

論文の内容の要旨

論文題目 糖尿病齧歯類を用いた齲蝕および歯周病の病理発生に関する形態学的研究

氏名 中原 豊

糖尿病 (DM) は、インスリンの分泌欠乏あるいは作用障害、またはその両方に起因する高血糖状態を特徴とする疾患である。近年、歯周病 (PD) は DM 患者における第 6 番目の DM 合併症と言われ、臨床的に DM と PD の因果関係を示す数多くのエビデンスが報告されている。一方、DM 患者では齲蝕の発生頻度が高いという報告と、DM 患者と非 DM 患者の齲蝕感受性に差はないという報告が混在し、DM と齲蝕の関連性は不明である。

PD は、歯牙の支持組織である歯周組織の感染症であり、歯に隣接して形成されるバイオフィルムや歯垢中の *Porphyromonas gingivalis* を主とする病原性微生物叢によって誘発される歯周組織の炎症性疾患を指す。歯肉炎は PD の中で最も軽度の初期病変であり、炎症が歯周組織の深部にまでに進行すると、歯根膜の減退・喪失ならびに歯槽骨吸収 (ABR) が生じる歯周炎となる。一方、齲蝕は、*Streptococcus mutans* を主とする口腔内細菌の作用により生じる歯牙硬組織の崩壊を主とする疾患であり、齲蝕の病態は、軽度の初期病変であるエナメル質齲蝕から、病変が進行した象牙質齲蝕、最終的に歯髄が露出する歯髄病変まで様々である。更に、歯髄病変は歯冠部歯髄から歯根部歯髄へと波及し、根尖孔を通じて根尖性歯周炎へと発展する。従って、成人が歯を喪失する口腔 2 大疾患の PD と齲蝕はそれぞれ、病因が全く異なる疾患である。

齧歯類は PD を自然発症しないため、結紮系の臼歯装着や PD 原性細菌の歯肉接種などにより炎症を強制的に誘発したモデルが PD 研究に用いられる。DM 性 PD 病態モデルでは、自然発症 DM 系統あるいは薬物誘発 DM 動物に対して、前述の炎症付加処置が施され、非 DM 動物と比較解析が行われる。しかし、この DM 性 PD 齧歯類では、歯肉中のサイトカインの変化や歯肉組織の軽微な炎症反応は認められるが、ヒトで観察される高度の ABR や歯根膜の喪失にまで至る重度の PD はほとんど観察されない。その一方、炎症付加処置無しに、長期間の高血糖持続のみで、高度の ABR を伴う重度の PD が DM ラットに自然発症することが報告されている。

一方、齧歯類では、ショ糖などを含む齲蝕原性飼料の負荷により、容易に齲蝕を発生させることができる。齧歯類においても、ヒトと同様に DM と齲蝕の関係は長い間不明であり、齲蝕原性飼料を用いた実験で、DM が齲蝕を増強させる報告とそうでない報告が混在する。しかし、最近、非齲蝕原性飼料を与えた 2 型 DM の *db/db* マウスで、齲蝕と根尖性歯周炎が進行し、DM と齲蝕に高い相関性があることが明らかになっている。

従って、従来の報告通り、DM 齧歯類で病因が全く異なる PD および齲蝕のいずれもが発症しているのであれば、両疾患に起因する炎症が歯牙および歯周組織でそれぞれ独立して発現していると考えられる。しかし、DM 齧歯類を用い、歯牙および歯周組織における形態変化を連続的に解析した報告は殆どない。そこで本研究では、DM 齧歯類モデルを用い、高血糖の持続により歯牙および歯周組織にそれぞれ形成される炎症性変化を病理組織学的に

解析し、DM と PD ならびに DM と齲蝕の関連性を調べた。

第一章では、自然発症 DM 齲蝕類において歯牙および歯周組織の炎症が増悪するか否かを検証するため、2 年齢の DM 雄 WBN/Kob ラットについて、同齢の DM 未発症の雌 WBN/Kob ラットおよび雌雄 F344 ラットとの比較の基に、全臼歯の歯牙および歯周組織を病理組織学的に比較解析した。その結果、約 10 か月齢から DM を発症した雄 WBN/Kob ラットでは、臼歯齲蝕および ABR の頻度および重症度は、DM 未発症の雌 WBN/Kob ラットと比較し著しく上昇した。組織学的には、歯冠の齲蝕が亢進すると、細菌感染と壊死により齲蝕が象牙質深部に拡がり、齲蝕の炎症は歯髄から膿瘍形成を伴った根尖部を経て、歯周組織にまで拡がっていた。これらの炎症性変化は ABR と連続しており、その程度は臼歯齲蝕の程度と高く相関していた。以上の結果から、DM は WBN/Kob ラットの遺伝的な素因である齲蝕を更に増悪させることが明らかになり、歯根部全体に拡がる歯周組織の炎症は齲蝕の二次的な根尖性歯周炎に起因している可能性が示唆された。

