exp. Tumor Res. 13: 1-27, 1970.
- 15) Kemnitz, J., Cremer, J., Gebel, M.: Uysal, A., Haverich, A., & Georgii, A.: T-cell lymphoma after heart transplantation. Amer. J. Clin. Pathol. 94: 95-101, 1990.
- 16) Silberman, S., Migliorati, C. A., Lozada-Nur, F., Greenspan, D., & Conant, M. A.: Oral findings in people with or at high risk for

- AIDS: A study of 375 homosexual males. *J. Amer. Dent. Assoc.* 112: 187-192, 1986.
- 17) Kersey, J.H., Spector, B.D., & Good, R. A.: Primary immunodeficiency diseases and cancer; The immunodeficiency-cancer registry. *Int. J. Cancer* 12: 333-347, 1973.
 - 18) Kellermann, G., Kellermann, M.L., Shaw, C. R.: Genetic variation of aryl hydrocarbon hydroxylase in human lymphocytes. *Amer. J. Hum. Genet.* 25: 327-331, 1973.
 - 19) Asamoto, M., Tsuda, H., Kato, T., Ito, N., Masuko, T., Hashimoto, Y., & Nagase, S.: Strain differences in susceptibility to 2-acetylaminofluorene and phenobarbital promotion of hepatocarcinogenesis: Immunohistochemical analysis of cytochrome P-450 isozyme induction by 2-acetylaminofluorene and phenobarbital. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 1041-1046, 1989.
 - 20) Lilly, F.: The inheritance of susceptibility to the Gross leukemia virus in mice. *Genetics.* 53: 529-539, 1966.
 - 21) Lilly, F.: The effect of histocompatibility-2 type on response to the Friend leukemia virus in mice. *J. Exp. Med.* 127: 465-473, 1968.
 - 22) Usuki, K., Sonoda, S., Osame, M., Yashiki, S., Takahashi, K., Matsumoto, M., Sawada, T., Tsuji, K., Tara, M., & Igata, A.: HLA haplotype-linked high immune responsiveness against HTLV-1 in HTLV-1-associated myelopathy: Comparison with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Ann. Neurol.* 23: S143-150, 1988.
 - 23) Gupta, P.C., Pindborg, J.J., & Mehta, F.S., Comparison of carcinogenicity of betel quid with and without tobacco: an epidemiological review. *Ecol. Dis.* 1: 213-219, 1982.
 - 24) Reichart, P.A., Mohr, U., Srisuwan, S., Geerlings, H., Theetranont, C., & Kangwanpong, T.: Precancerous and other oral mucosal lesions related to chewing, smoking and drinking habits in Thailand. *Community Oral Epidemiol.* 15: 152-160, 1987.
 - 25) 国芳秀晴: 口腔悪性腫瘍患者における HTLV-1 の浸淫と免疫抑制機能に関する研究. *日口外誌.* 35: 1373-90, 1989.
 - 26) Stewart, R.E., & Prescott, G.H.: Oral facial genetics. C.V. Mosby Comp. Saint Louis, 1976.
 - 27) Gorlin, R.J., Pindborg, J.J., & Michael Cohen, Jr, M.: Syndromes of the head and neck, 2nd ed. McGraw-Hill Book Comp, New York, 1976.
 - 28) Goodman, R.M., & Gorlin, R.J.: Atlas of the face in genetic disorders, 2nd ed. C.V. Mosby Comp, Saint Louis, 1977.
 - 29) 米川博道: 化学発癌剤に対する感受性: 系統差と遺伝. *実験医学* 3: 547-552, 1985.
 - 30) Bralow, S.P., Gruenstein, M., & Meranze, D.R.: Host resistance to pyloric adenocarcinomatosis in three strains of rats ingesting N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Oncology (Basel)* 27: 168-180, 1973.
 - 31) Ohgaki, H., Kawachi, T., Matsukura, N., Morino K., Kiyamoto M., & Sugimura T.: Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. *Cancer Res.* 43: 3663-3667, 1983.
 - 32) Ohgaki, H.: Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. *Cancer Res.* 43: 3663-3667, 1983.
 - 33) Shisa, H., & Hiai, H.: Genetically determined susceptibility of Fischer 344 rats to propyl nitrosourea-induced thymic lymphoma. *Cancer Res.* 45: 1483-1487, 1985.
 - 34) Ohgaki, H., Tomihari, M., Sato, S., Kleihues P., & Sugimura, T.: Differential proliferative response of gastric mucosa during carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in susceptible ACI rats, resistant Buffalo rats, and their A hybrid F1 cross. *Cancer Res.* 48: 5275-5279, 1988.
 - 35) Masuda, R., Yoshida, M.C., & Sasaki, M.: Gene expression of placental glutathione S-transferase in hereditary hepatitis and spontaneous hepatocarcinogenesis of LEC rats. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 1024-1027, 1989.
 - 36) Asamoto, M., Tsuda, H., Kagawa, M., & de Camargo, J.L.V.: Strain differences in susceptibility to 2-acetylaminofluorene and

