

【平成24年4月-12月授与分】博士學位論文内容の要旨及び審査の結果の要旨

<https://hdl.handle.net/2324/26196>

出版情報：2013-03-29. 九州大学
バージョン：
権利関係：

氏名・(本籍・国籍)	ファン ジン シェン 方 静 嫻 (中国)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	歯博甲第565号
学位授与の日付	平成24年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学府 歯学専攻
学位論文題目	DHODHは物理的に呼吸複合体に結合して、その欠損はミトコンドリア機能障害及びミラー症候群に関連する
論文調査委員	(主査) 教授 高橋 一郎 (副査) 教授 中西 博 教授 平田 雅人

論 文 内 容 の 要 旨

Some mutations of a DHODH gene lead to postaxial acrofacial dysostosis, or Miller syndrome. Only dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) is localized at mitochondria among enzymes of the *de novo* pyrimidine biosynthesis pathway. We observed that DHODH knockdown by RNA interference induced cell growth retardation because of G2/M cell cycle arrest while pyrimidine deficiency usually causes G1/S arrest. In consistent with this, the cell retardation was not rescued by exogenous uridine which should bypass the DHODH reaction for the pyrimidine synthesis. DHODH depletion inhibited the respiratory chain complex III, decreased the mitochondrial membrane potential, and increased the generation of reactive oxygen species. DHODH physically interacts with complexes II and III. We expressed DHODH with Miller syndrome-causative mutations in HeLa cells: G202A, R346W, and R135C. The former two DHODH proteins retained proper mitochondrial localization, but were unstable. On the other hand, the third one, in which the mutation lies at the ubiquinone-binding site, was stable but possessed no enzymatic activity. Considering that pyrimidine deficiency alone does not induce craniofacial dysmorphism, the DHODH mutations may contribute to the Miller syndrome in part through somehow altered mitochondrial function.

論文審査の結果の要旨

Some mutations of a DHODH (dihydroorotate dehydrogenase) gene lead to postaxial acrofacial dysostosis, or Miller syndrome. Only DHODH is localized at mitochondria among enzymes of the *de novo* pyrimidine biosynthesis pathway. It was observed that DHODH knockdown by RNA interference partially induced cell growth retardation because of G2/M cell cycle arrest while pyrimidine deficiency usually causes G1/S arrest. In consistent with this, the cell growth retardation was not rescued by exogenous uridine which should bypass the DHODH reaction for the pyrimidine synthesis. DHODH depletion inhibited the respiratory chain complex III, decreased the mitochondrial membrane potential, and increased the generation of reactive oxygen species. DHODH physically interacts with complexes II and III. DHODH with Miller syndrome-causative mutations; i.e. G202A, R346W, and R135C were transfected and induced their expression in HeLa cells. The former two DHODH proteins retained proper mitochondrial localization, but were unstable. On the other hand, the third one, in which the mutation lies at the ubiquinone-binding site, was stable but possessed no enzymatic activity. Considering that pyrimidine deficiency alone does not induce craniofacial dysmorphism, the DHODH mutations may contribute to the Miller syndrome in part through somehow altered mitochondrial function.

This research indicated the functions of mitochondrial DHODH in cell proliferation and physical interaction with respiratory complex II and III. Mutations of DHODH in Miller syndrome could alter the functions of DHODH. These findings may lead the understanding of causal effects of those mutations of DHODH on Miller syndrome. It could be considered that the present work is recommended for a PhD degree in Graduate School of Dentistry, Kyushu University.

