

# 抄 録 集



**JAOB** JAPANESE ASSOCIATION FOR  
ORAL BIOLOGY since 1958

---

理事長講演(C1) .....	2
ロッテ基金特別講演(LSL1~3).....	3
歯科基礎医学会ライオン学術賞受賞講演(C2) .....	6
歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演(C3).....	7
メインシンポジウム(MS1~3) .....	9
日本学術会議シンポジウム(市民公開講座)(SCJS) .....	12
日韓合同シンポジウム(JKJS) .....	14
日本歯科理工学会共催シンポジウム(DMDS) .....	16
日本骨形態計測学会共催シンポジウム(BMS) .....	18
次世代研究者シンポジウム(NGRS) .....	19
先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム(ADS) .....	21
ランチョンセミナー(LS1~2) .....	23
アップデートシンポジウム(US1~15) .....	24
一般演題(口演)(01-PM, 03-AM, 03-PM) .....	60
モリタ優秀発表賞審査(ポスター)(MP1~2) .....	92
一般演題(ポスター)(P1~3) .....	141
Late Braking(ポスター)(LB2~3) .....	189

---

## ■理事長講演 (C1)

日時：9月5日(金) 12:50～13:10

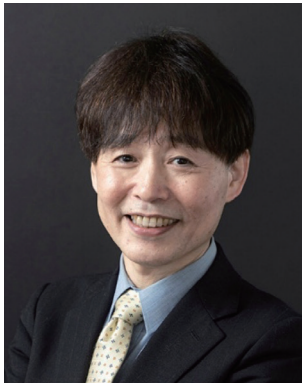
会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：竹内 弘(九歯大 口腔応用薬理)

## 「歯科基礎医学会の現状と展望」

大島 勇人(オオシマ ハヤト)

(歯科基礎医学会理事長、新潟大 院医歯 硬組織形態)



歯科基礎医学会は1959年に創立した歴史ある学会で、解剖学、生理学、生化学、薬理学、微生物学、病理学、臨床・再生医学の異なる分野から構成されていることが大きな特徴です。異なる学問分野の研究者が同時期に同じ場所に集まる学術大会は、参加した研究者に大きな刺激を与え、研究の大きな進展や共同研究の活性化を促進してきました。歯科基礎医学会は65年以上に渡り、オーラルバイオサイエンス研究の発展に大きく貢献し、さらに、若手研究者の登竜門として、多くの人材育成の場として機能してきました。本学会の機関誌Journal of Oral Biosciencesも大きく発展しました。2024年にはIF=2.6になり、Rank by Journal Impact FactorのDentistry, Oral Surgery & Medicine分野158誌中39位となりトップジャーナルQ1(トップ25%)の仲間入りを果たしました。私たちは、将来に向けて、学会を発展させて行く使命があります。他学会や臨床分野との連携等、従来の枠組みを打破して良い未来があるというビジョンを持てるかが重要です。29大学歯学部・歯科大学の基礎分野が一丸となって、オーラルバイオサイエンスの発展のために必要なミッション(使命・役割・存在意義)、バリュー(価値観)、ビジョン(到達点)を考え、会員の皆様と共有したいと考えます。本講演では、歯科基礎医学会の現状と展望について述べたいと思います。

## &lt;ご略歴&gt;

1987年 新潟大学歯学部卒業

1991年 新潟大学大学院歯学研究科修了(歯学博士)

1992年 新潟大学歯学部助手

1997年 新潟大学歯学部講師

1997年 ヘルシンキ大学留学

1998年 新潟大学歯学部助教授

2002年 新潟大学歯学部教授

歯科基礎医学会理事長、Journal of Oral Biosciences誌副編集委員長

日本解剖学会代議員、Anatomical Science International誌編集委員長

日本再生医療学会代議員、理事長補佐

日本歯科医学会評議員会副議長

新潟白菊会理事長

## ■ ロッテ基金特別講演 1 (LSL1)

日時：9月5日（金）14:30～15:40

会場：A会場（会議場1階 メインホール）

座長：竹内 弘（九歯大 口腔応用薬理）

### 「パレオゲノミクスによる人類集団の起源研究」

覚張 隆史（ガクハリ タカシ）

（金沢大学・人間社会研究域附属・古代文明・文化資源学研究所）



考古遺跡から出土する古人骨は、今日の人類集団の起源研究を進める上で、極めて重要な文化財である。古人骨中の古代DNA分子は微量かつ断片化が進んでおり、血液やFFPEサンプルなどの現代人試料と比較して、非常に劣化が進んでいる。さらに、温暖・湿潤地域においては、冷涼な地域と比較して、骨は土壌中で溶解しやすいため、DNAが骨から流れ、古代DNA分子自体が保存されていないことも多い。このため、古人骨からのゲノム配列取得は、2000年代までは温暖・湿潤地域の遺跡では不可能であると考えられてきた。私たちの研究チームは、2010年から古代DNA分析に着手し、当時は不可能とされていた温暖地域の遺跡出土人骨からのゲノム配列決定法の検討を進めてきた。

分析手法の検討によって古人骨由来のDNA分子の精製に成功し、2018年に世界で初めて縄文人の全ゲノムデータを公開した。この手法をさらに多くの古人骨に応用し、9000年前～3000年前の縄文人、弥生人、古墳人のゲノムデータの取得に成功した。これらのゲノムと現代日本人ゲノムとの比較解析から、日本列島人の起源に関するモデル「3重構造モデル」の提案を行った。今では世界各地の遺跡出土人骨からゲノムデータを取得し、それぞれの人類集団の起源研究を展開してきた。

本発表では古代ゲノム研究の手法開発の概説とともに、これまで進めてきた世界の人類集団の起源研究を紹介する。さらに、近年注目を集めている古代人の疾病や感染症のゲノム研究について、私たちの研究チームが現在進めている研究例を紹介しつつ、その研究意義について解説する。

#### <ご略歴>

- 2007年 東京農業大学 農学部 卒業
- 2009年 東京大学 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 修士課程修了
- 2012年 同上 博士課程単位取得退学
- 2012年 東京大学 総合研究博物館 日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 2013年 北里大学 医学部 日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 2015年 金沢大学 古代文明・文化資源学研究所 センター 特任助教
- 2024年 金沢大学 古代文明・文化資源学研究所 准教授
- 博士（生命科学） 東京大学

## ■ ロッテ基金特別講演 2 (LSL2)

日時：9月6日(土) 10:50～12:00

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：竹内 弘(九歯大 口腔応用薬理)

## 「遺伝統計学による疾患病態解明とゲノム個別化医療」

岡田 随象(オカダ ユキノリ)

(東京大学大学院医学系研究科 遺伝情報学)



遺伝統計学は、遺伝情報と形質情報の因果関係を統計学の観点から研究する学問分野である。ゲノム解析技術の著しい発達により、膨大なデータが得られる時代が到来した一方、大容量の多層的オミクスデータを横断的に解釈し、社会還元するための学問へのニーズが高まっている。我々は、大規模ヒト疾患ゲノム解析により同定された数多くの疾患感受性遺伝子の情報を、多彩な生物学・医学分野における多層的オミクス情報と統合することで、疾患病態の解明や、ゲノム創薬に貢献することを明らかにしてきた。ヒト疾患の多くにおいては、個人の遺伝的背景が疾患発症に関与することが知られており、大規模疾患ゲノム研究を通じた遺伝的背景や疾患病態の解明研究が進められてきた。特に近年ではシングルセル解析技術により一細胞レベルのオミクス情報と疾患ゲノム情報との統合解析が急速な発展を見せている。一細胞レベルでの遺伝子動態の観測に加え、細胞分化軌道推定や細胞間相互作用、一細胞eQTL解析、疾患ゲノム解析結果の投影など、シングルセルデータに対する応用解析技術が急速な発展を見せてきた。微生物叢メタゲノム、メタボローム、プロテオームといった個体レベルでのオミクス情報と疾患の関わりを明らかにし、ゲノムワイド関連解析など大規模疾患ゲノム情報と統合することで、個別化医療への貢献が期待されている。本講演では、「遺伝統計学・夏の学校」など若手人材育成も含めた、私達の取り組みをご紹介させて頂きたい。

## &lt;ご略歴&gt;

- 2005年 東京大学 医学部医学科 卒業
- 2007年 東京大学医学部附属病院 初期研修プログラム
- 2010年 日本学術振興会 特別研究員
- 2011年 東京大学大学院医学系研究科 博士(医学) 取得
- 2012年 日本学術振興会 海外特別研究員
- 2012年 Research Fellow, Harvard Medical School & Broad Institute
- 2013年 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 テニユアトラック講師
- 2016年 大阪大学 大学院医学系研究科 教授
- 2021年 理化学研究所 生命医科学研究センター チームリーダー
- 2022年 東京大学 大学院医学系研究科 教授

## ■ ロッテ基金特別講演 3 (LSL3)

日時：9月7日(日) 10:50～12:00

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：竹内 弘(九歯大 口腔応用薬理)

## 「眠りの科学」

櫻井 武(サクライ タケシ)

(筑波大学・医学医療系 / 国際統合睡眠医科学研究機構)



睡眠は、単なる休息ではなく、脳の情報処理や機能のメンテナンス、記憶の固定化、心身のリフレッシュメントを担う能動的な生理現象です。覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠といった異なる睡眠ステージでは、脳の活動様式が大きく変化し、これらのステージは周期的に交替します。本講演では、睡眠中の脳で何が起きているのか、また睡眠障害を手がかりとして睡眠の機能を解き明かし、さらに睡眠・覚醒の制御に関わる神経回路や脳内物質について概説します。なかでも、私たちが発見した神経ペプチド「オレキシン」は、覚醒維持に深く関与しており、視床下部外側野を中心に局在するオレキシン産生ニューロンによって作られます。これらのニューロンが脱落するとナルコレプシー様の症状が生じることから、オレキシンは覚醒の安定化に重要な役割を果たしていると考えられます。オレキシンニューロンは脳幹のモノアミン作動性やコリン作動性神経核に広く投射し、視床下部に集約された情動やエネルギー代謝などの情報をもとに、睡眠・覚醒状態を精緻に調整しています。また、遺伝子改変マウスやウィルスベクターを用いた解析により、これらのニューロンが大脳辺縁系や視床下部の複数の領域から入力を受けていることが明らかとなり、覚醒が必要とされる情動的状況やストレス下で活性化されることが示唆されています。時間が許せば、冬眠様状態を誘導する神経細胞群についても紹介したいと考えています。

## &lt;ご略歴&gt;

- 1989年 筑波大学 医学専門学群 卒業
- 1993年 筑波大学 博士(医学) 取得
- 1993年 筑波大学 基礎医学系 講師
- 1995年 テキサス大学 Howard Hughes Medical Institute (HHMI) 研究員
- 1997年 筑波大学 基礎医学系 講師 1999年 同 助教授
- 2004年 筑波大学 大学院人間総合科学研究科 助教授 2007年 同 准教授
- 2007年 金沢大学 大学院医学系研究科 分子神経科学・統合生理学 教授
- 2008年 金沢大学 医薬保健研究域医学系・脳医科学専攻・分子神経科学・統合生理学分野 教授
- 2014年 金沢大学 脳肝インターフェイスメディスン研究センター長 兼任
- 2016年 筑波大学 医学医療系 教授 国際統合睡眠医科学研究機構 教授・副機構長

■歯科基礎医学会ライオン学術受賞講演 (C2)

---

日時：9月6日(土) 13:30～14:00

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：大島 勇人(歯科基礎医学会理事長、新潟大 院医歯 硬組織形態)

「2025年度(第25回)歯科基礎医学会ライオン学術賞」

---

13:30～13:55

C2 「幹細胞を基軸とした唾液腺再生医療の開発」

田中 準一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 昭医大 院歯 口腔病態診断 口腔病理)

頭頸部癌の放射線治療後の副作用や、シェーグレン症候群による唾液腺組織障害は口腔乾燥症を引き起こし、QOLの著しい低下を引き起こす。現在の口腔乾燥症への対応は、人工唾液の使用や副交感神経刺激薬の投与などの対症療法に留まっており、根治療法としての細胞治療開発が望まれている。これまで、我々の研究グループは、ES細胞iPS細胞などの多能性幹細胞からの唾液腺組織の作出に取り組んできた。マウス唾液腺発生過程の解析結果より、発生過程を模倣することでマウスES細胞より唾液腺オルガノイドを分化誘導し、さらにその誘導法を改変することでヒトiPS細胞からも唾液腺オルガノイドが作出できることが明らか

となった。ヒトiPS細胞由来の唾液腺オルガノイドは組織学的にも機能的にも胎生期唾液腺を高度に模倣しており、免疫不全マウスへの移植実験ではマウス唾液腺をヒト唾液腺オルガノイドに置換できることが示された。また、より機能的な多能性幹細胞由来の唾液腺組織の作出を目指し、胚盤胞補完法によりマウス体内でiPS細胞由来唾液腺組織を発生可能であることも明らかにした。

本講演では、これまでの多能性幹細胞由来唾液腺オルガノイドの開発経緯とともに、現在取り組んでいる臨床応用に向けての誘導法の改変や唾液腺オルガノイドの応用可能性についても紹介する。

---

13:55～14:00

ライオン学術賞表彰式 大島 勇人(歯科基礎医学会 理事長)

## ■ 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (C3)

日時：9月6日(土) 14:00～14:50

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：大島 勇人(歯科基礎医学会理事長、新潟大 院医歯 硬組織形態)

## 「2025年度(第36回)歯科基礎医学会学会奨励賞」

14:00～14:15

## C3-1 「歯垢細菌DNAによる抗菌ペプチドLL-37の不活化機構と自然免疫応答の誘導」

田邊 元<sup>1,2</sup>

(1 朝日大 歯 口腔微生物、2 明海大 歯 スポーツ歯学)

歯垢は口腔内で形成される多菌性バイオフィルムであり、菌体と細胞外マトリックス(ECM)により構成されている。歯垢は唾液や歯肉溝滲出液中に存在する多数の抗菌因子に曝されるが、その形成は継続的に進行する。そのため、歯垢による抗菌因子の不活化機構や抵抗性の獲得があるものと考えられるが、その機構はほとんど明らかにされていない。

本研究では、抗菌ペプチドLL-37に着目して解析を進めたところ、LL-37は歯垢細菌の死菌から放出されるDNAと急速に結合し、歯垢ECM中に取り込まれている可能性を見出した。LL-37はDNAと結合することで抗菌活性を失い、また歯垢細菌DNAはLL-37と結合することで不溶性となり、DNase耐性を獲得するようになる。このLL-37と歯垢細菌DNAの複合体は、Toll様受容体9

による認識を受ける他、DNAのみでは認識されるはずのない細胞質受容体NLRP3でも認識を受けるようになり、単球細胞においてインフラマソームを活性化して炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ の産生を誘導する。LL-37と歯垢細菌DNAの複合体は歯垢検体において普遍的にみとめられ、興味深いことに、複合体の歯垢中蓄積量が多いほど、歯垢検体におけるIL-1 $\beta$ の検出量が多くなる。

従って、歯垢に蓄積したLL-37と歯垢細菌DNAの複合体は為害作用を有し、歯周組織の炎症を誘発する病原因子となる可能性が示唆される。また、この複合体を標的とした新たなプラークコントロール法の開発に繋がることも期待される。

14:15～14:30

## C3-2 「外分泌腺腺房におけるCdc42の欠損は、唾液分泌不全を呈するが涙液分泌の増加をもたらす」

長瀬 春奈<sup>1</sup>

(1 朝日大 歯 薬理)

Rhoファミリー small GTPaseの一種であるCdc42は、細胞周期や形態、極性など多様な機能に関与する。しかし、Cdc42の外分泌腺における機能的役割、特に腺房の維持や水分分泌に関する役割は不明な点が多い。

本研究は、腺房細胞特異的Cdc42ノックアウト(Cdc42 cK0)マウスを作製し、唾液腺および涙腺の水分分泌におけるCdc42の役割を評価した。実験の結果、Cdc42欠損により両腺で腺房細胞のアポトーシスの増加と組織重量の減少を認めた。また、両腺において腺腔構造は短く膨化した形態に変化した。次にムスカリン受容体アゴニストであるピロカルピン刺激で誘発される唾液・涙液の分泌量を解析したところ、興味深いことに、唾液量は減少し、涙液量は増加した。水チャネル

AQP5のタンパク質発現量は水分分泌の結果と一致して、Cdc42欠損により唾液腺で増加し、涙腺で減少した。さらに、免疫染色によりAQP5の局在と蛍光強度を解析した。Cdc42 cK0未誘導マウスにおいて、AQP5は耳下腺では腺房に、涙腺では腺房および導管に局在した。一方、Cdc42欠損後には、耳下腺の残存腺房でAQP5の発現が減少したのに対し、涙腺の残存腺房では増加が認められた。

以上から、Cdc42は腺房細胞の腺腔側膜上のAQP5の発現量を涙腺では負に、唾液腺では正に制御することにより、両腺の分泌機能制御において相反する役割を担うことが明らかとなった。

14:30 ~ 14:45

## C3-3 「口腔機能低下と神経変性疾患をつなぐ分子機構：歯根膜由来 Wnt5a による末梢神経維持経路の同定」

高橋 かおり<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 東北大 院歯 歯科薬理)

口腔機能低下と認知障害の関連は多くのコホート研究で報告されているが、その分子機構は未解明である。歯根膜 (PDL) はルフィニ終末を介し圧力を感知している。ルフィニ終末は機械刺激がなければ形成されず、終末の形成・維持に機械刺激が不可欠と考えられ、機械刺激の神経への直接作用に加え、刺激を受けた周囲組織が産生する因子による間接作用の関与が考えられる。本研究では後者の存在を検証し、作用機構を解明するため、ラットPDL由来初代培養細胞に周期的機械刺激 (0.5 Hz, 15%伸展) を負荷し、培養上清の神経突起への影響を三叉神経節 (TG) 細胞を用いて解析した。その結果、機械刺激負荷rPDL培養上清は、TG細胞の神経突起伸長、発芽、分枝を有意に促進した。rPDL細胞

はNGF、BDNF、NT-4、Wnt5aを発現していたが、qPCR及びELISAにより、機械刺激によりCa<sup>2+</sup>依存的にWnt5aのみが発現・分泌ともに有意に増加することが示された。更に、Wnt5a発現の亢進とAkt・ERK1/2のリン酸化は、PI3K阻害剤、MEK1/2阻害剤、FAK阻害剤で有意に抑制された。また、TG細胞の神経突起形成は、抗Wnt5a抗体、抗Ryk抗体、Ror1阻害剤で有意に抑制された。以上より、PDL細胞は機械刺激に応答してPI3K/Akt及びERK1/2経路を介しWnt5aを産生・分泌し、それが神経突起分化を促進することが判明した。歯根膜は神経機能の維持に関与する生理活性組織であり、Wnt5aシグナルは末梢神経障害や変性の抑制、神経再生の促進に寄与する治療標的となることが示唆された。

14:45 ~ 14:50

学会奨励賞表彰式 大島 勇人 (歯科基礎医学学会 理事長)

## ■メインシンポジウム 1 (MS1)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：古株 彰一郎(九歯大 分子情報生)

溝口 利英(東歯大 口腔科学研究セ)

### 「歯科基礎医学の真の国際化を目指す」

9:00～9:45

#### MS1-1 「歯学系学会のグローバル化のための戦略 Strategy for globalization of dental academic societies」

今里 聡<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>IADR 会長、<sup>2</sup> 阪大 院歯 歯科理工)

学術団体である学会には、会員数の増加、サイエンスレベルの向上、若手研究者の躍進などさまざまな側面での発展が重要であるが、インターネットやSNSの飛躍的な普及を通じて世界の国々の距離がこれだけ近くなった現在、日本国内の歯学系学会でも、どのようにしてグローバル化を進めるかが折に触れて議論されるようになってきた。そもそも学問に国境はないわけであるから、言葉の障壁さえクリアすればグローバル化は比較的簡単に実現しそうなものである。しかし、見かけ倒しでない実質的な国際的発展を目指すうえで、学会とそれを構成する会員が明確な意思を持ってグローバル化に取り組む必要がある。

学会のグローバル化には、「サイエンスレベルが同

分野の他国の学会と肩を並べる、あるいはより上位に位置付けられる」「同分野の他国の研究者が会員になりたい、あるいは学術大会に参加したいと思う」「会員が研究者として国際的に認知される、また国際舞台で活躍している」などの要素が挙げられる。演者は、大変光栄なことにIADR (International Association for Dental, Oral, and Craniofacial Research: 国際歯科研究学会) の会長を2024年3月から拝命し、この規模の大きな国際学会の運営や企画の立案に関わってきた。本講演では、演者のこれまでの経験やIADRの実態をもとに、「各会員の研究者としてのグローバル化」と「組織としてのグローバル化」の2つの観点から、学会のグローバル化戦略について考えてみたい。

9:45～10:30

#### MS1-2 「Role of RNA modifications in skeletal homeostasis」

Quan Yuan<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University)

Bone is an organ that is continuously undergoing dynamic changes. The maintenance of skeletal homeostasis relies on the coordinated balance between bone formation and bone resorption, a process that not only requires the cross-talk of multiple signaling pathways within cells but is also regulated by the local microenvironment and epigenetics. This presentation focuses on the role and mechanisms of RNA modifications in osteogenesis, specifically including: elucidating

the regulation of limb and craniofacial tissue development by METTL3-mediated mRNA m6A modification, the imbalance of osteogenic-adipogenic differentiation in skeletal stem cells caused by Mettl3 deficiency, and abnormal development of the temporomandibular joint; discovering that METTL1/WDR4-mediated tRNA m7G modification reshapes cellular metabolism by affecting the Rho GTPase pathway, thereby maintaining limb development.

## ■メインシンポジウム 2 (MS2)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：山崎 亮太(九歯大 感染分子生物)

### 「工学的視点に立った微生物研究の新展開」

15:00～15:45

#### MS2-1 「低張浸透圧殺菌法：バイオフィーム感染制御への新展開」

岡本 章玄<sup>1</sup>、Emran Mohammad<sup>1</sup>、柿花 隆昭<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 物材機構 高分子・バイオ材料研究センター)

薬剤耐性菌の拡大により、医療機器やインプラント関連の感染、とりわけバイオフィームの除去は世界的課題となっている。本研究では、細胞外電子移動(extracellular electron transfer, EET)という、細菌が自身の代謝で生じた電子を細胞外へ運ぶ能力に着目することで、バイオフィーム除去に適した新しい殺菌原理を見出した。EETはこれまで主に環境中の鉄還元菌などで知られていたが、我々の近年の研究により、病原性細菌にもこの能力が広く存在し、バイオフィーム内での代謝を駆動することや、薬剤耐性との関連性も明らかになっている。本研究では、こうした電気的特性に着目し、外部からの電氣的刺激により菌体の

イオンバランスを変化させて殺菌を行う新しい技術を開発した。この手法は従来の電気化学殺菌である高電圧による活性酸素種の生成とは異なり、低電位で作動し、導電・非導電問わず複雑形状に付着するバイオフィームへの利用可能、かつ耐性誘導のリスクがない。現在、我々は整形外科用インプラント感染分野でスタートアップの創設をJST D-Globalの支援の元に進めており、再感染リスクを激減させるバイオフィーム殺菌技術の革新を目指している。講演では、基礎メカニズム、*in vitro*実証、整形スタートアップ領域における競合技術(熱、pH、抗生物質殺菌など)との比較、事業展開のロードマップについて紹介する。

15:45～16:30

#### MS2-2 「複合微生物工学のこれから—微生物間相互作用の制御の効果—」

前田 憲成<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 九工大 院生命体 環境共生)

純粋培養を中核とした単一系微生物の研究が長く細菌学を支えてきたが、近年次世代シーケンサー技術の登場により、環境中に存在している微生物群をそのまま解析する研究が進展している。実際に、口腔内をはじめ様々な環境中には、様々な微生物が存在していることから、これらの複合微生物の働きを理解して工学的に活用する「複合微生物工学」の重要度が増している。

演者の研究室では、下水汚泥の嫌気性消化を題材として、メタン生成に関わる微生物群の相互作用に着眼した研究を進めてきた。具体的には、微生物群の相互作用を変化させる抗生物質や金属塩、細菌間のコミュニケーションツールであるクォラムセンシングに対する阻害剤などを添加した系で、嫌気性消化を行い、

メタン生成にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするという研究を進めてきた。

本演題では、抗生物質であるアジスロマイシン、金属塩であるタングステン酸ナトリウムを添加した系でメタン生成が向上すること、クォラムセンシング分子であるアシルホモセリンラクトン(AHL)を不活性化する酵素、AHLラクトナーゼを添加した系でメタン生成が抑制されることに関する成果を紹介する。また、九州歯科大学との共同研究で行っている、歯周病原菌である*Porphyromonas gingivalis*および*Treponema denticola*の培養におけるクォラムセンシングの関わりに関する最新のデータを紹介し、未来の抗歯周病治療法を提案する。

## ■メインシンポジウム 3 (MS3)

日時：9月7日(日) 13:30～15:00

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：佐藤 毅(九歯大 歯科衛生士育成)

臼井 通彦(九歯大 歯周)

### 「臨床・再生医学から見た歯科基礎医学の新たな可能性」

13:30～14:15

#### MS3-1 「健康長寿」への挑戦：老化に立ち向かう最前線

阪井 丘芳<sup>1</sup>、酒井 学<sup>2</sup>、村上 真宙<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>阪大 院歯 顎治、<sup>2</sup>天理大 医療 検査)

「不老長寿」は人類が古代から追い求めてきた夢です。現代では、老化を抑えて健康寿命を延ばす「抗加齢」研究が急速に進展しています。世界の研究機関や企業がこの分野に参入し、米国では筋力や認知機能の回復を競う1億ドル規模のXPRIZEが開催されるなど、注目が高まっています。民間からの投資も活発で、2031年には市場規模が6兆円を超えると予測されています。「抗加齢」は、「がん」「神経」「再生医療」「ゲノム」「人工知能」に続く新たな研究の柱とされています。

特に日本のような超高齢社会では、平均寿命と健康寿命の差をどう縮めるかが大きな課題です。その鍵を握るのが、老化に伴う疾患の予防です。たとえば、老

化に強いハダカデバネズミの研究、老化細胞を除去するワクチン、抗老化物質NMNの活用、さらには細胞を若返らせる「リプログラミング」などが期待されています。

一方で、老化研究はまだ発展段階にあり、安全性や有効性の検証、治療を公平に提供するための社会制度づくりも課題です。私自身もCOVID-19のパンデミックを機に、基礎と臨床をつなぐトランスレーショナルリサーチに踏み出しました。歯科・口腔領域においても「抗加齢」への取り組みが求められており、再生医療や臨床応用の視点から、歯科基礎医学全体への貢献を模索していきたいと考えています。

14:15～15:00

#### MS3-2 「臨床疾患から見た歯の発生と再生」

福本 敏<sup>1</sup>、千葉 雄太<sup>2</sup>、吉崎 恵悟<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 小児口腔、<sup>2</sup>東北大 院歯 小児歯、<sup>3</sup>九大 院歯 矯正)

さまざまな遺伝性疾患のうち、歯に表現系の認められる疾患は全体の約25%程度と言われている。また2015年より始まった未診断イニシアチブ(IRUD)により、診断のついていない小児の患者さんに対して遺伝学的解析結果等を含めた総合的な診断を提供する体制の構築がなされてきた。このようなアプローチは、遺伝性疾患の発症機序の理解に大きく貢献してきた。

一方で、動物モデル等を用いた歯の発生研究においては、歯を構成する細胞の時空間的な遺伝子発現の全容が明らかとなってきた。特にシングルセル解析や次世代シーケンサーを用いた研究手法の開発は、これら研究を加速度的に進展させることに貢献してきた。しかしながら未だに歯の形態形成がどのように行われ、人において個々に異なる歯がどのようにして顎骨

内に正確に配列するのは不明である。また近年急増しているMolar-incisor hypomineralization (MIH)のような新たな歯の形成異常も出現し、遺伝的な要因のみならず環境要因の変化も歯の形成に大きく影響してくることが明らかとなってきた。

小児歯科臨床の現場においては、すでに疾患の原因遺伝子が同定された状況で受診されることも多くなり、これまで歯の表現系が明らかとなっていない遺伝子変異により、新たな歯の形成異常を見出すこともある。本シンポジウムでは、このような情報を統合し、これまでの歯の発生研究で積み上げられた情報と照らし合わせることで、人疾患の発症の理解と、これら知見を用いた歯の再生研究の展開について紹介する。

## ■日本学術会議シンポジウム（市民公開講座）（SCJS）

日時：9月5日（金）17:40～19:10

会場：A会場（会議場1階 メインホール）

座長：塙 隆夫（阪大 院工、神戸大 院医）

松本 卓也（岡大 院医歯薬 生体材料）

## 「マテリアルとライフの融合サイエンス」

17:40～17:45

オープニングリマークス 樋田 京子（北大 院歯 血管生物）

17:45～17:50

SCJS-1 「オーバービュー」

塙 隆夫<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup> 阪大 院工、<sup>2</sup> 神戸大 院医）

歯科医療には、歯周組織の再建・再生のために多くのマテリアルが使用される。これらのマテリアルはマテリアルサイエンスのみならず、ライフサイエンスに基づき研究開発する必要がある。マテリアルの生体適合性と生体機能性（組織形成能、抗菌性など）は、材料表面と生物相間の界面反応の結果として発現する。すなわち、マテリアルの性能を支配する生体適合性や

生体機能性は、マテリアル自体の表面と生体組織との物理化学・生化学反応によって支配される。本シンポジウムでは、これら一連の学術研究を「マテリアルとライフの融合サイエンス」と定義し、ライフサイエンスを歯科医療におけるマテリアル・医療機器の研究開発に役立てる方策について討論し、今後の学術研究戦略を展望する。

17:50～18:15

SCJS-2 「骨代謝に倣った新規生体材料開発」

松本 卓也<sup>1</sup>（<sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 生体材料）

骨組織は時間的にも空間的にもダイナミックな生体組織である。細胞数や増殖、分化、タンパク質産生等々、細胞成長、機能変化はもちろんのこと、器質的には、骨形成、成長にともなう有機質産生、組織化、無機核形成と結晶成長、老化にともなう脱水、架橋形成、硬化、劣化、破壊、また、リモデリングにともなう無機/有機の分解と再形成、安定化、などの動的変化がある。さらに、この器質機能、物性の四次元的変化はナノ、マイクロ、マクロとサイズスケールを超えて観察した場合、多階層でのパターンニングが認められる。我々はこのような材料学的視点を硬組織発生、成長、老化に取り入れ、階層横断的に理解する取り組み

を進めている (Material-based Biology)。例えば、これまでに周囲堅さ変化にともなう骨基質形成促進や軟骨組織の分解、吸収促進などを発見し、そのメカニズムについての検討を進めている。一方で、骨組織が示す器質変化に着目し、その生命科学的変化を時間空間的にトレースすることで、新たな無機/有機材料のデザインにつながると考え、新たな材料開発を進めている (Biology-based Materials)。本シンポジウムではこれまでに我々が進めてきた骨形成、成長、老化を材料学的視点検討した研究と、それら研究に基づき開発した医療関連材料について、最新の知見も含めて議論させて頂きたい。

18:15 ~ 18:40

## SCJS-3 「骨質再建のための材料表面 / 生物相界面反応理解とその人為的制御」

松垣 あいら<sup>1</sup>、中野 貴由<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 阪大 院工 マテリアル生産科学)

骨組織中のコラーゲンとアパタイトは、骨部位に応じた異方性構造を示し、その配向化度合いは、疾患、再生、遺伝子変異といった多様な生理的・病理的要因に応答して変化する。骨配向性は従来の骨密度や他の骨質指標に加えて、材料学的視点からの重要な骨診断・評価指標と言える。近年では、非侵襲的な計測手法も確立されつつあり、骨配向性を活用した骨再建医療、疾患治療や創薬支援への応用が期待される。骨配向性は、*in vivo*応力、骨代謝回転、骨系細胞挙動に極めて敏感であり、分子・遺伝子レベルでの配向化機構やその制御因子の解明も進んできた。

骨組織に内在する配向化機構を誘導・活性化し、骨配向性の早期再建を実現するため、人工材料表面/生体組織（生物相）界面反応を活用した細胞機能制御に

取り組んでいる。たとえば材料表面への異方性微細構造の導入は、骨芽細胞の規則化配列をもたらし、アパタイトが優先配向化した再生骨を短期間で形成する。こうした細胞制御方法論の確立、さらにはその制御機序の解明は、骨配向性を積極的に促進し早期の骨再建を実現可能な歯科・整形外科領域での骨バイオマテリアルの基本概念確立へとつながった。加えて最近の発見により、金属積層造形法をはじめとする先端材料工学を活用することで、細胞分化運命の人為操作をも可能であり、骨再生医療における次世代の骨医療デバイス創製とさらなる高機能化が期待される。本講演では、材料工学の視点から骨質医療の実現に向けた最新の取り組みについて紹介する。

18:40 ~ 19:05

## SCJS-4 「バイオミネラリゼーションに基づく歯質・歯周組織再生材料の構築」

大矢根 綾子<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 産総研 材料基盤研究部門)

ヒト歯質のバイオミネラルは主にアパタイトであり、アパタイトに対して過飽和な体液中で合成される（バイオミネラリゼーション）。体液と同様、アパタイトに対して過飽和なリン酸カルシウム水溶液（過飽和溶液）を用いることで、各種人工材料の表面にアパタイトを低温成膜することができる。この成膜技術は、体液環境に類似した温和な反応環境を特徴とし、析出するアパタイト薄膜は生体吸収性を示す。また、過飽和溶液に様々な機能性成分（タンパク質、核酸、抗菌剤など）を添加することで、これらの成分を複合化したアパタイトを成膜することもできる。演者らは、上記のバイオミネラリゼーションに基づく成膜技術を利用し、高機能な歯周組織再生材料を創製してきた。さ

らに近年、過飽和溶液中でのアパタイト析出反応をレーザー光で加速する技術を開発し、成膜時間の大幅な短縮にも成功した。本技術によれば、人工材料だけでなく歯面の標的域にも直接、機能性成分を複合化したアパタイトを迅速成膜できる。例えば、抗菌作用と歯質強化作用の期待されるフッ素を過飽和溶液に添加し、同溶液中で歯基材の表面にレーザー光を30秒～30分照射すると、照射面にフッ素置換アパタイトを成膜できる。析出膜は、エナメル質に類似したナノ構造をもち、抗菌性を発揮することから、歯面の保護・改質剤としての応用が期待される。本講演では、これらの技術に関する最近の成果を紹介する。

19:05 ~ 19:10

クロージングリマークス 石丸 直澄（科学大・院医歯 口腔病理）

---

**■日韓合同シンポジウム (JKJS)**


---

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：後藤 哲哉(鹿大院医歯 機能形態)

---

**「Novel diagnostic approaches to periodontal disease focusing on oral microflora and immune responses」**


---

15:00～15:30

**JKJS-1 「Single-Cell Transcriptomic Insights into the Immunopathogenesis of Aggressive Periodontitis」**Jin Man Kim<sup>1</sup>

(1Dept Oral Microbiol and Immunol, Seoul Natl Univ Sch Dent)

Aggressive periodontitis (AP, Grade C periodontitis) represents the most severe phenotype, characterized by rapid alveolar bone destruction and tooth loss, significantly affecting patients' quality of life. Despite its severity, the precise mechanisms underlying the immunopathogenesis of the disease remain unclear. To gain mechanistic insight into pathophysiology of AP, single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) was performed on gingival tissues from healthy individuals and patients with chronic or aggressive periodontitis. We successfully constructed an integrative single-cell atlas of human gingival tissue, comprising 79,829 cells from 15 individuals. Iterative clustering

identified a unique cluster of B cells in the AP group, characterized by dominant expression of ID3, a key suppressor of plasma cell development. This finding was demonstrated by the observation of impaired antibody class switching in AP patients. Retrospective cohort analysis revealed that IgM levels in GCF were strongly associated with the Grade (progression rate) and Stage (severity) classification. Notably, secreted IgM exhibited autoreactivity to gingival tissues, suggesting a potential autoimmune mechanism underlying AP. These findings uncover distinct immune profiles at high resolution, offering new insights into the immunopathogenic mechanisms of AP.