- phenobarbital promotious of rat hepatocarcinogenesis in a medium-term assay system: Quantitation of glutathione S-transferase P-positive foci development. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 939-944, 1989.
- 37) Wiklund, J., Rutledge, J., & Gorski, J.: A genetic model for the inheritance of pituitary tumor susceptibility in F344 rats. *Endocrinology* 109: 1708-1714, 1981.
- 38) Naito, M., Ito, A., & Aoyama, H.: Genetics of susceptibility of rats to trigeminal schwannomas induced by neonatal administrations of N-ethyl-N-nitrosourea. *J. Natl. Cancer Inst.* 74: 241-245, 1985.
- 39) Gould, M.N.: Inheritance and site of expression of genes controlling susceptibility to mammary cancer in an inbred rat model. *Cancer Res.* 46: 1199-1202, 1986.
- 40) Weisburger, J. H., Conrad Jones, R., Barnes, W.S. & Pegg, A. E.: Mechanisms of differential strain sensitivity in gastric carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 79: 1304-1310, 1988.
- 41) Isaacs, J. T.: Inheritance of a genetic factor from the Copenhagen rat and the suppression of chemically induced mammary adenocarcinogenesis. *Cancer Res.* 48: 2204-2213, 1988.
- 42) Nagase, S., Shimamura, K., & Shumiya, S.: Albumin-deficient rat mutant. *Science* 205: 590-591, 1979.
- 43) Takahashi, M., Shumiya, S., Maekawa, A., Hayashi, Y., & Nagase, S.: High susceptibility of an analbuminemic congenic strain of rats with an F344 genetic background to induced bladder cancer and its possible mechanism. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 79: 705-709, 1988.
- 44) Kakizoe, T., Sugimura, T.: Chemical carcinogenesis in analbuminemic rats. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 79: 775-784, 1988.
- 45) Salley, J. J.: Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster. *Dent. Res.* 33: 253-262, 1954.
- 46) Levy, B. M.: The experimental production of carcinoma of the tongue in mice. *J. Dent. Res.* 37: 950, 1958.
- 47) Fujino, H., Chino, T., & Imal, T.: Experimental production of labial and lingual carcinoma by local application of 4-nitroquinoline N-Oxide. *J. Natl. Cancer Inst.* 35: 907-918, 1965.
- 48) Herrold, K.M.: Odontogenic tumors and epidermoid carcinomas of the oral cavity. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.* 25: 262-272, 1968.
- 49) Denda, A., Mori, Y., Yokose, Y., Uchida, K., Murata, Y., Makiko, T., Tsutumi, M., & Konishi Y.: 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide metabolism and DNA adducts in the early stage of tumorigenesis in rats: Comparison of target organ pancreas with nontarget organ liver. *Chem Biol Interact.* 56: 125-143, 1985.
- 50) 大根光朝: 発癌剤溶解飲料水・経口投与によるラット口腔粘膜癌とその発生過程. *医学のあゆみ*, 116: 939-940, 1981.
- 51) 大根光朝, 大森清弘, 立川哲彦, 村松英昭, 小林朗男, 関川一嘉, 望月 彰, 高木多加志, 桜田義徳: 発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide 溶解飲料水, 経口投与による口腔扁平上皮癌発生実験. *日口科誌* 27: 685-700, 1981.
- 52) 大根光朝, 村島博志, 氏家和子, 武本 泰, 佐藤敬, 山田史学, 高牛 宏, 横田充宏: 4 NQO 水溶液飲料水投与方法による舌癌発生実験——とくに短期間投与の影響について. *日口科誌* 35: 132-136, 1986.
- 53) Ikenaga, M., & Takebe, H.: Actions of 4-nitroquinoline 1-oxide on eucaryotic cells: Molecular and cellular studies. *Carcinogenesis Vol 6: The nitroquinoline* edited by Sugimura, T., pp 65-91, Raven Press, New York, 1981.
- 54) Kuroki, T.: *in vitro* carcinogenesis by 4-nitroquinoline 1-oxide and related compounds. *Carcinogenesis Vol 6: The nitroquinoline* edited by Sugimura, T., pp 93-115, Raven Press, New York, 1981.
- 55) Nakahara, W., Fukuoka, F., & Sugimura, T.: Carcinogenic action of 4-nitroquinoline-