氏名・(本籍・国籍)	ふくい なお 福井 尚 (東京都)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	歯博甲第566号
学位授与の日付	平成24年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学府 歯学専攻
学位論文題目	Periodontal Status and Metabolic Syndrome in Middle-Aged Japanese (中年日本人における歯周状態とメタボリックシンドロームとの関係)
論文調査委員	(主査) 教授 前田 勝正 (副査) 教授 赤峰 昭文 教授 吉浦 一紀

論文内容の要旨

肥満、高血圧、糖尿病、脂質代謝異常は、それぞれ単独でも心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患のリスクを高めることが知られているが、メタボリック症候群は、それらの要素を複数併せ持つ状態のことをいい、動脈硬化性疾患発症のリスクを著しく高めるといわれている。メタボリッ

ク症候群と歯周疾患の関連についてはいくつかの報告があるが、その数はそれほど多くはなく、どのような歯周健康状態がメタボリック症候群と関連しているのかについての情報は限られている。本研究の目的は、職域で行われた健康診断の結果を用いて、歯周健康状態として歯周ポケット (PD) および臨床的アタッチメントロス (CAL) の相互の関係を考慮してメタボリック症候群との関連性を明らかにすることである。

本研究では、日本国内の某企業で行われた健康診断の受診者のうち、オプション項目である歯科健診も受診した 34 歳から 77 歳の 6,421 人を分析対象とした。メタボリック症候群は、修正米国コレステロール教育プログラム高脂血症治療ガイドラインの基準に準じて判定し、肥満 (BMI : ≥ 25 kg/m²)、高血圧 (収縮期血圧 : ≥ 130 mmHg かつ / または 拡張期血圧 : ≥ 85 mmHg)、高血糖 (空腹時血糖値 : ≥ 100 mg/dl)、低 HDL コレステロール血症 (男性 : < 40 mg/dl、女性 : < 50 mg/dl)、高トリグリセリド血症 (中性脂肪 : ≥ 150 mg/dl) の 5 項目を評価し、3 項目以上に該当する者をメタボリック症候群シンドロームと定義した。肥満の項目については、健診で腹囲の測定が行われていないため、腹囲の代わりに BMI を用いて判定を行った。歯周健康状態については、第三回米国国民健康栄養調査の方法に準じて PD および CAL を評価した。PD と CAL については、それぞれ個人の最高値をもとに 3 つのカテゴリー (none/mild : < 3 mm、moderate : 4–5 mm、severe : ≥ 6 mm) に分類した。

メタボリック症候群の有無を従属変数、PD および CAL を独立変数として別々に投入し、年齢、性別、喫煙習慣、飲酒量、歯磨き回数、C 反応性タンパク質、現在歯数を交絡因子として調整した多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、年齢、性別、飲酒量、歯磨き回数、C 反応性タンパク質、PD、CAL はそれぞれメタボリック症候群と有意な関連を示した。年齢が高い者、男性、1 日の飲酒量がエタノール換算で 28g 以上の者、PD が moderate 以上の者、CAL が severe の者でメタボリック症候群を保有するオッズ比が有意に高い結果であった。また、歯磨き回数が 1 日 2 回以上と 3 回以上の者はメタボリック症候群を保有するオッズ比が有意に低い結果であった。次に、PD と CAL のカテゴリーを組み合わせた変数を用いて同様に多変量ロジスティック解析を行ったところ、PD が severe かつ CAL が severe の者、PD が moderate かつ CAL が moderate の者ではメタボリック症候群に対するオッズ比が有意であった。一方、CAL が severe であるが PD が severe でない者ではメタボリック症候群に対するオッズ比は有意でなかった。

本研究結果は、歯周健康状態の中でも、特に歯周組織の炎症状態を示唆する 4 mm 以上の歯周ポケットを保有する状態がメタボリック症候群と関連している可能性を示すものである。このことから、深い歯周ポケットを保有する者に対して適切な歯周治療を行うことは、歯周健康状態だけではなくメタボリック症候群の抑制にも貢献する可能性があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

肥満、高血圧、糖尿病、脂質代謝異常は、それぞれ単独でも心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患のリスクを高めることが知られているが、メタボリック症候群は、それらの要素を複数併せ持つ状態のことをいい、動脈硬化性疾患発症のリスクを著しく高めるといわれている。メタボリック症候群と歯周疾患の関連についてはいくつかの報告があるが、その数はそれほど多くはなく、どのような歯周健康状態がメタボリック症候群と関連しているのかについての情報は限られている。本研究の目的は、職域で行われた健康診断の結果を用いて、歯周健康状態として歯周ポケット (PD) および臨床的アタッチメントロス (CAL) の相互の関係を考慮してメタボリック症候群との関連性を明らかにすることである。