---

15:30～16:00

**JKJS-2 「Development and application of a novel trypsin-like peptidase activity assay kit」**Michihiko Usui<sup>1</sup>

(1Div Periodontol, Kyushu Dent Univ)

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease caused by periodontal bacteria that induces the production of several inflammatory mediators. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola*, which are obligatory anaerobic oral bacteria known as 'Red Complex' have been reported to be associated with pathogenesis and progression of periodontal disease. These bacteria also produce trypsin-like peptidase (TLP). Recently, a novel TLP activity assay kit (TLP-AA kit), ADCHECK®,

was developed. This kit is also a rapid and reliable chair-side diagnostic test, which can be performed in approximately 13 min and can provide information about the presence of TLP in samples. The accuracy of the test kit for the presence of red complex pathogens determined by real-time PCR was 92%. We examined the effectiveness of a novel TLP-AA kit in detecting severe periodontitis in a study with an adequate sample size. Multivariable logistic regression analyses revealed that the results of the test

kit were significantly associated with severe periodontitis. Furthermore, tongue swab TLP activity by a novel TLP-AA kit was significantly associated with reduced kidney function

(decreased estimated glomerular filtration rate). A TLP-AA kit might be a useful tool in health screening.

---

16:00 ~ 16:30

JKJS-3 「Structure and dynamics of oral indigenous microbiota in healthy individuals」

Toru Takeshita<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Fac Dent Sci, Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ)

The oral cavity is densely populated with diverse commensal microorganisms, and several of these taxa have been identified as etiologic agents of two major oral diseases: dental caries and periodontitis. However, recent studies using DNA-based open-ended approaches have suggested that the other indigenous members could also be associated with the diseases. These diseases are now assumed to be triggered by a dysbiotic composition of the overall microbiota, rather than the presence of specific pathogens.

To identify a 'healthy' oral microbiota that could be targeted for oral health promotion, we have conducted molecular epidemiological studies, including a large population-based

study of oral indigenous microbiota in saliva of community-dwelling adults. The microbiota of individuals with healthy oral conditions was characterized by a higher predominance of several indigenous taxa such as *Neisseria flavescens* and *Haemophilus parainfluenzae*. Longitudinal observations suggest that the microbiota composition remains relatively stable during middle age, but often undergoes dysbiotic shift during old age. In this presentation, I will introduce the results of our epidemiological studies on the structure and dynamics of the oral indigenous microbiota associated with a healthy oral cavity.

## ■日本歯科理工学会共催シンポジウム (DMDS)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：池田 弘(九歯大 生体材料)

土谷 享(北九大 環境技術研究所)

## 「再生医療における先端材料と組織工学」

16:00～

オーバービュー 座長

16:00～16:30

## DMDS-1 「足場材料設計による高次組織・臓器培養」

堺 裕輔<sup>1</sup>、井嶋 博之<sup>1</sup><sup>1</sup>九大 院工 化学工学

Tissue Engineering (Vacanti JP, *et al.*, Science, 1993) が提唱されて30年以上が経ち、様々な技術が臨床応用されてきた。一方、立体臓器の培養は、未だ発展途上である。立体的な組織・臓器を形作るためには、細胞と足場、増殖因子等の組み合わせが重要である。細胞間、及び細胞-細胞外マトリックス (ECM) 間相互作用は、立体構造や細胞極性の維持に寄与すると共に、増殖因子やサイトカインの分泌を促す。さらに、血管等の微小管組織は、分泌組織の生存、極性、立体組織化に関与し、組織・臓器を作製する鍵である。本講演では、肝臓をメインピックとして、細胞周囲の微小環境設計による高次組織・臓器培養について報告する。

足場設計やサイトカイン供給アプローチ、代謝産物

を除去する戦略に焦点を当て、臓器モデルを創造する。足場設計による球状細胞組織 (スフェロイド) の形成や血管網を有するヒト肝臓の構築は、これまで困難であった肝細胞の機能維持や立体組織化に大いに貢献した (Sakai Y, *et al.*, Biomaterials, 2015)。一方、代謝物質排泄経路である肝内胆管の喪失は、胆汁うっ滞による肝機能低下が懸念される。そこで、肝細胞と培養胆管からなる複合組織を作製し (Huang Y, Sakai Y, *et al.*, Biotechnol Bioeng, 2021)、肝機能の長期維持と肝トランスポーター発現の正常化を実現した。微小管組織と分泌組織を複合した臓器モデルは、薬物スクリーニングや肝疾患治療のための臓器モデルとして期待され、他の組織・臓器にも発展する可能性を秘めている。

16:30～17:00

## DMDS-2 「バイオセラミックスのマルチパラメータ制御による機能向上と新機能発現」

林 幸吉朗<sup>1</sup><sup>1</sup>九大 院歯 生体材料

私は、セラミックス、金属、ポリマー材料におけるマクロ・マイクロ・ナノ各スケールのマルチスケール構造、ならびに表面性状、形状、組成が生体組織の形成や機能発現に及ぼす影響を明らかにし、これらの因子を統合的に制御することにより、組織修復能を飛躍的に高めるとともに、従来材料にはなかった新たな生体機能の発現に取り組んできた。

これまでに、さまざまなマクロ構造を有する炭酸アパタイト材料を開発し、それぞれに興味深い特性があることを見出している。本講演では、炭酸アパタイトのマクロ・マイクロ・ナノ各スケール構造が生体組織

再生に与える役割および効果について紹介する。特に、実用化が決定している炭酸アパタイトハニカム材料を中心に、これらのスケール構造の制御による垂直的骨造成について述べる。

さらに、マルチスケール構造制御により、炭酸アパタイトハニカム材料が骨のみならず骨髄も再生し、造血機能・免疫機能を回復させることが可能であることについて紹介する。

また、マルチスケール構造制御に加え、材料の表面および形状の制御により、抗菌性、血管新生能、薬剤放出能を付与し、ソケットプリザベーション (抜歯高

温存療法)における歯槽骨・歯肉再生の機能向上、骨粗鬆症治療、さらには歯科において大きな問題となっている薬剤関連顎骨壊死(MRONJ)の予防下での組織

再生が可能であることを見出している。当日は、時間の許す限り、これらについても紹介する予定である。

17:00 ~ 17:30

### DMS-3 「機能性磁性ナノ粒子を用いた再生医療技術の開発」

井藤 彰<sup>1</sup>、金子 真大<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>名大 院工 化学システム工学)

生体適合性の高いマグネタイト(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)からなる磁性ナノ粒子は、磁力に引き寄せられることや、交流磁場中で発熱することから、医療技術へ応用されてきた。筆者らは、標的細胞に磁性ナノ粒子を付着させることで磁気標識し、細胞を磁力で積層したり並べたりすることで、細胞からなる三次元組織を作製する技術(磁力を用いたティッシュエンジニアリング; Magnetic force-based tissue engineering, MagTE法)を開発した。本講演では、血管内皮細胞の磁気パターンニング、磁力を用いた細胞シートの作製および収縮する骨格筋組織の構築について紹介する。

さらに、筆者らは磁性ナノ粒子が交流磁場中で発熱することを利用して、細胞・組織・臓器の凍結保存技

術の開発を行っている。現在、一般に凍結保存できる容量が小さく限られてしまうのは、急速かつ均一に大容量を加温する技術が存在しないからである。凍結保護液中に予め磁性ナノ粒子を分散させておいて、液体窒素で急速冷凍して凍結保存した細胞・組織・臓器を、交流磁場で磁性ナノ粒子を発熱させることで急速かつ均一に解凍する技術(ナノウォーミング法)を開発している。これまでに、ヒトiPS細胞およびマウス膵島組織のナノウォーミングによる凍結保存に成功している。さらに、最近ではラット肝臓に対するナノウォーミングの研究を行っており、その最新の研究成果を発表する。

## ■日本骨形態計測学会共催シンポジウム (BMS)

日時：9月7日(日) 9:00～10:30

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：青木 和広(科学大・院医歯 口腔基礎工)

高倉 綾(旭化成ファーマ株式会社)

## 「骨組織形態計測ガイドンス」

9:00～9:10 オーバービュー 座長

9:10～9:40

BMS-1 「研究の可能性を広げる骨形態計測の基礎知識 —骨芽細胞の分化とミネラル化—」

田中 伸哉<sup>1</sup>

(1 東都春日部病院整形外科)

I型コラーゲンやオステオカルシンは骨芽細胞系細胞の分化マーカーと言われるが、骨基質形成やミネラル化にも関係している。I型コラーゲンは前骨芽細胞から骨細胞に至るまで、広い分化の段階で合成されるが、オステオカルシンはミネラル化能を有する成熟骨芽細胞と骨細胞にしか発現しない。つまり、前骨芽細胞から骨芽細胞への分化が抑制された状態では、類骨ばかりが形成され、ミネラル化に異常を生じた骨になる。つまり、骨軟化症は骨芽細胞の分化異常と捉えることができる。

骨形成は前骨芽細胞による類骨形成から開始され、骨芽細胞に分化し、さらに類骨の添加とミネラル化面に至る。この過程の変化は、組織上の類骨面とミネラル化の変化を数値化することで把握できる。とりわけ

ミネラル化を数値化することが重要で、類骨面とミネラル化面の比率により、前骨芽細胞から骨芽細胞への分化の状態を予測することが可能になる。また、ミネラル沈着速度は骨芽細胞の活動性、さらにミネラル沈着に係る時間は、成熟骨芽細胞によるミネラル化の持続時間と捉えられる。

骨形成におけるミネラル化を観察するには、特別な手順と、硬組織切片作成という特殊な技術、さらにミネラル化を数値化のためのシステムが必要になる。しかし、骨動態と骨芽細胞系細胞の変化を直接結びつけて観察することができる唯一の方法である。つまり、骨動態を題材とする分子細胞生物学を展開するうえでの、必須のアイテムといえる。

9:40～10:25

BMS-2 「骨組織形態計測法の実際」

島倉 剛俊<sup>1</sup>、高倉 綾<sup>2</sup>

(1 新潟骨の科学研究所、2 旭化成ファーマ株式会社)

骨の変化を可視化し定量的に評価することは、骨代謝の理解において欠かせない要素である。日本骨形態計測学会では骨組織形態計測法の入門として「ハンズオンセミナー ベーシックコース」が開催されている。本講演では、その内容をもとに動物実験から骨組織標本作製、骨形態計測までの基本的なポイントを解説する。

## 1. 動物実験と骨組織標本作製

骨形態計測法の特長であるミネラル化の観察と数値化には骨組織採取前の骨標識と非脱灰硬組織切片の作製が必須である。本パートでは、骨標識物質の投与から、検体採取後の固定、適切な保存、研究目的に応じた検体の加工や染色方法の選択まで、標本作製のプロセスを説明する。高精度で適切な標本を得るには、動

物試験の基本や標本作製の過程を理解することが必要であり、In vitro研究が主体の研究者にとっても成果への近道となる。

## 2. 骨組織形態計測法を体験してみよう！

骨組織形態計測法は、標本を顕微鏡で観察し、骨代謝に関連する類骨やパケットなどの構造物や細胞の活動性を定量的に評価できる手法である。本パートでは、こうした主なパラメータについて概説し、非脱灰組織を観察し測定する上での判断のポイントや基準を紹介する。また、参加者のみなさまには骨組織の写真を使って骨吸収や骨形成に関するパラメータを計測していただく。骨形態計測の実際に触れることで骨代謝の理解を深め、研究に活かしていただきたい。

10:25～10:30 座長によるまとめ

## ■次世代研究者シンポジウム (NGRS)

日時：9月7日(日) 13:30～15:00

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：清島 保(九大 院歯 口腔病理)

自見 英治郎(九大 院歯 OBT研究セ、九大 院歯 口腔細胞工学)

## 「構造と機能のフロンティア」

## 歯科基礎医学の新潮流

13:30～13:33

オーバービュー 座長

13:33～14:02

## NGRS-1 「骨基質石灰化の微細構造学研究」

長谷川 智香<sup>1</sup>、山本 知真也<sup>1,2</sup>、原口 真衣<sup>1</sup>、網塚 憲生<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 北大 院歯 硬組織微細構造、<sup>2</sup> 陸上自衛隊 新町駐屯地)

骨組織は、リン酸カルシウム結晶およびコラーゲン線維を主成分とする骨基質と、それを維持・調節する骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞といった細胞群、さらに血管や神経から構成されている。骨基質がリン酸カルシウムの沈着によって硬化する現象は骨基質石灰化と呼ばれ、これは骨芽細胞が分泌する基質小胞を起点とする基質小胞性石灰化と、それに続くコラーゲン性石灰化によって誘導される(一次石灰化)。一次石灰化は、局所のカルシウムおよびリン酸イオン濃度を調節する酵素や膜輸送体、たとえばTNALP、ENPP1、Ca-ATPaseなどに加え、osteocalcinなどの骨基質蛋白質による複雑な制御を受けて進行する。また、一次石灰化の後

には骨細胞ネットワークによる石灰化調節、すなわち、二次石灰化が生じる。二次石灰化における骨基質石灰化の調節機構には、SIBLING family蛋白による基質石灰化の成熟、さらには、骨細胞による基質溶解や再石灰化が挙げられる。このように、骨基質石灰化は骨の細胞群による局所的な誘導・調節を受ける一方、全身性ミネラル代謝も重要な調節因子として関与する。本シンポジウムでは、全身性ミネラル代謝異常が生じた場合における骨基質石灰化と基質石灰化を担う骨の細胞群の挙動について、我々が得た微細構造学的知見を中心にご紹介したい。

14:02～14:31

## NGRS-2 「視点を変えて挑む 解剖学の未解明構造」

山本 将仁<sup>1,2</sup>( <sup>1</sup> 東海大 医 基礎医学系 生体構造、<sup>2</sup> 東歯大 解剖)

原始的な脊椎動物にもみられる“筋内腱”は、骨格筋の内部に存在する特殊な腱構造であり、その発生源や形成過程には未解明な点が多い。また“筋内腱”は、運動器疾患や再生医療の観点からも注目されており、その基盤的理解は今後の応用研究にも貢献すると考えられる。私はこれまで、古典的な解剖学や発生学に分子生物学的手法を加えることで、“筋内腱”がどのような細胞に由来するのかを明らかにしようと試みてきた。その結果、由来細胞の候補が明確になりつつある一方で、細胞動態や分化メカニズムといったさらなる課題も浮かび上がってきた。こうした研究のなかで痛感したのは、従来の枠組みにとらわれずに柔軟な視点を持つことの重要性である。この考えのもと、私

が新たに取り組んだのが、昆虫の摂食行動を応用した組織分類法「Insect Anatomy」である。従来は害虫とされてきたカツオブシ虫の摂食行動に着目し、腱の骨への付着部が組織の力学的性質によって異なる咀嚼パターンを示すことを利用して、これまで見落とされがちだった構造的差異の分類を可能にした。この手法は哺乳類以外の動物種にも応用可能であり、今後の形態学研究に新たな視点をもたらす可能性を秘めている。本シンポジウムでは、“筋内腱”の由来解明に向けた研究の歩みとともに、「Insect Anatomy」という異分野融合の試みについて紹介し、これからの解剖学・発生学に求められる視点について皆様と議論したい。

14:31 ~ 15:00

## NGRS-3 「三叉神経支配領域の疼痛」

片桐 綾乃<sup>1</sup>、加藤 隆史<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔生理)

口腔顔面（三叉神経支配）領域では、神経損傷や炎症のような器質的障害を伴う疼痛モデルに加え、粘膜が外界に接している特殊な環境であるが故、乾燥（ドライアイ・ドライマウス）という軽微な環境変化を与えるだけでも、疼痛が惹起される。さらに、睡眠中に間歇的な低酸素状態に陥る閉塞性睡眠時無呼吸のモデル動物も、口腔顔面領域の疼痛を発症する。

三叉神経支配領域からの侵害情報は、末梢神経系の三叉神経節から、中枢神経系の三叉神経脊髄路核尾側亜核に入力し、上位中枢の視床後内側腹側核や橋結合腕傍核へと上行する。慢性疼痛発症時にこの侵害情報上行路で生じる様々な機能変化について、疼痛発症要因の違いを含め、我々の研究を報告する。

成人期の疼痛モデルのみならず、乳幼児期、とくに

吸啜から咀嚼への移行期（歯牙萌出期）に母子分離等のストレス環境に置かれると、咀嚼能力の低下が生じる。この吸啜-咀嚼移行期ストレスモデル動物では、成人期以降に特発性疼痛が発症し、これには残存する咀嚼能力低下が関与する可能性が示唆された。発表の後半では、“噛む”ことにより疼痛が緩和される神経機序について、現在進めている研究を紹介し、聴衆の皆さまと議論を深めたい。

謝辞：発表内容は大学院生と進めた研究であり、この場をお借りして感謝を伝えます。斎藤先生・岡田先生（日本大学）、美久月先生（東京科学大学／神奈川歯科大学）、岸本先生・山田先生・Zho先生・桂先生（大阪大学）

## ■先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム (ADS)

日時：9月7日(日) 9:00～10:30

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：渡部 徹郎(科学大・院医歯 病態生化)

自見 英治郎(九大 院歯 OBT研究セ、九大 院歯 口腔細胞工学)

## 「微小環境の理解を通じた口腔がんの新規治療法の開発」

9:00～9:10

オーバービュー 座長

9:10～9:30

ADS-1 「口腔癌の進展における微小環境」

工藤 保誠<sup>1</sup>

(1 徳大 院医歯薬 口腔生命)

口腔癌の転移過程において、浸潤は初期の重要なステップであるにもかかわらず、その分子メカニズムは未だ十分に解明されていない。近年の研究により、口腔癌の浸潤には、がん細胞を取り巻く多様な細胞から構成される腫瘍微小環境が重要な役割を果たすことが明らかになっている。浸潤過程では、癌細胞が上皮の性質を失い、間葉の性質を獲得する上皮間葉転換(epithelial-mesenchymal transition: EMT)が深く関与している。一方で、近年の頭頸部扁平上皮癌における単一細胞RNAシーケンス解析により、完全なEMTよりも、部分的なEMT(partial-EMT)がより高い転移能と関係することが示されている。我々は、公共データベースに登録された頭頸部扁平上皮癌の単一細胞

RNAシーケンスデータを再解析し、がん細胞を3つのサブセットに分類した。そのうちの1つがpartial-EMTと強く関連しており、このサブセットに特異的なマーカー遺伝子の解析から、これまで報告されていない多数のpartial-EMT関連遺伝子を同定した。さらに我々は、口腔内に常在するグラム陰性嫌気性菌であり、デンタルプラーク形成や歯周病の主要な原因菌である*Fusobacterium nucleatum*が、口腔癌細胞の性質を上皮型からpartial-EMT型へと変化させ、浸潤能を亢進させることを明らかにしている。本講演では、口腔癌の微小環境とがんの浸潤に関する最新の研究成果についてご紹介する。

9:30～9:50

ADS-2 「骨膜による腫瘍進展制御機構の解明」

中村 和貴<sup>1</sup>、塚崎 雅之<sup>1</sup>、星 和人<sup>2</sup>、高柳 広<sup>3</sup>(1 昭医大 歯 口腔生化、<sup>2</sup> 東大 院医 口腔顎顔面外科、<sup>3</sup> 東大 院医 免疫学)

頭頸部扁平上皮がん(HNSCC)は世界で6番目に頻度の高い悪性腫瘍であり、年間45万人の命を奪っている。HNSCCは上顎骨や下顎骨などの骨組織に直接浸潤することが特徴であり、骨浸潤は患者の生命予後を顕著に増悪する。様々な腫瘍において、原発巣からの血行性骨転移のメカニズムが精力的に研究されている一方、骨浸潤は腫瘍が骨組織へと浸潤する過程に「骨膜」が介在する点で一般的な骨転移とは異なる病態形成機序が想定されるが、その分子機構や生体応答機序に関し不明な点が多く残されている。本研究において我々は、B6系統マウスにおけるHNSCC骨浸潤モデルを確立し、

浸潤部組織を用いたシングルセルRNAseq解析をおこなうことで、腫瘍の骨組織への接近に伴い骨膜細胞の数が増加すること、骨膜細胞において遺伝子発現パターンが大きく変化することを明らかにした。腫瘍浸潤前の骨膜細胞ではプロテアーゼ阻害因子Timp1の発現が上昇しており、Timp1欠損マウスではHNSCC骨浸潤が著名に増悪した。以上より、骨膜細胞は腫瘍近接に応じてTimp1を放出することで腫瘍微小環境のプロテアーゼを阻害し、コラーゲンを中心とした細胞外基質の蓄積を促すことで骨膜を肥厚させ、物理的に腫瘍進展を抑制するというユニークな現象が明らかとなった。

09:50 ~ 10:10

## ADS-3 「腫瘍内皮細胞による癌の転移促進」

樋田 京子<sup>1</sup>、間石 奈湖<sup>1</sup>、松田 彩<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大 院歯 血管生物)

腫瘍血管は、がんの進行と転移に重要な役割を果たしている。我々は、これまで腫瘍血管内腔を構成する腫瘍内皮細胞 (TECs) の特性について報告してきた。例えば、TECsは高い増殖能と移動能を有し、多様な成長因子やサイトカインを分泌する。また、TECsはABCB1やALDH1a1などの幹細胞様マーカーを高発現しTECsは抗がん剤に対する耐性も示す。さらに、TECsは非接着性プレート上でクラスター形成能を有しアノキス耐性を持つことがわかった。TECsはがん細胞とともにクラスターを形成し、がん細胞のアポトーシスを抑制した。

また、TECとのクラスター形成が血管内皮間浸潤も促進させることがわかった。がん患者の病理組織標本においても、腫瘍血管腔内にがん細胞と血管内皮細胞からなる細胞クラスターが検出され、患者の転移と関連することが示された。さらにこれらのクラスターは循環血液中にも検出された。これらのことからTECs-がん細胞クラスターががんの転移促進にはたらくことが示唆され、がん転移の予測診断に応用可能であることが示唆された。

10:10 ~ 10:30

## ADS-4 「がん微小環境ネットワークを標的とした新規治療法の開発」

渡部 徹郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>科学大・院医歯 病態生化)

がん微小環境は、がん細胞のみならず腫瘍血管・がん関連線維芽細胞 (CAF) などの間質から構成され、これらの相互作用が腫瘍の進展や転移を制御するため、がん微小環境ネットワークの解明は新規治療法の開発のために喫緊の課題である。多くのがん種で発現が上昇するトランスフォーミング増殖因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は、がん微小環境内のネットワークを制御において重要な役割を果たしている。TGF- $\beta$ により腫瘍血管内皮細胞が内皮間葉移行 (EndoMT) を起こすことで、CAFが形成され、腫瘍の進展が調節されるが、部分的なEndoMTの詳細な解析は特異的なマーカーの欠如により困難であった。我々は新規EndoMTレポーター細胞を用いて、部分的EndoMT特異的マーカーとしてCD40を同定し

た。CD40は部分的EndoMT細胞で発現が増加し、完全なEndoMTへの移行を抑制する役割を果たしていることが示された。さらに、口腔がん細胞のマウス移植モデルにおいて新規TGF- $\beta$ 受容体Fcキメラタンパク質の投与により、がん細胞の増殖とEMTならびに腫瘍血管新生が抑制され、HB-EGFなどの因子の発現が低下することが示された。これらの因子はがん細胞の増殖や血管新生を促進することが示されており、TGF- $\beta$ シグナルがこれらの経路を介してがん微小環境を制御していることが明らかとなった。本シンポジウムでは、TGF- $\beta$ シグナルを標的とした新規治療法の開発に関する最新の知見を紹介する。

## ■ランチョンセミナー 1 (LS1)

日時：9月7日(日) 12:20～13:20

会場：A会場(会議場1階 メインホール)

座長：美島 健二 (JOB 編集委員長、昭医大 歯 口腔病態診断 口腔病理)

### 「Journal of Oral Biosciences教育講演」

#### LS1 「システマティックレビューとメタアナリシスの基礎」

井上 永介<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 昭医大 統括研究推進センター)

システマティックレビューとメタアナリシスは、複数の研究結果を体系的に収集・統合し、全体としての傾向や効果を評価するための科学的手法である。エビデンスに基づく医療 (EBM) が重視される今日、これらの手法は臨床ガイドラインの作成や保健医療政策の根拠として広く活用されており、医療従事者や研究者にとって不可欠な知識となっている。一方で、システマティックレビューおよびメタアナリシスに基づく論文を正しく理解し、臨床や研究の意思決定に活用するためには、基本的な構成や方法論に関する理解が求められる。

本セミナーでは、これらの手法を「実施する」こと

ではなく、「読む・評価する」ことを主眼とし、研究課題の設定に用いられるPICO、文献検索戦略の妥当性、研究選定の基準、バイアスと研究の質の評価方法など、システマティックレビューの構成要素を順を追って解説する。また、メタアナリシスにおいて頻用される効果量 (オッズ比、リスク比、平均差など) の読み方、統合の方法、異質性 (heterogeneity) の概念とその評価方法にも触れる。さらに、「統合すべきでない研究が含まれていないか」「統合してはならないほどの異質性が存在していないか」といった、論文の信頼性や妥当性を見極めるうえで重要となる批判的視点についても紹介する。

## ■ランチョンセミナー 2 (LS2)

日時：9月7日(日) 12:20～13:20

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：臼井 通彦 (九歯大 歯周)

### 「ウェルテック協賛 ランチョンセミナー」

#### LS2 「基礎医学的視点から洗口液を考える」

佐藤 毅<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 九歯大 歯科衛生士育成)

手指などの皮膚や口腔粘膜に使用される消毒薬は多くの種類があるが、口腔粘膜に用いられる消毒薬である洗口液について焦点を当てる。洗口液には、基材、殺菌剤、香味剤、保存剤などさまざまな成分が含まれている。殺菌・消毒作用の成分としては、イオン系あるいは非イオン系の消毒剤が配合されている。細菌の表面は陰イオンに帯電しており、口腔内ではバイオフィルムを形成している。イオン系消毒剤は、陽イオン性界面活性剤あるいは陽イオン性化合物などが用いられ、歯面やバイオフィルム表面に付着して作用する。

陽イオンを持つ原子団が菌体表面の陰イオン部分に吸着し、細胞内に浸透して細胞膜の構造を破壊する。一方で、非イオン性消毒剤は、ヨウ素系あるいは植物由来の有機化合物などが用いられ、歯面やバイオフィルム表面への付着は弱いバイオフィルムに浸透して殺菌作用を有する。この他、殺菌作用はないが、抗炎症作用を有する成分が含まれている洗口液がある。本セミナーでは、配合される成分に着目し、洗口液によってどのような違いがあるのかについて基礎医学的視点から考えてみたい。

## ■アップデートシンポジウム1 (US1)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：B会場(会議場1階 11会議室)

座長：岡 広子(広大院医系科学 死因究明センター)

## 「口腔顎顔面からの年齢推定研究最前線」

- 歯科基礎医学との連携に向けて -

16:00～16:05

オーバービュー 座長

16:05～16:20

## US1-1 「顎骨の死後CT値に咬合支持の評価を加味した年齢推定法の検討」

大谷 真紀<sup>1</sup>、鈴木 昇建<sup>1,2</sup>、美作 宗太郎<sup>1,3</sup>、早川 輝<sup>1</sup>( <sup>1</sup>秋田大 院医 法医学、<sup>2</sup>秋田大 病院 歯口外、<sup>3</sup>東北大 院医 法医学)

CTを用いた年齢推定法として、口蓋と下顎頭の死後CT値と年齢の相関関係を利用し、さらに骨梁構造に影響を及ぼすとされる咬合支持の評価を加味した方法を開発したので報告する。対象は、死後CT撮影を施行した法医学解剖事例で、学習データ357例、検証データ300例とした。検証データには腐敗事例等も含めた。まず、学習データを用いて、年齢と口蓋・下顎頭のCT値に負の相関関係があることを確認した。続いて年齢を目的変数、性別、口蓋のCT値、下顎頭のCT値、アイヒナー分類を説明変数とした重回帰分析を行い、それぞれの説明変数の年齢推定への影響を検討した。性別を除く3変数で $p < 0.05$ であったため、これらを用いて年齢推定式を作成した。さらに、検証データを用いて、作成

した年齢推定式を、65歳以上・65歳未満の群に分けて検証した。その結果、作成した年齢推定式は日本人成人に有用であり、検証では特に高齢者において高い精度を示した。今回年齢推定に利用した口蓋および下顎頭は、海綿骨の断面積が広く、歯のアーチファクトの影響が極めて少ない部位であったため、安定したCT値が得られた。またアイヒナー分類を変数に加えたことから、骨密度と海綿骨量の加齢による減少に加えて、歯科疾患による咬合支持力の低下が骨に及ぼす影響を加味した年齢推定式を作成することができた。CT値は経験が浅い検査者でも測定が容易なため、本年齢推定法は実務でも応用しやすい方法になったと考えている。

16:20～16:35

## US1-2 「歯1本の形から身元不詳者の年齢を推定する方法」

熊谷 章子<sup>1</sup>( <sup>1</sup>岩医大 歯 法医学)

法医学領域で歯の形態学的年齢推定に関する研究成果が報告され始めた1900年代中頃～後半では、抜去歯を実体顕微鏡で観察し計測する方法が主流だった。その後医療用画像のデジタル化と画像処理ソフトウェアの普及で非侵襲的な方法へと移行した。このような年齢推定法は、移民問題を抱える欧州諸国で重要な鑑定事項の一つとして発展してきた。移民による刑事事案では、被疑者が成人か否かの判断が要求されるため生体が分析対象となり、歯科用エックス線画像やコンビームCTといった医療用画像を利用する精度の高い年齢推定法の追求が今も続いている。一方我が国では、平時の事案のみならず、大規模災害で多数犠牲者が発生した際の警察による身元調査への協力の一環とし

て、年齢推定が求められることが考えられる。警察や遺族にも提示可能な視覚的素材となる犠牲者の歯科記録としてのエックス線画像保存は今や必須であり、その画像から歯の成長発育や成人後の形態変化を観察することで、犠牲者に対する候補者(行方不明者)絞り込みのための推定年齢算出も可能となる。近年では人工知能を法医学的年齢推定に応用した研究報告が散見されるようになり、今後は人間の判断では再現困難な歯の所見が年齢推定に利用されるようになるのかもしれない。本発表では、歯1本からの年齢推定法について、演者が歯科基礎医学的知識を駆使してこれまで報告してきた方法に加え、最新技術についても紹介する。

16:35 ~ 16:50

## US1-3 「放射性炭素が“歯に刻印された出生年”を明かす」

斉藤 久子<sup>1</sup>、山田 明佳<sup>1</sup>、武山 美麗<sup>2</sup>、森谷 透<sup>2</sup>、門叶 冬樹<sup>2</sup>、櫻田 宏一<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 科学大・院医歯 法歯学、<sup>2</sup> 山形大 理学部 物理)

1955年から1963年にかけて大気中に一時的に増加した放射性炭素(14C)は、ヒトの歯のエナメル質に蓄積されるため、加速器質量分析装置により測定された14C濃度は身元不明遺体の出生年推定に応用されている。

そこで、我々は、法医学解剖22事例の下顎第一小臼歯もしくは上顎第二大臼歯計25本を用いて、日本人遺体の14Cによる出生年推定の精度の検討を行ったところ、22例中16例では、実際の出生年と14Cより推定された出生年の推定誤差が4.0年以内であり良好な結果が得られた。また、エナメル質中の14C濃度はエナメル質の部位により変化するため、粉碎機(マルチビーズ ショッカー®、安井器械)を用いてエナメル質を均一化する方法を模索した結果、タングステンカーバイド

製のチューブとコーンの使用が最も推奨され、さらにこれらの器具の洗浄には石英砂が適していることが判明した。また、エナメル質の単離には多くの時間と労力を要することから、歯冠部粉末を測定する方法を試みたところ、下顎第一小臼歯14本における推定誤差は、歯冠部半部を用いた9本中 7本では4.0年以内、全歯冠部を用いた5本では3.0年以内であり、有効な方法であることが示唆された。

エナメル質は人体の中で最も硬く、歯は死後長期間にわたって残存する硬組織であるため、身元不明遺体の試料として非常に有用である。今後はさまざまな遺体状況、歯種及び処置歯などを検討し、簡便な方法を考案のうえ、本方法を普及させていきたいと考えている。

16:50 ~ 17:05

## US1-4 「DNAのメチル化を指標とした年齢推定法の実務応用に向けて」

近藤 真啓<sup>1</sup>、魚住 渉<sup>1</sup>、小方 彩乃<sup>1</sup>、岡野 雅春<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 日大 歯 法医)

法医学鑑識実務における年齢推定は、個人の特定に繋がる手がかりのない事例において、候補者を絞り込む上で有益な情報を提供する。

一般に身元不明死体の場合、年齢の推定は骨や歯、毛髪の肉眼所見に基づいて実施されているが、その精度は鑑定者の実務経験に左右されることが多い。一方、犯罪現場から採取された犯人に由来する血痕や唾液(頬粘膜)、精液などの僅かな残留物を試料とする場合、年齢を推定することは困難である。

最近、ゲノム上の特定遺伝子の上流CpGアイランドに存在するシトシン残基のメチル化状態が加齢に伴い変化することが報告された。その定量解析には種々の組織に由来するDNAが利用可能であることから、CpGメ

チル化は客観性と汎用性を備えた新たな年齢推定法の標的候補として注目されている。

我々は、リアルタイムメチル化特異的PCR法を用いて、抜去歯および頬粘膜から抽出したDNA(ELQV2およびEDARADD)のメチル化状態を指標に、各組織に最適化した年齢推定のための回帰モデルを構築してきた。現在、これらのモデルの精度向上と実務への応用を目指し、1) 試料の状態およびDNAの分解度がCpGメチル化率の定量に及ぼす影響、2) 喫煙などの生活習慣が年齢依存的に生じるCpGメチル化変化に与える影響について解析を進めている。また、遺体から採取した歯を用いた年齢推定とその精度の検討も開始した。本講演では、これらの解析から得た成果を報告する。

17:05 ~ 17:30

総合討論

## ■アップデートシンポジウム 2 (US2)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：澁川 義幸(東歯大 生理)

小野 堅太郎(九歯大 生理)

### 「細胞内外ATP-dynamicsが制御する口腔機能」

16:00～16:15

US2-1 「甘味受容と細胞内ATP」

吉田 竜介<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生理)

甘味は糖、人工甘味料、アミノ酸、タンパク質など様々な物質により惹起される。これらはGタンパク質共役型受容体であるTAS1R2/TAS1R3により受容される。また、近年糖に特異的な受容体としてグルコーストランスポーター(GT)が寄与することが示された。糖(グルコース)はGTを介し細胞内に流入し、その代謝によりATPが産生され、甘味細胞に発現するKATPチャンネルを閉口することで、細胞を脱分極させると考えられる。またKATPチャンネルはレプチンによる甘味抑制にも関わっている。近年我々は、味覚反射の1つと考えられる頭相インスリン分泌反応において、味細胞に発現するGTが重要な役割を果たすことを明らかとした。この実験では、非代謝型グルコースアナログであるメチ