- oxide. *Gann (癌)* 48: 129-137, 1957.
- 56) Wallenius, K., & Lekholm, U.: Oral cancer in rats induced by the water-soluble carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide. *Odontol. Rev.* 24: 39-48, 1973.
- 57) 山口全一: 実験的皮膚腫瘍に関する研究. *日皮会誌* 86: 249-268, 1976.
- 58) Fisker, A. V., & Karring, T.: Cell population kinetics in rat palatal epithelium created with the carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide (4 NQO). *J. Oral Pathol.* 10: 408-416, 1981.
- 59) Fisker, A. V., West, M. J., Philipsen, H. P., & Andersen, A. H.: Quantification of oral epithelial hyperplasia in rats after topical application of the carcinogen 4-nitroquinoline T-oxide. *Acta Odontol. Scand.* 48: 125-131, 1990.
- 60) Konishi, Y., Maruyama, H., Mii, Y., Miyauchi, Y., Yokose, Y., & Masuhara, K.: Malignant fibrous histiocytomas induced by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rats. *J. Natl Cancer Inst.* 68: 859-865, 1982.
- 61) Konishi, Y., Mii, H., Maruyama, H., & Masuhara, K.: Malignant fibrous histiocytoma. *Amer. J. Pathol.* 115: 469-472, 1984.
- 62) Iqbal, Z. M., Majdan, M., & Epstein, S. S.: Evidence of repair of DNA damage induced by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in guinea pig pancreatic slices in vitro. *Cancer Res.* 36: 1108-1113, 1976.
- 63) Kulkarni, M. S., Angerman-Stewart J., & Anderson, M. W.: Detection of *in vivo* DNA repair syntheses in mouse liver and lung induced by treatment with benzo (a) pyrene or 4-nitroquinoline 1-oxide. *Cancer Res.* 44: 1547-1550, 1984.
- 64) Ito, T., Kitamura, H., Inayama, Y., & Kanisawa, M.: Pulmonary adenoma and endocrine cell hyperplasia in Syrian golden hamster treated with 4-nitroquinoline 1-oxide. *Acta Pathol. Jpn.* 38: 1097-1104, 1988.
- 65) Karube, T., Katayama, H., Takemoto, K., & Watanabe, S.: Induction of squamous metaplasia, dysplasia and carcinoma in situ of the mouse tracheal mucosa by inhalation of sodium chloride mist following subcutaneous injection of 4-nitroquinoline 1-oxide. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 698-7001, 1989.
- 66) Sugimura, T., Okabe, K., & Endo, H.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide. I. Conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-aminoquinoline 1-oxide by rat liver enzymes. *Gann* 56: 489-501, 1965.
- 67) Sugimura, T., Okabe, K., Nagao, M.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide a carcinogen. II An enzyme catalyzing the conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rat liver and hepatomas. *Cancer Res.* 26: 1717-1721, 1966.
- 68) 吉村英敏, 古賀信幸, 和田郁夫, 多間由美子, 黒木 淳: 3-Methylcholanthrene 型 PCB 前処理ラットにおける 4-Nitroquinoline N-oxide の還元活性上昇について. *福岡医誌* 74: 217-221, 1983.
- 69) Tada, M., & Tada, M.: Main binding sites of the carcinogen, 4-nitroquinoline-1-oxide in nucleic acids. *Biochim. Biophys. Acta* 454: 558-566, 1976.
- 70) Ikenaga, M., Takebe, H., Ishii, Y.: Excision repair of DNA base damage in human cells treated with the chemical carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide. *Mutat. Res.* 43: 415-427, 1977.
- 71) Bailleul, B., Galicque, S., & Loucheux-Lefebvre, M. H.: Adducts from the reaction of O, O'-diacetyl or O-acetyl derivatives of the carcinogen 4-hydroxy aminoquinoline 1-oxide with purine nucleosides. *Cancer Res.* 41: 4559-4565, 1981.
- 72) Tada, M., Kohda, K. H., & Kawazoe, Y.: Biomimetic preparation and structure determination of QG, one of the quinoline-DNA base adducts formed in cells treated with 4-nitroquinoline 1-oxide. *Gann* 75: 976-984, 1984.
- 73) Morita, T., Ikeda, S., Minoura, Y., Kojima, M., & Tada, M.: Polyclonal antibodies to DNA modified with 4-nitroquinoline 1-oxide: Application for the detection of 4-nitroquinoline 1-oxide-DNA adducts in vivo.