本研究では、日本国内の某企業で行われた健康診断の受診者のうち、オプション項目である歯科健診も受診した 34 歳から 77 歳の 6,421 人を分析対象とした。メタボリック症候群は、修正米国コレステロール教育プログラム高脂血症治療ガイドラインの基準に準じて判定し、肥満 (BMI : ≥ 25 kg/m²)、高血圧 (収縮期血圧 : ≥ 130 mmHg かつ/または 拡張期血圧 : ≥ 85 mmHg)、高血糖 (空腹時血糖値 : ≥ 100 mg/dl)、低 HDL コレステロール血症 (男性 : < 40 mg/dl、女性 : < 50 mg/dl)、高トリグリセリド血症 (中性脂肪 : ≥ 150 mg/dl) の 5 項目を評価し、3 項目以上に該当する者をメタボリック症候群シンドロームと定義した。肥満の項目については、健診で腹囲の測定が行われていないため、腹囲の代わりに BMI を用いて判定を行った。歯周健康状態については、第三回米国国民健康栄養調査の方法に準じて PD および CAL を評価した。PD と CAL については、それぞれ個人の最高値をもとに 3 つのカテゴリー (none/mild : < 3 mm、moderate : 4-5 mm、severe : ≥ 6 mm) に分類した。

メタボリック症候群の有無を従属変数、PD および CAL を独立変数として別々に投入し、年齢、性別、喫煙習慣、飲酒量、歯磨き回数、C 反応性タンパク質、現在歯数を交絡因子として調整した多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、年齢、性別、飲酒量、歯磨き回数、C 反応性タンパク質、PD、CAL はそれぞれメタボリック症候群と有意な関連を示した。年齢が高い者、男性、1 日の飲酒量がエタノール換算で 28g 以上の者、PD が moderate 以上の者、CAL が severe の者でメタボリック症候群を保有するオッズ比が有意に高い結果であった。また、歯磨き回数が 1 日 2 回以上と 3 回以上の者はメタボリック症候群を保有するオッズ比が有意に低い結果であった。次に、PD と CAL のカテゴリーを組み合わせた変数を用いて同様に多変量ロジスティック解析を行ったところ、PD が severe かつ CAL が severe の者、PD が moderate かつ CAL が moderate の者ではメタボリック症候群に対するオッズ比が有意であった。一方、CAL が severe であるが PD が severe でない者ではメタボリック症候群に対するオッズ比は有意でなかった。

本研究結果から、深い歯周ポケットを保有する者に対して適切な歯周治療を行うことは、歯周健康状態だけではなくメタボリック症候群の抑制にも寄与する可能性があると考えられる。本研究は、メタボリック症候群と歯周健康状態との新たな関連性を明らかにした研究で学位に値する。

氏名・(本籍・国籍)	ヌラズリーナ ビンチ アーマド NURAZREENA BINTI AHMAD (マレーシア)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	歯博甲第567号
学位授与の日付	平成24年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学府 歯学専攻
学位論文題目	Effect of Precursor's Solubility on Properties of Hydroxyapatite Formed Based on Dissolution-Precipitation Reaction of Tricalcium Phosphate (リン酸三カルシウムの溶解析出反応により作製したハイドロキシアパタイトの諸性質に及ぼす前駆体の溶解度の影響)
論文調査委員	(主査) 教授 古谷野 潔 (副査) 教授 久木田 敏夫 教授 森 悦秀

論文内容の要旨

There are many factors that affect the mechanical strength of apatite that is formed through dissolution-precipitation reaction such as a temperature, solution and its pH, surface area, composition and precursor's solubility. In this study, effect of precursor's solubility on the mechanical strength of HAp formed based on dissolution-precipitation reaction was investigated. As precursor's, alpha and beta-tricalcium phosphate (α -TCP, β -TCP) was chosen since they have the same chemical composition with different solubility.