ル- $\alpha$ -D-グルコピラノシドを口腔摂取した群ではグルコースを口腔摂取した群より頭相インスリン分泌反応が小さかったことから、細胞内でのグルコース代謝によるATP産生が糖受容に重要である可能性を示唆する。甘味受容に関して、KATPチャンネルの開口剤(ジアゾキシド)、閉口剤(グリベンクラミド)をマウスに投与した際の、各種味覚溶液に対する応答を調べると、開口剤では全ての甘味物質に対する行動応答が減少し、閉口剤ではグルコース応答のみ影響した。これは、甘味細胞におけるKATPチャンネルがこの細胞の応答性に大きく寄与することを示している。このように、甘味細胞内のATP濃度は甘味物質に対する応答性に多大な影響を及ぼすと考えられる。

16:15～16:30

US2-2 「糖代謝調節による歯の細胞分化制御」

依田 浩子<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態)

エネルギー代謝は生命を支える根源的な活動であり、細胞はその生理機能に応じた代謝機構を備えている。近年、細胞内糖代謝がエネルギー産生だけでなく、細胞分化や機能を制御する重要な要因であることが明らかになり、糖代謝の役割が再注目されている。

我々はこれまでに、歯の発育過程における細胞内糖代謝経路、その代謝調節に関わるオートファジーやAMP-activated protein kinase (AMPK)と歯の形態形成との関連性について研究を進めてきた。特にエナメル質形成では、エナメル上皮細胞のグルコース取り込み調節、その後の糖代謝調節による細胞内ATP産生が時期特異的に厳密に制御されており、さらに糖代謝異

常やオートファジー不全によりエナメル質形成異常が生じることを報告してきた。

一方、歯髄組織においては、象牙芽細胞は細胞内低ATPレベルの指標であるAMPKおよびクエン酸合成酵素を持続的に発現しており、TCA回路により象牙質形成に必要なエネルギーを継続的に産生していることを見出した。さらに、各種阻害剤を用いた糖代謝経路の調節により、象牙芽細胞や歯髄細胞の分化制御が可能であるという知見も得ている。

本講演では歯の形態形成過程において、細胞挙動を制御する糖代謝調節機構に加えて、エネルギー代謝異常と歯の発育への影響に関する知見もあわせて紹介したい。

16:30 ~ 16:45

## US2-3 「ヒト歯根膜細胞からの機械刺激誘発 ATP 放出機構」

小野 堅太郎<sup>1</sup>、堀江 成和<sup>1,2</sup>、中富 千尋<sup>1</sup>( <sup>1</sup>九歯大 生理、<sup>2</sup>九歯大 顎口腔機能矯正)

細胞外ATPによる情報伝達が骨リモデリングや疼痛発生に関与していることが近年明らかにされてきている。一方で、歯科矯正による歯の移動時は、歯根膜への機械刺激により歯槽骨リモデリングが引き起こされ、疼痛が発生する。我々は機械刺激により歯根膜細胞からATPが細胞外に放出されているのではないかと考え、ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPdLF) に対する新規インビトロ実験系を確立して検証を行った。

機械受容分子として最有力候補であるPIEZ01とPIEZ02の遺伝子発現量を比較したところ、HPdLFではPIEZ01はPIEZ02より100倍以上発現量が高かった。PIEZ01は細胞全体に発現しており、PIEZ01アゴニストYoda1により濃度依存的に細胞内Caイオン濃度を増加させた。同じくYoda1により濃度依存的に細胞外ATP濃

度は上昇し、PIEZ0拮抗薬やATP放出ルート阻害薬により抑制された。96ウェルプレートにおいてウェル内に挿入可能な分銅 (2g) を用意し、浸漬させてHPdLFに2.4g/cm<sup>2</sup>の圧負荷をかける実験系を作製した。圧負荷24時間後の細胞外ATP濃度は有意に上昇し、Yoda1刺激と同様にPIEZ0拮抗薬やATP放出ルート阻害薬により抑制された。さらに、PIEZ01のsiRNA処理により圧負荷後の細胞外ATP濃度上昇は抑制された。

これらの結果より、ヒト歯根膜細胞は機械刺激をPIEZ01が受容し、細胞内Caイオン濃度上昇を介して細胞外へATPを放出することが示唆された。我々は、矯正治療において細胞外ATP放出が骨芽細胞や破骨細胞の分化を誘導して歯を移動させ、疼痛発症を引き起こしているのではないかと考えている。

16:45 ~ 17:00

## US2-4 「ATP-dynamics による象牙芽細胞機能制御」

倉島 竜哉<sup>1</sup>、黄地 健仁<sup>1</sup>、木村 麻記<sup>1</sup>、澁川 義幸<sup>1</sup>( <sup>1</sup>東歯大 生理)

象牙芽細胞は、1) 象牙質を形成する硬組織形成細胞、2) 歯の痛み (象牙質痛) の発生を担う二次感覚細胞としての2つの機能を有するユニークな細胞である。我々はこれまでの研究で、象牙芽細胞の細胞膜Ca<sup>2+</sup>-ATPase (PMCA) が象牙質形成に重要な役割を担うことを示してきた。加えて象牙芽細胞への直接機械刺激が、機械感受性イオンチャネル (Piezo1-TRP channel coupling) の活性化を介して、ATP透過性イオンチャネルであるpannexin-1 (PANX1) チャネルを活性化し、細胞外へATPを放出する結果として象牙質痛が発生することを明らかにしてきた。

さらにPANX1チャネル活性化による細胞外へのATP放出 (象牙質痛の発生) の結果、象牙芽細胞内のATPが枯渇するためにPMCA活性が低下 (象牙質形成の抑

制) すること、すなわち、象牙芽細胞内ATP動態変動が象牙質痛発生と象牙質形成のスイッチング機構として機能していることを明らかにしつつある。また象牙芽細胞には、ATP感受性カリウムチャネル (KATPチャネル) やATP透過性イオンチャネルであるcalcium homeostasis modulator1 (CALHM1)、ATP受容体であるP2X受容体 (P2X4/7受容体) およびP2Y受容体 (P2Y1/12受容体) が機能的に発現している。このように、近年、象牙芽細胞内ATP動態変動がダイナミックにその細胞機能を制御している証拠が徐々に揃ってきた。

本シンポジウムでは、ATPによる象牙芽細胞機能制御についての新知見を紹介し、ATPを軸とした象牙芽細胞研究の今後の展望について議論したい。

17:00 ~ 17:15

## US2-5 「ライブイメージングで明らかになってきた細胞内 ATP ダイナミクス」

今村 博臣<sup>1</sup>

(1) 山口大 大学研究推進機構 システム生物 RI)

ATPはエネルギー運搬体、RNAの原料、シグナル等の様々な重要な役割を担っている。一方で、生きた組織や細胞におけるATP濃度の挙動についての知見は少なく、ATPの時間的・空間的な変動と生命現象との関係についての理解は進んでいない。この課題を解決するため、私たちは遺伝子コード型の蛍光ATPバイオセンサーの開発を世界に先駆けて進めてきた。そのひとつであるATeamは、ATP結合タンパク質を介して2つの蛍光タンパク質を連結させたフェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) 型の蛍光バイオセンサーで、ATP濃度によって蛍光タンパク質間のFRET効率が変化する。

ATeamを細胞に導入して蛍光ライブイメージングを行うことで、生きた細胞内のATP濃度の時空間的なダイナミクスを解析することが可能である。この手法を用いることで、インスリン分泌細胞におけるATP濃度とカルシウムイオン濃度の関係や、細胞分裂におけるATP濃度のダイナミックな変化が明らかとなった。また、アポトーシスにおいて、細胞膜チャネルであるパネキシン1依存的に細胞内ATP濃度が枯渇することで細胞が適切に不活性な状態へと移行することが示された。本シンポジウムでは、ATPイメージング手法の原理と応用例そして将来展望まで、幅広く紹介したい。

17:15 ~ 17:30

総合討論

## ■アップデートシンポジウム 3 (US3)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：D会場(会議場2階 21会議室)

座長：林 慶和(福歯大 機能構造)

金子 直樹(九大 院歯 口腔顎顔面外科)

## 「基礎研究における常識を疑え」

～若手研究者が考える新常識とは～

16:00～16:05

オーバービュー 座長

16:05～16:22

## US3-1 「口腔扁平苔癬における免疫メカニズムの異常」

金子 直樹<sup>1,2</sup>、横溝 志保<sup>3</sup>、川野 真太郎<sup>3</sup>、森山 雅文<sup>1</sup>(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔顎顔面外科、<sup>2</sup>院歯 OBT 研究セ、<sup>3</sup>院歯 顎顔面腫瘍制御)

口腔扁平苔癬(OLP)は、口腔粘膜に生じる慢性炎症性疾患であり、CD4<sup>+</sup>T細胞がその病態形成に関与するとされている。近年、同じくT細胞が病態形成に関与するアレルギー疾患や炎症性腸疾患で、腸内細菌叢の異常(dysbiosis)がその発症に関与するとの報告が相次いでいる。OLPが炎症性粘膜炎であることを考慮すると、dysbiosisが病態形成に関与する可能性は十分に考えうる。本研究は、OLPの病態とdysbiosisとの関連を解明することを目的として行った。

その結果、OLP患者では、健常者と比較して腸内細菌叢の多様性の低下を認め、制御性T細胞(Treg)の分化・活性化に重要とされる短鎖脂肪酸産生菌の構成比率が低下していた。OLP組織では、病変局所にTreg

の浸潤を多数認めたが、クローナリティーは低く、CD25、CTLA-4およびTGF- $\beta$ の発現が低下していた。

また短鎖脂肪酸産生菌の比率と、CD25<sup>+</sup>TregおよびTGF- $\beta$ <sup>+</sup>Tregの数の間には、正の相関関係を認めた。さらに、OLP患者のPBMCでは、健常者と比較してTregの増加を認めたが、CD25<sup>+</sup>TregとTGF- $\beta$ <sup>+</sup>Tregの割合は低下していた。

これらの結果は、腸内細菌叢のdysbiosis、特に短鎖脂肪酸産生菌の減少により、循環血液と病変局所において機能不全のTregが増加し、OLPの病態形成に関与することを示唆している。本成果は、これまで対症療法しか存在しないことが常識だったOLPに対して、新たな治療戦略の礎となる可能性を秘めている。

16:22～16:39

## US3-2 「口腔がんにおける Hippo 経路の異常による免疫回避機構」

安藤 俊範<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 広大病院 口腔検査セ)

Hippo経路と下流のYAP/TAZ共転写因子は、細胞増殖・臓器形成に必須のシグナル経路である。がんにおけるHippo経路の異常は増殖・薬剤耐性を促すことが主な役割、即ち「常識」とされてきた。私たちも、様々な遺伝子異常がHippo経路の異常を導いてYAP/TAZを活性化し、口腔がん細胞の増殖・薬剤耐性を促す機構を解明してきた。一方、免疫チェックポイント阻害薬(ICIs)が新たながん治療薬として登場したが、奏効率は未だ低く、がん免疫回避機構のさらなる解明が望まれている。その点において、Hippo経路の異常と免疫回避機構の関連についての詳細は明らかになっていない。そ

こで私たちは、Hippo経路の異常と口腔がんの免疫回避の関連を解明するために研究を行ってきた。

がん細胞・組織のデータベース解析から、YAP/TAZ活性化とPD-L1/2発現の正の相関を見出した。口腔扁平上皮癌(OSCC)細胞株におけるYAP/TAZ活性化は、PD-L1/2の転写を亢進した。また*in vivo* xenograftにおいて、YAP/TAZ活性化は壊死と高度な細胞異型を示す低分化型の扁平上皮癌を形成し、ゲノム不安定性の亢進が示唆された。RNA-seqとエクソーム解析を行った結果、YAP/TAZ活性化は上皮性分化を促す遺伝子群を低下、幹細胞形質を促す遺伝子群を増加させ、さらに

遺伝子変異量 (TMB) を増加させた。OSCC細胞におけるHippo経路の異常によるYAP/TAZ活性化は、分化の抑制とTMBの増加をもたらす、さらにPD-L1/2の転写を促すことで免疫を回避する機構が明らかになった。YAP/

TAZ活性化を示す口腔がんはICIsに奏功しやすい可能性が示唆され、患者層別化および新規治療法への発展が期待される。

16:39 ~ 16:56

US3-3 「イタコン酸および ACOD1 はがん進展にどう関与するのか——通説への再検討」  
林 慶和<sup>1,2,3</sup>、佐伯 彩華<sup>3</sup>、平田 雅人<sup>2</sup>、自見 英治郎<sup>3,4</sup>、安河内 (川久保) 友世<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup> 福歯大 機能構造、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ、<sup>3</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ、  
<sup>4</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学)

イタコン酸 (IA) は、クエン酸回路において、アコニット酸脱炭酸酵素 (Aconitate decarboxylase 1: ACOD1) によって合成される有機酸である。Krebs博士によってクエン酸回路が発見された1937年時点にはすでにIAの存在が認識されていたが、その生理学的意義は長らく不明であった。

2011年にIAが哺乳類のクエン酸回路関連代謝産物であることが報告されて以降、研究が進展し、特に2018年以降は細胞膜透過性を有する4-オクチルイタコン酸 (OI) などのIA誘導体が用いられるようになった。多くの文献では、OIをIAの代替物とみなし、両者が本質的に同様の生理活性をもつとの前提で研究が進められてきた。

一方で、IAの恒常的な役割やOIとの生理活性の差異には未解明な点も多く、特にがんにおける機能は不明であった。そこで我々は、IAおよびOIががん進展に与える直接的な影響を比較検討した。複数のがん細胞株やマウスを用いた解析の結果、OIはがん細胞のグルタチオン代謝異常を誘導し、細胞増殖を直接抑制する一方、IAにはそのような作用は認められず、両者の生理活性は明確に異なることが示された。

本研究は、IAとOIを同等に扱ってきたこれまでの“常識”に対し、実験的根拠に基づく再考を促すものである。加えて、複数のがん細胞においてACOD1の発現が確認されており、がん進展におけるACOD1の意義についても、本シンポジウムでは議論を深めたい。

16:56 ~ 17:13

US3-4 「空間トランスクリプトーム解析による病因病態へのアプローチ」  
吉本 尚平<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 福歯大 病態構造、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

病理組織を用いた診断・研究はハマトキシリン・エオジン (H-E) 染色を基本とした形態観察および免疫組織化学によるタンパク質発現解析、個々の遺伝子に対する*in situ*ハイブリダイゼーション解析等を中心に行われている。これらの技法はこれまでに積み重なった知見をもとに安定したデータをもたらしているが、昨今のシングルセル解析などの膨大なデータを一度に得ることが出来る研究手法に比して網羅的な解析を行うことは難しかった。近年、組織切片の空間的な位置情報を保ったまま網羅的な遺伝子発現解析を行う「空間トランスクリプトーム解析」が急速に発展し、ほぼ1細胞

レベルの解像度を持つまでになっている。この技術はH-E染色から得られる形態的な情報と網羅的な遺伝子発現データとを融合させ、常識を破るような新たな研究成果をもたらす得るものであろう。今回は新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の主要な感染部位である上咽頭に着目し、感染後に長期間にわたり症状が持続する状態であるlong COVID (コロナ後遺症) における上咽頭炎のメカニズムとその治療法を検討した結果を示す。また、歯原性腫瘍のなかで最も頻度の高いエナメル上皮腫とその悪性化について空間トランスクリプトーム解析を行った結果についても示したい。

17:13 ~ 17:30

## US3-5 「損傷による幹細胞の疲弊がもたらす骨恒常性破綻」

松下 祐樹<sup>1</sup>(<sup>1</sup>長大 院医歯薬 硬組織発生再生)

超高齢社会を迎えたわが国では、2065年には国民の約2.6人に1人が65歳以上になると推計されている。高齢に伴う骨粗鬆症やそれに起因する骨折は、寝たきりや健康寿命の短縮を引き起こし、社会的・医療的課題となっている。成体骨折治癒過程では骨膜細胞や骨髄間質細胞が骨芽細胞に分化し、骨の修復・再生に貢献しているが、損傷後も無限に幹細胞能を維持できるのかは不明である。

われわれは、レプチン受容体 (LepR) を高発現する骨髄間質細胞に着目し、Lep<sup>r</sup>-Creマウスを用いて大腿骨骨髄損傷後のLep<sup>R+</sup>細胞の動態を解析した。その結果、初回損傷後はLep<sup>R+</sup>細胞が骨芽細胞へと分化し骨再生に

貢献したが、一旦治癒した後の二度目の損傷後は骨芽細胞分化が著しく低下する一方で、脂肪細胞分化が亢進していた。また、細胞老化マーカーの発現が増加し、細胞老化が進行していることが示唆された。以上より、Lep<sup>R+</sup>骨髄間質細胞は骨再生能を一度発揮した後、損傷による疲弊で幹細胞能を失うことが明らかとなった。これまで常識として捉えられていた骨髄間質細胞の幹細胞能を疑うことで、骨再生における細胞の可塑性および老化の理解を深め、高齢者の骨折治療や再生医療の新たな戦略の基盤となる可能性がある。

## ■アップデートシンポジウム 4 (US4)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：E会場(会議場2階 22会議室)

座長：田畑 純(九州栄養福祉大 食物栄養学部)

瀬田 祐司(九歯大 解剖)

## 「口腔領域の謎にせまる:さまざまな所見と考察から」

16:00～16:05

オーバービュー 座長

16:05～16:25

## US4-1 「唾液腺の謎 – 介在部導管の意義 –」

天野 修<sup>1</sup>、小野澤 豪<sup>1,2</sup>、長坂 新<sup>1</sup>、鈴木 海登<sup>1,2</sup>、藤井(戸田) みゆき<sup>1</sup>、  
坂東 康彦<sup>1</sup>

(1 明海大 歯 組織、2 明海大 歯 口腔顎顔面外科)

唾液腺の導管系は、腺房で産生・分泌された唾液を口腔まで輸送すると同時に成分の調整を司る。介在部は導管系の起始部で、腺房と線条部をつなげ、単層立方上皮で構成される最も細い導管である。機能的な意義は不明な点が多いが、古くから腺房や導管の細胞供給源ではないかという指摘が多くあり、近年では幹細胞因子などの発現の報告もあるが、未だにその機能的意義には多くの謎が残されている。

演者らは介在部導管の周囲には密接して特徴的な線維芽細胞が局在することに注目し、腺房や他の導管部位には存在しない、介在部導管特有の薄い鞘状の周囲構造が存在することを見出し、仮に「介在部導管周囲鞘 peri-intercalated duct sheath」と名付けた。介在部導管では、導管上皮細胞の基底面と縦走する筋上

皮細胞の突起を覆う基底膜に沿って膠原線維の薄層があり、さらにそれを主に縦走する細長い突起を伸す小型の線維芽細胞が取巻いている。導管分岐部では輪走する突起も見られる。線維芽細胞の突起同士の間では密着し、ギャップ結合が見られる。

介在部導管周囲鞘は、縦走する筋上皮細胞の収縮による導管の短縮からの回復を助けて管腔内圧を低下させ、腺房内の原唾液を吸引することによって唾液輸送に寄与すると共に、合流で上昇する管腔内圧からの導管構造の保護にも寄与すると考えられる。今後、組織傷害・再生時における介在部導管周囲鞘の形態的変化を解析することにより、介在部導管の幹細胞的役割の解明にも寄与できると期待される。

16:25～16:45

## US4-2 「味蕾の謎 – 味蕾細胞の形態と機能について –」

瀬田 祐司<sup>1</sup>、高久 並紀<sup>1</sup>、松山 佳永<sup>1</sup>、片岡 真司<sup>1</sup>、豊野 孝<sup>1</sup>

(1 九歯大 解剖)

味蕾の形態学的研究は、Leydigが魚類で味覚杯として報告したのに始まり、その後すべての脊椎動物に存在することが知られるようになった。一般に哺乳動物の味蕾は形態学的に染色色素に染まる暗調細胞と染まりにくい明調細胞に分けられ、それぞれが支持細胞と味覚受容細胞としての機能を持つことが推測されてきた。

Murrayらはウサギの葉状乳頭味蕾において、神経終末と求心性シナプスを形成するⅢ型細胞の存在を初めて報告し、従来からの暗調細胞(Ⅰ型細胞)と明調細

胞(Ⅱ型細胞)と明確に区別した。Ⅲ型細胞の特徴は、味神経との間に、典型的な化学シナプスを形成しており、味覚受容体の発見と発現が明らかになる以前は、Ⅲ型細胞が唯一の味細胞と考えられていた。しかしながら、甘味・苦味などの味覚受容体を発現しているのはⅡ型細胞で、神経終末との間にシナプスは観察されていない。Ⅱ型細胞がシナプスを形成せずに神経終末へ味覚情報を伝達している形態学的な構造は明らかにされていない。

また、味蕾細胞は10日から20日間の寿命をもち、味

蕾内において絶えず細胞の更新が行われていると言われている。ところが、電子顕微鏡で味蕾を観察すると変性した味蕾細胞をみることはほとんど無い。約100個の味蕾細胞で構成されている味蕾において、変性し

た細胞がどのように処理されているのかなど、味蕾細胞については形態学的にまだ解明されていない謎が多く存在している。

16:45 ~ 17:05

US4-3 「喉頭下降の謎 – 咽頭周囲の筋と舌骨の形態の比較解剖 –」

角田 佳折<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 顎顔面形態)

ヒトと哺乳動物においての喉頭の形態の違いが観察されるが、構造の違いは舌骨でも認められる。また咽頭と喉頭周辺の筋の1つである口蓋咽頭筋の走行にも違いが見られる。

ヒト口蓋咽頭筋は、咽頭峡の側壁から後壁にわたる領域を占め、横走筋束と縦走筋束に区別される。ヒト口蓋咽頭筋の横走筋束は咽頭峡を取り巻く括約筋様の走行をとり、この形態は哺乳動物においても顕著に観察される。ヒト喉頭は哺乳動物より下方に位置し、筋や舌骨の配置にも変化がある。今回、ヒト、イヌ、ウマ、ブタ、サルの所見にもとづいて、ヒトの喉頭下降の謎について考察する。

ヒト口蓋咽頭筋の下部にある縦走筋束は、下降する喉頭とともに咽頭後壁下部に停止を変えていると考え

られる。上部の横走筋束はその元来の位置に留まり、括約作用を保持し続けていると考えられる。喉頭の下降に伴う変化と考えられ、元来の口蓋咽頭筋とは形態と機能が変化したものとみなし得る。

一般的な哺乳動物は、舌骨はいくつかの骨の連結で構成され、舌骨装置とも呼ばれる。舌骨装置は連結部と基底部に分けられ、基底部はヒトの舌骨に相当する。一般的な哺乳動物は、舌骨装置は連結部によって頭蓋と連結しているが、連結部を失ったヒトの舌骨は頭蓋から遊離した状態にある。このことはヒトにおける喉頭下降を可能にした要因の1つと考えられる。喉頭下降は元来の口蓋咽頭筋の走行に影響を及ぼし、ヒト固有の口蓋咽頭筋縦走部を形成させたと考えられる。

17:05 ~ 17:30

US4-4 「咽頭粘膜の謎 – 4つの腔所との連続性 –」

田畑 純<sup>1</sup>、杉浦 真琴<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>九州栄養福祉大 食物栄養学部、<sup>2</sup>順天大 院医 解剖学・生体構造科学)

口腔の奥にある空間が咽頭である。魚類の時代には鰓弓がまさに鰓として配置されていた部位であるが、哺乳類やヒトとなってからは、鰓が無くなったので、単純な通路となった。ただし、魚類の時代には無かった鼻腔や気管～肺が出来た。つまり、口腔に始まり、咽頭を通過して、食道・胃と続く消化管が、鼻腔には始まり、咽頭を通過して、喉頭・気管・気管支と続く呼吸路が交差するような構造になったのである。では、その交差点となった咽頭とは消化管なのか、呼吸路なのか、そして、それぞれの部位との境界はどこなのか、といった謎について、本講演で解き明かす。

咽頭と口腔の境界はいわゆる口峡部である。そこでは、上皮や結合組織に連続性が見られたが、側壁や舌根部に扁桃があり(口蓋扁桃と舌扁桃)、リンパ上皮共生が見られた。咽頭と鼻腔の境界は鼻咽腔(咽腔鼻部)の上端であるが、鼻腔側は多列線毛上皮、口腔側は重層扁平上皮(被覆粘膜)であるため、明瞭に区別

された。興味ぶかいことに口蓋垂では、その境界が後方突端ではなく、やや上面に近い部位にあった。

咽頭と喉頭の境界は喉頭口の周辺にあり、咽頭と食道の境界は食道口の周辺にあった。重層扁平上皮が続くので、上皮では区別が付かないが、粘膜下層には喉頭腺や食道腺が現われることで識別できた。食道には食道筋が現れるが、上1/3部では横紋筋、中1/3部では横紋筋と平滑筋、下1/3部では平滑筋という筋の構造変化が組織学的にも確認できた。

こうしたことから、咽頭は消化管と呼吸路の交差点であるが、咽頭そのものは口腔とも食道とも連続性のある重層扁平上皮で出来ていること、両者の境界も明瞭であることなどがわかった。進化的にも頷けることであるが、咽頭は消化管そのものであり、そこに呼吸路(鼻腔と喉頭)が割り込んでいるような構造であることがわかった。

## ■アップデートシンポジウム 5 (US5)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：B会場(会議場1階 11会議室)

座長：佐藤 慶太郎(朝日大 歯 薬理)

近藤 祐介(九歯大 口腔再建補綴)

## 「唾液腺、涙腺、膵臓研究者が織りなす外分泌腺研究の新シナジー」

9:00～9:02

オーバービュー 座長

9:02～9:24

## US5-1 「唾液腺研究で得た知見と未来への展望」

宗政 翔<sup>1</sup>、野代 知孝<sup>1</sup>、向坊 太郎<sup>1</sup>、近藤 祐介<sup>1</sup>、正木 千尋<sup>1</sup><sup>1</sup>九歯大 口腔再建補綴

さまざまな原因で発症する口腔乾燥症は、高齢社会の進展により患者数が増加しており、カリエスリスクの増大や歯周病の増悪、義歯の維持困難など歯科治療のリスクとなるため治療法の確立が急がれている。当分野唾液腺研究グループでは、血流量や中枢神経作用の影響を排除して腺レベルでの解析を直接検証できる ex vivo 唾液腺灌流実験を基軸として研究を進めており、老化促進モデルマウス(SAM)や2型糖尿病モデル(KK-Ay)マウスなどのモデル動物を用いて口腔乾燥症が歯科治療に与える影響や発症メカニズムの解明を目指すとともに、治療法を模索している。

SAMを用いた研究では、加齢により顎下腺からの唾液分泌量が減少し、細胞老化や慢性炎症、水チャネルAquaporin 5の遺伝子発現が低下した。さらに、老齡

マウスでは、舌下腺唾液の曳糸性が減少した。一方、漢方薬人参養栄湯をSAMに慢性投与することで顎下腺からの唾液分泌量が増加し、唾液腺の免疫賦活化が示唆された。

KK-Ayマウスを用いた研究では、ムスカリン性刺激による唾液分泌量が糖尿病の増悪に伴い減少し、その一因が腺房細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇の抑制であることが示された。これに対し、抗vascular endothelial growth factor (VEGF)抗体を腹腔内投与することで糖尿病により減少した唾液分泌量が約40%増加することが明らかとなった。現在は、その効果を高めるため、漢方薬丹参との併用療法を検討している。

今後は、基礎研究を推進していくと同時に、得られた知見を臨床研究に応用したいと考えている。

09:24～09:46

## US5-2 「耳下腺分泌顆粒の成熟機構を探る」

加藤 治<sup>1</sup>、横山 愛<sup>1</sup>、吉垣 純子<sup>1</sup><sup>1</sup>日大松戸歯 生理

三大唾液腺の一つである耳下腺の腺房細胞には消化酵素であるアミラーゼを含んだ分泌顆粒が充満している。分泌顆粒はゴルジ体で生成され分泌開口放出するまでの間に大きく変化する。このため成熟度の異なる分泌顆粒を比重で分離することが可能となっている。しかしながら成熟度の低い顆粒はごくわずかしかな分離できないため、成熟機構の詳細は不明なことが多い。我々はラットにβ刺激薬を投与し、開口放出の後、新規に生成される分泌顆粒を分離するというアプローチで成熟機構の検討を行った。精製された顆粒は時間経過とともに大きさを増し、顆粒膜にはVAMP2が濃縮した。VAMP2は開口放出に関与するため成熟度と分泌能について検討したが、新規生成顆粒はすでに分泌能を

獲得しており、成熟顆粒よりも応答性が高い可能性があった。つぎに成熟顆粒にはVAMP2が、新規生成顆粒にはシンタキシン6が豊富という膜組成の違いに再注目し、そのメカニズムを検討するため精製顆粒から膜ドメインの分離を行った。すると新規生成顆粒の膜上では1つの膜ドメインに局在していたシンタキシン6とVAMP2が、成熟に伴い別々の膜ドメイン画分に分離された。これらの結果は成熟過程に伴う膜タンパク質の変化は顆粒膜の膜ドメインにより制御され、それは分泌能の獲得のためではない他の役割を示唆している。本講演ではこれまでの研究成果を総括し、耳下腺分泌顆粒が成熟することの意義について考えたい。

09:46 ~ 10:08

US5-3 「*Ex vivo* オルガンバスシステムを用いた膵臓の内外分泌関連における単糖類の影響」大内 基司<sup>1,2</sup>、森田 亜須可<sup>2</sup>、小林 俊介<sup>3</sup>、佐藤 慶太郎<sup>4</sup>、藤田 朋恵<sup>2</sup>(<sup>1</sup>千葉大 院看 健康増進、<sup>2</sup>獨医大 医 薬理、<sup>3</sup>日医大 医 内分泌糖尿病代謝、<sup>4</sup>朝日大 歯 薬理)

膵臓は、唾液腺と同様に消化酵素を合成・分泌する腺房細胞を有している。膵臓においては、ホルモン分泌を行う内分泌腺と、アミラーゼ (Amy) をはじめとした消化酵素を分泌する外分泌腺が存在する。我々はインスリン (Ins) 分泌の関連因子を検索するため、マグヌス管を用いて齧歯類の膵臓から分泌されるInsを定量する*Ex vivo*オルガンバス実験系 (本実験系) を構築し報告した。具体的には、周知のグルコースおよびGlucagon like peptide-1等を分泌刺激剤として用い、Ins分泌増加を確認した。

当初、Ins分泌量は、無刺激時において時間経過と共に減少を認めた。そのため、プロテアーゼによる分解を防ぐ目的でトリプシンインヒビター (TI) を栄養液

中に添加し、Ins及びAmy等の分泌量を評価した。適量のTI添加によりIns分泌量の経時的減少は弱まり、Amy分泌量に変化は認めなかったことから、TI添加がIns分泌量の維持に有効であることが示唆された。立ち上げ当初、本実験系は内分泌系での発展を考えていたが、外分泌系の測定にも有用であることが見出された。

現在は、外分泌・内分泌の連関に着目し、特に外分泌系の刺激反応を見るための基盤データの獲得と、Ins分泌実験から波及した単糖類による外分泌反応のデータの収集を行っている。発表では、本実験系を用いた分泌刺激によるIns及びAmy分泌の同時測定データを基に、膵内外分泌の関連、単糖類による分泌変化について報告する。

10:08 ~ 10:30

## US5-4 「NMIIC がタイトジャンクションを介して涙液分泌を制御する」

大野 雄太<sup>1,2</sup>、Gaizun Hu<sup>2</sup>、Dominik Robak<sup>2</sup>、W. Sharon Zheng<sup>2</sup>、Seham Ebrahim<sup>2</sup>(朝日大 歯 薬理、<sup>2</sup>バージニア大 医 分子生理)

涙腺における水分泌 (涙液分泌) 機構には、AQP5などの水チャンネルを介する経細胞水輸送と、ZO-1などのタイトジャンクションを介する傍細胞水輸送の二つの経路が想定される。前者はある程度解明されているのに対し、後者はその存在自体が議論的となっている。

近年、非筋細胞ミオシンがタイトジャンクション形成に重要であることが報告された。その非筋細胞ミオシンの一つであるNMIICが涙腺導管細胞の頂端接合部に局在したことから、我々は涙腺導管において傍細胞水輸送が存在し、NMIICがタイトジャンクションを介して涙液分泌に関与するという仮説を立てた。

NMIICが欠損したマウス (NMIIC-KOマウス) を用いてカルバコール (CCh) を投与すると、涙液量は野生

型マウス (WTマウス) に比べて増加した。NMIIC-KOマウスとWTマウスの涙腺におけるAQP5とZO-1の局在をそれぞれ比較したが、違いは認められなかった。一方、NMIIC-KOマウスのZO-1の発現量はWTマウスに比べ減少した。低分子蛍光物質を添加したCChを投与すると、NMIIC-KOマウスの涙液の蛍光強度は増強した。NMIIC活性化剤をWTマウスに投与すると、涙液量は減少した。

以上より、涙腺における傍細胞水輸送の存在が明らかとなった。また、NMIICが導管細胞のタイトジャンクションを介して、涙液分泌を調節することが示唆された。NMIICが涙液分泌低下いわゆるドライアイの新たな分子標的になる可能性が浮上した。

## ■アップデートシンポジウム 6 (US6)

\*協賛：味の素、ゼンショーホールディングス

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：安尾 敏明(朝日大 歯 口腔生理)、  
乾 賢(北大 院歯 口腔生理)

## 「全身の代謝調節に関わる味覚研究最前線」

9:00～9:30

## US6-1 「甘味受容体 TAS1R3 を介した破骨細胞分化制御機構」

吉村 杏奈<sup>1,2</sup>、松原 琢磨<sup>1</sup>、竹内 弘<sup>2</sup>、古株 彰一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化、<sup>2</sup>九歯大 口腔応用薬理)

味覚受容体TAS1R3は味蕾においてTAS1R1やTAS1R2とそれぞれヘテロ二量体を形成し、うま味と甘味を受容する。TAS1Rファミリータンパク質は味蕾だけでなく、全身のさまざまな組織にも存在し、機能していることが明らかになってきている。全身性のTAS1R3機能喪失マウスに高脂肪・高糖質食を与えると、野生型マウスと比べ高骨量を呈する。この表現系は骨吸収を担う破骨細胞の機能不全が原因であると考えられているが、詳細なメカニズムは不明である。そこで我々はTAS1R3の骨代謝における機能的役割を検討した。まず、骨組織におけるTAS1R3の発現を解析した結果、TAS1R3は破骨細胞に多く発現し、その発現量は破骨細胞の分化に伴い増加することが確認された。次に、野生型(WT)

およびTAS1R3ノックアウト(KO)マウス由来の骨髄細胞にRANKLおよびM-CSFを添加し破骨細胞分化を誘導したところ、TAS1R3KOではWTに比べ破骨細胞分化能が低下した。一方で、TAS1R3を過剰発現し糖刺激を行うと、破骨細胞分化が亢進することが明らかになった。さらに、TAS1R3の分子機能を詳細に解析した結果、破骨細胞では味蕾と異なり、TAS1R3がホモ二量体として糖を受容し、p38のリン酸化を介して破骨細胞分化を促進することが明らかになった。

本研究により、味覚受容体TAS1R3が破骨細胞に発現し、骨代謝を制御しているという新しい知見を得たので、本シンポジウムで紹介したい。

9:30～10:00

## US6-2 「GPCR5C の新規糖受容体としての生理機能探索」

高井 信吾<sup>1,2</sup>、川端 由子<sup>1</sup>、實松 敬介<sup>1,3,4</sup>、兼松 隆<sup>5</sup>、自見 英治郎<sup>4,6</sup>、重村 憲徳<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析、<sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ、<sup>3</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ、<sup>4</sup>九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>5</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>6</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)