- Jpn. J. Cancer Res. (Gann) 79: 195-203, 1988.
- 74) Qin, X., Nakatsuru, Y., Tada, M., & Ishikawa, T.: Species and organ differences in DNA adduct formation and repair after treatment with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. Jpn. J. Cancer Res. 81: 613-619, 1990.
- 75) Takebe, H., Furuyama, J., Miki, Y., Kondo, S.: High sensitivity of xeroderma pigmentosum cells to the carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide. Mutat. Res. 22: 87-91, 1972.
- 76) Ahmed, F. E., & Setlow, R. B.: DNA excision in repair proficient and deficient human cells treated with a combination of ultraviolet radiation and acridine mustard (ICR-170) or 4-nitroquinoline 1-oxide. Chem.-Biol. Interact. 29: 31-42, 1980.
- 77) Zelle, B., & Bootsma, D.: Repair of DNA damage after exposure to 4-nitroquinoline-1-oxide in heterokaryons derived from xeroderma pigmentosum cells. Mutat. Res. 70: 373-381, 1980.
- 78) Mirzayans, R., Waters, R.: DNA damage and its repair in human normal or xeroderma pigmentosum fibroblasts treated with 4-nitroquinoline 1-oxide or its 3-methyl derivative. Carcinogenesis 2: 1359-1362, 1981.
- 79) Walker, I. G.: Alkaline sucrose sedimentation analysis as an indicator of repair capability of xeroderma pigmentosum fibroblasts for 4-nitroquinoline-1-oxide damage. Carcinogenesis 2: 691-5, 1981.
- 80) Dollery, A. A., Melvin, W. T., Keir, H. M., & Harris, W. J.: Repair of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced DNA damage in normal human cells and cells from classical and variant xeroderma pigmentosum. Mutat. Res. 112: 33-46, 1983.
- 81) 難波正義: 培養ヒト2倍体細胞の4-nitroquinoline 1-oxide処理後のDNA障害修復能の加齢による変化。シンポジウム老化の基礎研究(第3回)講演記録12-20(1976): 田内久, 黒田行昭: 細胞の老化第10章 細胞老化の要因, 共立出版KKより引用, 東京, 1981 (pp 157-188).
- 82) 北野元生, 志佐 湍, 4NQO誘発ラット上部消化管腫瘍発生の系統差, 性差, 年齢差, 並びに病理所見. 日本癌学会総会記事 48: 39 (抄録), 1989.
- 83) 北野元生, 志佐 湍: ラット上部消化管粘膜の4NQOに対する感受性についての性差および系統差: 6系統のラットについての生存期間, 病理形態像, Mitosis Index, およびBrdU Labelling Indexの比較. 日病会誌 79: 203 (抄録), 1990.
- 84) Kitano, M., Urago, A.: Strain difference of susceptibility to 4NQO-induced tongue carcinoma of rat. Program & Abstracts of 5th Biennial Congress of International Association of Oral Pathologists: P. 48 (Abstract), 1990.
- 85) Goz, B.: The effects of incorporation of 5-halogenated deoxyuridines into the DNA of eukaryotic cells. Pharmacol. Rev. 29: 249-272, 1978.
- 86) Gratzner, H. G.: Monoclonal antibody of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. Science 218: 474-475, 1982.
- 87) Hayashi, Y., Koike, M., Matsutani, M., & Hoshino, T.: Effects of fixation time and enzymatic digestion on immunohistochemical demonstration of bromodeoxyuridine in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. J. Histochem. Cytochem. 36: 511-514, 1988.
- 88) Karring, T., Løe, H.: The reliability of various mitotic index systems in assessing mitotic activity in stratified squamous epithelium. J. Periodont. Res. 7: 271-282, 1972.
- 89) Tsukano, M., Nawa, Y., & Kotani, M.: Characterization of low dose induced suppressor cells in adjuvant arthritis in rats. Clin. Exp. Immunol. 53: 60-66, 1983.
- 90) 名取 孝: ラット主要組織適合抗原とその応用. 代謝 17 (臨時増刊号): 2091-2099, 1980.
- 91) Baikie, A. G., Court-Brown, W. M., Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., & Tough, I. M.: A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukemia, Nature 188: 1165-1166, 1960.
- 92) de Klein, A., von Kessel, A. G., Grosveld, G., Bartram, C. R., Hagemeijer, A., Bootsma, D.,