第二章では、薬物誘発 DM 齲蝕類で高血糖の急激な上昇と持続が歯牙および歯周組織における炎症を発生・増悪させるか否かを検証するため、アロキサソール (AL) を投与し DM を発症した雌 F344 ラットにおける歯牙および歯周組織を、AL を投与後 DM 未発症ならびに無処置の雌 F344 ラットと病理組織学的に比較解析した。その結果、AL 投与後 DM 未発症および無処置対照の動物では、齲蝕は形成されなかったのに対し、DM を発症した AL 投与ラットでは、投与後 13 週目に齲蝕および ABR の急激な進行が確認され、投与 26 週目では 13 週目と比較し両病変のスコアは更に上昇した。組織学的に、DM ラットでは、臼歯の歯冠で初期の齲蝕が形成されていたが、病変が進行すると炎症は歯髄から根尖部の根尖孔を通して、根尖部から歯根部全体に拡がっていた。以上の結果から、薬物誘発における高血糖の上昇は、急速な齲蝕および歯周炎を誘発することが実証され、歯周組織の炎症は齲蝕に起因した二次的な変化である可能性が高いと考えられた。

高血糖が齲蝕および歯周組織の炎症の発生・進行に直接的に関与するのであれば、高血糖状態を抑えることで両病態の発生が抑制されることが推定されたため、第三章では、DM を自然発症する雄 WBN/Kob ラットおよび AL 投与により DM 期間を延長させた雄 WBN/Kob ラットを用い、それぞれインスリン (INS) 治療を行い、INS 治療を行わない雄 WBN/Kob ラットとの比較の基に、歯牙および歯周組織における炎症状態を比較解析した。INS 治療については、DM 発症から 3 週間後に INS ペレットを皮下に埋め込み血糖値を抑制した。いずれの動物も 90 週齢時に剖検した。その結果、DM を自然発症した動物では、齲蝕および齲蝕と連続する歯周炎がしばしば観察され、AL 投与で DM 期間を延長した動物では、両病変は明らかに増強した。一方、INS 治療で血糖値の上昇を抑制した動物では、血糖コントロールは齲蝕発症および歯周組織の炎症の頻度・程度を明らかに抑制し、DM 期間を延長しかつ INS 治療を行った動物では、血糖コントロールは齲蝕および歯周炎発症の抑制に著しい効果を示した。以上の結果から、DM ラットにおける血糖コントロールは齲蝕および歯周炎の発生を抑制することが明らかになり、高血糖状態が齲蝕と齲蝕に関連した歯周炎の発生に直接的に関与していることが示唆された。

第三章までの研究結果より、DM 齲蝕類の歯周組織に誘発される炎症は、隣接する齲蝕歯牙の炎症が強く影響していることが明らかになった。しかし、高血糖状態が、DM 性の PD を

誘発し、齲蝕による炎症とともに混在している可能性も完全には否定できない。そこで、第四章では、齲蝕関連性の歯周炎とは異なる DM 性の PD が潜在している可能性があるか否かを調べる目的で、齲蝕抑制効果のあるフッ素 (F) を飲水投与した DM 動物の歯牙および歯周組織を、F を投与しない DM 動物と形態学的に比較解析した。DM モデルとして AL を投与した F344 ラット (1 型 DM) および *db/db* マウス (2 型 DM) を用い、F 添加水あるいは常水を飲水させた群をそれぞれ設定し、F344 ラットについては AL 投与後 13 週目、*db/db* マウスについては 30 週齢時に剖検し、病理組織学的に検査した。その結果、両 DM モデルともに F 投与は齲蝕発症を抑制するのみならず、ABR の発生を劇的に減少させた。更に、F 投与を行った DM 動物においても、少数例で齲蝕を抑制できない個体が観察されたが、その齲蝕臼歯の周囲では歯周炎の発症が観察された。これに対し、F 投与により齲蝕が抑制された DM 動物の正常臼歯周囲では歯周病変は検出されなかった。従って、1 型および 2 型の DM 齲蝕類では、齲蝕とは全く病因の異なる DM 性 PD は発生していない可能性が高く、DM によって誘発された齲蝕由来の炎症のみが歯髄から根尖部の根尖孔を通じて歯周組織にまで拡散していると考えられた。

以上の一連の研究より、齲蝕類を用いた自然発症 DM モデルおよび薬物誘発 DM モデルでは、高血糖の持続により、齲蝕とともに ABR を伴う歯周炎が発生・増強することが明らかになった。これら歯周組織の炎症は隣接する齲蝕臼歯の炎症と密接に関連しており、齲蝕の炎症が歯髄から根尖部の根尖孔を通して、根尖部から歯根部全体の歯周組織に広がっていた。更に、齲蝕抑制を行った DM 齲蝕類の正常臼歯周囲には、歯肉炎・歯周炎は誘発されないことが明瞭に示された。これらのことから、DM 齲蝕類モデルにみられる歯周病変は齲蝕に起因する病変であることが推定された。従って、DM 齲蝕類モデルでは高血糖の持続のみでは PD は発症しない可能性が高いと考えられた。更に、DM を自然発症する齲蝕類の系統では、元々の齲蝕感受性を DM が更に悪化させ、薬物誘発による急激な血糖上昇は齲蝕感受性の低い系統でも重度の齲蝕を早期に発症させることが明らかになった。

本研究結果は、今後、齲蝕類を用いて DM 性 PD 研究に取り組む際に、齲蝕の発生を慎重に管理しなければならない注意点を明らかにし、DM 性 PD の病態を解明する上で重要な指針となることが期待される。