Kozo Yamamoto¹, Kazuhiro Tominaga¹, Tatsuji Nishihara² and Jinichi Fukuda¹ (¹First Department of Oral Surgery and ²Department of Oral Microbiology, Kyushu Dental College)

The CDTs constitute a family of heat-labile toxins produced by several bacterial species. CDT is encoded by three genes, *cdtA*, *cdtB* and *cdtC*, and their products, CdtA, CdtB and CdtC, are responsible for the toxic activity. In this study, to investigate cytotoxic activity of CdtB, we tried to deliver CdtB protein alone into cancer cell. CdtB gene from *A. actinomycetemcomitans* was transformed into *E.coli* to induce the recombinant protein. CdtB protein extracted from *E.coli* transformant was delivered into Ca9-22 cells, human gingival squamous cell carcinoma, using BioPORTER™, and cytotoxic activity was assessed by MTT assay, flow cytometry and hoechst staining. We found that CdtB itself could induce G2 cell cycle arrest and apoptosis.

13. 第2世代ソフト電解水・AP水の安全性

○古賀裕紀子¹・大住 伴子¹・東 泉¹・黒木賀代子¹・陳 克恭²・佐加良英治³

¹九歯大・歯薬理, ²九歯大・保存1, ³九歯大・動物実験

第2世代ソフト電解水・AP水の口腔内適用における局所毒性ならびに全身毒性について、マウスを用いて観察し安全性評価を試みた。AP水は、マウスに給水瓶から飲水として7日間自由に摂取させた。対照群には飼育施設常用の飲水を与えた。その結果、一般症状、体重増加、摂餌量、剖検、臓器重量において異常は認められなかった。摂水量はAP水群で、対照群よりもわずかに減少傾向がみられたが、有意差はなかった。肝、腎、舌の病理組織学的観察、下顎臼歯の表面形態のSEMによる観察においても異常は見られなかった。以上のことから、AP水を含嗽、口腔内洗浄などに用いた際に、全身のあるいは局所的な毒性を発現する可能性は極めて低いことが示唆された。

Safety of second-generation soft electrolyzed water・AP water

Yukiko Koga¹, Tomoko Ohsumi¹, Sen Higashi¹, Kayoko Kuroki¹, Ker-Kong Chen² and Eiji Sagara³ (¹Department of Dental Pharmacology, ²Department of Operative Dentistry and ³Animal Research Center, Kyushu Dental College)

We examined local and systemic toxicity of second-generation soft electrolyzed water (AP water) for oral administration in mice. The animals were given AP water or tap water (as a control) from a tapped bottle for seven days ad libitum. In both groups' general signs, change in body weight, food consumption, autopsy, organ weight were normal. Water consumption in experimental group was slightly smaller than control group, although there was no statistical difference. Histopathological examination of liver, kidney and tongue, and observation of lower molars surface by SEM showed no particular change. The results indicate that the local and systemic toxicity of AP water is so slight that no possibility of adverse effect is found in use of a gargle and a mouthwash.

14. 電解中性水の歯科臨床への応用 第2報 歯科用バーの消毒

○峰岡 哲郎¹・田中 一成¹・永富 義幸¹・永松 有紀²・董 宏偉²
陳 克恭³・田島 清司²・柿川 宏²・小園 凱夫²

¹九歯大・学生, ²九歯大・歯理工, ³九歯大・保存1

高い殺菌効果を瞬時に示す電解酸性水は、歯科臨床で広く用いられるようになり、この数年の間には酸による金属腐食、塩素臭などを改善した電解中性水も開発された。本研究では、血液・唾液により汚染される歯科用バーについて、電解中性水による消毒効果と処理後の腐食挙動を調べて、強および弱電解酸性水と比較した。いずれの電解水もわずか1分間の超音波洗浄処理により歯科用バーに残存する菌は検出されなかった。24時間の電解中性水への浸漬試験の結果、スチールバーは茶褐色の腐食生成物を付着した全面腐食、カーバイドバーは刃先とシャンクの連結部位にわずかな局部腐食が認められたが、水道水に浸漬した場合と同程度であり、強および弱電解酸性水においてみられた著しい腐食に比べて軽度であった。