味蕾に発現するGタンパク質共役型受容体(GPCR)の中には、TAS1R3など全身で様々な臓器で発現していることが知られているものも多い。本研究では、TAS1R3と同じClass C GPCRに分類されるオーファン受容体GPCR5Cに着目し、培養細胞を用いた強制発現系および遺伝的にGprc5cを欠損させたマウス(Gprc5c-KO)を用いて、その機能の解明を試みた。

分子遺伝学的解析および免疫染色の結果GPCR5Cはマウスの舌有郭乳頭の甘味受容体発現細胞、腸管上皮細胞の一部および膵島α細胞など多様な臓器で発現が見られた。Gprc5cとキメラGタンパク質(Gα16-gust44)を強制発現させたHEK293細胞を糖または糖アルコールで刺激したところ、顕著な細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の一過的

な上昇が観察された。この応答は刺激中ではなく、刺激(wash-out)後に顕在化するという特徴的なパターンを示した。また、細胞外Ca<sup>2+</sup>枯渇条件下では本応答は完全に消失した。人工甘味料や甘味アミノ酸刺激ではこの応答は誘発されなかった。

Gprc5c-KOマウスを用いた電気生理学的解析において、舌へのグルコース刺激に対する味覚神経応答では野生型と大きな差は見られなかった。しかし、現在進行中の解析から、Gprc5c-KOマウスは、野生型マウスと異なる血糖値動態を示す結果を得ている。本発表では、GPCR5Cが細胞外の糖濃度変化の感知に関与し、全身的な糖代謝調節の一端を担う新規の分子である可能性に関して議論したい。

10:00 ~ 10:30

## US6-3 「予測と甘味による食後血糖調節の脳内メカニズム」

戸田 知得<sup>1</sup>(<sup>1</sup>熊本大 院医 中枢代謝)

美味しい食べ物が目の前に置かれると、私たちはこれから摂取されるであろう食事のエネルギー量を予測し、胃に入る前に様々な生理反応を始める。例えば、食べ物が視覚、嗅覚、味覚によって感知されると、唾液、胃液、膵液の分泌が増加する。これらの反応は頭相反応と呼ばれ、摂食開始前に効率的な消化・吸収を開始し、糖代謝を含む全身エネルギー代謝の制御においても重要な役割を果たす。糖の摂取が予想される場合、頭相反応によってインスリン分泌が増加し、摂食前に血糖値をコントロールする準備が始まる。しかし、血糖を調節する神経メカニズムは未だ解明されていない。我々はショ糖条件付け後に甘味料（サッカリン）または水を飲むことによって活性化される2種類の神

経を扁桃体外側基底核（BLA）で発見した。サッカリンを飲んで期待通り甘味を感じると末梢組織における糖代謝が促進する一方、甘いと思っていたら水だったときの予測誤差は末梢組織における糖代謝を低下させた。甘味によって活性化するBLA神経の破壊は、サッカリン誘発性のインスリン感受性の上昇を阻害した。また、予測誤差によって活性化するBLA神経の破壊は、水だった時の耐糖能異常を改善した。ショ糖条件付けの記憶が残っているときに、これらの神経を人工的に活性化するとそれぞれインスリン感受性または耐糖能が亢進した。以上の結果から、BLAにある2種類の神経細胞が、糖摂取の記憶と予測（予測誤差）に関与し、食後血糖の調節を行っていることが示唆された。

## ■アップデートシンポジウム 7 (US7)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：D会場(会議場2階 21会議室)

座長：犬伏 俊博(阪大 院歯 矯正)

工藤 保誠(徳大 院医歯薬 口腔生命)

### 「歯科におけるゲノム医療を考える」

9:00～9:05

オーバービュー 座長

9:05～9:20

US7-1 「口腔がんにおけるゲノム医療 ～個別化治療への道～」

工藤 保誠<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 徳大 院医歯薬 口腔生命)

口腔がんは、喫煙や飲酒、ヒトパピローマウイルス(HPV)感染などが主なリスク因子とされており、近年その発症率が増加している。従来は手術、放射線療法、化学療法が主な治療法とされてきたが、今後はゲノム医療が口腔がん治療において重要な役割を果たすと期待されている。口腔がんでは、TP53、CDKN2A、FAT1などの遺伝子変異が高頻度に認められている。私たちは、これらの変異を模倣したノックインマウスを作製し、口腔がんの発生におけるそれぞれの遺伝子の役割を解析している。近年では、遺伝子異常に基づいた分子標的治療薬の開発が進んでおり、従来の抗がん剤に比べて正常細胞への影響を抑え、副作用を軽減できる治療法として注目されている。実際に、口腔がんにおいてもEGFR(上皮増殖因子受容体)を標的としたセツキシ

マブや、免疫チェックポイント阻害剤であるニボルマブが承認されている。しかし、これらの薬剤は副作用や効果の個人差といった課題があり、現在のところ第一選択薬とはなっていない。より効果的かつ安全な治療法の実現に向けて、さらなる改良が求められている。私たちは現在、複数の口腔がん由来するシングルセルRNAシークエンスデータを用いた大規模な統合解析を行い、精緻で高解像度なクラスタリングにより、遺伝子発現パターンに基づくサブタイプ分類を試みている。そして、その分類に応じた治療標的の同定を進めている。本講演では、口腔がんのゲノム医療の現状と課題、さらに今後の新たなアプローチと未来の展望について紹介する。

9:20～9:35

US7-2 「口腔癌に対するがん治療用ウイルスによる低侵襲治療の開発」

内橋 俊大<sup>1</sup>、須河内 昭成<sup>1,2</sup>、田中 晋<sup>1</sup>、藤堂 具紀<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口外1、<sup>2</sup> 阪大 医病 歯科治療室、<sup>3</sup> 東大 医科研 先端がん)

口腔癌治療においては、手術による大きな侵襲は、患者のQOLの著しい低下をきたす可能性があり、また頸部リンパ節転移の制御は、口腔癌患者の予後を大きく左右する因子である。すなわち、侵襲が少なく、頸部リンパ節転移に有効な治療法の実現が求められている。人為的三重変異を有するがん治療用HSV-1であるG47Δは、藤堂らにより世界で初めて作製された、膠芽腫に対するウイルス療法治療薬であり、日本で初めて承認されたがん治療用ウイルス製剤である。我々はG47Δが、種々のマウスモデルにおいて、原発巣投与の後にウイルスのリンパ節へ移行により転移巣に感染

する性質により、頸部リンパ節転移に非常に有効であり、かつ安全であること報告してきた。G47Δと同等の効果を持つT-01は、種々の遺伝子の挿入が可能であり、免疫刺激因子を発現させることでさらに強力な抗腫瘍効果の獲得を目指すことができる。この手法にて作成した、T-mfIL-12やT-B7-1は、それぞれマウスIL-12および可溶性B7-1を腫瘍細胞に感染時に発現する。マウス肺扁平上皮癌細胞であるKLN205-MUC1細胞を用いたマウス舌癌頸部リンパ節転移モデルを用いた実験において、T-mfIL-12を舌腫瘍に投与すると、T-01と比して有意に頸部リンパ節転移を抑制した。また、T-B7-1

も同様に、それ自体でもT-01と比較し、頸部リンパ節転移抑制効果を示したが、免疫チェックポイント阻害剤である抗CTLA-4抗体を併用すると、mock+Isotype control投与群が60日以内に全て死亡するのに対して、80日以上全匹生存した。免疫チェックポイント阻害剤は近年口腔癌治療において切除不能再発進行癌に対し

での治療薬として一定の効果を得ている。第三世代がん治療HSV-1を用いた口腔癌治療は低侵襲かつ極めて有効な治療法となり得ると同時に、免疫チェックポイント阻害剤と併用することで、その効果がさらに増強することが期待される。

9:35 ~ 9:50

US7-3 「罹患臓器における T細胞のシングルセル解析から読み解く口腔癌と自己免疫疾患の病態」

前原 隆<sup>1,2</sup>、川野 真太郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御、<sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ)

昨今、がんや自己免疫疾患は増加の一途をたどっており、社会的にも免疫学への関心が非常に高まっている。免疫系は本来、自己と非自己を識別し、自己を攻撃しない「免疫寛容」を維持する仕組みである。しかし、獲得免疫系の中心であるT細胞が自己細胞を非自己と誤認すると、正常組織が攻撃され、自己免疫疾患が生じる。一方で、がん免疫においては、このような自己反応性T細胞が、自己由来であるがん細胞を排除する役割を担うため、この免疫応答の詳細な理解が重要となる。

我々は、口腔癌や口腔領域に発症する自己免疫疾患（シェーグレン症候群やIgG4関連疾患）の罹患臓器に浸潤するT細胞やB細胞に着目し、シングルセル遺伝子発現解析により、その病態解明と新規治療標的の探

索を進めてきた。特にIgG4関連疾患と口腔扁平上皮癌（OSCC）において、T細胞の遺伝子発現やT細胞受容体（TCR）のクローナリティ解析（特定抗原を認識するクローンT細胞の存在割合の分析）を行い、特定のT細胞集団の増殖や分化を明らかにしている（J Allergy Clin Immunol. 2024 Koga R. *et al*）。また、標準治療後に再発や転移が生じると制御が困難となるOSCCでは、腫瘍微小環境における自己反応性T細胞を中心とした腫瘍免疫応答の解明が、新たな分子標的薬の開発に結びつくと期待される。そこで本講演では、これまで我々が明らかにしてきた自己免疫疾患およびOSCCの罹患臓器に浸潤するT細胞に関する研究成果を紹介する。

9:50 ~ 10:05

US7-4 「口腔微生物叢情報の個別化医療への活用に向けて」

竹下 徹<sup>1</sup>、影山 伸哉<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔予防)

口腔には膨大な数および種類の微生物が常在微生物叢を構築して生息している。この複雑な生態系は幼児期に概ね形成された後は比較的安定的に推移し、構成する微生物種とそれぞれの占める比率は人それぞれ異なる。この口腔常在微生物叢の個人差と健康状態との関わりが注目を集めている。我々の研究室では様々な対象者に歯科健診を行いながら唾液や舌苔、プラークといった口腔微生物検体を収集し、細菌・真菌構成をDNAの塩基配列を解析する網羅的解析法を駆使して疾

患に関わる微生物叢の特徴の探索を進めてきた。近年、蓄積したデータを機械学習の手法で分析をすることで口腔の健康状態を把握ないし予測する検査法の開発に取り組んでおり、成人2000名強の唾液中の細菌構成から歯周病の状態の評価が可能であることを見出している。本講演ではこれらの研究成果に触れながら、口腔微生物叢情報の個別化歯科医療への活用の可能性について概説する。

---

10:05 ~ 10:20

US7-5 「口唇口蓋裂におけるゲノム医療への挑戦」

犬伏 俊博<sup>1</sup>、山城 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大 院歯 矯正)

口唇口蓋裂は外表奇形のなかでも発生頻度の高い疾患であり、発症や病態に遺伝的な基盤が複雑に関与する多因子遺伝子疾患である。中でも、口唇口蓋裂は日本人において欧米人や黒人などと比較して発症頻度が高いことが知られているが、口唇口蓋裂における日本人固有の遺伝子変異の実態は、未だ十分に検討されていない。口唇口蓋裂では、咀嚼機能、発語機能、また整容性の問題等から生じるQOLの低下など様々な問題が生じ、患者個人、家族、医療制度、社会に大きな負

担となる。そのため、治療に加えて発症予防や症状軽減を目指した分子基盤の構築が求められており、ゲノム医療の導入が強く期待される。本講演では、我々が歯学部附属病院において進めている、口唇口蓋裂患者を対象としたゲノム情報とバイオリソースデータの統合解析によるデータ主導型研究の取り組みについて紹介する。さらに、口唇口蓋裂におけるゲノム医療的アプローチの可能性と今後の展望について、皆様とともに議論させていただく機会としたい。

---

10:20 ~ 10:30

総合討論

## ■アップデートシンポジウム 8 (US8)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：E会場(会議場2階 22会議室)

座長：王宝禮(大歯大 教育)

## 「口腔疾患への漢方薬を科学する」

9:00～9:10

オーバービュー 座長

9:10～9:30

## US8-1 「歯周病への排膿散及湯の薬理作用の解明」

王宝禮<sup>1</sup>、今村泰弘<sup>2</sup>

(1)大歯大 教育、(2)松歯大 薬理)

第116回、第118回の歯科医師国家試験に漢方薬の問題が出題され、全国の歯学部では漢方医学教育の導入が急務となった。また、歯科臨床では漢方薬は主に歯周病、口内炎、歯痛、口腔乾燥症、顎関節症、三叉神経痛、重篤な口腔外科治療に伴う術後の体力回復のため投薬されている。これまで歯周病には排膿散及湯がよく処方されているがその基礎医学的解明は少ない。

排膿散及湯は、江戸時代吉益東洞が処方した漢方薬であり、その生薬は、主薬の“桔梗”には排膿を促す作用があり、“枳実”や“芍薬”、“甘草”などは炎症や痛みを和らげる。その使用日標と応用は、化膿性腫物の比較的初期で炎症性浸潤のために患部が硬く痛みを伴う状態に用いるが、遷延して痛みは軽くなったが排膿は続くという症状にもよいとされている。これらの報告から、歯周病治療にも適していると考えられて

きた。そのため、臨床報告は散見されている。

私たちの研究グループは歯周病への排膿散及湯の薬理作用の解明のために、第一に培養実験において、排膿散及湯が炎症性サイトカインの変化、骨芽培養系細胞への増殖能、コラーゲン産生能、ALP活性を確認できた。次に動物実験で歯周病モデルを作製し、排膿散及湯は、歯肉の腫脹を抑制すると共に、病理組織学的分析において歯周ポケットが浅くなり、上皮層糜爛改善、上皮突起の伸張、炎症細胞の減少、歯根膜の成熟を確認できた。さらに、好中球数の減少、血管数の増加傾向、破骨細胞数の減少傾向を確認した。また、ポケット接合上皮に生じた上皮脚の伸長とポケット上皮の根尖側への側方増殖が軽減した。以上の結果より、基礎医学的に排膿散及湯が歯周病に対して抗炎症作用を有する可能性を示唆することができた。

9:30～9:55

## US8-2 「半夏瀉心湯 – 口内炎に対する有効性とその作用機序 –」

人見涼露<sup>1,2</sup>、篠田雅路<sup>1</sup>、小野堅太郎<sup>2</sup>

(1)日大 歯 生理、(2)九歯大 生理)

口内炎は多くの人を経験する疼痛を伴う口腔粘膜疾患の一つであるが、頭頸部がんなどに対する放射線治療や化学療法によって、さらに増悪した広範囲の口内炎が形成されることがある。このような重度の口内炎はその激痛により食事や口腔ケア、会話などが妨げられるため、患者の生活の質は著しく低下し、がん治療を中断せざるを得ない場合もある。

近年、漢方薬の一つである半夏瀉心湯が、このような口内炎に対して有効であることが報告されている。例えば、重度口内炎を原因としてがん治療を中断した患者の割合は、半夏瀉心湯溶液の含嗽を継続することで低下した。また、ここ数年で、半夏瀉心湯の有効性

だけではなくその作用機序についても明らかになってきた。半夏瀉心湯は7つの生薬(乾姜、甘草、黄芩、黄連、人参、大棗、半夏)から構成されていて、鎮痛作用、創傷治癒促進作用、抗炎症作用、抗菌作用および抗酸化作用を持つことが報告されている。各生薬に含まれる成分がそれぞれの役割を發揮し、複合的に働くことで、口内炎疼痛の抑制や治癒の促進に貢献していると考えられる。本シンポジウムでは、これまで我々が行ってきた口内炎に対する半夏瀉心湯の鎮痛作用や治癒促進作用に焦点を当てた研究結果と、最近の見聞について紹介する。

9:55 ~ 10:20

## US8-3 「立効散の抗炎症作用と抗老化作用」

坂上 宏<sup>1</sup>、加藤 崇雄<sup>2</sup>、堀江 憲夫<sup>3</sup>( <sup>1</sup>明海大 歯 M-RIO、<sup>2</sup>金沢医科大 口外、<sup>3</sup>埼玉医大 総合医療セ 口外)

立効散は、齲蝕、歯髄炎、歯周炎や口内炎により誘発される口腔疼痛の抑制に用いられる漢方薬である。立効散は、LPSで活性化されたマクロファージによるIL-1 $\beta$ 産生、そしてIL-1 $\beta$ で活性化された歯肉/歯根膜線維芽細胞によるPGE2産生を抑制した。立効散の5つの構成生薬（細辛、升麻、防風、甘草、竜胆）も弱いと同様の効果を示した。立効散の抗炎症作用の一部に、マクロファージから口腔組織細胞に至るIL-1 $\beta$ ネットワークが介在する可能性が示唆された。立効散は、低濃度では、活性化マクロファージによるPGE2産生を促進したが、高濃度では抑制した。構成生薬間でマクロファージに対する毒性と活性化の至適濃度が異なる可能性が考えられた。立効散と構成生薬は、活性化マク

ロファージの細胞内のCOX-2やPLA2濃度を有意には減少させなかったため、COX-2活性の選択的阻害によるPGE2産生の阻害効果が示唆された。立効散の抗HIV活性や抗UVC活性は、リグニン配糖体やその分解物（フェニルプロパノイド）に富むアルカリ抽出液よりも一桁弱いことから、立効散の抗炎症作用発現には抗ウイルス作用や・OH消去作用の関与は低いと思われた。In vitro抗老化作用定量法（オーバーレー法）を開発した。立効散は、ヒドロコルチゾンには及ばなかったが、皮膚線維芽細胞に対して、ケルセチン、ビタミンC、バニリン酸とほぼ同等の複製寿命延長作用を示した。立効散の抗老化作用に抗炎症作用が関与しているのか、長期保存により失活しないか検討中である。

10:20 ~ 10:30

総合討論

## ■アップデートシンポジウム 9 (US9)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：F会場(会議場3階 32会議室)

座長：鷺尾 絢子(九歯大 保存)

足立 哲也(京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学)

## 「組織工学および情報工学を融合した歯科医学研究」

9:00～9:24

US9-1 「ラマン分光法とケモメトリックスを組み合わせた生体組織および病原体の解析」

足立 哲也<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学)

ラマン分光法は非侵襲・非染色で分子レベルの解析が可能であり、生命科学分野での応用が期待されている。ラマン分光法では、遺伝子解析や染色で得られない分子構造(結晶, ひずみ, 異性体等)や複数の分子種(多糖, タンパク質, 脂質, 核酸, アミノ酸等)の情報を同時に取得することができる。これまでに、難治性骨系統疾患である低ホスファターゼ症の生体組織をラマン解析することで病態解明を行った。また、超長寿げっ歯類ハダカデバネズミの生体組織のラマンイメージングを取得し、AIによるデータ分析により、ハダカデバネズミの老化耐性に寄与する分子を可視化することに成功した。

さらに新型コロナウイルスパンデミック下では、ラマン分光法でコロナウイルス変異株や多剤耐性真菌 *Candida auris* のクレードを識別することに成功した。

ラマン分光より得られた膨大な情報を1次元バーコードに変換し簡素化することで診断技術への応用や感染症サーベイランスに寄与することが期待できる。

本シンポジウムではラマン分光法の歯科基礎医学への応用について討論する。

参考文献

1: Imamura H, Adachi T, Zhu W, *et al.* Raman Spectroscopic Analysis of Molecular Structure and Mechanical Properties of Hypophosphatasia Primary Tooth. *Molecules*. 2024;29(24):6049. doi:10.3390/molecules29246049

2: 足立 哲也 等. with/post コロナ社会における安心・安全な感染症の迅速診断 日本歯科医学会誌44, 27-33, 2025.

9:24～9:46

US9-2 「オミクス x 数理で拓く歯周病の病態理解と予測診断モデルへの展望」

藤原 千春<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔治療)

歯周病は、歯周組織が口腔内細菌叢によって破壊される炎症性の慢性疾患であり、その重症化は患者の生活の質(QOL)の低下や糖尿病などの全身疾患の悪化につながる事が報告されている。超高齢化社会における「口が支えるQOL」の維持・増進のためには、歯周病の発症や進行を予測し、疾患を予防に繋げる技術の開発が求められている。

歯周病は、口腔内細菌叢と宿主の生体応答が複雑に相互作用することで進行する多因子性疾患であるため、その発症や重症化の予測には、患者ごとに異なる多因子の影響を考慮し、歯周病の病態を統合的に理解する必要がある。しかしながら、歯周病の病因は患者によって異なり、多岐にわたるため、その病態の全貌

を理解するには未だ至っていない。そのため、歯周病の病態をシステムレベルで理解するための新たなアプローチが必要とされている。

そこで我々は、歯周病を誘導したマウスモデルを用いて、時系列に採取した歯肉に対するオミクス解析と数理モデリングを統合することにより、歯周病進行の過程を動的に記述する数理モデルを構築した。さらに、このモデルの解析を通じて、歯周病の病態をシステムレベルで理解することに成功した。本シンポジウムでは、その成果を紹介し、今後予定しているヒト歯周病患者のデータを用いた予測診断モデルの構築に向けた展望と、口腔の健康に貢献する数理的アプローチの可能性を議論する。

9:46 ~ 10:08

## US9-3 「バイオプリンターによる歯根尖周囲組織再建・再生誘導治療の確立を目指して」

鷲尾 絢子<sup>1</sup>

(1 九齒大 保存)

複雑な根管系に対して根管治療のみでは改善しない根尖性歯周炎では、歯根端切除および逆根管充填術を適応し歯の保存に努める。その一方で、歯根端切除後の歯冠長が歯根長より長くなることが予測される症例や、広範囲の骨欠損を伴う難症例では、予後不良になることが予測されるため抜歯を選択することもある。しかし、多くの患者は、抜歯することなく、いつまでも自身の歯で噛むことを望んでいる。したがって、歯を口腔内に維持・保存し機能させていくことを専門としている歯科保存専門医は、このような難症例に対する打開策として歯の保存を目的とした新たな治療法を確立する必要がある。

我々は、歯内療法領域で行われる処置にマルチに対応できるバイオマテリアル開発・再生治療の確立を目指して、生体活性型バイオセラミックスの1種であるBioactive glassによる研究を推進している。さらに、複雑な3D構造を有する造形物を器官・組織の損傷部位の状態に応じてカスタマイズする点などで、組織再建治療に有用性が高いと考えられている3Dバイオプリンターに着目した共同研究を実施している。

本シンポジウムでは、我々が推進している、Bioactive glassと3Dバイオプリンターを用いた歯根尖周囲組織再建・再生誘導治療の確立を目指した研究を紹介する。

10:08 ~ 10:30

## US9-4 「ダイレクトコンバージョンと三次元培養を用いた新規骨再生細胞治療法開発」

加治屋 幹人<sup>1</sup>

(1 広大病院 口腔検査・先端治療)

骨再建術に理想的な既存骨再生材料は、患者腸骨などから分離する自家骨である。自家骨移植は、骨芽細胞(OBs)と骨基質を供給するため、確実な骨再生効果が得られる。しかし、自家骨の採取量には限りがあるため、広範囲骨欠損症例には適応できないケースが多い。したがって実際の臨床では、OBsの足場となる人工材料(骨補填材)の移植が多く行われるが、その治療効果は十分ではない。

これまでの骨再生療法開発研究の分野では、より性能を向上させたバイオマテリアルに間葉系幹細胞(MSCs)を組み合わせて移植する方法が多く検討されてきたが、生体適合性の問題やMSCs採取に関わる患者侵

襲、患者ごと細胞ロット間差、製造コスト等の課題が多く残されている。

そこで私たちは、患者歯肉から分離した歯肉線維芽細胞をOBsへ直接転換させるDirect Conversion(DC)法と三次元培養技術を併用することで、人工材料を含まず、骨芽細胞・骨基質から成る三次元的骨様組織3D-DCobの樹立を目指した。これによって、その細胞採取が容易・低コスト・安全で、OBsと骨基質を供給する効果的な新規骨再生細胞治療法が実現すると期待できる。そこで本発表では、歯肉線維芽細胞を原材料としたヒト3D-DCob製造開発研究について紹介し、これからの骨再生医療の可能性について議論したい。

## ■アップデートシンポジウム 10 (US10)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：G会場(会議場3階 33会議室)

座長：鷺尾 純平(東北大 院歯 口腔生化)

佐藤 拓一(新潟大 院保 臨床化学)

大島 朋子(鶴大 歯 微生物)

泉福 英信(日大 松戸歯 感染免疫)

永野 恵司(北医療大 歯 微生物)

眞島 いづみ(奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

## 「The Current Reports on Oral/Systemic Microbiome and Microbiota by Promising Challengers」

9:00～9:05

オーバービュー 座長

09:05～09:21

### US10-1 「Microbiota profiling of the remaining bottled black tea and coffee beverages」

Miho Kawachi<sup>1</sup>、Haruna Sato<sup>1</sup>、Anna Wakui<sup>1,3</sup>、Yuki Kato<sup>1</sup>、Hiroto Sano<sup>1,2</sup>、  
Yuki Abiko<sup>4</sup>、Jumpei Washio<sup>4</sup>、Takuichi Sato<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Div of Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci、<sup>2</sup>Nippon Dent Univ at Niigata、<sup>3</sup>Dept of Med Technol, Niigata Univ Health Welfare、<sup>4</sup>Div of Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

Resting saliva was collected and inoculated into the plastic bottles of black tea/coffee with/without sugars/milk; and then the survival of oral bacteria and their characteristics were examined after storage at 37°C for 24 h. Resting saliva was collected from 14 healthy subjects, and then inoculated as  $1.8 \times 10^3$  CFU/mL into the plastic bottles of black tea and coffee. After 1-day, the samples in the bottles were inoculated onto blood agar plates, incubated anaerobically at 37°C for 7 days, and bacterial species were identified by 16S rRNA gene sequencing. The amounts of bacteria of the black tea (without

sugars/milk, 14 cases) were only  $10^1$  levels, while those (with sugars; 3.9%, 7 cases) were from  $10^1$ – $10^3$  levels. In contrast, the bacterial amounts of the black tea (with only milk, 4 cases) were  $(3.3 \pm 0.7) \times 10^7$ . Furthermore, the bacterial amounts of the black tea (with sugars and milk, 4 cases) were  $(4.7 \pm 2.6) \times 10^7$ . The bacterial components will be discussed in the presentation. The adding of sugars to the black tea gives little impact, and the black tea/coffee beverages without milk may possibly be preserved for a longer period.

09:21 ~ 09:37

US10-2 「Effects of eDNA and insoluble glucan on the biofilm formation of *Staphylococcus aureus*」Toshiki Uematsu<sup>1</sup>, Hidenobu Senpuku<sup>2</sup>(<sup>1</sup> 5<sup>th</sup> year under graduate student, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)

Oral biofilm formation (BF) was strongly associated with insoluble glucan synthesized by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. and *Staphylococcus aureus*, which has also been detected in the oral biofilm, has been reported as an opportunistic pathogen. In this study, relationships of BFs between *S. aureus* and *S. mutans* were investigated. The effects of regulation signals to synthesize various polysaccharides and to lead quorum sensing (QS) in *S. mutans* were investigated on the BF of *S. aureus*. Sonic extracts (SE) from mutants to glucosyltransferase and QS genes, and other

genes were added with or without DNase I into *S. aureus* strain I on microtiter plates in tryptic soy broth with 0.25% sucrose. After incubation, the biofilm cells were stained with 0.25% safranin and assessed by the absorbance at 492 nm. SE from mutants of the QS-related genes could not induce BF of *S. aureus*. The biofilm was induced by SE from mutants of the glucan-related genes, *gtfB*, *gtfBC* and *gbpC*, but inhibited by DNase I. These results suggested that the QS-components and extracellular DNA (eDNA) might be important factors in complex biofilm formation of *S. mutans* and *S. aureus*.

09:37 ~ 09:53

US10-3 「Acidogenicity and fluoride resistance of oral *Candida* species under different environmental conditions.」Haneen Raafat Fathi Mousa<sup>1,2</sup>, Yuki Abiko<sup>1</sup>, Jumpei Washio<sup>1</sup>, Satoko Sato<sup>1</sup>, Nobuhiro Takahashi<sup>1</sup>(<sup>1</sup> Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Ped Dent and Dent Public Health, Faculty Dent, Ain Shams Univ, Egypt)

*Candida* species (*C. spp.*) have been associated with dental caries. However, the acid production potential, particularly under anaerobic conditions such as deep carious lesions, and the sensitivity to fluoride have not been studied well. Therefore, this study aimed to evaluate the cariogenic potential of 5 strains of *C. spp.*, and the effect of fluoride on them.

Under anaerobic conditions, growth of all *C. spp.* was inefficient, but they could survive, remain metabolically active, and produce acids. Furthermore, all except *C. glabrata* were extremely resistant to high concentrations of fluoride (80 mM). In contrast, enolase extracted

from *Candidal* cells was inhibited by lower concentrations of fluoride, the 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) being as low as 0.19-0.34 mM. These results suggest that *C. spp.* possess a mechanism to maintain low intracellular fluoride concentration or to render it ineffective.

In conclusion, *C. spp.* have cariogenic potential even under anaerobic conditions, and were extremely resistant to fluoride. It may be important for the prevention of dental caries to consider novel approaches other than fluoride to combat the cariogenic potential of fungal species.

09:54 ~ 10:09

US10-4 「Regulatory mechanisms of outer membrane permeability in *Pseudomonas aeruginosa* : implications for antibiotic resistance」Chen-Hsuan Chiu<sup>1</sup>, Rei Kobayashi<sup>1</sup>, Keiji Nagano<sup>1</sup><sup>1</sup> Div Microbiol, Dept Oral Biol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)

*P. aeruginosa* exhibits intrinsic resistance to many antibacterial agents, largely due to low outer membrane permeability. Enhancing this permeability could improve antibiotic efficacy. This study aimed to identify genes involved in this trait. A *P. aeruginosa* PAO1 strain was engineered to metabolize raffinose (Raf) and stachyose (Sta), then subjected to transposon-mediated random mutagenesis and chemostat culture in minimal medium with Raf as the sole carbon source. Selected mutants showed comparable growth to the parent strain in glucose but significantly

faster growth in Raf and Sta. MIC assays revealed a 2- to 4-fold increase in sensitivity to ten antibacterial agents, indicating enhanced permeability to large molecules. DNA sequencing identified mutations in the *morA* gene in all mutants; *morA* encodes a known cyclic di-GMP receptor. No significant changes were observed in OprF porin expression, which plays a pivotal role in permeability to high-molecular-weight substances. Further research is needed to clarify the mechanisms, including potential structural alterations in OprF.

10:09 ~ 10:30

US10-5 「Antifungal Activity of Probiotic Lactobacilli Culture Supernatant against *Candida albicans* -the Possibility of Suppression Factor Other than Organic Acids」Shi Qiuyi<sup>1</sup>, Yukako Kojima<sup>2</sup>, Yoko Mukai<sup>2</sup>, Chikahiro Ohkubo<sup>1</sup>, Tomoko Ohshima<sup>2</sup><sup>1</sup>Dept Oral Rehabilitation Prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Oral Microbiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

**Objectives:** To prevent the emergence of drug-resistant *Candida* strains, probiotics lactobacilli strains that exhibit potent antifungal activity has been proposed as an alternative therapy. However, lactobacilli are known to produce acidic product that may cause unwanted effect in oral cavity. In this study, we examined antifungal property of lactobacilli culture supernatant (LCS) against *Candida albicans* using transcriptomics to explore the mechanism.

**Methods:** The antifungal activities of LCS were examined against yeast and hyphal forms of *C. albicans*. The transcriptome analysis of *C. albicans* treated with LCS was carried out by mRNA

sequencing, and qRT-PCR was performed to confirm the variations in gene expression.

**Results and discussion:** Three Lactobacillus strains which demonstrated highest antifungal activity were selected. The result of transcriptome analysis indicated that the specific genes expression of *C. albicans* were down-regulated by LCS, those profiles were different from lactic acid-treated *C. albicans*, implying the presence of other active ingredients. Further studies are required to demystify the mechanism of antifungal action exerted by the LCS.