- Spurr, N.K., Heisterkamp, N., Groffen, J., & Stephenson, J.R.: A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 300: 765-767, 1982.
- 93) Kawano, K., Kitano, M., Hamamoto, S., Noikura, T., Urago, A., & Nakamura, K.: Establishment and characterization of 4NQO-induced tongue carcinoma cell line of rat. *Tissue Culture in Dentistry* 26: 23-25, 1989.
- 94) Saranath, D., Panchal, R. G., Nair, R., Mehta, A. R., Sanghavi, V., Sumegi, J., Klein, G., & Deo, M. G.: Oncogene amplification in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 430-437, 1989.

編 集 後 記

本紀要は創刊号より、歯学全体の動きを把握し、ともすれば孤立化細分化しがちなそれぞれの専門分野を統合俯瞰できる論文集とすることを編集の基本方針とし、すでに10巻が発刊され所期の目的は達せられてきたと言えよう。

第二世代のスタートともいえる本号では、着任されたばかりの新進気鋭の高田教授をはじめ3名の方をお願いしたが、基本の方針は保つこととした。著者の皆様には忙しい中を編集委員の希望をくんで御執筆いただき大変立派な紀要ができた。編集委員一同敬意と感謝を表します。

(三 村)

平成 3 年 3 月 15 日 印刷

平成 3 年 3 月 26 日 発行

発行所

鹿児島大学歯学部 代表 仙波輝彦

鹿児島市桜ヶ丘八丁目35-1

印刷所

斯文堂株式会社

鹿児島市南栄3丁目1番地