Application of electrolyzed water to dental practice. Part. 2 Sterilization of dental bur

Tetsuro Mineoka¹, Kazunari Tanaka¹, Yoshiyuki Nagatomi¹, Yuki Nagamatsu², Hongwei Dong², Ker-Kong Chen³, Kiyoshi Tajima², Hiroshi Kakigawa² and Yoshio Kozono² (¹Student, ²Department of Materials Science and ³Department of Operative Dentistry, Kyushu Dental College)

The application of electrolyzed acid water has been increasing for sterilization in clinical dentistry because of its excellent bactericidal activity. In the present study, the applicability of the electrolyzed neutral water, which was recently developed, to sterilization of dental bur was examined as compared with those of the electrolyzed strong and weak acid water. And corrosion tests were also carried out. When the ultrasonic cleaning action was added in the electrolyzed water, all the bur (steel and carbide burs) were sufficiently sterilized by only one-minute treatment. The electrolyzed neutral water was less corrosive than the strong and weak acid waters although the corrosion was found on the overall surface of the steel burs and a localized loss occurred at the blazed area between the blade and shank of the carbide burs.

15. 歯周病原性細菌感染細胞におけるアポトーシス誘導

○笠井 宏記¹・横田 誠¹・西原 達次²

¹九歯大・保存2, ²九歯大・微生物

マウスマクロファージ細胞 J774.1 に歯周病細菌である *A. actinomycetemcomitans* を感染させるとアポトーシスが引き起こされる。この事実は、歯周炎の発症と進行に深く関わっている可能性が高いが、その調節機構はいまだ解明されていない。そこで我々は、感染 J774.1 細胞のアポトーシス誘導における細胞内の様々なシグナル分子について解析を行った。その結果、感染 J774.1 細胞はフローサイトメトリー分析でアポトーシスを起こす以前に G1 期停止を起こすことが分かった。また、p53 の Ser15 のリン酸化が認められ、ミトコンドリアから細胞質内へのシトクロム c の放出や、Caspase-9 と Caspase-3 の活性化が検出された。*A. actinomycetemcomitans* に感染した J774.1 細胞は G1 期の停止を起こし、その後のアポトーシスに Caspase-9 を介した系が関与していることが明らかとなった。

Induction of apoptosis in macrophages infected with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Hironori Kasai¹, Makoto Yokota¹ and Tatsuji Nishihara² (¹Department of Periodontology and Endodontology and ²Department of Oral Microbiology, Kyushu Dental College)

We have previously reported that the periodontopathic bacterium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* infection induces apoptosis in the mouse macrophage cell line J774.1. In the present study, we examined the involvement of cytochrome c and caspases in the induction of apoptosis in *A. actinomycetemcomitans*-infected J774.1 cells. After J774.1 cells were infected with *A. actinomycetemcomitans*, the expression levels of cytochrome c, caspase-9 and caspase-3 were examined by immunoblot analysis. Cytochrome c was released from mitochondria into the cytoplasm, when *A. actinomycetemcomitans*-infected J774.1 cells were cultured for 6 h. Both caspase-9 and caspase-3 were found to be cleaved to active forms in J774.1 cells infected with *A. actinomycetemcomitans*. In addition, phosphorylated p53 was detected in J774.1 cells after 30 h of *A. actinomycetemcomitans* infection. These findings suggest that apoptosis in J774.1 cells infected with *A. actinomycetemcomitans* is regulated by cytochrome c released from mitochondria into cytoplasm and subsequent activation of caspases via p53 dependent pathway.

16. アポトーシス誘導細胞におけるニュークレオリンと AgNOR 蛋白の分解

○鬼頭 慎司¹・森本 泰宏¹・大庭 健¹・羽地 達次²

¹九歯大・歯放, ²徳島大・口解2

ニュークレオリンは硝酸銀で染色される AgNORs の主要構成蛋白のひとつである。今回我々はアポトーシス誘導細胞におけるニュークレオリンと AgNOR 蛋白の変化を調べた。オカダ酸によりアポトーシスを誘導されたヒト骨芽