## ■アップデートシンポジウム 11 (US11)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30  
 会場：B会場(会議場1階 11会議室)  
 座長：小林 真之(日大 歯 薬理)  
 若森 実(東北大 院歯 薬理)

## 「中枢神経系による痛みの制御メカニズム」 - 痛覚とその情動的側面からプラセボ効果まで -

15:00～15:01  
 オーバービュー 座長

15:01～15:22

US11-1 「口腔顔面痛の弁別的様相と情動的様相」  
 片桐 綾乃<sup>1</sup>、加藤 隆史<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔生理)

口腔顔面領域の侵害情報は、末梢の三叉神経節ニューロンを経由し、中枢神経系である三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄(Vc-C1)に入力する。口腔顔面痛発症時の三叉神経節では、グリア細胞の活性化や通常では侵害情報の伝達への関与が低い大型ニューロンにおける表現型変化が生じ、Vc-C1への入力が増加する(Kishimoto *et al.*, 2021)。侵害情報を伝達するVc-C1の二次ニューロンは、主に痛みの弁別を担う視床後内側腹側核(VPM)と情動的側面を担う橋結合腕傍核(PBN)へ投射する。それぞれの領域に対するVc-C1投射ニューロンのVc-C1での吻尾的分布の相違は、侵害情報処理に対する機能的な違いを反映する

(Saito *et al.*, 2017)。また、神経障害性疼痛発症において、VPMへのVc-C1投射ニューロンは主として熱刺激やカプサイシン刺激に応答するC線維の入力を受ける侵害情報伝達を増強し、PBNへのVc-C1投射ニューロンはC線維のみならず、機械刺激に応答するA $\delta$ 線維の入力を受ける侵害情報伝達も増強される(Okada *et al.*, 2019a)。すなわち、三叉神経損傷による痛覚過敏の弁別的様相と情動的様相には、2次ニューロンからの異なる上行性侵害情報伝達経路が関与する可能性が示唆される。さらに、尾側孤束核を介したPBNへの侵害情報伝達を増強(Okada *et al.*, 2019b)についても議論を深めたい。

15:23～15:44

US11-2 「外側腕傍核-扁桃体中心核システムの可塑性と痛覚変調性疼痛」  
 高橋 由香里<sup>1</sup>、加藤 総夫<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup> 慈恵医大 医 神経科学)

痛みは単なる侵害受容性の感覚ではなく、脳によって生成される「警告信号」であり、「不快な感覚・情動体験」として認識される。我々は、脊髄・三叉神経脊髄路核からの侵害受容/嫌悪情報が外側腕傍核(LPB)を介し情動の座である扁桃体(中心核, CeA)に伝達される神経回路としてLPB-CeAシステムに着目してきた。これまでに、電気生理学的手法によるLPB-CeAシナプス伝達の解析、小動物MRIによる痛みネットワークの可視化、痛み関連行動解析を通じて、一過性の炎症性侵害刺激後にCeA神経回路が可塑的变化を起こし、その活動が長期間にわたり痛み行動を制御することを明らかにしてきた(Miyazawaら, 2017; Arimuraら, 2019; Sugimotoら, 2021; Yajimaら, 2022)。この可塑的变化は、侵害受容系の変調により生じる痛

み「痛覚変調性疼痛」の病態形成に深く関与すると考えられる。そこで、CeAの中でどのようなニューロンがこの可塑的变化に寄与するのかを明らかにすべく、FosTRAP2::Ai14マウス、および、Cre依存性チャンネルロドプシン発現系を用い、痛みによって活性化されたLPBニューロン-CeAニューロン間でのシナプス伝達を解析した。その結果、痛みで活性化するニューロン同士のシナプスはCeA内の特異的部位に多く存在する事実が見いだされた(Okudaら, under review)。今後、LPB-CeAシステムの機能的変容を継続して明らかにしていくことで、痛覚変調性疼痛を理解する新たな視座を提示し、慢性痛に対する包括的アプローチの発展へとつなげていきたい。

15:45 ~ 16:05

## US11-3 「島皮質 parvalbumin 陽性細胞特異的活性化による疼痛制御」

小林 理美<sup>1,2</sup>、藤田 智史<sup>2</sup>、小林 真之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大 歯 薬理、<sup>2</sup>日大 歯 生物)

島皮質は、三叉神経脊髄路核尾側亜核から視床腹内側核および腕傍核と扁桃体を経て口腔顔面領域の疼痛情報を受け、統合処理する高次脳領野である。我々は、口腔顔面領域の神経障害性疼痛モデルの島皮質局所神経回路において、興奮性シナプス伝達の増大と抑制性シナプス伝達の減弱によって過興奮が生じていることを明らかにした。また、島皮質から三叉神経脊髄路核尾側亜核への下行性線維を選択的に活性化すると、口腔顔面領域の痛み閾値が下がることを見いだした。すなわち、島皮質の興奮性出力細胞を抑制することによって、口腔顔面領域の痛みを制御できる可能性があ

る。そこで我々は、抑制性細胞の中でも興奮性出力細胞を最も強力に抑制しているparvalbumin陽性細胞(PV細胞)に着目し、「PV細胞を選択的に活性化することで島皮質の興奮性を抑えれば口腔顔面領域の痛みを抑制できる」という仮説に基づき、研究を進めてきた。その結果、光遺伝学的手法あるいは化学遺伝学的手法を用いて、島皮質のPV細胞を特異的に活性化すると、顔面への痛み刺激に対する逃避行動は抑制されることが明らかとなりつつある。本シンポジウムでは、島皮質の活動性の制御による疼痛抑制の可能性について、最新の知見とともに紹介したい。

16:06 ~ 16:30

## US11-4 「プラセボ鎮痛効果の神経生物学的基盤を成す前頭前皮質の局所神経回路」

崔 翼龍<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>兵庫医大 院医 解剖神経科学、<sup>2</sup>理研 生命医科学研)

薬理作用のない偽薬に対して患者自身が効果あると信じることで、実際に何らかの鎮痛効果が得られるプラセボ鎮痛効果は、古くから知られ、また臨床研究などによって科学的に証明されている。その作用機序としては、「偽薬に対する期待感」といった高度な心理活動が内在性の脳機能を活性化すると考えられるが、その詳細な分子神経基盤は殆ど不明である。近年、非侵襲的な脳機能画像解析法を用いた先駆研究から、プラセボによって前頭前皮質背外側部や前帯状回吻側部の神経活動が亢進していることや、内因性のドーパミンやオピオイド系が関与していることが報告されているが (Science 2002, Science 2004, Neuron 2009, Nat

Review 2015)、その分子細胞レベルの作用機序は依然として明らかになっていない。これまでに我々は、パブロフの古典的条件付けを利用して、げっ歯類のラットでプラセボ効果を再現し、小動物脳機能画像解析法を用いて、前頭前皮質腹内側部などの脳内領域がプラセボ鎮痛効果に深く関わっていることを国内外で初めて明らかにした(Zeng Y. *et al*, NeuroImage 2018)。本シンポジウムでは、内因性のオピオイドが前頭前皮質腹内側部の介在ニューロン活動を抑制し、腹外側中脳水道周囲灰白を介して、下行性疼痛抑制系を活性化し、最終的にプラセボ鎮痛効果を引き起こす詳細な神経生物学的作用機序について紹介したい。

## ■アップデートシンポジウム 12 (US12)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：D会場(会議場2階 21会議室)

座長：照沼 美穂(新潟大 院医歯 口腔生化)

重村 憲徳(九大 院歯 口腔機能解析、九大 五感応用デバイス研究開発セ)

## 「栄養素の感知・応答機構を紐解く」

15:00～15:05

オーバービュー 座長

15:05～15:25

US12-1 「*In vivo* イメージングを用いた腸管における栄養感知メカニズムの解析」市木 貴子<sup>1</sup>、照沼 美穂<sup>1</sup>( <sup>1</sup>新潟大 院医歯 口腔生化)

摂取された栄養素は消化管で吸収されるが、神経系による栄養素感知メカニズムには未解明な点が多い。消化管を支配する主要な神経である迷走神経は、頸部に存在する求心性感覚神経節・節状神経節を介して応答する。我々は、迷走神経の活動をシングルセルレベルで観察するため、節状神経節の*in vivo*カルシウムイメージング系を確立した。この実験系を用いて、腸管内の低・高浸透圧刺激やグルコースによる栄養素刺激に対して、それぞれ特異的に反応する神経群を同定した。さらに、機能性食品成分として注目されているγ-アミノ酪酸(GABA)の感知メカニズムを解析した。GABAは脳内移行率が極めて低いにもかかわらず、ストレス緩和や睡眠の質改善といった機能が報告されてい

るが、その消化管における作用機序は不明である。*In vivo*イメージングの結果、腸管内GABAは濃度依存的に迷走神経を活性化し、水による低浸透圧刺激や機械的膨張刺激とは異なる神経群が応答することが明らかとなった。さらに、腸管内においてGABAとグルコース等の栄養素を同時に灌流した際、迷走神経の応答が有意に増強することがわかった。先行研究では、GABAを食餌に添加することでマウスに満腹感や抗不安効果を誘導できることが示されており、これらの効果は即時的な迷走神経活動の増強を介して引き起こされている可能性が示唆された。本シンポジウムでは、これらの成果に加え、最新の知見についても紹介する。

15:25～15:45

US12-2 「ビタミンCの感知～ビタミンC欠乏時の酸味の役割の検討～」

安尾 敏明<sup>1</sup>、岩田 周介<sup>1</sup>、高橋 慎平<sup>1</sup>、諏訪部 武<sup>2</sup>、碓 哲崇<sup>1</sup>( <sup>1</sup>朝日大 歯 口腔生理、<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔解剖)

味覚は、各食物が有する栄養物のシグナルであるので、体内の栄養状態に応じてその嗜好性は変化する。アスコルビン酸(ビタミンC; VC)は食事から摂取しなければならない必須栄養素であるが、その必要量は微量であるため、動物はどのように感知し、過不足なく摂取しているのか不明であった。

そこで、ヒトと同様にVC合成能がないODSラットを用いて48時間2瓶選択試験や10秒間リック(溶液を舐めさせる)試験、鼓索神経応答解析や茸状乳頭味細胞での発現解析を行なった。その結果、VC充足時と比べてVC欠乏時では、VC水溶液やその他の酸に対する嗜好率(=溶液摂取量÷総摂取量×100)やリック率(=溶液を舐めた回数÷蒸留水を舐めた回数×100)は増

加し、鼓索神経での酸に対する応答は低下し、味細胞での一部の味覚関連分子のmRNA発現は低下していた。次に、この摂取行動における酸味の役割を検討するために、塩味を呈するアスコルビン酸ナトリウム水溶液(AsANa)を用いた行動解析を行なった。その結果、AsANaとNaClのリック率に差はなかったが、VC欠乏時、100 mM NaClの嗜好率は80%より高い値であったのに対し、100 mM AsANaの嗜好率は20%より低い値であった。

以上の結果から、VCは酸味で感知され、VC欠乏時には酸に対する嗜好性の増加及び末梢味覚器での酸味感受性の低下により、VC摂取が一時的に促進されるが、その摂取量は腸で吸収された後に調節される可能性が示唆された。

15:45 ~ 16:05

## US12-3 「閉経後女性の栄養素感知と味覚嗜好の変化」

川端 由子<sup>1</sup>、高井 信吾<sup>1,2</sup>、岩田 周介<sup>3</sup>、實松 敬介<sup>1,4,5</sup>、兼松 隆<sup>6</sup>、自見 英治郎<sup>5,7</sup>、重村 憲徳<sup>1,4</sup><sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析、<sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ、<sup>3</sup>朝日大 歯 口腔生理、<sup>4</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ、<sup>5</sup>九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>6</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>7</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)

骨粗鬆症の発症には、加齢、閉経、および食習慣や栄養バランスの乱れが深く関与する。生体は全身の栄養状態に応じて食行動を調節しており、このプロセスには末梢味覚器における栄養素感知システムが重要な役割を果たしている。特に、閉経に伴う骨ミネラル代謝動態の急激な変化は、体内のミネラル需要を大きく変動させ、末梢味覚器におけるミネラルセンシングの変調とそれに起因する食行動変化を引き起こすことが予想される。しかし、閉経後骨粗鬆症が味覚に及ぼす影響はほとんど未解明である。我々はこれまで、卵巣摘出術 (OVX) により作製した閉経後骨粗鬆症モデルマウスを用いて、骨ミネラル代謝異常に伴う味覚変化

の実態を検証してきた。味覚嗜好試験の結果、OVXマウスではキニーネ塩酸塩やカフェインが呈する苦味、ならびに塩化カルシウムや塩化マグネシウムが呈する金属味に対する忌避性が増強することが明らかになった。この結果は、閉経後において苦味や金属味への忌避性が高まることでミネラル摂取量が低下し、それにより骨粗鬆症の進行がさらに加速するという、正常な食行動調節の破綻による病態悪化のスパイラルが生じている可能性を示唆している。現在、OVXマウスの苦味および金属味応答変化に関与する味細胞サブセットの同定にも取り組んでおり、本発表では閉経後味覚変容の分子メカニズムについても併せて紹介したい。

16:05 ~ 16:30

## US12-4 「オルガノイドを用いた霊長類消化管における栄養センサーの研究」

岩槻 健<sup>1</sup>、米谷 達哉<sup>1</sup><sup>1</sup>東農大 応用生物 食品安全)

内胚葉由来の臓器は、体の内側に存在することに加え初代培養が難しく、研究が容易でない臓器である。一方、消化管やその付属器官は、栄養の吸収やその代謝に重要であることから、常に研究の対象であり続けている。最近になり、幹細胞の新しい培養法である“オルガノイド培養法”が開発され、*in vitro*において内胚葉由来の細胞が培養可能となり、新たな研究フェーズが到来した。

我々は、消化管およびその付属器官に、味覚受容体や味覚受容関連分子を発現する味細胞様細胞が存在することに着目し、進化の過程で消化管に存在していたセンサー細胞が各臓器に配置されたと仮説を立て研究

している。これまでに、内胚葉由来組織には2種類の味細胞様細胞が存在することが知られている。一つは消化管や膵臓に存在する内分泌細胞で、甘味受容体やグルコーストランスポーターを発現し、甘味物質に応答する。もう一つはTuft細胞と呼ばれ、消化管や気管において寄生虫や異物の侵入を察知してそれらの除去に働くことが知られている。いずれの味細胞様細胞も存在比率が低く、センサー細胞としての機能解析はまったばかりである。

本発表では、消化管・膵管・味蕾オルガノイドを用いた内胚葉の化学受容研究プラットフォームの構築と、味細胞様細胞の機能解析について紹介する。

## ■アップデートシンポジウム 13 (US13)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：E会場(会議場2階 22会議室)

座長：岡村 裕彦(岡大 院医歯薬 口腔形態)

井関 祥子(科学大・院医歯 分子発生・口腔組織)

## 「硬組織の発生・疾患解明の新境地」

～分子と形態が紡ぐ未来～

15:00～15:18

## US13-1 「骨の発生・成長を駆動する骨格幹・前駆細胞の時空間ダイナミクス」

松下 祐樹<sup>1</sup>

(1 長大 院医歯薬 硬組織発生再生)

管骨の発生様式である軟骨内骨化では、胎生期骨発生初期の間葉系凝集と、それに引き続く軟骨原基やその周囲を取り囲む軟骨膜が、全ての骨格の起源として骨格系細胞を供給する。しかしながら、これらの骨発生初期の骨格系細胞の動態と骨格形成過程について、時空間的な多様性を考慮しての全貌解明には至っていない。今回われわれは骨発生初期の間葉系凝集、軟骨原基、軟骨膜のサブセットを時空間特異的かつ高解像度で標識し、長管骨の発生・成長過程における細胞の運命を詳細に解明した。

はじめに間葉系凝集形成期の骨格系細胞のシングルセルRNA-seqを行うことで、既知のSox9<sup>+</sup>間葉系凝集の周囲にHes1<sup>+</sup>細胞が局在しており、それらの細胞が発生成長過程で軟骨原基の軟骨細胞に直接分化することを

明らかにした。さらに興味深いことにSox9<sup>+</sup>間葉系凝集のサブセットで凝集の中心に位置するFgfr3<sup>+</sup>細胞は発生成長過程で背側の骨格系細胞に特異的に寄与することが明らかとなった。その後の軟骨原基と軟骨膜においてもサブセットごとにユニークな細胞動態を示した。

以上より、成体の長管骨を構成する骨格系細胞の起源は胎生期の骨発生初期の時点で厳密にプログラムされ、すでに骨発生初期で細胞の運命は決まっておき、時空間特異的に骨格形成に寄与することが明らかになった。本研究による知見は、将来的には先天性骨系統疾患の病態解明や治療法開発への貢献が期待できる。

15:18～15:36

## US13-2 「骨発生過程のモデリングと遺伝子制御ネットワークの理解」

大庭 伸介<sup>1</sup>

(1 阪大 院歯 口腔解剖1)

1957年にConrad H. Waddingtonが「エピジェネティックランドスケープ」を、1969年にRoy J. BrittenとEric H. Davidsonが「遺伝子制御ネットワーク」を提唱した。この二つの概念は遺伝子発現の連鎖とその制御が発生の根幹であることを示しており、近年の次世代シーケンサーによる解析によって様々な器官発生過程においてほぼ実証されつつある。我々はマウス骨格系細胞を用いた解析から、骨・軟骨発生のマスター転写因子群であるSox9, Sp7, Runx2による遺伝子発現制御機構を報告してきた(Hojo H *et al.* Cell Rep,

2022など)。また、ヒトの骨発生機構を理解するため、ヒト多能性幹細胞を用いた骨発生モデリングも進めてきた。最近、ヒト多能性幹細胞から軟骨内骨化や膜内骨化を再現する手法を開発した(Tani S *et al.* Cell Rep, 2023; Ikeda Y *et al.* Regen Ther, 2023)。特に軟骨内骨化再現系においては、単一細胞レベルで遺伝子発現やエピゲノムを解析することでヒトの骨発生プログラムにおける遺伝子制御ネットワークを予測した。一連の研究のアプローチとデータを紹介し、将来展望についても議論したい。

15:36 ~ 15:54

## US13-3 「蛋白質翻訳後修飾酵素の役割からみる新たな骨芽細胞の分化機構」

岡村 裕彦<sup>1</sup>、翁 瑤<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 口腔形態)

骨芽細胞分化に関するこれまでの研究は、主に転写因子やシグナル伝達経路に焦点を当ててきた。しかし近年、蛋白質翻訳後修飾 (post-translational modification, PTM) 酵素の機能に着目することで、骨芽細胞分化制御の新たな層が明らかになりつつある。我々は、PP2A活性の低下がO-GlcNAc転移酵素 (OGT) の細胞内局在を変化させ、骨芽細胞初期分化過程を促進することを示した (Sari *et al.*, BBRC 2023; J Cell Physiol 2025)。さらに、O-GlcNAc修飾レベルの変動がカルシウムシグナルに影響を与え、Runx2やOsterixなど分化に重要な転写因子の活性を調節することが示された (Weng *et al.*, BioFactors 2021)。加えて、最

新の研究では、O-GlcNAc修飾がミトコンドリアのダイナミクス、細胞骨格構造、小胞体 (ER) とのカップリングに影響を与え、細胞のエネルギー代謝やストレス応答を介して分化に寄与することが明らかとなった (Weng *et al.*, BioFactors 2024)。これらの結果は、単なる転写因子制御にとどまらず、翻訳後修飾と細胞内構造ダイナミクスが統合的に骨芽細胞分化を制御していることを示唆している。本発表では、これらの知見をもとに、PTMを介した新たな骨芽細胞分化機構と、骨粗鬆症をはじめとする骨代謝疾患への応用可能性について議論したい。

15:54 ~ 16:12

## US13-4 「成熟骨芽細胞による腫瘍排他的ニッチの誘導」

寺町 順平<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)

骨は造血幹細胞や白血病幹細胞のニッチを形成し、造血細胞や腫瘍細胞の維持・生育に骨微小環境が深く関与している。顎顔面にも骨病変を引き起こす多発性骨髄腫では、破骨細胞による骨吸収を促進するとともに、骨芽細胞分化を強力に抑制することで進行に伴い広範な骨破壊を引き起こす。骨病変部では、骨芽細胞分化が抑制された骨髄間質細胞や活性化した破骨細胞が「腫瘍ニッチ」と呼ぶべき細胞環境を構築し、骨破壊と腫瘍進展が互いを促進する悪循環を形成している。

一方、成熟・活性化した骨芽細胞は骨髄腫細胞の生存や増殖を抑制すること、さらに成熟・活性化した骨芽細胞由来の細胞外小胞 (OB-EV) と、その中に内包されるmicro RNAが強力な腫瘍抑制活性を持つことを

最近見出した。詳細な検討により、OB-EVが腫瘍細胞に取り込まれることで、腫瘍細胞のマスター転写因子であるIRF4の発現が抑制され、細胞死が誘導されることが明らかとなった。興味深いことに、OB-EVは正常細胞に対しては細胞障害活性を示さなかった。

このように骨髄腫細胞は、破骨細胞の活性化と骨芽細胞分化の抑制により自らを育む腫瘍ニッチを骨病変部に形成しているが、一方で、骨病変部に骨形成を惹起させることにより骨の回復とともに骨髄腫ニッチを破綻させ、骨髄腫進展を許容しない『腫瘍排他的ニッチ』が誘導できる可能性が示された。今後は、この腫瘍排他的ニッチを誘導する新たな細胞治療法の開発が期待される。

16:12 ~ 16:30

## US13-5 「頭蓋冠を形作る細胞の多様性と先天性疾患」

吉本 由紀<sup>1</sup>、王 漢洋<sup>1</sup>、高 雪莹<sup>1</sup>、金 成学<sup>1</sup>、原田 敦子<sup>2</sup>、塗 隆志<sup>3</sup>、上田 晃一<sup>3</sup>、  
小林 眞司<sup>4</sup>、竹内 純<sup>1</sup>、井関 祥子<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 科学大・院医歯 分子発生・口腔組織、<sup>2</sup> 社会医療法人愛仁会高槻病院 小児脳  
神経外科、<sup>3</sup> 大阪医薬大 形成外科、<sup>4</sup> 神奈川県立こども医療セ 形成外科)

頭蓋冠を構成する前頭骨、頭頂骨、側頭骨、後頭骨は胎生期に膜性骨化により形成され、縫合組織で連結されている。冠状縫合を境として、前方と後方では発生学的起源が異なり、それぞれ神経堤細胞と頭部中胚葉に由来する。頭蓋冠の表面は線維性結合組織である骨膜と硬膜に覆われる。成長期には縫合部位で骨の添加と吸収が起こり頭蓋冠全体の容積が拡大する。我々は、これらの多様な組織と細胞が協調することで、脳の発達と関連した頭蓋冠の成長が達成されることに着目し、それぞれの細胞が持つ特性や発生学的起源による違いを調べている。頭蓋縫合早期癒合症(CS)は、胎児期から乳児期に縫合が早期閉鎖する疾患で、頭蓋冠の発達が妨げられるため様々な神経症状を招き、重篤

な場合は死に至る。我々は頭蓋冠を構築する細胞の調和の乱れと、CS組織病態の関連性に関しても研究している。CSの治療では縫合閉鎖部の外科的骨切りが必須で、その際に得られる組織片から細胞を分離し、異なる患者由来の細胞の特性や遺伝子発現を比較している。これまでに、矢状縫合癒合患者由来細胞が、骨分化誘導時に高い石灰化能を示すことを見出し、それに関連する遺伝子発現変動を解析している。また、縫合閉鎖の過程に関わる細胞動態を理解するため、患者由来iPS細胞を樹立して縫合細胞や骨芽細胞への分化能を解析している。本研究によって、頭蓋冠の細胞の多様性と疾患発症の関連性を明らかにしたい。

## ■アップデートシンポジウム 14 (US14)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：F会場(会議場3階 32会議室)

座長：片瀬 直樹(長大 院医歯薬 口腔病理)

石丸 直澄(科学大・院医歯 口腔病理)

## 「口腔病理学領域における研究のダイバーシティ」

15:00～15:03

オーバービュー 座長

15:03～15:21

US14-1 「中分子創薬による口腔癌制御を目指して」

片瀬 直樹<sup>1</sup>

(1 長大 院医歯薬 口腔病理)

一般にがんは種々のがん関連遺伝子のgenetic/epigeneticな変化の結果として発生する。ヒトゲノムの解読から次世代シーケンサー等の技術の進歩に伴い、がんの分子基盤が明らかになり、それに基づく治療法の開発と実装が行われている。その一方で、口腔癌(口腔扁平上皮癌)については特異的な標的分子についての理解が進んでおらず、その恩恵を十分に享受できていない。

口腔癌の治療は依然手術療法と化学療法が中心であり、分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤の効果も症例によっては効果が十分ではなく、生存率の改善にはいまだ課題が残る。また、手術による患者のQOL低下も問題である。

このような背景から、口腔癌の分子基盤の理解、癌で特異的に発現する分子の同定とこれを標的とした新規治療法開発が求められている。我々はそのような分子の候補としてDKK3を同定した。DKK3は口腔癌・頭頸部癌で特異的に発現が高く、腫瘍の増殖や浸潤を促進するが、今回我々はDKK3の機能を抑制する相補性ペプチドの開発に成功し、実装を目指して研究を続けている。

また、我々はbioinformaticsの技術を応用することにより、口腔癌のみならずあらゆる癌において、新規の標的分子の洗い出しから標的分子に対するペプチドの合成までをシームレスに行える体制を構築した。本発表では中分子創薬による癌制御の社会実装の可能性について報告する。

15:21～15:39

US14-2 「病理組織と病態モデル解析による壊死性唾液腺化生の病因検討」

吉本 尚平<sup>1,2</sup>(1 福歯大 病態構造、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

壊死性唾液腺化生(Necrotizing sialometaplasia: NSM)は、主に口腔粘膜下の小唾液腺に発生する非腫瘍性病変であり、2024年改訂の頭頸部腫瘍WHO分類では、新たに非腫瘍性病変として項目化された。臨床的には比較的大きな潰瘍性病変として出現し、病理組織学的には腺房の壊死および唾液腺導管の顕著な扁平上皮化生を呈することから、悪性腫瘍との鑑別が重要な課題となる。従来、NSMの発症には外傷などに伴う虚血・低酸素状態が関与すると推察されていたが、その病因に関する分子・細胞レベルでの詳細な検討は乏し

かった。本研究では、NSM組織に対する遺伝子発現解析およびマウス唾液腺オルガノイドモデルを用いた実験病理学的解析により、その病因の解明を試みた。解析の結果、NSM病変の周囲微小環境におけるTGF- $\beta$ 3の発現亢進が、扁平上皮化生の誘導に関与している可能性が示唆された。また、NSM初期における低酸素状態が、唾液腺組織の壊死と形質転換のトリガーとなることも明らかとなった。本発表では、これらの結果に加えて、唾液腺オルガノイドを用いた新たな機能的・組織学的解析法についても紹介する。

15:39 ~ 15:57

## US14-3 「新規 YAP シグナル下流因子による上皮間葉転換を介する口腔癌進展機序の解明」

長谷川 佳那<sup>1</sup>、藤井 慎介<sup>1,2</sup>、清島 保<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 九大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup> 九大 院歯 DDR 研究セ)

悪性腫瘍では上皮間葉転換 (EMT) が生じ、転移が促進するとされる。一方、EMTを標的とする有効な抗癌剤は未だ開発されていない。私共は口腔癌 (9割が口腔扁平上皮癌: OSCC) の治療標的となる分子を同定するために、YAPシグナルに注目し、基礎研究を行ってきた。OSCCは病理組織学的に上皮性異形成、上皮内癌からEMTを生じ間質へと浸潤するとされる。私共は最近、YAPシグナルが上皮内癌からすでに活性化していることを見出し、細胞株を用いた独自のスクリーニング実験系からYAPの新規標的因子として微小管結合タンパクcytoskeleton associated protein 2 (CKAP2) を同定した。しかし、OSCCにおけるCKAP2の発現およ

び機能は不明であり、本研究ではOSCCにおいてCKAP2がEMTに与える影響について検討することを目的とした。

CKAP2の発現はEMTマーカーであるVimentinおよびE-cadherinの発現を制御し、遊走能を促進した。更にCKAP2はYAPシグナルの下流で、 $\alpha$ -tubulinのアセチル化およびAKTの活性化を介してEMTに関与することが示唆された。最後に、CKAP2は免疫組織学的にOSCCの腫瘍部においてYAPと高発現していた。本シンポジウムでは、新規YAP下流因子による口腔癌進展機序の解明について紹介する。

15:57 ~ 16:15

## US14-4 「歯周炎による NASH 病態進行のメカニズムと治療戦略」

古庄 寿子<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 広大 院医系科学 口腔顎顔面病理病態)

非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の病態進行には複数の因子が関与し、肝硬変・肝癌など重篤な疾患へと進行するため、リスク因子の解明と、それに基づく進行予防や治療が重要である。一方、歯周炎は世界的に頻度の高い感染症で、心疾患、糖尿病などの全身疾患のリスク因子となる。本発表では歯周炎によるNASH病態進行のメカニズムとそれに基づく治療戦略について我々の知見を供覧する。

高脂肪食誘導脂肪肝マウスに主な歯周病原細菌 *P.gingivalis* (*P. g.*) を歯性感染させたマウスモデルを用い、*P. g.* が肝に移行感染し、炎症や線維化を増悪させることを確認した。実際に、NASH患者の肝生検組織で *P. g.* 感染が顕著な症例は強い線維化を伴ってい

た。肝構成細胞を用いた感染実験では、*P. g.* の産生する酵素ジンジパインが肝細胞や肝星細胞のPAR2受容体を活性化し、TGF $\beta$ 産生を誘導することで、肝星細胞を活性化し、線維化を促進すること、また、ジンジパイン抑制剤は肝星細胞の活性化を抑制することを見出した。更に、マウスモデルへのジンジパイン阻害剤投与は *P. g.* 歯性感染による肝線維化や炎症を有意に抑制した。ジンジパインは、*P. g.* の生存増殖に必須の酵素で、その阻害は *P. g.* 除菌に繋がる可能性もある。以上、歯周炎治療に加えジンジパイン阻害剤による肝臓に移行感染した *P. g.* の除菌とNASH病態進行抑制が将来的に新たなNASH治療戦略の一つとなる可能性がある。

16:15 ~ 16:30

## US14-5 「パラフィン包埋標本でできる病理解析 Up To Date」

廣瀬 勝俊<sup>1,2,3</sup>( <sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup> 阪大 院医 法医、<sup>3</sup> 阪大 感染症総合教育研究拠点)

ホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE) ブロックは病理診断において標準的に用いられる検体保存手法であり、HE染色、特殊染色、免疫組織化学染色などによる形態学的評価

に広く利用されている。ただし、FFPEブロックの作製過程においてDNAやRNAの分解・断片化が生じるため、分子病理学的解析に用いる試料としては多くの制約があった。近年、次世代シーケンサー (next-generation

sequencing : NGS) を用いた解析技術の進歩により、FFPEブロックからでも高精度な分子解析が可能となってきた。これにより、DNAの遺伝子異常解析や、RNA発現をみる空間的トランスクリプトーム解析などへの応用が急速に拡大している。実臨床において蓄積された膨大な数のFFPEブロックライブラリーに対し、詳細な臨床病理情報や長期予後データと照合したデータ駆動型の探索研究を行うことで、疾患の分子基盤の解明や

バイオマーカーの同定、予防・診断・治療における新たな知見の創出が期待される。病理医が顕微鏡を見ながら、日頃知りたいと考えていた「個々の病変の発生に関わる原因や背景」を明らかにすることも可能となっている。

本講演では、FFPEブロックを基盤とした最先端の病理解析技術と、それを応用した血管疾患研究の具体的な事例について紹介する。

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：G会場(会議場3階 33会議室)

座長：中島 京樹(大洗中島歯科医院、明海大 歯 保存)

## 「Powder Treatment(Air Polishing)に求められる効果とは」 素材から見える現在と未来

15:00～15:05

オーバービュー 座長

15:05～15:30

US15-1 「保存療法における Powder Treatment の役割と機器・素材の変遷および効果を考察する」

中島 京樹<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>大洗中島歯科医院、<sup>2</sup>明海大 歯 保存治療)

Powder Treatmentは、酸化アルミニウムを使う切削、  
 塑造化を目的とした使い方。炭酸カルシウムを持ちい  
 た、歯面清掃、着色除去が主目的に開発されたのが、  
 最初と理解している。しかし、近年は、無機質素材から、  
 有機質素材への変化が見られ、歯面清掃効果以外の機  
 能性を含めた考え方が徐々に変化を生んでいると思わ  
 れる。

機器においても、据え置き型、タービンユニットに  
 置き換える能動型があり、さらにPowderとMistの混合  
 メカニズムや、射出部位にも各社違いがみられるが、  
 一定の法則性はあるものの、流体力学など機械工学に  
 視点が置かれた機器はあまり見られない。今後素材の  
 変化に合わせて、機器も機能を高めていくと思われる。

また用いられる有機素材は、低分子のものが多く、  
 質量として、物理効果が低いことは物理特性から明ら

かである。となると、新たな視点での開発や機能性  
 が付加価値を生む、あるいは、清掃性を落とさない機  
 能性の理論など、選択された基準、細菌や口腔環境に  
 影響を及ぼす可能性が、考慮されていると考えざる得  
 ない。残念ながら、このような機能性素材をPowder  
 Treatmentに応用する学術的検証は、あまり進められ  
 てなくEBMもあまり見かけないのが実情である。近年  
 の、素材開発の流れから、無機素材から有機素材へ  
 の変化、粒子径の極小化などの変化がみられる。素材の  
 一端に新たな視点での処置として、Powder Treatment  
 が位置付けられ、処置の可能性が、拡大解釈され、機  
 能性素材のより深い検討が、今後なされることを期待  
 して、その変遷と新素材の可能性を、新たな視点でま  
 とめさせていただき、今回の発表とさせていただきます。

15:30～16:00

US15-2 「シルク×ラフィノースパウダーによる歯面清掃・コーティング強度および色相、  
明度の変化について」小峯 千明<sup>1</sup>(<sup>1</sup>日大松戸歯 保存修復)

近年、歯面に付着したステインやプラークを除去す  
 るため、圧搾空気とともに水とグリシン、炭酸水素ナ  
 トリウム、エリスリトールおよび生体活性ガラスなど  
 の粉末粒子を用いたエアポリッシング法が行われて  
 いる。エアポリッシング法に用いられる粉末は味、  
 生体安全性、環境面における配慮や持続可能な効果を  
 求められ、その進歩は著しい。そのような背景から、  
 我々は天然由来成分ラフィノースに着目した。ラフィ

ノースはビートから生成されるオリゴ糖の一種であ  
 り、ショ糖にガラクトースが結合した三糖類の構造を  
 有する。またラフィノースは、普段から食事で摂取し  
 ており、腸内ビフィズス菌増殖による整腸作用、抗腫  
 瘍作用や免疫賦活作用など様々な面で生体安全性が報  
 告されている。さらにラフィノースを噴射すること  
 により、機械的清掃作用と歯面との接触時に生じるメイ  
 ラード反応から界面活性作用が得られることが期待さ

れる。本研究では、ラフィノースを既存の生体活性ガラス粉末を主体としたSylc®に混合させることにより新規歯面清掃粉末を作製し、ヒト抜去歯を用いてそ

の表面清掃効果、清掃後の色調変化および歯面コート剤として有用性について基礎的知見から検討したい。

16:00 ~ 16:30

### US15-3 「ラフィノース（オリゴ糖）と Sylc（生体活性ガラス）の混合粉体によるバイオフィルム除去と歯質への影響」

榊 航利<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> カズトシデンタルオフィス)

近年、パウダートリートメントで使用されるのは、重炭酸ナトリウム、グリシン、エリスリトールが主に使用されている。歯面清掃時に、歯面に付着する細菌叢やステイン等のみ除去できるのが好ましいが、その際に歯面を傷つけてしまうことも懸念される。重炭酸ナトリウムではステインの除去効果が高いものの、歯面を傷つけやすい。エリスリトールは歯面清掃には適した性質を持つが、エリスリトールの過剰摂取が、血栓症や脳卒中、心筋梗塞などのリスクが高まるとも言われている。そのため、新しい清掃器具や新しいパウダーの開発は歯面への影響を改善させる可能性があり、現状の課題を打破できる可能性を秘めている。そこで、シルクとラフィノースという素材に着目したパウダーが開発された。シルク（生体活性ガ

ラス）は、リン酸カルシウムガラスで、歯面に当たると粉碎され表面のステインが除去されます。他のパウダー同様、粒子径や気圧によっては、歯面を傷つけますが、他のパウダーとは機能が異なるため、メリットもある。エナメル小柱に吸着すると光の乱反射を起こし、光の屈折率が変わり、歯が白くなると言われており、カルシウム、リン、ナトリウム及びケイ素などのイオンを放出する。ラフィノースは三糖類のオリゴ糖で、エリスリトールに比べ、柔らかい。生体安全性が高く、整腸作用、抗腫瘍作用、免疫賦活作用、インターフェロン誘導作用、抗アレルギー作用を持つことが示唆される。今回、シルクとラフィノースという粒子が柔軟なものと組み合わせによるパウダーを臨床応用し、その効果と考察を行いたい。

## ■一般演題（口演）

日時：9月5日（金）16:00-16:40

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：宇佐美 悠（阪大 院歯 口腔病理）

### 一般演題（口演）骨1（01-PM-F1～4）

#### 01-PM-F1 「AI and Bioinformatics Reveal Organelle Remodeling in O-GlcNAcylation-mediated Osteoblast Differentiation」

翁 瑤<sup>1</sup>、塩津 範子<sup>2</sup>、池亀 美華<sup>1</sup>、岡村 裕彦<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔形態、<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 総合歯科）

To understand how O-GlcNAcylation affects bone formation, we re-analyzed public RNA-seq data and found that mitochondria and the cytoskeleton are key targets in osteoblasts differentiation. While their roles have been studied, their specific involvement in osteogenesis remains unclear. Using Ogt-knockout osteoblast cells, we observed reduced differentiation, movement, growth, Mito-ER coupling, ER size, nuclear tubulin levels, and oxygen metabolism. Live-cell imaging and AI modeling linked these changes to disrupted Mito-

ER interaction. Further analysis suggested that Ezh2 and its downstream genes (Opa1, Gsk3a, Wnt3a, Hif1a, Hspa9) may mediate this regulation. Overall, O-GlcNAcylation influences osteoblast differentiation by altering mitochondria, cytoskeleton, and ER structure, with Ezh2 playing a key role.

Non-member collaborative researcher: Ziyi Wang (Department of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University)

#### 01-PM-F2 「Regulation of Osteoblast Differentiation by VGLL3 Through DAPK2-Mediated Autophagy」

Yuhan He<sup>1</sup>、Hirohiko Okamura<sup>1</sup>、Mika Ikegame<sup>1</sup>、Yao Weng<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔形態）

Our previous work found that Vestigial-like family member 3 (Vgll3) regulates osteoblast differentiation. To further clarify the function of Vgll3, we analyzed RNA-seq data of Vgll3-knockdown (shVgll3) MC3T3-E1 cells and found Death-associated protein kinase 2 (Dapk2) as one of the down stream factors of Vgll3. Dapk2 is known to be an important factor in autophagy, which has been reported as a critical process in osteoblast differentiation. Therefore, we examined the autophagic activity in shVgll3 cells by TEM and WB. The number of autophagosomes and the protein expression level of LC3 were decreased in shVgll3 cells,

indicating that autophagy activity was decreased by the suppression of Vgll3. Next, the effect of Dapk2 knockdown on osteoblast differentiation was assessed using qPCR, WB, ALP staining and Alizarin red staining. Dapk2 knockdown in MC3T3-E1 cells reduced the expression of key osteogenic markers and intensity of ALP/Alizarin red staining. Then we found rapamycin treatment partially restored both autophagic activity and osteoblast differentiation in shVgll3 cells. Our findings reveal a new role for Vgll3 in osteoblast differentiation via Dapk2-mediated autophagy.