α -TCP and β -TCP block precursors were treated hydrothermally with 1 mol/L of ammonia solution at 200°C for various durations. XRD analysis revealed that α -TCP block took 3 hours whereas β -TCP block took 240 hours for complete transformation to HAp blocks. Crystallite size measured by XRD and crystal size observed by SEM were larger in the case of HAp block prepared from β -TCP precursor (HAp(β -TCP)) when compared to HAp(α -TCP). The porosity of HAp(β -TCP) was found to be lower than that of HAp(α -TCP). Diametral tensile strength of HAp(β -TCP) showed higher value than HAp(α -TCP).

Osteoblastic cell response was evaluated on HAp(β -TCP) and HAp(α -TCP) using sintered HAp as control. Cell attachment and proliferation results showed that the cells were attached and well spread on all specimens. The results indicate that the cell response to HAp block was excellent regardless of fabrication methods.

We concluded therefore that HAp block with higher mechanical strength, low crystallinity and with good cell response for bone substitutes could be fabricated using β -TCP block as precursor based on dissolution-precipitation reaction.

論文審査の結果の要旨

これまでに α 型リン酸三カルシウム (α -TCP) 等の熱力学的に準安定な物質を前駆体として、溶解-析出反応を利用した組成変換によって炭酸アパタイト (CO_3Ap) 骨置換材を得る方法が報告されている。

本研究では、溶解-析出反応を利用して前駆体から水酸アパタイト (HAp) を得る際に、前駆体の溶解性が最終生成物である HAp の力学的強さに与える影響を明らかにすることを目的としている。最終生成物として CO_3Ap ではなく HAp を選択した理由については、炭酸イオンの置換の影響などを排除して単純な反応系で調査を行う必要性について言及している。

前駆体としては、化学組成が同じで溶解性の異なる α -TCP および β 型リン酸三カルシウム

(β -TCP) が選択されている。まず、 α -TCP および β -TCP ブロックの作製と物性評価が行われ、気孔率、密度、表面構造において両者の間に有意差がないことが確認されている。次に α -TCP もしくは β -TCP ブロックの HAp への組成変換処理 (1mol/L アンモニア水溶液, 200°C) が施され、 α -TCP から HAp への組成変換には 3 時間、 β -TCP から HAp への組成変換には 240 時間必要であることが X 線回折法 (XRD) によって明らかにされている。XRD や電子顕微鏡観察によって、 β -TCP から作製した HAp ブロック (HAp(β -TCP)) は α -TCP から作製した HAp ブロック (HAp(α -TCP)) に比べて結晶子サイズや結晶粒子サイズが大きくなることを明らかにしている。気孔率は HAp(β -TCP) の方が HAp(α -TCP) に比べて有意に低くなることを明らかにしている。この両者における結晶粒子サイズや気孔率の違いは、前駆体の溶解速度の差によって生じたと説明されている。即ち、 α -TCP は早く溶解して周囲の液の HAp に対する過飽和度を急速に上昇させ、溶液中で多数の核が発生し結晶成長した結果、針状結晶がランダムに絡み合う構造体となったのに対し、 β -TCP はゆっくり溶解したために、新しい核生成より結晶成長が優先的に生じた結果、大きなサイズの結晶構造体を成したと説明されている。HAp(α -TCP) に比べて HAp(β -TCP) の力学的強さが有意に高くなった理由は、最終生成物である HAp の気孔率の差によると結論付けている。最後に、骨芽細胞様細胞 (MC3T3E1) を用いて HAp(α -TCP) および HAp(β -TCP) 試料表面における初期細胞接着、増殖および形態を調べ、焼結 HAp (control) の結果との比較を行い、全ての試料間において統計学的な有意差がなかったと報告している。

以上のことから、溶解-析出反応を利用した組成変換によって HAp 骨補填材を作製する際に、前駆体の溶解性が最終成形体の力学的強さに影響を及ぼすことが明らかとなり、前駆体として β -TCP ブロックを用いれば、 α -TCP ブロックを用いた場合に比べて高い力学的強さを持つ HAp が作製できると結論付けている。

論文調査委員は、本研究で得られた知見が HAp 関連骨補填材の臨床応用や関連学術領域の発展に大きく寄与すると判断したため、本論文を学位論文としての価値あるものと結論づけた。