### 01-PM-F3 「Osteoblast-specific p65 deficiency enhances bone formation and confers resistance to estrogen deficiency-induced bone loss」

Rifat Rezwana<sup>1</sup>、Ayano Ogura<sup>3</sup>、Fumitaka Hiura<sup>4</sup>、Eijiro Jimi<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Lab Mol Cell Biochem、<sup>2</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, OBT Res Cent、<sup>3</sup>Fukuoka Dent Coll, Dept Morphol Biol、<sup>4</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Orthod Dentofac Orthop)

Nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) pathway regulates inflammation and immune responses and plays crucial role in bone biology. This study elucidates role of p65, a major NF- $\kappa$ B subunit, in osteoblast differentiation and bone formation. Since global p65 knockout is embryonic lethal, osteoblast-specific p65-conditional knockout (p65cKO) mice were generated using tamoxifen-inducible Cre recombinase under the type I  $\alpha$  collagen promoter. Tamoxifen administered at 6 weeks of age, and analyzed after 4 weeks. p65cKO mice showed increased trabecular bone and bone formation compared to control, with no

change in osteoclast numbers. After ovariectomy (OVX) induced estrogen deficiency, control mice exhibited high bone turnover with increased formation and predominant resorption, leading to bone loss. In contrast, p65cKO mice showed low bone turnover and resistance to OVX-induced bone loss. These findings indicate p65 deficiency in osteoblasts promotes osteoblast differentiation and bone formation via cell-autonomous mechanisms under physiological conditions, while suppressing osteoclastogenesis through osteoblast-mediated paracrine regulation during estrogen deficiency, thereby maintaining bone mass.

### 01-PM-F4 「高ビタミンD症および慢性腎臓病両病態モデルにおいて、骨芽細胞系列細胞のビタミンD受容体(VDR)は、翻訳後糖鎖修飾を介して循環スクレロスチン量と骨形成を調節する」

中道 裕子<sup>1,2</sup>、劉 子洋<sup>2</sup>、何 治鋒<sup>1</sup>、宇田川 信之<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>松歯大 総歯研、<sup>2</sup>松歯大院 歯学独立研究科、<sup>3</sup>松歯大 生化)

高ビタミンD症(HVD)は、医原性または内因性に発症する。HVDおよび慢性腎臓病(CKD)はともに、ビタミンD恒常性破綻によるカルシウム・リン代謝性疾患であり骨代謝カップリング破綻が認められる。我々は、HVDにおける骨吸収亢進、軟組織石灰化、骨形成抑制は、骨芽細胞系列(OB)細胞のVDRを介して誘導されることを報告した(Endocrinology 2020, JSBMB 2023, 2025)。HVDを誘導した野生型マウスでは、骨形成阻害因子Sclerostinの血中濃度上昇を伴う骨形成低下を認め、OB特異的VDR-cKOマウスでは、これらの表現型は認められなかった。最近、糖転移酵素B4GALNT3が、Sclerostinの糖鎖末端にGalNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcNAcを転移(LDN化)することで、血中Sclerostinのクリアランス

を促進する可能性が提起された(eBioMedicine 2023)。HVDを誘導した野生型マウスでは、B4galnt3 mRNAの骨における発現は低下し、OB特異的VDR-cKOマウスでは低下しなかった。OB細胞株の活性型ビタミンD(1,25D)処理は、B4galnt3 mRNAの発現とSclerostinのLDN化率を減少させた。次に1,25D欠乏性疾患であるCKDモデルマウスを解析したところ、予想に反してHVDマウスと同様に、B4galnt3 mRNAの骨における発現減少を伴う血中Sclerostin濃度上昇と著明な骨形成低下が観察された。以上、カルシウム・リン代謝性疾患においてOB細胞のVDRがB4GALNT3発現調節によりSclerostin分解を制御し、骨形成調節の要として働く可能性が示された。

日時：9月5日（金）16:50-17:30

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：藤井 慎介（九大 院歯 口腔病理）

## 一般演題（口演）骨2（01-PM-F5～8）

### 01-PM-F5 「自然免疫応答制御機構 cGAS-STING pathway の骨形成能における機能の解析」

鈴木 啓<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>北大 遺制研 分子生体防御）

センサー分子cGASは細胞質内に侵入したウイルスDNAなどを検知すると、アダプター分子STING(Stimulator of Interferon Genes)を活性化させ、インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を介して病原体の排除を行うことが知られている。この機構は自然免疫応答と呼ばれ、ほとんど全ての多細胞生物に存在する生体防御機構である。近年、このSTINGはオルガネラのpHを制御するほか、骨代謝にも影響することが報告されており、STINGの機能とその関連するシグナル経路が想像異常に広い可能性が示唆されている。

我々はSTING、そしてcGASのノックダウンがアルカリリフォスファターゼ(Alp) mRNAの転写および細胞外

ALP活性の変化を引き起こすこと、そしてAlp mRNA転写制御に関する $\beta$ -cateninタンパク質量と、アクチン細胞骨格の変化を引き起こすことを確認した。

ミトコンドリアDNAがcGAS-STING経路を活性化することで炎症性サイトカインを産生させ、骨形成の変化を引き起こすことはすでに報告されているが、cGASとSTINGのノックダウンはそれぞれ相反する結果を示しており、我々の実験結果は既存報告と異なる経路の存在を示している。

本報告は骨代謝や関節リウマチなどの炎症性疾患の解明だけでなく、新たな薬剤開発ターゲットの発見に貢献するものと考えられる。

### 01-PM-F6 「モデリング期骨組織におけるコラーゲン細線維の集束と骨細胞との関連」

橋本 真奈<sup>1</sup>、竹中 佑斗<sup>1</sup>、飯村 忠浩<sup>2</sup>、上岡 寛<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 矯正、<sup>2</sup>北大 院歯 薬理）

【緒言】骨細胞ネットワークを介した細胞間コミュニケーションは骨代謝に際し重要な役割を担っているが、モデリング期骨組織において骨細胞ネットワーク形成に何が関与しているかは不明である。我々は骨細胞ネットワーク形成にコラーゲン細線維の集束が関与していると考え、形態学的に両者の関係の解明を試みた。

【試料および方法】17日齢ニワトリ胚頭蓋骨の1辺25 $\mu$ mの立方体領域を直交配置型FIB-SEMを用いて25 nm/voxelの解像度で三次元観察した。次にコラーゲン線維の架橋阻害剤である $\beta$ -Aminopropionitrile (BAPN)をニワトリ胚に投与し、コラーゲン細線維の集束が阻害された骨組織の骨細胞を解析した。多光子励起顕微鏡によるSecond Harmonic Generation観察法にて対照

群とBAPN群のコラーゲン線維形成を比較後、共焦点レーザー顕微鏡システムにて両群における骨細胞の形態変化を解析した。

【結果および考察】直交配置型FIB-SEMで観察された骨細胞突起は集束したコラーゲン細線維を避けるように伸びていた。対照群の骨細胞は紡錘形で、突起が細胞長軸に対して垂直に伸長し、細胞配向のばらつきが小さいのに対し、BAPN群の骨細胞は円形で、突起は放射状に伸長し、細胞配向のばらつきが大きかった。さらに対照群と比較してBAPN群の骨細胞の面積は小さかった。以上のことから、コラーゲン細線維の集束が骨細胞ネットワーク形成に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

## 01-PM-F7 「Cxcl12-cre マウスを用いた骨髄 CAR 細胞の系譜解析」

芝原 巧<sup>1</sup>、廣瀬 勝俊<sup>1</sup>、宇佐美 悠<sup>1</sup>、大庭 伸介<sup>2</sup>、豊澤 悟<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup> 阪大 院歯 口腔解剖 )

【背景】CXCL12 abundant reticular (CAR) 細胞は、ケモカインCXCL12を高発現する骨髄間質細胞である。CAR細胞は、骨髄の造血幹細胞ニッチを構成するとともに、骨芽細胞・脂肪細胞へ分化する幹細胞の性質を持つとされる。しかし、生体におけるCAR細胞の分化過程の詳細は明らかではない。本研究では、Cxcl12-Creマウスを用いて、骨髄におけるCAR細胞の系譜解析を行った。

【方法】片方アレルのCxcl12遺伝子座にCreを挿入したCxcl12-creマウスを作出し、緑色蛍光を発現するZsGreen (ZsG) マウスと交配させて、CXCL12発現細胞とその子孫細胞をZsGで可視化した。

【結果・考察】マウス大腿骨において、生後1週齢ではZsG<sup>+</sup>細胞は骨髄内の類洞周囲に限局して分布していた。骨内膜上のZsG<sup>+</sup>骨芽細胞数は経時的に増加した(4週齢: 2.0%、12週齢: 23.0%、24週齢: 49.5%)。ZsG<sup>+</sup>細胞はPERILIPIN<sup>+</sup>脂肪細胞と一致したが、TRAP<sup>+</sup>破骨細胞やSOX9<sup>+</sup>軟骨細胞とは一致しなかった。生後24週齢の長管骨骨幹部でのシングルセル遺伝子発現解析の結果、ZsG<sup>+</sup>細胞にはCxcl12<sup>+</sup>/Lepr<sup>+</sup>骨髄間質細胞と、骨芽細胞および脂肪細胞の前駆細胞が含まれていた。以上より、CAR細胞は成獣期における骨芽細胞、脂肪細胞の供給源であることが示された。

## 01-PM-F8 「低ホスファターゼ症に対する新規胎児遺伝子治療法の確立」

高橋 有希<sup>1</sup>、平井 研吾<sup>2</sup>、石束 叡<sup>3</sup>、阿部 伸一<sup>3</sup>、新谷 誠康<sup>2</sup>、笠原 正貴<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 東歯大 薬理、<sup>2</sup> 東歯大 小児歯、<sup>3</sup> 東歯大 解剖 )

【目的】低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ (TNALP) 遺伝子の変異により、硬組織の石灰化不全や乳歯の早期脱落を主徴とする遺伝性疾患である。現在、酵素補充療法が行われているが、投与開始時期が新生児期以降であることから、対応できない症例がある。また、胎内で症状が進行してしまうために、骨症状に関しては完治に至らないという問題点もある。そこで、筋肉に限定した遺伝子発現の下、胎児遺伝子治療法を検討し、安全性を確立した新規胎児遺伝子治療法の開発を目的とした。

【方法】胎生16～18日齢の母マウスに1～2%でイソフルランによる吸入麻酔を行い、子宮膜上から治療用ベクターを $3.1 \times 10^{10}$  v.g./g, Total volume: 4  $\mu$ L腹腔

内投与した。吸収系にて縫合し、リマダイル0.05mL/10gを皮下投与して正常に出産させた。出産後にジェノタイプングを行い、HPPマウスを胎児治療群とした。

【結果および考察】胎児治療群は、血清ALP活性の有意な上昇、正常な体重増加および延命効果を確認した(P < 0.0001)。また、胎児治療群の大腿骨は骨形成が改善され、ほぼ正常な形態を示した。ALP染色の結果、正常マウスと同部位に陽性部位が確認された。以上の結果から、安全性に考慮した胎児遺伝子治療法は、今まで対応できなかったHPP患者を治療できる可能性を示唆しており、臨床において非常に重要な意義をもつと考える。

日時：9月5日（金）16:50-17:30

会場：G会場（会議場3階 33会議室）

座長：工藤 保誠（徳大 院医歯薬 口腔生命）

## 一般演題（口演）腫瘍1（01-PM-G1～4）

### 01-PM-G1 「抗体小分子を用いた近赤外光免疫療法を応用した、唾液腺癌に対するTheranosticsの試み」

山口 晴香<sup>1</sup>、森田 貴雄<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 生化学)

近年、近赤外光免疫療法（NIR-PIT）が新たな癌治療法として注目されている。NIR-PITとは、癌細胞の表面にある受容体を標的とするモノクローナル抗体（mAb）に光感受性物質であるIR700を結合させた複合体を用いる光線療法である。複合体が癌細胞表面にある受容体に結合した際に近赤外光を照射すると、IR700の光化学反応により複合体の凝集が起こり、特異的に癌細胞の細胞膜を破壊することができる。私達はこれまで、従来用いられるmAbの代わりに抗体小分子であるAffibodyを用いることで、より迅速で副作用の少ないNIR-PITの実現可能性を報告してきた。本研究では、ヒト上皮成長因子受容体（EGFR）発現の顎下腺癌に対してAffibodyを用いたNIR-PITを行い、治療（Therapy）

と診断（Diagnosis）の融合であるTheranosticsに応用することを目指した。

ヒト顎下腺癌細胞株（A253）を免疫不全マウスの顎下腺に注射し、顎下腺癌のマウスモデルを作製した。EGFR Affibody-IR700複合体を尾静脈より注射し、リアルタイムイメージング下で顎下腺癌を摘出した。その後NIR-PITを行い、癌細胞を根治させる可能性を検討した。EGFR Affibody-IR700複合体は注射から数秒で顎下腺癌に集積し、画像診断を可能にした。NIR-PITでは正常組織に影響を与えずに、癌細胞特異的に治療することができた。Affibodyを用いた NIR-PITは従来のNIR-PITより効率的な治療を行い、唾液腺の機能を可及的に維持できる可能性がある。

### 01-PM-G2 「ICG 併用光線力学療法（ICG-PDT）が TGF-β 1 誘導性 EMT に与える影響」

胡 迪嘉<sup>1</sup>、沖永 敏則<sup>1</sup>、谷本 啓彰<sup>1</sup>、岩田 有弘<sup>1</sup>、山本 一世<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>大歯大 歯科保存)

近年、慢性炎症や微小環境の変化が腫瘍発生に関与するという視点も注目されている。Transforming Growth Factor (TGF) -β1は、炎症と腫瘍発生の両方に関与する重要な因子であり、特にTGF-β1は上皮間葉転換（EMT）を誘導することで、細胞の転移を促進することが知られている。光線力学療法（PDT）は特定波長の光と光感受性物質を組み合わせることで細胞内で活性酸素種（ROS）を生成し、細胞の活動や機能を調節する治療法であり、歯科領域でも注目されている。PDTは、歯周病の予防や慢性炎症に由来する異形成病変の進行抑制への応用が期待されている。本研究では、光感受性物質として近赤外光（約850 nm）を吸収しROSを生成するインドシアニングリーン（ICG）を使用したICG

併用PDT（ICG-PDT）を用いて、TGF-β 1 誘導性EMTおよび関連経路への影響を検討した。

口腔領域モデルとしてヒト舌扁平上皮癌由来SAS細胞を使用し、TGF-β1とPDTによる処理を行った。顕微鏡観察とスクラッチアッセイにより、TGF-β1は細胞形態の変化と遊走能の増加を引き起こし、EMTを促進することがわかった。ウェスタンブロッティングと定量PCRにより、上皮性マーカーであるE-カドヘリンの減少と間葉性マーカーであるN-カドヘリンの増加が確認された。一方、ICG-PDT処理後にはN-カドヘリンの発現と細胞遊走能の低下が認められた。

以上の結果から、殺菌効果だけでなく、保存治療の補助療法としてのPDTの新たな意義を示している

## 01-PM-G3 「アモキシシリンはミトコンドリアを介してシスプラチンの抗癌効果を高める」

高見 芳野<sup>1</sup>、佐藤 友昭<sup>1</sup>、富田 和男<sup>1</sup>、五十嵐 健人<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 鹿大 院医歯 薬理)

アモキシシリン(AMPC)は細菌の細胞壁に作用する抗菌薬であるため真核生物に影響はないと考えられてきた。ところが近年、真核生物の細胞膜及びミトコンドリア膜に存在するペプチドトランスポーター(PEPT1/2)がAMPCを取り込むことが報告された。このことから、AMPCが真核細胞の機能に影響を与えることが示唆されるが、これまでにAMPCのヒト細胞への影響を調べた報告はほとんどなかった。そこで、AMPCのヒト細胞への影響を調べるため、培養細胞にAMPC処理を行いその影響を解析した。その結果、癌細胞ではミトコンドリア由来活性酸素(mtROS)の産生が上昇し、ミトコンドリア膜電位とミトコンドリア内Fe<sup>2+</sup>量が低下するが、正常細胞には影響がない事が分かった。次に、

mtROS増大により抗癌作用を示すシスプラチンを用いてAMPCがシスプラチンの増感作用を示すかを検討したところ、シスプラチン単独処理に比べて、AMPC事前処理により癌細胞の細胞生存率が有意に低下した。この増感効果は、鉄キレート薬であるフェナントロリンによって阻害されたため、フェロトシスによる細胞死がこの効果に関与することが示唆された。さらに、ドセタキセルではAMPCによる増感効果は見られなかった。PEPT1/2の発現量を調べたところ、その発現は正常細胞に比べ癌細胞で亢進していた。癌細胞ではAMPCがより多く取り込まれることによりミトコンドリア機能障害が生じ、抗癌剤の効果が増強されることが示された。

## 01-PM-G4 「神経ペプチド受容体 VIPR2 による受容体型チロシンキナーゼ PDGFRβの制御」

浅野 智志<sup>1</sup>、吾郷 由希夫<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 広大 院医系科学 細胞分子薬理)

Gタンパク質共役型受容体(GPCR)と受容体型チロシンキナーゼ(RTK)は異なるクラスの細胞膜受容体であるが、これらは相互作用しヘテロマーを形成するものも存在し、リガンドとの相互作用やシグナル伝達、トラフィッキング等において、個々の受容体とは異なる動態や機能を示す可能性がある。血管作動性腸管ペプチド(VIP)受容体2(VIPR2)は、クラスBのGPCRであり、我々は最近、VIP-VIPR2シグナルが乳がん細胞の増悪化に関与していることを明らかにした(Asano *et al.*, *Front Oncol* 2022; *Peptides* 2023; *J Pharmacol Sci* 2024; *Br J Pharmacol* 2025)。本研究において、我々はVIPR2結合タンパク質の解析によって、VIPR2がクラスIIIのRTKである血小板由来増殖因子受容体PDGFRβ

と相互作用することを発見した。いくつかのVIPR2切断変異体を作製し、結合assayを行ったところ、VIPR2の膜貫通領域3-4(TM3-4)がPDGFRβと結合することを見いだした。このTM3-4領域を安定発現させた乳がん細胞では、PDGF-BB誘導性の細胞遊走が抑制されていた。TM3-4の発現は、検討した数種のRTKのなかではPDGFRβの発現量のみを減少させており、リソソームの分解系を阻害するとTM3-4によるPDGFRβの減少が部分的に回復した。以上の結果は、VIPR2がPDGFRβと結合することでPDGFRβを分解から保護していること、またPDGFによる乳がん細胞遊走にVIPR2/PDGFRβヘテロマーが関与する可能性を示している。

日時：9月7日（日）9:00-9:30

会場：B会場（会議場1階 11会議室）

座長：中富 満城（産業医大 産業保健 人間情報）

## 一般演題（口演）軟骨（03-AM-B1～3）

### 03-AM-B1 「マウス下顎発生過程におけるメッケル軟骨の部位特異的分解機構」

中村 恵<sup>1</sup>

（<sup>1</sup> 東北大 院歯 顎口腔組織発生）

下顎発生過程において一時的に出現するメッケル軟骨は部位により運命が異なる。左右メッケル軟骨の前方端は癒合して軟骨結合を形成後骨化し、後方端は軟骨内骨化により耳小骨になる。中間部の大部分は生後間もなく消失するが、その分解機構は完全には解明されていない。本研究では、マウスの下顎第一臼歯近心側、咬頭頂付近、遠心側に近接するメッケル軟骨の消失を組織学的に検討した。軟骨を検出するためにアルシアンブルー染色を行ったところ、胎生16日では軟骨分解はみられなかったが、胎生18日と生後1日において近心側から遠心側に向かい軟骨分解の進行が認められた。生後3日ではメッケル軟骨は消失していた。次に、破軟骨細胞を検出するためにTRAP染色を行った。

近心側と咬頭頂付近では胎生18日から生後1日にかけてTRAP陽性細胞がメッケル軟骨の周囲から内部に侵入する像が観察されたが、遠心側ではTRAP陽性細胞の侵入は認められなかった。そこで破軟骨細胞が存在しないc-fos遺伝子欠損マウスを調べたところ、生後7日において近心側のメッケル軟骨は残存していたが、遠心側では消失していた。さらに、生後1日の野生型マウスを用いてMMP-9の免疫染色を行ったところ、遠心側においてメッケル軟骨を構成する軟骨細胞にMMP-9の発現がみられた。以上のことから、メッケル軟骨中間部の前方は破軟骨細胞により分解され、後方は軟骨細胞により分解されることが示唆された。

### 03-AM-B2 「ラット顎関節関節円板の構造上の特徴 - 密な結合組織板か線維軟骨か? -」

柴田 俊一<sup>1</sup>、高橋 昌己<sup>1</sup>、渋井 徹<sup>1</sup>、武智 正樹<sup>2</sup>、入江 一元<sup>1</sup>

（<sup>1</sup> 北医療大 歯 解剖、<sup>2</sup> 科学大 院医歯 顎顔面解剖）

【目的】顎関節関節円板は密な結合組織板か線維軟骨かというのは歴史的な議論である。ラットでは生後5 - 6ヶ月で軟骨細胞が出現するという報告があり。本研究はそれを追試し議論に一考を加える。

【方法】生後20週 Wistarラットを用いた。解析は通法に従って免疫組織化学、*in situ* hybridization およびTEM観察で行った。

【結果】関節円板前方肥厚部は密な collagen 線維束が交錯し、その間隙に大型、円形で明調な軟骨様細胞が観察された。この細胞は微細構造学的に軟骨細胞の構造上の特徴を有していた（形態学的軟骨細胞とする）。しかし細胞内小器官の発達は悪く軟骨細胞の周囲に見られる細胞周囲基質は認められなかった。Aggrecan

の免疫染色は細胞外基質に散在していたが形態学的軟骨細胞の Acan 遺伝子発現は認められなかった。Type II collagenの免疫染色は同細胞内に認められたが細胞外基質では散在的であり Col2a1 遺伝子発現は認められなかった。HIF-1 $\alpha$ （低酸素環境のマーカー）は同細胞に強く認められ、CD31陽性毛細血管の円板内侵入は認められなかった。

【考察】20週ラット関節円板の一部に形態学的軟骨細胞が認められたが、この細胞の出現は積極的に軟骨基質を分泌するというよりも、低酸素環境に順応するための変化と考えられ、ラット関節円板は線維軟骨ではなく密な結合組織板とするのが妥当であると考えられた。

**03-AM-B3 「飼料の硬さがマウス下顎頭軟骨の septoclast の分布に及ぼす影響」**鈴木 海登<sup>1</sup>、坂東 康彦<sup>2</sup>、長坂 新<sup>2</sup>、藤井 みゆき<sup>2</sup>、天野 修<sup>2</sup>( <sup>1</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科、<sup>2</sup>明海大 歯 組織)

【背景】我々はこれまでに非石灰化軟骨の吸収に関与するseptoclastのマウス下顎頭における局在を示した。下顎頭軟骨の成長は頭蓋骨の成長や咀嚼等の影響を受けるため、骨端板とは異なる特徴がある。そこで本研究では、咀嚼による下顎頭への負荷の軟骨吸収に及ぼす影響を調べるため、飼料の硬さの違いによるマウス下顎頭軟骨のseptoclastの分布の違いを調べた。

【方法】ddyマウスの生後3週齢(P3w)、及びP3wに対し固形飼料と粉末飼料を与えP6w、P8wになるまで飼育し、それぞれコントロール群と実験群とした。一次抗体にはE-FABP(septoclastマーカー)を使用し、免疫組織化学的染色を行い光学顕微鏡または共焦点レーザー顕微

鏡で観察した。細胞数は前方部、中央部、後方部において、骨軟骨境界部の50×300 $\mu$ mの領域で計測した。

【結果と考察】細胞計測の結果、P6wでコントロール群と実験群にseptoclastの総数に大きな違いはないものの、前方部では実験群はコントロール群の約71%と少なく、中央部では実験群はコントロール群の約196%と多かった。後方部では実験群はコントロール群の約140%と多かった。P8wではコントロール群、実験群ともにseptoclastはほとんど見られなくなっていた。以上の結果から、咀嚼時の下顎頭への負荷の違いによる下顎頭の成長の変化がseptoclastの細胞の分布に影響を及ぼすことが示唆された。

日時：9月7日（日）9:50-10:30

会場：B会場（会議場1階 11会議室）

座長：篠田 雅路（日大 歯 生理）

## 一般演題（口演）神経（03-AM-B4～7）

### 03-AM-B4 「前腕皮弁に關与する脈管・神経のヴァリエーションと皮弁採取時に注意すべき破格の存在」

森田 一真<sup>1</sup>、鈴木 佐弥子<sup>1</sup>、松永 智<sup>1,2</sup>、石束 叡<sup>1</sup>、廣内 英智<sup>1</sup>、田中 智人<sup>1</sup>、  
楊 天意<sup>1</sup>、宮本 依利<sup>1</sup>、関谷 凌<sup>1</sup>、阿部 伸一<sup>1,2</sup>

（<sup>1</sup>東歯大 解剖、<sup>2</sup>東歯大 口腔科学研究センター）

【目的】前腕皮弁は薄く柔軟性をもち血管調節性に優れているため、頭頸部再建に頻繁に用いられてきた。前腕部の血管や神経系のヴァリエーションは少ないとされる一方で、皮弁採取時の主要血管損傷や神経損傷による麻痺などの併発症をきたす可能性も指摘されている。そこで本研究では、前腕皮弁の血管柄となる動静脈の走行と、皮弁採取領域に分布する神経系のヴァリエーションについて検索し、前腕皮弁採取において発生しうる併発症とその解剖学的要因について明らかにすることを目的とした。

【方法】東京歯科大学解剖学講座所蔵の実習用遺体24体48側を用いた。前腕を剖出し、橈骨動脈、尺骨動脈、橈骨神経、外側前腕皮神経をはじめとする脈管・神経の走行と周囲組織との位置関係について検索した。

【結果】橈骨動脈は大多数が教科書的な走行を示していたが、尺骨動脈は前腕皮弁領域内における走行異方性を認めた。前腕皮弁領域内の橈骨神経浅枝は、多数が皮弁領域内の深層を走行していた。これに対し、外側前腕皮神経の半数は橈骨動脈の浅層を重なるように走行していた。

【考察】前腕皮弁を挙上するにあたり、尺骨動脈の走行如何によっては前腕皮弁採取時に思わぬ損傷をきたし、手術中止につながる可能性が示唆された。また、多くの文献で橈骨神経浅枝の障害による術後麻痺について言及されているが、本研究結果から外側前腕皮神経の損傷による麻痺が起きている可能性が示唆された。

### 03-AM-B5 「視床ニューロンの樹状突起スパインの形態学的解析から、情報処理メカニズムを考察する」

倉本 恵梨子<sup>1</sup>、後藤 哲哉<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>鹿大 院医歯 機能形態）

スパインは、興奮性シナプスの情報伝達を担う、樹状突起の小さな隆起物である。スパインは、シナプス入力に応じて形態が動的に変化する、形態可塑性をもつ。大脳皮質では、スパインが学習や記憶など重要な脳機能を果たしていることが解明されている。これに対して視床ニューロンについては、現在まで、スパインに注目した研究がなされていない。本研究ではハンガリーのAcsady Laszro教授、京都大学の井上謙一先生と共同で、さまざまな視床核についてスパインの形態学的解析を行った。ゴルジ染色法、ウイルス標識法、細胞内記録法、どの方法においても視床ニューロンの樹状突起に、スパインの存在が確認できた。また、げっ歯類だけでなく、マカクザルの視床ニューロ

ンにもスパインが認められたことから、進化的に保存された重要な構造であることが示唆された。スパインは細胞体付近では密度が低く、樹状突起の遠位部に高密度に分布した。ほとんどのスパインには、大脳皮質または皮質下のニューロンに由来する、興奮性の軸索終末が入力し、抑制性の軸索終末は、あまり近接していなかった。スパイン間の距離は非常に短く（ $\leq 4 \mu\text{m}$ ）、スパイン間での相互作用が示唆された。スパインの中でも特に高い可塑性を示すmushroomタイプが、Parafascicular nucleusとCentral medial nucleusに高い割合で存在したことから、これらの視床核は、他とは異なる様式で、情報処理を行うことが示唆された。

## 03-AM-B6 「アルツハイマー型認知症に性差をもたらす分子機構の解明」

溝上 顕子<sup>1</sup>、杜 海妍<sup>2</sup>、佐野 朋美<sup>2</sup>、山脇 洋輔<sup>3</sup>、自見 英治郎<sup>1,4</sup>、兼松 隆<sup>2</sup>(<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>3</sup>第一薬大 薬 薬物治療、<sup>4</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)

アルツハイマー型認知症 (AD) には明確な性差があり、患者の約3分の2が女性である。AD 患者の脳では、アミロイドβ(Aβ)が蓄積し、病態の進行に寄与していると考えられている。ミクログリアは、脳内の免疫細胞としてAβを貪食し、除去する働きがある。その除去機構のひとつであるオートファジーの低下は、AD悪化の一因となる可能性がある。我々は、男性でAD発症率が低いことに着目し、テストステロンがミクログリアのオートファジー活性を制御して、ADの性差に寄与する可能性を検討した。ADモデルマウス (5xFAD) の精巣を摘出し、テストステロンレベルを低下させると

ミクログリアにおけるオートファジーの抑制とAβ蓄積の増加が見られたが、テストステロンの補充により改善された。ミクログリア由来細胞株MG6を用いた解析により、このテストステロンの作用はnon-genomicなテストステロン受容体であるGタンパク質共役型受容体GPRC6Aを介したものであることが示された。さらに男女AD患者の死後脳皮質でも、女性で顕著なAβ蓄積とミクログリアにおけるオートファジー活性の低下が観察された。以上のことから、テストステロンによるミクログリアのオートファジー活性化がADの性差の一因となっていることが示唆された。

## 03-AM-B7 「慢性間歇的低酸素負荷によって生じる睡眠中の顎筋活動の変化」

簗田 宜子<sup>1,2</sup>、片桐 綾乃<sup>1</sup>、田中 晋<sup>2</sup>、加藤 隆史<sup>1</sup>(<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔生理、<sup>2</sup>阪大 院歯 口外1)

【目的】閉塞性睡眠時無呼吸 (OSA) は睡眠時ブラキシズムの危険因子とされているが、OSAと睡眠中の顎筋活動の病態生理学的な関係性は不明である。本研究では、OSA患者が曝される慢性間歇的低酸素 (chronic intermittent hypoxia: CIH) 状態に着目し、CIH負荷によって生じる三叉神経前運動ニューロンの活動性と睡眠中の顎筋活動の変化を検討した。

【方法】雄性SDラット用い、7日間のCIH (最低酸素濃度: 5%、6分周期、1日6時間) を負荷したCIH群と、CIHを負荷しない対照群を作製した。CIH負荷後に灌流固定を行い、三叉神経前運動ニューロンが存在する橋・延髄領域の神経核におけるFosB (慢性的な細胞の興奮性を示すマーカー) 陽性細胞数を、免疫組織学的に解析

した。さらに、CIH負荷後に脳波と顎筋の筋電図を24時間記録し、睡眠中の顎筋活動を解析した。

【結果】観察した三叉神経前運動ニューロンが存在する全ての領域において、対照群と比べ、CIH群では有意に多くのFosB陽性細胞を認めた。CIH負荷後の睡眠量は、両群で差を認めなかった。明期・暗期のノンレム睡眠中に生じるArousal時、および明期のレム睡眠中に生じるArousal時に、対照群と比べてCIH群では顎二腹筋の筋活動が有意に高かった。しかし、咬筋の筋活動は両群で差を認めなかった。

【結論】CIH負荷により、顎筋活動に関与するニューロン群の活動が亢進し、睡眠中のArousal時に開口筋の活動が増加することが示唆された。

日時：9月7日（日）9:00-9:40

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：沖永 敏則（大歯大 細菌）

## 一般演題（口演）微生物1（03-AM-D1～4）

### 03-AM-D1 「コラーゲン結合タンパク質を搭載する *Streptococcus mutans* のメンブレンベシクルの解析」

村田 貴俊<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>鶴大 歯 口腔衛生）

【目的】コラーゲン結合タンパク質（CBP）を発現する *Streptococcus mutans* は、脳卒中をはじめとする循環器疾患の発症に関与する可能性が、疫学的に示唆されている。しかしながら、循環器病変部位から *S. mutans* が直接検出される例は少なく、CBP陽性 *S. mutans* による疾患誘発メカニズムは不明である。そこで本研究では、CBP陽性 *S. mutans* が分泌するメンブレンベシクル（membrane vesicle: MV）に着目し、MVがCBPの運搬を担う可能性を検討した。

【方法】CBP陽性 *S. mutans* OMZ175株の培養上清を0.45 μmフィルターで濾過後、限外濾過で濃縮し、PBSで透析した。得られた透析液と、超遠心によって回収した沈殿物に対し、ウエスタンブロット法および免疫電子

顕微鏡による解析を行った。

【結果】ウエスタンブロット解析の結果、菌体内のCBPは100 kDa未満のバンドとして検出された一方、培養上清中には100 kDaを超えるバンドが確認された。さらに、免疫電子顕微鏡観察により、CBPがMVの表面に局在していることが明らかとなった。

【結論】CBP陽性 *S. mutans* は、CBPを搭載したMVを分泌することで、循環器疾患の発症に関与している可能性がある。MVを介したCBPの運搬は、新たな病原因子の分泌・伝播メカニズムを示唆しており、その病原性の解明にはさらなる研究が必要である。

（会員外研究 協力者：宮之原真由、山下万美子、山田秀則、梁 洪淵、堀江哲郎、田中とも子）

### 03-AM-D2 「歯周病原菌細菌の培養上清中の短鎖脂肪酸はヒト多形核白血球の細胞死を誘導する」

堀越 大地<sup>1</sup>、津田 啓方<sup>2</sup>

（<sup>1</sup>日大 口外Ⅱ、<sup>2</sup>日大 歯 生化）

歯肉溝に蓄積したプラーク細菌は高濃度の短鎖脂肪酸（SCFA）などの因子を放出し、歯肉溝には多形核白血球が浸潤する。本研究では、歯周病原細菌が産生する因子がヒト多形核白血球の細胞死に及ぼす影響を検討した。日本大学歯学部倫理委員会の承認のもと（承認番号EP22D012）、健康なボランティアより採取した末梢血から密度勾配遠心法により多形核白血球を分離した。次に、各種歯周病原細菌を液体培地で培養し、濾過滅菌した培養上清を調製した。細菌培養上清を多形核白血球に4時間作用させ、SYTOX-green染色を用いて細胞膜破壊を伴う細胞死を評価したところ、供試した全ての菌種の細菌培養上清は、コントロールと比較

して有意に多い細胞死を誘導した。また、多形核白血球からはNeutrophil extracellular traps (NETs) 様の構造物が放出されているのが確認された。細菌培養上清に含まれるSCFAをそれぞれ多形核白血球に作用させたところ、供試した全てのSCFAは濃度依存的に細胞死を誘導した。細菌培養上清中の各SCFAの濃度情報を参考に細菌培養上清を模倣したSCFA混合溶液を作製し、多形核白血球に作用させたところ、どのSCFA混合溶液もコントロールと比較して有意に高い細胞死を誘導した。これらのことから、歯周病原細菌の産生する短鎖脂肪酸がNETs様構造を伴う細胞死を引き起こすことが示唆された。

03-AM-D3 「Ursolic acidの抗菌活性に拮抗する *Porphyromonas gingivalis* 菌体成分」

佐藤 祐太郎<sup>1</sup>、石原 和幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 東歯大 微生物)

歯周病は、歯肉縁下細菌叢のディスバイオーシスにより引き起こされる歯周組織の炎症である。*Porphyromonas gingivalis*はディスバイオーシスを引き起こすkeystone pathogenと考えられている。これまでにursolic acid (UA)をはじめとした五環性トリテルペンは、抗*P. gingivalis*活性を有することが示されている。我々は*P. gingivalis*の菌体に、UAの抗菌活性に拮抗する成分が含まれることを認め、その単離精製を行った。

*P. gingivalis* ATCC 33277の菌体超音波破碎液を遠心分離し、得られた上清画分を酢酸エチルを用いて分液した。分液により得られた酢酸エチル層を乾固し、順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し

た。抽出後および精製後UAの*P. gingivalis*抗菌活性に対する拮抗活性を測定した。得られた画分の成分は薄層クロマトグラフィーの観察により単離を確認した。拮抗活性を有する画分に対しては、質量分析および核磁気共鳴を用いて構造決定を行なった。

得られた画分に含まれる成分は1,3-di(13-methyltetradecanoyl)glycerolであり、本化合物が天然から単離されたのは今回が初である。今後はUAの抗*P. gingivalis*活性と本化合物の関わりについて調べていく予定である。

共同研究者: 栗本慎一郎, 久保田高明 (岡山大学学術研究院医歯薬学域)

03-AM-D4 「Hypoxia drives progression of multiple sclerosis by enhancing the inflammasome activation in macrophages with *Porphyromonas gingivalis* infection」

Tokuju Okano<sup>1</sup>、Toshihiko Suzuki<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> SCIENCE TOKYO Dept Bacter Pathogenesis)

*Porphyromonas gingivalis* (Pg), a gram-negative anaerobic bacterium, is a leading pathogen causing periodontitis. It secretes several virulence factors, including gingipains, lipopolysaccharides (LPS), and outer membrane vesicles (OMVs), which can trigger the release of inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1 $\beta$ , tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ), and IL-6 through inflammasome activation and Toll-like receptor (TLR) signaling. Additionally, we observed that toll-interleukin-1 receptor domain-containing adaptor-inducing interferon- $\beta$

(TRIF)-mediated hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ) regulation exacerbates inflammasome activation under hypoxia. Notably, HIF-1 $\alpha$  deficiency in myeloid cells reversed neurological symptoms and reduced IL-1 $\beta$  and IL-17 production in a mouse model of multiple sclerosis with Pg infection. Our findings indicated that hypoxia modulates inflammasome activation in response to periodontitis-related bacterial infections, contributing to the progression of autoimmune diseases.

日時：9月7日（日）10:00-10:30

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：吉田 明弘（松歯大 細菌）

## 一般演題（口演）微生物2（03-AM-D5～7）

### 03-AM-D5 「共生細菌由来細胞外小胞を基盤とした免疫寛容誘導型の経口粘膜炎症治療薬の開発」

渡辺 崇広<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>Joslin Diabetes Ctr, Sect Pathophysiol & Mol Pharmacol、<sup>2</sup>Harvard Med Sch, Dept Microbiol、<sup>3</sup>名大 医 ウイルス)

【緒言】扁平苔癬やがん関連粘膜炎といった炎症性口腔粘膜疾患は、歯科領域における未解決課題である。治療戦略はステロイドや抗TNF製剤といった生物学的製剤に限られ、長期使用による副作用の懸念がある。本研究では、共生細菌の免疫寛容誘導能に着目し、共生細菌由来の細胞外小胞 (extracellular vesicles: EV) を経口投与可能な粘膜炎症治療薬としての有効性を評価した。

【方法】マウス最小構成菌群であるAltered Schaedler Flora 8菌株の培養上清をマウス骨髄由来樹状細胞に添加し、サイトカイン動態および制御性T細胞の誘導能を評価した。サイズ排除クロマトグラフィーにより免疫寛容性を示す画分を同定した。免疫寛容を誘導する特定菌株についてトランスポゾン変異体ライブラリ

を、宿主側にはCRISPR/Cas9ライブラリを構築し、分子経路を網羅的に探索した。さらに、DSS誘導性粘膜炎症マウスモデルにおいてEVを経口投与し、炎症スコアを評価した。

【結果】*Parabacteroides goldsteinii*培養上清から分離した細胞外小分画は、免疫抑制性サイトカインの産生を促進した。網羅的な分子経路の解析により自然免疫応答を中心とした多面的な免疫制御機構の関与が明らかとなった。DSS誘導性粘膜炎症モデルにおいては、EV経口投与群において炎症スコアの有意な改善が認められた。

【結論】共生細菌由来EVは、新たな免疫寛容誘導型の経口粘膜炎症治療薬としての可能性を示した。

### 03-AM-D6 「三次元肺組織モデルを用いた肺炎球菌感染が引き起こす上皮バリア傷害の解析」

赤松 由佳子<sup>1</sup>、住友 倫子<sup>2</sup>、高原 悠樹<sup>3</sup>、広瀬 雄二郎<sup>4</sup>、山口 雅也<sup>5</sup>、中田 匡宣<sup>6</sup>、秋山 茂久<sup>1</sup>、明石 満<sup>7</sup>、川端 重忠<sup>4,8</sup>

(<sup>1</sup>阪大 歯病障害歯、<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔微生物、<sup>3</sup>阪大 院歯 クラウンブリッジ、<sup>4</sup>阪大 院歯 口腔細菌、<sup>5</sup>医薬健栄研・細菌情報、<sup>6</sup>鹿大 院医歯 口腔微生物、<sup>7</sup>阪大、<sup>8</sup>阪大 感染症総合教育研究拠点)

肺は病原微生物の侵入に対する生体防御の要となる。病原微生物とヒト肺組織の相互作用に関する解析は、肺炎病態を理解するうえで重要である。我々はこれまでに、細胞外マトリックス成分であるフィブロネクチンとゼラチンを用いる細胞コート法により、ヒト正常肺線維芽細胞とヒト細気管支上皮細胞 (Calu-3) から構成される三次元肺組織モデルを構築した。本研究では、当該モデルに肺炎患者から分離された肺炎球菌D39株 (血清型2) を頂端部位から感染させ、HE染色、TUNEL染色、および蛍光免疫染色 (E-カドヘリンと肺炎球菌の莢膜) により、感染による細気管支上皮バリアの傷害を評価した。HE染色像では、肺炎球菌の感染

による形態学的な組織構造の破綻は認められなかった。一方で、非感染時と比較して、感染によるTUNEL陽性細胞の有意な増加が認められた。また、蛍光免疫染色像の観察により、非感染時と比較して、感染によるE-カドヘリンの染色性低下が認められた。さらに、蛍光免疫染色像を用いて作製した三次元立体構築像では、感染時に菌体のE-カドヘリン発現部位への局在と線維芽細胞層への侵入が認められた。以上の結果から、肺炎球菌の感染により細気管支上皮バリアが傷害され、菌体が細胞間隙部位から組織深部へ侵入することが示唆された。

## 03-AM-D7 「壊死性筋膜炎発症メカニズム解明を目的とした非貫通性外傷モデルの確立」

大野 誠之<sup>1,2</sup>、広瀬 雄二郎<sup>1</sup>、川端 重忠<sup>1,3</sup>( <sup>1</sup> 阪大 院歯 微生物、<sup>2</sup> 阪大 院歯 バイオインフォ、<sup>3</sup> 阪大 CiDER)

化膿レンサ球菌は、筋肉組織の急速な壊死融解を特徴とする壊死性筋膜炎を惹き起こす。急速な進行のため四肢切断が必要な場合もあり、詳細な発症機序の解明が求められている。従来、マウス後肢へ細菌を筋肉内注射する壊死性筋膜炎モデルが研究に採用されてきた。しかし、壊死性筋膜炎の臨床症例の約半数では皮膚の貫通性外傷に代表される明らかな感染経路が存在しない。一方、皮下の非貫通性外傷が壊死性筋膜炎の発症と関連するとの報告がある。そこで、壊死性筋膜炎の臨床経過を模倣する、非貫通性外傷モデルの開発を行った。

本研究では、分銅を落下させ、先端径5 mmの物体でマウス大腿二頭筋部に衝撃を与えるシリンダー様装置を作製した。受傷したマウスでは、皮膚の潰瘍を認め

ず、皮下および筋肉組織でのみ出血を来していた。

続いて、非貫通性外傷を片側大腿二頭筋に作製し、2日後に咽頭炎由来化膿レンサ球菌臨床分離株を尾静脈より投与したのち、感染1日後の両側大腿二頭筋における菌数を比較した。その結果、同一個体内において受傷側筋組織では健側に比べ有意に高い菌数が検出された。また、受傷側では病理組織学的に筋肉組織の壊死融解を認めた。

臨床経過を模倣した新規壊死性筋膜炎マウスモデルは、多臓器にわたる複雑な病態の解明に寄与する可能性がある。さらに、非貫通性外傷の存在する局所では、細菌が血行性に集積し、壊死性筋膜炎発症のリスクとなることが証明された。

日時：9月7日（日）9:00-9:50

会場：E会場（会議場2階 22会議室）

座長：吉田 竜介（岡大 院医歯薬 口腔生理）

## 一般演題（口演）唾液腺（03-AM-E1～5）

### 03-AM-E1 「顎下腺・舌下腺摘出後のラット耳下腺筋上皮細胞突起の伸長」

小野澤 豪<sup>1,2</sup>、長坂 新<sup>1</sup>、坂東 康彦<sup>1</sup>、藤井 みゆき<sup>1</sup>、鈴木 海登<sup>1,2</sup>、天野 修<sup>1</sup>  
 （<sup>1</sup>明海大 歯 組織、<sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科）

唾液腺の筋上皮細胞は、腺房型と導管型に分けられ腺房細胞による原唾液の分泌と導管部での唾液輸送を補助すると考えられている。唾液腺切除により、残存唾液腺組織では腺房型筋上皮細胞の突起の身長や肥大化、分岐の増大などの形態的变化が生じ唾液分泌の代償的亢進に関わることがわかってきた。ラット耳下腺には腺房型筋上皮細胞は存在せず、介在部導管に導管型のみが存在する。本研究では、導管型筋上皮細胞の代償性変化を調べる目的で顎下腺・舌下腺を全摘出後の耳下腺における変化を免疫組織化学的に調べた。8週齢Wistar系雄ラットを用い、両側顎下腺・舌下腺を摘出、2、4、8週後に灌流固定を行い両側耳下腺を摘出した。その後20 $\mu$ mの凍結切片を作成し筋上皮細胞

マーカー $\alpha$ SMA抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。さらに共焦点レーザー走査型顕微鏡で断層撮影し、三次元的解析を行った。摘出後2週で $\alpha$ SMA陽性の介在部導管型筋上皮細胞の突起がわずかに腺房周囲にまで伸びており、4週では介在部導管と腺房の表面をさらに長く取り囲む様に認められ、8週ではさらに顕著に認められた。腺房には筋上皮細胞の細胞体は認められなかったため、介在部の導管型筋上皮細胞の突起が伸びたものと考えられた。以上の結果から、唾液腺組織の減少による耳下腺からの唾液分泌を亢進するため、介在部導管型筋上皮細胞の突起が腺房まで伸び、腺房部での唾液分泌の増大にも寄与すると考えられた。

### 03-AM-E2 「唾液腺線維芽細胞のヘパラン硫酸鎖は唾液腺の発生と再生に関与する」

宇佐美 悠<sup>1,2</sup>、寺本 朱里<sup>1,3,4</sup>、Li-Jie Li<sup>1,5</sup>、廣瀬 勝俊<sup>1,2</sup>、豊澤 悟<sup>1</sup>  
 （<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup>阪大 感染症総合教育研究拠点、<sup>3</sup>済生会吹田病院 口外、<sup>4</sup>阪大 院歯 口外2、<sup>5</sup>台湾台北医学大学 歯学研究科）

唾液腺の発生には、腺房細胞や導管細胞に分化する上皮細胞と、周囲の間質細胞とが発現する成長因子とその受容体を介した相互作用が重要である。これらの成長因子に共通する特徴の一つとして、ヘパラン硫酸プロテオグリカンのヘパラン硫酸鎖（Heparan sulphate chain: HS鎖）への結合能が挙げられる。これらの成長因子は細胞表面のHS鎖に結合した状態で、細胞周囲に局在することにより受容体に結合し、機能する。本研究では、タモキシフェン依存性かつ線維芽細胞特異的にHS鎖を欠損するCol1a2CreER; Ext1K0マウス（Ext1K0マウス）を用いて、線維芽細胞の有するHS鎖の欠失が唾液腺の発生と再生に及ぼす影響を解析した。まず、顎下腺の発生過程を解析したところ、野

生型マウスと比較してEXT1K0マウスの胎生期顎下腺では、クレフトにより形成されたend budの腺管形成が遅延していた。細胞増殖活性を検討したところ、野生型マウスと比較してEXT1K0マウスのend budで細胞増殖活性が低下していた。次に、顎下腺導管結紮開放モデルを用いて顎下腺の再生過程を解析した。導管結紮解除後に再生した野生型マウスおよびEXT1K0マウスの顎下腺を解析したところ、EXT1K0マウスの再生顎下腺では、野生型マウスの顎下腺と比べて、腺房が小型で、唾液量の減少が認められた。以上のことから、線維芽細胞のHSCは唾液腺の発生と再生における腺房形成に重要であることが明らかとなった。

### 03-AM-E3 「Cdc42 は、アクチン-FoxO1-VAMP2 シグナル伝達経路を介して唾液腺の腺腔側膜形成を調節する」

設楽 彰子<sup>1</sup>、長瀬 春奈<sup>2</sup>、大野 雄太<sup>2</sup>、片岡 嗣雄<sup>1</sup>、佐藤 慶太郎<sup>2</sup>、柏俣 正典<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>朝日大 歯 生物、<sup>2</sup>朝日大 歯 薬理、<sup>3</sup>朝日大 歯 基礎教育)

外分泌を担う唾液腺腺房細胞では、多数の膜タンパク質が腺腔側膜に局在し、その極性分布は厳密に制御された小胞輸送により維持されている。低分子量GTPaseであるCdc42は小胞輸送や極性形成に関与するが、その生理的役割は完全には解明されていない。本研究は、マウス唾液腺をモデルとして、Cdc42による膜輸送と極性形成の分子機構を解明することを目的とした。

唾液腺腺房細胞特異的Cdc42コンディショナルノックアウトマウスでは腺腔形成不全が観察され、腺腔側膜タンパク質AQP5と輸送関連タンパク質Rab11Aが細胞質内に異所的に蓄積した。一方、基底側膜タンパク質NKCC1の局在には影響がなかった。これは、Cdc42が腺腔側方向への輸送を選択的に制御することを示してい

る。

分子レベルでの解析により、Cdc42欠損は小胞の膜融合に関わるVAMP2の発現減少をもたらした。*in silico*解析により、VAMP2プロモーターには転写因子FoxO1の典型的な結合モチーフが同定され、Cdc42欠損はFoxO1の核排除を引き起こすことが明らかになった。さらに、定量解析ではF-アクチンレベルが著しく低下し、Cdc42がアクチン細胞骨格を通じてFoxO1の核局在を調節することが示唆された。一方、PI3K-Aktシグナル伝達経路は影響を受けなかった。

本研究から、小胞輸送と遺伝子発現を統合し、極性を維持する新規シグナル伝達経路、Cdc42-アクチン-FoxO1-VAMP2調節経路が明らかになった。

### 03-AM-E4 「加齢および自己免疫疾患に起因する唾液腺の線維化・リンパ球集積に対する上皮間葉転換 (EMT)・partial EMT の関与」

四釜 洋介<sup>1</sup>、吉田 佳世<sup>1</sup>、大塚 邦紘<sup>2</sup>、石丸 直澄<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>長寿セ 口腔疾患研究、<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔病理、<sup>3</sup>科学大 院医歯 口腔病理)

【背景・目的】EMTは臓器形成、組織修復時にみられる他、組織の線維化、がんの浸潤や転移に関与している。近年細胞老化により誘導されるEMTが様々な疾患の病態形成に関与していることが報告されている。本研究の目的は、我々が樹立したマウス唾液腺上皮初代培養細胞、および老齢マウスやシェーグレン症候群(SS)モデルマウスを用い、EMTと唾液腺病態の関連性を明らかにすることである。

【材料と方法】3週齢C57BL/6Nマウスから唾液腺を摘出し、gentle MACS Dissociatorにより分散した。その後抗EpCAM抗体結合磁気ビーズを用い上皮細胞を単離し、培養した。この細胞はヘテロな細胞集団(腺房・導管上皮細胞)であることを確認している。老齢マウ

ス・SSモデル(NFS/sld)マウス唾液腺は免疫組織化学染色法を用い解析した。

【結果】唾液腺上皮細胞を複製老化させたところ、老化マーカーの発現増加とともにpartial EMTマーカー(TWIST1)およびEMTマーカー(Vimentin)発現が増加した。分泌形質の変化をPCRアレイで解析した結果、SPARC(オステオネクチン)が顕著に発現変化していることを見出した。組織学的解析からも、加齢・SSモデルでのTWIST1およびSPARC発現増加を確認した。

【結論】加齢やSSに起因する線維化・リンパ球集積に細胞老化やEMTを介した分泌形質の変化が関与する可能性が示唆された。

**03-AM-E5 「TGF $\beta$ 2-Driven Iron Dysregulation and Ferroptosis in Salivary Glands Trigger Hyposalivation Under Postmenopausal Conditions」**

Hyung-Sik Kim

(Department of Oral Biochemistry; Dental and Life Science Institute, School of Dentistry, Pusan National University)

Xerostomia, also known as dry mouth, is a salivary gland (SG) dysfunction characterized by reduced saliva secretion. Despite the high incidence of dry mouth in postmenopausal women, the underlying mechanisms and potential therapeutic interventions are less understood. In this study, using ovariectomized (OVX) mouse models, we identify ferroptosis as a central mechanism driving postmenopausal SG dysfunction. In OVX-SGs, the TGF $\beta$  signaling pathway is enhanced due to aberrant TGF $\beta$ 2 expression in SG mesenchymal cells. Interestingly, treatment with TGF $\beta$ 2 reduces iron-storing ferritin

levels, leading to lipid peroxidation and ferroptotic death in SG epithelial organoids (SGOs). TGF $\beta$ 2 promotes autophagy-mediated ferritin degradation, known as ferritinophagy. A significant overexpression of the type III TGF $\beta$  receptor (TGF $\beta$ RIII) is observed in OVX-SGs and TGF $\beta$ 2-treated SGOs. Finally, the administration of the ferroptosis inhibitor, Lipoxistatin-1 (Lip-1), improves saliva secretion in OVX mice. These findings suggest a critical link between TGF $\beta$  signaling, ferroptosis, and SG injury, offering new therapeutic avenues for treating postmenopausal xerostomia.

日時：9月7日（日）13:30-14:10

会場：B会場（会議場1階 11会議室）

座長：原田 英光（岩医大 歯 発生生物）

## 一般演題（口演）歯1（03-PM-B1～4）

### 03-PM-B1 「Wound healing reaction after pulpotomy of maxillary molars in SARM1 knockout rats」

Pemika Thongtade<sup>1</sup>、大倉 直人<sup>1</sup>、佐藤 友里恵<sup>2</sup>、Rosa Baldeon-Gutierrez<sup>1</sup>、高原 信太郎<sup>1</sup>、Meiwan Fang<sup>2</sup>、Meircurius Surboyo<sup>2</sup>、Susan Gomez-Kasimoto<sup>1</sup>、吉羽 永子<sup>3</sup>、野杵 由一郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, Div Cariol Oper Dent Endod、<sup>2</sup>Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, Ctr for Adv Oral Sci、<sup>3</sup>Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, Div Oral Sci Health Promotion)

This study aimed to compare reparative dentin formation after pulpotomy in wild-type (WT) and SARM1 knockout (KO) rats and to clarify the function of SARM1. Eight-week-old WT and SARM1 KO rats underwent pulpotomy of the maxillary first molar with mineral trioxide aggregates and were sacrificed on days 7 and 14 after the procedure. Healing was evaluated by histological analysis, including micro-CT and hematoxylin-eosin (H-E) staining, as well as immunofluorescence staining with antibodies against osteopontin (OPN), nestin,  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), and CD68. The results showed that reparative

dentin formation was significantly decreased in SARM1 KO rats compared with WT rats at both days 7 ( $p < 0.001$ ) and 14 ( $p < 0.002$ ). Furthermore, immunofluorescence staining revealed no significant difference in  $\alpha$ -SMA, nestin, and CD68 levels, and the increases of OPN positivity in the KO group. These results suggested that SARM1 inhibits reparative dentin formation after dental pulp injury without affecting the differentiation of mesenchymal stem cells into odontoblast-like cells or the migration of macrophages beneath the wound-healing site.

### 03-PM-B2 「カチオン化ヒドロキシセルロースゲル内蔵口腔内フッ化物徐放装置によるエナメル質耐酸性強化法」

佐藤 涼一<sup>1</sup>、杉原 直樹<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 衛生)

口腔内フッ化物徐放装置 (Intraoral Fluoride Releasing Device; IFRD) は長時間にわたって低濃度のフッ化物が歯質に効果的に取り込まれるフッ化物応用法である。本研究は光学印象と3Dプリンティング技術を応用した患者の口腔内に合わせた口蓋設置型の新規IFRDの設計・開発、および装置に内包されるカチオン化ヒドロキシセルロースを基材とした新規Slow releaseフッ化物ゲルの開発を目的とした。さらに、我々が新開発したカチオン化フッ化物徐放ゲルと非カチオン化ゲルのエナメル質耐酸性向上効果の違いをin vitroで明らかにすることを目的とした。IFRD用のゲルは、ヒドロキシセルロース(SE600)とカチオン化ヒドロキシセルロース(L200)を原料に合成した。蒸留水

に60分浸漬後の各ゲルの遊離フッ化物イオン濃度は、SE600が $0.68 \pm 0.08$  ppm、L200が $4.24 \pm 0.83$  ppmであり、カチオン化により大幅に増加することが明らかとなった。牛歯エナメル質と人工唾液による各ゲル応用後のエナメル質耐酸性を、実質欠損量および偏光顕微鏡観察、電子顕微鏡観察、マイクロラジオグラフィによる喪失ミネラル量および脱灰深度で定性および定量的に分析した。カチオン化したL200群はSE600群よりもミネラル喪失量および脱灰深度を有意に減少させ、エナメル質の耐酸性を向上させることが明らかとなった。本装置は予防歯科の臨床、口腔ケアが困難な病棟管理や介護施設、訪問歯科臨床への応用が期待できる。

## 03-PM-B3 「歯の形態形成過程における FAT ファミリー遺伝子の時空間的発現解析」

金城 聡一郎<sup>1</sup>、三好 圭子<sup>2</sup>、田中 栄二<sup>1</sup>、工藤 保誠<sup>2</sup>( <sup>1</sup> 徳大 院医歯薬 顎顔面矯正、<sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 口腔生命)

Fatファミリー遺伝子は、細胞極性や組織サイズを制御し形態形成に関与することが知られているが、歯の形態形成における役割は不明である。そこで本研究では、Fatファミリー遺伝子の歯の形態形成やサイズ制御への関与とその分子メカニズムの解明を目的とした。まず4種類のヒト口腔関連細胞株（マラッセの上皮遺残由来上皮細胞：OEC、歯根膜細胞、セメント芽細胞、歯髓細胞）よりRNAを抽出し、RT-PCR及びqPCR法にてFATファミリー遺伝子の発現を解析した。さらにC57BL/6マウス胎仔歯胚の薄切切片を用い、*in situ*ハイブリダイゼーション法にて遺伝子局在を解析した。また、*FAT2*遺伝子の機能評価のため、OECにsiRNAを用

いて*FAT2*をノックダウンし、細胞増殖・遊走・浸潤能を検討するとともに、RNA-Seqによる網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、Fatファミリー遺伝子の発現様式は細胞種により異なり、*Fat1*は上皮細胞と間葉細胞の双方に発現していたのに対し、*Fat2*は外エナメル上皮に特異的に発現していた。*FAT2*をノックダウンにより、OECの細胞増殖能には影響がなかったが、細胞遊走能は亢進した。さらにRNA-Seq解析では*Fat2*の関与する複数の遺伝子群の変動が確認された。以上より、*Fat2*は歯原性上皮細胞に特異的に発現し、歯の形態形成に関与する可能性が示唆された。

## 03-PM-B4 「象牙質異形成症 I 型特異的間葉系幹細胞における PITX2 発現抑制メカニズムの解明」

久本 由香里<sup>1</sup>、園田 聡一郎<sup>1</sup>、Mohammed Majd Sharifa<sup>1</sup>、Litng Yu<sup>1</sup>、Lisha Dai<sup>1</sup>、Arwa Mohamed Aboelmaged<sup>1</sup>、Ying Liu<sup>1</sup>、Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>、加藤 大樹<sup>1</sup>、山座 孝義<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 九大 院歯 分子口腔解剖)

【目的】象牙質異形成症 I 型 (DDI) は円錐形の短根歯または無歯根歯を特徴とする先天性の稀少疾患である。第66回本学術集会にて、我々はDDI患者の根尖乳頭組織から単離した間葉系幹細胞 (DDI-MS C) では転写因子PITX2の発現が著しく低下し、これがDDI-MS Cの細胞増殖能の低下と細胞周期の遅延を招いて歯根形成阻害に関与する可能性について報告した。そこで本研究ではDDIにおけるPITX2発現抑制メカニズムについて解析を行った。

【方法】PITX2上流シグナルであるWnt/ $\beta$ -cateninシグナルをウエスタンブロットング法により解析した。また、PITX2プロモーターにおけるエピジェネティック

ス解析を行った。

【結果】Cont-MS C と比較して、DDI-MS Cでは核内の $\beta$ -catenin発現が低下していたが、 $\beta$ -cateninと複合体を形成して転写活性化に関与するLEF1はDDI-MS Cで高発現していた。PITX2プロモーターにおけるエピジェネティクス解析の結果、DDI-MS Cではクロマチンアクセスビリティの著しい低下とH3K9およびH3K27のトリメチル化亢進が認められた。また、DDI-MS CではLEF1のPITX2プロモーターへの結合も阻害されていた。

【考察】以上の結果から、DDI-MS Cではエピジェネティック制御によりPITX2遺伝子の転写が阻害されている可能性が示唆された。

日時：9月7日（日）14:20-15:00

会場：B会場（会議場1階 11会議室）

座長：山田 良広（神歯大 歯科法医）

## 一般演題（口演）歯2（03-PM-B5～8）

### 03-PM-B5 「現代人の歯における咬耗と非う蝕性歯頸部硬組織欠損（NCCL）の関連」

榊 実加<sup>1</sup>、田口 千恵子<sup>2</sup>、岩崎 正敏<sup>3</sup>、松野 昌展<sup>1</sup>、塩崎 一成<sup>1</sup>、五十嵐 由里子<sup>1</sup>  
 （<sup>1</sup>日大松戸歯 解剖、<sup>2</sup>日大松戸歯 衛生、<sup>3</sup>日大松戸歯 顎口腔機能補綴）

【緒言】非う蝕性歯頸部硬組織欠損：くさび状欠損（NCCL）とは、歯頸部およびセメントエナメル接合部におけるう蝕以外の歯質の喪失と定義される。NCCLは、摩擦、化学的劣化、咬合負荷力などの理由で発生すると考えられている。咬耗は、歯と歯の接触によって生じるエナメル質と象牙質のすり減りである。本研究の目的は、NCCLの成因解明のために、咬耗量を咬合力の指標として咬耗量とNCCLとの関連を明らかにすることである。

【方法】本研究では、5808本の現代人の歯について、咬耗量とNCCLの有無との関連を調査した。咬耗量は、レベル1をエナメル質に限局しているもの、レベル2を

象牙質に達しているものと定義した。

【結果】12, 13, 14, 21, 23, 24, 26, 32, 34, 36, 44, 45, 46, 47（国際歯科連盟2桁システム）の歯において、咬耗量とNCCLの有無との間に関連が認められた。これらの歯のうち23を除き、NCCLがある歯ではNCCLがない歯よりも咬耗レベル2の歯の割合が高かった。4つの表面（唇側頬側、舌側、遠心側、近心側）において、咬耗レベル1とレベル2でNCCLの割合に有意差が認められ、レベル2では舌側のNCCLの割合が高かった。

【まとめ】本研究により、咬耗量がNCCLの発達を促進することが示唆された。

【COI】なし。

### 03-PM-B6 「日本人集団の頭頸部 MDCT の第三頸椎椎体の骨梁構造による性差および加齢変化に基づく性別判定法、年齢推定法」

落合 朗大<sup>1</sup>、岩脇 淳志<sup>1</sup>、坂 英樹<sup>1,2</sup>  
 （<sup>1</sup>明海大 歯 病態診断治療 歯科法医、<sup>2</sup>明海大 歯 歯法医セ）

身元不明遺体の個人識別のため、様々な性別判定法、年齢推定法が報告されている。第3頸椎は、頭頸部CTの撮影範囲に含まれ、大きさの差異を用いた性別判定法が報告されているが、加齢変化を用いた年齢推定法は報告されていない。そこで、頸椎椎体の骨梁構造を定量化し、性差および年齢との相関を分析したうえで、性別判定、年齢推定に有用であるか検証した。

診断・治療目的に撮影された頭頸部CT画像データを3次元画像解析ソフトに取りこみ、骨梁構造の構築を行った。計測項目は骨組織体積Tissue Volume(TV) [mm<sup>3</sup>]、骨体積Bone Volume (BV) [mm<sup>3</sup>]、骨表面積Bone Surface (BS) [mm<sup>2</sup>] とそれらを除いた骨体積密度BV/TV [%]、骨面骨組織体積比BS/TV [mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>]、骨面体積

比BS/BV [mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>]、及び骨梁幅 (Tb. Th) [mm]、骨梁数 (Tb. N) の9項目である。各測定項目の性差を検証し、性別判定式を作成した。また年齢との相関を検証し、年齢推定式を作成した。

TV、BV、BSで性差を認め、性別判定式の正解率は80%であった。年齢との相関は男女全員と女性でBV/TVにおいて最も強い負の相関を認め、男性はTVにおいて最も強い正の相関を認めた。年齢推定式は男女全体の実年齢との平均絶対誤差 (MAE) は12.26歳、男性、女性の性別判定式が最も良い精度であった。頸椎の骨梁構造を用いた性別判定法、年齢推定法は個人識別に有用である可能性が示唆された。

## 03-PM-B7 「歯学部法医学における法医解剖について」

山田 良広<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 神歯大 歯科法医)

【目的】神奈川歯科大学は医学部を併設していない歯学部で、国内で唯一法医解剖を日常的に行う大学である。歯学部で歯科医師が日常的に法医解剖に参加する意義について検討を行った。

【方法】2016年5月に現行の体制(常勤の医師1名と歯科医師5名)以降の解剖実績を用いた。

【結果】2016年から2025年3月の間に行われた解剖は司法解剖1206、死因・身元調査法解剖904、承諾解剖190で、解剖時に歯科医師による身元特定のための歯科所見採取は232件であった。そのほかにCT検案やCTを用いたスパーインポーズによる身元特定を行っている。

【考察】本学の法医学講座は歯学部法医学講座として1968年、東京歯科大学、日本大学歯学部に次いで開設

された。当時歯科医師が法医解剖に係わるのは、医学部法医学の研究室に所属する場合(常勤、大学院生、非常勤歯科医師)がほとんどであった。本学は設立以来、横地千仍教授・津田征郎教授が監察医として法医解剖を行い、2016年に長谷川巖教授が赴任後は教授が執刀、歯科医師2名が常時補助を行う体制で解剖を行っている。歯科医師は医師の立ち合いがあれば、法医解剖のうち司法解剖と承諾解剖の執刀は可能である。日常的に解剖に参加し経験を積み死体解剖資格を取ることは、慢性的な法医解剖執刀医数の伸び悩みを解消する一手段になる可能性もある。本学の法医解剖を行う歯学部法医学講座は、新たな歯科医師の社会貢献を生み出すと考える。

## 03-PM-B8 「AIによる下顎大臼歯の歯種鑑別」

五十嵐 由里子<sup>1</sup>、金子 美泉<sup>2</sup>、内木場 文男<sup>2</sup>、榊 実加<sup>1</sup>、松野 昌展<sup>1</sup>、塩崎 一成<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 日大松戸歯 解剖、<sup>2</sup> 日大 理工)

【目的】歯科医療と人類学への人工知能(AI)の応用を目的とした基礎研究として、下顎の大臼歯を鑑別するAIモデルを構築した。

【材料と方法】下顎左右の第一大臼歯と第二大臼歯それぞれ5本の抜去歯の動画を撮影し、その動画から静止画像を作成し、学習データ、検証データ、テストデータとした。畳み込みニューラルネットワーク(CNN)を使用した。歯の撮影方向の異なる3種類のモデル(モデル1:遠心面・咬合面・近心面の画像を用いたモデル、モデル2:頬側面・咬合面・舌側面の画像を用いたモデル、モデル3:遠心面・根面・近心面の画像を用いたモデル)を作成した。

【結果】モデル1の精度が最も高くなった。歯の種類を正しく鑑別する精度(ACR)は51.35%であり、左右を問わずに歯の種類を正しく鑑別する精度(ATCR)は81.91%となった。

【考察】モデル1の精度が最も高くなった理由は、頬側咬頭と舌側咬頭の両方が常に見える画像を用いたことによると考えられる。つまり下顎大臼歯の鑑別の鍵となる形態(key morphology)は頬側咬頭と舌側咬頭であると考えられる。今後データ数を増やし、データ処理の方法を改善することで、精度の向上を図る予定である。

【COI】なし

日時：9月7日（日）13:30-14:00

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：神力 悟（熊大 医・院 生命科学）

## 一般演題（口演）腫瘍2（03-PM-D1～3）

### 03-PM-D1 「酸性細胞外により誘導される *Ahnak*（desmoyokin 遺伝子）は occludin 遺伝子発現を介して密着結合に関与する」

加藤 靖正<sup>1</sup>、馬渡 琴織<sup>1,2</sup>、遊佐 淳子<sup>3</sup>

（<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔生化、<sup>2</sup>埼玉大 理 生体制御、<sup>3</sup>奥羽大 歯 口腔病理）

【目的】がん細胞は、旺盛なグルコース代謝により細胞外pH（pHe）が低下する。これは、好氣的解糖/Warburg effectとして広く知られている。私達は、酸性pHeが、がんの転移を促進する微小環境因子であることを提唱している。本研究では、マウス高転移性B16-BL6メラノーマ細胞を用いて酸性pHeにより発現が誘導される遺伝子うち、*Ahnak*（desmoyokin遺伝子）に注目し、細胞間接着関連分子への影響について検討した。

【方法】細胞はマウスB16-BL6メラノーマとマウス口腔がん細胞NR-S1細胞を用いた。これらの細胞に、レンチウイルスベクターを用いて*Ahnak* shRNAを発現させ、

*Ahnak*のノックダウン細胞を作成した。さらに細胞のクローン化を行った。

【結果】細胞間接着や上皮間葉系移行に関連する因子として、Cludin1（*Cldn1*）、Occludin（*Ocln*）、E-cadherin（*Cdh1*）、Vimentin（*Vim*）の各遺伝子発現を調べたところ、Occludin遺伝子の発現が*Ahnak* shRNA発現により低下することを見出した。この結果は、B16-BL6とNR-S1細胞の各クローン間でも同様であった。

【結語】酸性pHeは、*Ahnak*による*Ocln*発現制御を介して密着結合に関与することが示唆された。

### 03-PM-D2 「Aggregatibacter actinomycetemcomitans 由来の外膜小胞は EGF シグナルの活性化を介して膀胱癌細胞の上皮間葉転換を誘導する」

山口 雄大<sup>1</sup>、中尾 龍馬<sup>1</sup>、安部 公博<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>感染研 細菌第一部）

【背景・目的】歯周病が、予後不良癌の代表格である膀胱癌の発症の誘因となることが知られている。これまでの検討で、歯周病原細菌のAggregatibacter actinomycetemcomitans（Aa）由来の菌体外膜小胞（Aa-EVs）は、細胞膨化致死因子Cdt依存的に膀胱癌細胞にDNA損傷と上皮間葉転換（EMT）を誘導することが明らかになっている。本研究では、Aa-EVsを介したCdtの伝達が膀胱癌細胞にEMTを誘導するメカニズム解明を目的とした。

【方法・結果】RNA-seqを用いた網羅的遺伝子発現解析から、Aa-EVsで刺激したヒト膀胱癌由来細胞PANC-1では、Snai2やThy1などEMTの制御遺伝子の発現亢進が認められ、エンリッチメント解析でEMT経路の活性化と、

トランスフォーミング増殖因子(TGF)βシグナル経路の抑制が認められた。また、上皮成長因子(EGF)受容体のリガンドであるTGFαの発現がAa-EVs刺激により亢進していた。また、Aa-EVsで刺激したPANC-1ではEGFへの感受性が亢進していた。さらに、EGF受容体阻害薬、EGF受容体下流のERK1/2やAktの阻害薬によって、Aa-EVsで誘導される細胞遊走が有意に抑制されたが、EGF受容体中和抗体では遊走は抑制されなかった。

【まとめ・考察】Aa-EVsを介したCdtの伝達は、膀胱癌細胞にTGFαの産生誘導とEGFシグナル経路の活性化、EMT誘導をもたらした。これらの結果から、Aa感染随伴膀胱癌の悪性化においてTGFα-EGF受容体経路の活性化が重要な役割を果たしていることが示唆された。

**03-PM-D3 「Deamidation of NF- $\kappa$ B p65 at N139 enhances proliferation and anti-apoptotic properties in oral squamous cell carcinoma cells」**Yiran Tu<sup>1</sup>、Jing Gao<sup>1</sup>、Takenobu Katagiri<sup>2</sup>、Eijiro Jimi<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Kyushu Univ Fac Dent Sci, Lab Mol Cell Biochem、<sup>2</sup> Saitama Med Univ, Div. Biomed Sci, RCGM、<sup>3</sup> Kyushu Univ Fac Dent Sci, OBT Res Cent)

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common malignant tumor of the oral cavity and head and neck region. Deamidation, a post-translational modification, often alters protein structure and function. Two deamidation sites in p65, a subunit of NF- $\kappa$ B, N64, and N139 have been identified in cancer cells, but their roles remain unclear. In this study, endogenous p65 was knocked out (KO) in SCCVII cells using CRISPR-Cas9, followed by transfection with Flag-tagged p65 variants: wild-type (WT), N64D, N139D, and double mutant (N64D/N139D; DD). Luciferase assays showed that N139D and DD

mutants significantly reduced p65 transcriptional activity, while N64D had no effect, suggesting that deamination at N139 (N139D) is critical for regulating the transcriptional activity of p65. Stable cell lines expressing Flag-tagged WT, N64D, N139D, and DD were generated. Compared to WT, N139D exhibited the highest proliferation rate, followed by DD, while N64D matched WT. Upon TNF $\alpha$  stimulation, N139D and DD mutants showed enhanced resistance to cell death. These findings suggest that the N139D mutation in p65 positively regulates proliferation and anti-apoptotic properties in OSCC cells.

日時：9月7日（日）14:20-14:50

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：松原 琢磨（九歯大 生化）

## 一般演題（口演）腫瘍3（03-PM-D4～6）

### 03-PM-D4 「Fas-FasL 経路を介した胸腺髄質線維芽細胞による Foxp3 陽性制御性 T 細胞の誘導」

園田 聡一郎<sup>1</sup>、Ying Liu<sup>1</sup>、M Majd Sharifa<sup>1</sup>、Liting Yu<sup>1</sup>、  
Aboelmaged Arwa Mohamed<sup>1</sup>、Lisha Dai<sup>1</sup>、Fouad Mhd Zakaria<sup>1</sup>、久本 由香里<sup>1</sup>、  
加藤 大樹<sup>1</sup>、山座 孝義<sup>1</sup>  
（<sup>1</sup>九大 院歯 分子口腔解剖）

【目的】我々は、胸腺髄質線維芽細胞様細胞（mFLCs）が接触型共培養下で制御性T細胞（Treg）を誘導することを報告した。しかし、その分化誘導メカニズムについては不明な点が多い。Fas変異マウスであるMRL/lprは、自己免疫疾患様の症状を発現する。このことから、Tregによる正常な自己寛容の獲得においてFas-Fas ligand（FasL）経路が重要であると考えられている。今回、我々はmFLCsによるnTreg誘導におけるFas-FasL経路の関与を検討した。

【方法】C57BL/6JおよびMRL<sup>+/+</sup>、MRL/lprマウスの胸腺

よりmFLCsを単離した。mFLCsとマウス胸腺由来CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup>T細胞（CD4SP）とのリンパ球混合培養（MLR）を行い、Treg誘導能を解析した。

【結果】MRL/lpr由来mFLCsは、野生型MRL<sup>+/+</sup>由来mFLCsと比較して、Tregの誘導能が抑制されていた。さらにC57BL/6Jマウス由来mFLCsとCD4SPとのMLRにおいて、FasL中和抗体を添加するとTregの誘導が抑制された。

【考察】本研究では、mFLCsによるnTreg誘導にFas-FasL経路が関与することを明らかにした。

### 03-PM-D5 「Oral squamous cell carcinoma cells promote osteoclast formation through feedback loop immune response in fibroblasts」

Thi Kim Thinh Truong<sup>1</sup>、藤井 慎介<sup>1,2</sup>、清島 保<sup>1</sup>  
（<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ）

Oral tumors affect more than 10,000 people each year in Japan. Although survival rates have increased with the development of surgical treatment, bone resorption and destruction caused by tumor formation affects the extent of surgery and patient quality of life. Then, it is needed to elucidate the specific mechanism of jawbone destruction caused by oral tumors and establish a new treatment strategy. Based on the findings of the pathological specimens, we found that OSCC cells might indirectly influence the formation of osteoclasts. In the present study, RNA sequencing with GSEA analysis showed that TNF-

alpha signaling via the NF- $\kappa$ B pathway and RELA were enriched in stromal cells cultured in the conditioned medium of OSCC cells. The activation of NF- $\kappa$ B signaling in stromal cells was necessary for the elevation of Tnfsf11 by OSCC conditioned medium stimulation, according to loss-of-function experiments employing inhibitors or siRNAs. This activation triggers cytokine circuits in stromal cells to repeatedly induce RANKL production in stromal cells. These data suggested that some secretory proteins derived from OSCC cells may upregulate Tnfsf11 expression via cytokine-vicious cycle.

**03-PM-D6 「MYL9による内皮細胞の形態制御と血管新生における機能的役割」**田村-辻 潔美<sup>1</sup>、李 智媛<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 北大 院歯 口腔分子生化)

血管新生は創傷治癒や組織修復に不可欠である一方、腫瘍に伴う異常な血管新生の抑制や正常化は治療戦略として注目されている。これまで主にVEGFなどの成長因子による血管内皮細胞の分化や増殖が注目されてきたが、血管内皮細胞が細長く伸長して形態を変化させる過程、すなわち血管伸長に関する理解は依然として不十分である。本研究では、細胞形態の変化や運動性に関するアクチンとミオシンの相互作用に着目し、特にミオシン軽鎖2 (MLC2、MYL9遺伝子産物) のリン酸化に注目した。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) においてMYL9をsiRNAでノックダウンすると、MLC2およびリン酸化MLC2 (pMLC2) の発現が低下し、3次元コ

ラーゲンゲル中での血管様構造の形成が著しく抑制された。また、細胞の伸長形態や遊走能、接着面積が減少した一方で、細胞増殖には影響がなかった。さらに免疫染色により、pMLC2とアクチン線維の共局在が細胞の伸長と相関することが確認され、MLC2のリン酸化が血管内皮細胞の形態制御と血管新生において重要であることが示された。これらの結果は、MLC2が血管新生の新たな制御因子であり、分子標的となる可能性を示唆している。(Tsuji-Tamura et al., *Angiogenesis*, 2023, vol.26, p523-545)(Tsuji-Tamura et al., *Cellular Signalling*, 2024, vol.120,111223)。

日時：9月7日（日）13:30-14:10

会場：E会場（会議場2階 22会議室）

座長：中村 史朗（昭医大 歯 口腔生理）

## 一般演題（口演）筋肉1（03-PM-E1～4）

### 03-PM-E1 「咬合異常による心機能障害の発症過程における Epac の役割」

安部 真理子<sup>1</sup>、友成 博<sup>1</sup>、奥村 敏<sup>2</sup>、大貫 芳樹<sup>2</sup>、吹田 憲治<sup>2</sup>、石川 美佐緒<sup>3</sup>、  
伊藤 愛子<sup>1</sup>、松尾 一郎<sup>4</sup>、三ツ林 喬央<sup>2</sup>、松原 廉<sup>5</sup>  
(<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正、<sup>2</sup>鶴大 歯 生理、<sup>3</sup>鶴大 歯 口腔解剖、<sup>4</sup>東医大 口外、  
<sup>5</sup>鶴大 歯 小児歯)

【目的】咬合異常は交感神経活性を高め、心疾患発症のリスクファクターとなることが報告されている。我々は新規cAMP活性化因子（exchange protein directly activated by cAMP; Epac1）欠損マウスは、種々の心不全誘発刺激に対して抵抗性を示すことを明らかにした。以上の研究成果を踏まえ「Epac選択的抑制剤ESI-09は、咬合異常により誘導される心機能障害を抑制する」という仮説をたて、その検証をマウス下顎切歯に歯科用レジンを装着して作成する咬合拳上（Bite-opening; B0）マウスモデルを用いて検証した。

【方法】雄性マウス（16週令；C57/BL6）、対照群、B0群、ESI-09（0.1g / Lを含む飲料水）、ESI-09+ B0の4群に分け、B0処置2週後、心筋収縮能（心エコー）を計測した。

生理学実験終了後に心筋を摘出し、組織学的解析として、Masson trichrome 染色（線維化）とTUNEL染色（アポトーシス）を行った。

【結果】心肥大の程度（心筋重量（mg）/脛骨長（mm））は、4群間で有意差は観察されなかった。心筋収縮能は、対照群と比較してB0群で有意に減少したが、その減少はESI-09の併用により有意に抑制された。組織学的解析の結果、心臓線維化ならびに心筋細胞のアポトーシスの割合は、B0群で有意に増加したが、その増加はESI-09の併用により有意に抑制された。

【結論】咬合異常による心機能障害の発症過程におけるEpac活性化の重要性が示唆された。

### 03-PM-E2 「萌出不全により咬合欠如を伴うマウスの心筋リモデリングに対する組織学的検討」

成山 明具美<sup>1</sup>、大貫 芳樹<sup>2</sup>、吹田 憲治<sup>2</sup>、松原 廉<sup>1</sup>、石川 美佐緒<sup>3</sup>、伊藤 愛子<sup>4</sup>、  
松尾 一郎<sup>5</sup>、早川 佳男<sup>6</sup>、朝田 芳信<sup>1</sup>、奥村 敏<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯、<sup>2</sup>鶴大 歯 生理、<sup>3</sup>鶴大 歯 口腔解剖、<sup>4</sup>鶴大 歯 矯正、  
<sup>5</sup>東医大 口外、<sup>6</sup>鶴大 歯 麻酔)

【目的】小児期における咀嚼機能の発達は顎や口腔だけでなく、呼吸器、消化器などの全身の成長や学習能力、社会性の発達にも影響を及ぼすことが報告されている。本研究では無歯顎モデルマウスを用いて咬合刺激の欠如が心臓に及ぼす影響を組織学的に解析した。

【方法】Microphthalmia-associated transcription factor (mitf) 遺伝子に突然変異をもつ小眼球症マウス(mi/mi)は、歯の萌出不全により咬合刺激が欠如している。12週齢雄性mi/miおよび野生型（wild-type: WT）マウスの心筋リモデリング（筋萎縮、線維化、アポトーシス）について、それぞれHE染色、マッソン・トリクローム染色、TUNEL染色を行い組織学的に解析した。また、酸

化ストレス評価のため8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 染色を行い、8-OHdG陽性細胞の割合を算出した。

【結果】mi/mi心筋では、WTと比較して筋線維横断面積（Cross sectional area: CSA）の減少および線維化領域、アポトーシスの増加がみとめられた。さらに、mi/mi心筋では、酸化ストレスマーカーである8-OHdG陽性細胞の割合が有意に増加していた。

【結論】生後からの咬合刺激の欠如により心臓リモデリングが誘導され、そのメカニズムの1つとして酸化ストレスの上昇が示唆された。

## 03-PM-E3 「咬合異常は咬筋のサルコペニアならびにリモデリングを誘導する」

伊藤 愛子<sup>1</sup>、大貫 芳樹<sup>2</sup>、吹田 憲治<sup>2</sup>、石川 美佐緒<sup>3</sup>、成山 明具美<sup>4</sup>、松尾 一郎<sup>4</sup>、  
早川 佳男<sup>5</sup>、安部 真理子<sup>1</sup>、友成 博<sup>1</sup>、奥村 敏<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正、<sup>2</sup>鶴大 歯 生理、<sup>3</sup>鶴大 歯 口腔解剖、<sup>4</sup>鶴大 歯 小児歯、  
<sup>5</sup>東医大 茨城医療セ 歯科口外、<sup>6</sup>鶴大 歯 麻酔)

【目的】咬合異常がレニン-アンジオテンシン(RAS)系の活性化を誘導し、心臓リモデリング(心肥大、線維化、アポトーシス)と、心機能低下を誘導すること、RAS阻害剤(カプトプリ:Cap)によりその効果が心抑制されることを明らかにした。本研究では、マウスの下顎切歯に歯科用レジン装着した咬合異常モデルマウス(Bite-opening; B0)を用いて、咬合異常が骨格筋(咬筋)に及ぼす効果について検証を試みた。

【方法】雄性マウス(16週令、C57/BL6)を、対照群、B0群、Cap(0.1g / Lを含む飲料水)群、Cap+B0群の4群に分け、B0処置2週後、咬筋を摘出し、体重、筋重量を調べた。

組織学的解析として、マッソントリクローム染色(線維化)とTUNEL染色(アポトーシス)を行った。

【結果】コントロール群に比べB0群では咬筋の重量および筋細胞横断面積は有意に減少していた。一方、B0+Cap投与群では有意な影響は認められなかった。咬筋の線維化ならびにアポトーシスは、B0群で有意に増加し、B0+Cap群では、その効果が抑制された。

【結論】RASの活性化は骨格筋に対しては委縮(サルコペニア)ならびにリモデリング(線維化、アポトーシス)を誘導することが示唆された。

## 03-PM-E4 「咬合不調和が咬筋に与える影響 -開口負荷による酸化ストレスとキサンチンオキシダーゼ阻害薬アロプリノールを用いた検討-

松原 廉<sup>1</sup>、吹田 憲治<sup>3</sup>、三ツ林 喬夫<sup>3</sup>、成山 明具美<sup>2</sup>、松尾 一郎<sup>5</sup>、伊藤 愛子<sup>4</sup>、  
大貫 芳樹<sup>3</sup>、朝田 芳信<sup>2</sup>、奥村 敏<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯、<sup>2</sup>鶴大 歯 小児歯、<sup>3</sup>鶴大 歯 生理、<sup>4</sup>鶴大 歯 矯正、  
<sup>5</sup>東医大 茨城医療セ 歯科口外)

【目的】咬合不調和により誘導される慢性ストレスは顎顔面領域をはじめとした全身の諸器官に対し影響を及ぼすことが示唆されている。我々は下顎切歯に歯科用レジン装着して開口負荷(bite-opening; B0)を与えた咬合異常マウスの心筋組織内ではキサンチンオキシダーゼ(XO)の発現と心筋リモデリング(線維化、アポトーシス)が誘導されることを報告した。しかしながら咬合異常が骨格筋(咬筋)に及ぼす影響については十分な検討が行われていない。本研究では咬合異常が骨格筋(咬筋)に与える影響についてB0モデルを用いて検討した。

【方法】16週齢の雄性C57BL/6を1)コントロール群、2)B0群、3)XO阻害剤(アロプリノール; ALL0)単独投与群、4)B0+ALL0併用群の4群を作成した。B0負荷2週後に体

重測定後速やかに咬筋摘出し重量を測定した。次に組織的解析として咬筋の断面積(Cross sectional area: CSA)、マッソントリクローム染色(線維化)、タネル染色(アポトーシス)、8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG)染色(酸化ストレス)を行った。

【結果】コントロール群と比較しB0群では咬筋のCSAは有意に減少した。線維化領域、アポトーシス陽性細胞率、酸化ストレス陽性細胞率はB0負荷2週後に有意に増加したが、その増加はB0+ALL0群では観察されなかった。

【結論】咬合異常により咬筋の委縮と咬筋リモデリングが誘導され、その発症過程における酸化ストレスの重要性が示唆された。

日時：9月7日（日）14:20-14:50

会場：E会場（会議場2階 22会議室）

座長：澁川 義幸（東歯大 生理）

## 一般演題（口演）筋肉2（03-PM-E5～7）

### 03-PM-E5 「胸骨筋の語頭は sternalis か？ rectus か？：胸骨筋の解剖学用語」

井上 卓俊<sup>1</sup>、山本 徹<sup>2</sup>、北河 憲雄<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>帝京大 医 解剖、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 麻酔、<sup>3</sup>科学大・院医歯 顎顔面解剖)

【目的】胸骨筋は歯学部、歯科大学の解剖実習でも比較的遭遇する破格筋であり、特にアジア人に多い。Terminologia Anatomica 第2版(TA2)によれば、英語名はSternalis muscleとされるが、Rectus Sternalisと表記される場合もある。そこで本研究では、これまでの症例報告から用語の使用を分析し、最適な用語の推奨を目的とした。

【方法】本研究は、PRISMA2020声明に従い、PubMedとGoogle Scholarを用いて、国、性別および両片側の記載のある英語文献を抽出した。TA2や事前の文献調査から、S群(Sternalis muscle, Sternalis)とR群(Rectus

Sternalis, Rectus sternalis muscle)に分類し、ラテン語も含めて調査した。

【結果、考察、結論】文献検索の結果、77の論文が採択された。採択論文は、片側の症例が多く、男性が多かった。また、アジアでの報告が最も多かった。分析の結果、S群(135個)はR群(67個)より約2倍多かった。国別では、S群はR群と比べて、アジア1.6倍、欧州2.3倍、中東2.3倍、北米3.8倍多いことから、英語圏ほど、S群の方が高い傾向にあった。以上の結果から、Sternalisを語頭に用いる名称が望ましいと考えられる。

### 03-PM-E6 「*Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS による慢性心不全発症メカニズムと、 $\beta$ アドレナリン受容体との関係について」

松尾 一郎<sup>1</sup>、吹田 憲治<sup>2</sup>、早川 佳男<sup>3</sup>、伊藤 愛子<sup>4</sup>、石川 美紗緒<sup>5</sup>、成山 明具美<sup>6</sup>、大貫 芳樹<sup>2</sup>、長野 孝俊<sup>7</sup>、奥村 敏<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>東医大 茨城医療セ 歯科口外、<sup>2</sup>鶴大 歯 生理、<sup>3</sup>鶴大 歯 麻酔、<sup>4</sup>鶴大 歯 矯正、<sup>5</sup>鶴大 歯 口腔解剖、<sup>6</sup>鶴大 歯 小児歯、<sup>7</sup>鶴大 歯 歯周病)

【目的】歯周病患者は心拍変動(Heart rate variability; HRV)の異常を示す割合が高いことが報告されていることから、歯周病による交感神経系の異常亢進状態は $\beta$ アドレナリン受容体( $\beta$ -AR)シグナルの活性化による慢性心不全発症に関与している可能性が示唆される。しかしながら詳細なメカニズムについては不明な点が多い。本研究では*Porphyromonas gingivalis*由来内毒素(PG-LPS)を投与したマウスを作成し「PG-LPSによる交感神経系の異常亢進状態は $\beta$ -ARシグナルの活性化による慢性心不全を発症させる」という仮説を立てた。

【方法】C57BL/6/Jマウス(オス12週令)を用いてHRV測定を実施した。測定開始2週間前に、テレメトリー心電図計装置をイソフルラン麻酔下にてマウス体内に設置した。PBS投与群、PG-LPS群を設定し7日間連続投与

後、HRV測定を実施した。測定終了後心拍変動解析を実施し、24時間平均心拍数・交感神経系活性化を示す指標である周波数領域指標(LF/HF ratio)をそれぞれ比較した。実験終了後サンプリングを実施し、 $\beta$ -ARのシグナル伝達解析をウェスタンブロッティング法にて行った。

【結果】心拍数・LF/HF ratioはPG-LPS群では有意に上昇した。また $\beta$ アドレナリン受容体シグナルにおいて重要なカルモジュリンキナーゼ2(CaMKII)の発現量も優位に上昇した。

【結論】PG-LPSの持続投与による心筋 $\beta$ アドレナリン受容体の活性化は慢性心不全を惹起することが示唆された。

**03-PM-E7 「新規ビダラビン誘導体による心臓保護効果の検討」**

早川 佳男<sup>1</sup>、吹田 憲治<sup>2</sup>、大貫 芳樹<sup>2</sup>、阿部 佳子<sup>1</sup>、奥村 敏<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>鶴大 歯 麻酔、<sup>2</sup>鶴大 歯 生理)

我々は咬合異常ならびに歯周病マウスモデルの心機能障害は抗ウイルス薬ビダラビン (Vid) によりその発症が抑制されることを報告した。Vidは心臓型アデニル酸シクラーゼの特異的阻害作用を持ち、心臓保護効果を有する。以上の事実はVidが口腔疾患に起因する心疾患の有用な治療薬になる可能性を示唆している。しかしVidは水に難溶のため静脈内投与では相当量の輸液が必要となり心臓への負荷が懸念される。

そこで我々はVidの2位、3位、5位にジメチルアミノ酢酸基を導入することで高い親水性を付与した3種類の新規Vid誘導体を合成し、その効果について検討した。

【目的】 新規Vid誘導体の心房細動 (AF) 誘発刺激に対

する効果を検討した。

【方法】 16週齢の雄性C57BL/6マウスを用いて1)コントロール群、2) Vid投与群、3) 2位保護体投与群、4) 3位保護体投与群、5) 5位保護体投与群の5群を作成した。浸透圧ポンプによる3日間の持続投与後、イソフルラン麻酔下に経食道カテーテルを挿入し、AFを誘発させ、持続時間を測定した。

【結果】 AF誘発実験において、3種のビダラビン誘導体はいずれもコントロール群と比較して有意にAF持続時間を短縮させた。

【結語】 親水性を付与した新規ビダラビン誘導体はVidと同等に口腔疾患に起因する心疾患の有用な治療薬になる可能性が示唆された。

日時：9月7日（日）13:30-14:10

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：高見 正道（昭医大 歯 歯科薬理）

## 一般演題（口演）骨3（03-PM-F1～4）

### 03-PM-F1 「シングルセル RNA-seq 解析によって同定された、メダカ硬組織における新規 Trap 陽性細胞集団」

茶谷 昌宏<sup>1,2</sup>、高見 正道<sup>1,2</sup>

（<sup>1</sup>昭医大 歯 歯科薬理、<sup>2</sup>昭医大 薬理科学研）

【目的】メダカの咽頭歯には破骨細胞が存在し、多数の歯の生え変わりが盛んに行われている。我々は、骨組織分解に関わる Trap（酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ）陽性細胞が、咽頭歯骨のみならず鰭（ひれ）にも存在することを見出した。本研究では、これらの Trap 陽性細胞の機能的・分子的特徴を明らかにする。

【方法】Trap 陽性細胞は *trap*:EGFP トランスジェニックラインで可視化し、アクチノトリキア（鰭のコラーゲン線維）は抗 And1 抗体で免疫染色した。*trap*:NTR-EGFP ラインとメトロニダゾールを用いた除去実験で機能を検証し、*opg* 単独および *opg*; *rankl* 二重遺伝子欠損個体で制御機構を解析した。咽頭歯骨と鰭を解離し、シングルセル RNA-seq 解析を行った。

【結果・考察】Trap 陽性細胞は咽頭歯骨に加え、鰭のアクチノトリキアに沿って局在が確認された。この細胞を除去するとアクチノトリキアが過剰に残存し、分解機能が示唆された。*Opg* 欠損で Trap 陽性細胞数は増加し、*Rankl* との二重欠損で抑制されたため、*Rankl*/*Opg* 経路による分化制御が示された。シングルセル RNA-seq で咽頭歯骨・鰭とも 18 種類の細胞クラスターが同定され、咽頭歯骨は破骨細胞群、鰭はアクチノトリキア分解細胞群が確認された。前者は *cathepsin K* や *mmp9* など破骨細胞マーカー、後者は *adam* ファミリー遺伝子を高発現しており、新規のコラーゲン分解機構の存在が示唆された。

### 03-PM-F2 「マウス脛骨の septoclast における ETS1 の局在と酵素発現への寄与」

坂東 康彦<sup>1</sup>、崎山 浩司<sup>2</sup>、長坂 新<sup>1</sup>、藤井 みゆき<sup>1</sup>、鈴木 海登<sup>1,3</sup>、天野 修<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>明海大 歯 組織、<sup>2</sup>明海大 歯 解剖、<sup>3</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科）

septoclast は長管骨骨端板の骨軟骨境界部 (COJ) に存在し、ペリサイトから分化する。cathepsin B (CTSB) や MMP-13 などの有機質分解酵素を発現し、成獣では骨端板軟骨基質の吸収、発生過程では一次骨化中心の形成に関与する。本研究では、CTSB と MMP-13 の発現に関与することが報告されている転写因子 ETS1 の、マウス脛骨 septoclast における局在と CTSB、MMP-13 発現への関与を、免疫組織化学的染色と RT-PCR による遺伝子発現定量により調べた。

ETS1 は、3 週齢 (P3w) では、septoclast と COJ 近傍のペリサイトに局在した。発生過程では septoclast 出現前の胎生 14.5 日 (E14.5) で軟骨原基周囲のペリサイトに局在した。septoclast が発生する E15.0 から一

次骨化中心完成後の E16.0 にかけては septoclast と septoclast の分布領域にある少数のペリサイトに局在した。以上の結果から ETS1 は septoclast への分化の過程でペリサイトに発現することが示唆された。また、P3w マウス脛骨組織からセルソーターで septoclast を単離し、control-siRNA と ETS1-siRNA を投与後 2 日間培養し CTSB と MMP-13 の発現を比較したところ、ETS1-siRNA 投与群で有意な発現の減少が見られた。

本研究により ETS1 はペリサイトから septoclast への分化における CTSB と MMP-13 の発現の促進に寄与することが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

### 03-PM-F3 「Identification and characterization of a novel bone resorption modulator in c-Src/p130Cas axis」

李 傲男<sup>1</sup>、Jing Gao<sup>1</sup>、自見 英治郎<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学、<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ)

Podosome formation is essential for osteoclastic bone resorption, serving as the structural basis for the sealing zone that enables bone resorption. Mice lacking conventional c-src or its adaptor p130Cas specifically in osteoclasts exhibit osteopetrosis caused by impaired osteoclastic bone resorption due to defective podosome formation. We previously showed that c-Src and p130Cas form a complex with Pyk2. To identify novel effectors of this complex, we performed anti-Pyk2 immunoprecipitation followed by mass spectrometry using osteoclasts from WT, c-srcKO, and p130Cas $\Delta$ OCL<sup>-/-</sup> mice. Through a

series of immunoprecipitation experiments, we narrowed down the candidates to 18 proteins, we focused on molecule X, which plays a critical role in actin cytoskeleton remodeling. Knockdown of X in RAW264.7 or bone marrow-derived cells resulted in reduced actin ring formation, impaired multinucleation, and diminished bone resorptive activity. Immunofluorescence analysis revealed that X colocalizes with p130Cas at the actin ring, and co-immunoprecipitation demonstrated that X is a downstream effector of c-Src/p130Cas signaling, regulating actin ring formation and osteoclastic bone resorption.

### 03-PM-F4 「リン酸化 $\beta$ -シクロデキストリンによるハイドロキシアパタイト結合を介した骨吸収抑制作用」

吉川 美弘<sup>1</sup>、津田 進<sup>2</sup>、池尾 隆<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>大歯大 生化、<sup>2</sup>大歯大 化学)

$\beta$ -シクロデキストリンリン酸 ( $\beta$ -CDP) は、骨組織を標的とし、破骨細胞の機能を制御することを目的に設計された、リン酸官能基を有する $\beta$ -シクロデキストリン誘導体である。本研究では、その物理化学的特性、生体適合性、ならびに治療効果について、in vitroおよびin vivoの両面から評価を行った。 $\beta$ -CDPは、ハイドロキシアパタイト (HA) 表面への強固な結合性とコレステロール可溶性を示し、骨標的化と膜障害誘導という二重の作用機序を有する可能性が示唆された。RAW264.7細胞を用いたin vitro実験において、 $\beta$ -CDPは良好な細胞適合性を示し、RANKLによる破骨細胞分化には影響を及ぼさなかった。一方で、可溶性状態お

よびHA表面に固定化した状態のいずれにおいても、 $\beta$ -CDPは用量依存的に破骨細胞による骨吸収活性を有意に抑制した。さらに、卵巣摘出 (OVX) マウスを用いた骨粗鬆症モデルにおいて、皮下投与された $\beta$ -CDPは全身毒性を示すことなく、海綿骨および皮質骨の構造を効果的に保持した。これらの結果は、 $\beta$ -CDPが破骨細胞の分化を阻害することなく、その機能を選択的に制御できることを示している。高い骨親和性、生体適合性、ならびに合成の容易さを併せ持つ $\beta$ -CDPは、骨吸収性疾患に対する新たな骨標的治療薬の有望なプラットフォームとなり得る。

日時：9月7日（日）14:20-14:50

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：濱村 和紀（愛院大 歯 薬理）

## 一般演題（口演）骨4（03-PM-F6～7）

### 03-PM-F6 「模擬微小重力環境下におけるラット骨髄由来細胞への影響について」

平野 光起<sup>1</sup>、永谷 理恵<sup>1</sup>、杉田 好彦<sup>2</sup>、吉田 和加<sup>2</sup>、河合 遼子<sup>2</sup>、久保 勝俊<sup>2</sup>、  
宮澤 健<sup>1</sup>、前田 初彦<sup>2</sup>

（<sup>1</sup>愛院大 歯 矯正、<sup>2</sup>愛院大 歯 口腔病理・歯科法医）

【目的】近年、国際宇宙ステーションの様な微小重力環境での骨形成の抑制が報告されているが、その詳細は不明な点が多い。そこで本研究では模擬微小重力環境が培養ラット骨髄由来細胞におよぼす変化について検討した。

【方法】本研究で用いた培養骨芽細胞様細胞は、ラット大腿骨から採取した骨髄細胞を培養し実験に用いた。微小重力環境（10-3G）の再現には微小重力環境細胞培養装置（Zeromo®）を用いた。培養後、位相差顕微鏡で細胞形態を観察し計測した。また、細胞代謝活性の検索にはCell Counting Kit-8を用い、細胞分化能の検索にはラボアッセイALPを用いた。

【結果】細胞形態については対照群と比較して、微小

重力群の培養3時間後では細胞面積は大きい傾向がみられ、6、24時間後では小さい傾向がみられた。また、培養開始前の細胞との比較では対照群、微小重力群ともに大きな変化はみられなかった。一方、細胞代謝活性は対照群と比較して、微小重力群では3時間後で高かったが6、24時間後では低くなり、細胞分化能は72時間後で低くなっていた。

【考察】本実験での模擬微小重力環境下の培養骨芽細胞様細胞では、培養初期には細胞形態は大きい傾向がみられ、代謝活性は高くなっていたが、その後は代謝活性や分化能の低下が認められた。このことから、微小重力環境は骨芽細胞の代謝活性、分化能に影響を与えることが示唆された。

### 03-PM-F7 「複合ガングリオシド欠失による骨形成と骨吸収の抑制」

市川 翔太<sup>1,2</sup>、三島 好貴<sup>2</sup>、長尾 麻由<sup>1</sup>、佐藤 琢麻<sup>2</sup>、宮澤 健<sup>2</sup>、濱村 和紀<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>愛院大 歯 薬理、<sup>2</sup>愛院大 歯 矯正）

【目的】スフィンゴ糖脂質であるガングリオシドが、骨芽細胞および破骨細胞の増殖・分化に関与しているのかについては不明な点が多い。そこでガングリオシドGD3合成酵素に加えGM2/GD2合成酵素を欠損させ、GM3以外のガングリオシドを消失させたダブルノックアウト(dKO)マウスを用いて、ガングリオシドが骨形成および骨吸収に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

【方法】野生型(WT)マウスとdKOマウスの大腿骨海綿骨の骨量パラメーターを解析した。また、大腿骨切片を作製し骨形成能および骨吸収能の比較検討を行った。骨形成率の比較検討においてはカルセイン二重標識法を用いた。さらに、マウス由来の骨髄細胞を骨芽細胞

へ分化誘導させ、BrdU assayにて増殖能を検討した。また、マウス由来のマクロファージを分離し、破骨細胞へ分化誘導させ、TRAP染色およびqPCRにて分化能を検討した。

【結果】WT マウスと比較して、dKOマウスの骨量は有意に増加した。また、dKOマウスでは骨芽細胞数が減少し、カルセイン二重標識法による骨形成率も有意に低下した。dKOマウス由来の骨芽細胞では、増殖能が有意に低下した。dKOマウス由来のマクロファージを破骨細胞へ分化誘導した結果、破骨細胞数および破骨細胞分化に関わる遺伝子の発現レベルの低下が認められた。以上の結果より、ガングリオシドが骨形成および骨吸収に関与することが示された。

## ■モリタ優秀発表賞審査（ポスター）（MP）

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「解剖・組織・発生学部門」（MP1-01～07）

MP1-01 「Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交換輸送体 Slc9a5 の欠失がエナメル質形成に及ぼす影響の解析」高野 隼人<sup>1</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、片岡 伶惟<sup>3</sup>、小林 冴子<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>、朝田 芳信<sup>1</sup>(<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯、<sup>2</sup>鶴大 歯 生化学、<sup>3</sup>鶴大 歯 歯周病)

Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送体であるSolute carrier family 9a5 (Slc9a5) は、エナメル芽細胞にも発現し、エナメル質形成において重要な役割を果たしていると考えられている。

【目的】Slc9a5遺伝子ノックアウトマウスを作製し、エナメル質形成過程におけるSlc9a5の役割を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】野生型 (Slc9a5<sup>+/+</sup>)、ヘテロ接合体 (Slc9a5<sup>+/-</sup>)、ホモ接合体 (Slc9a5<sup>-/-</sup>) の生後5日、11日、70日の下顎骨を対象とし、免疫染色による組織学的解析、走査型電子顕微鏡 (SEM)、及びマイクロCT (μCT) による形態学的解析を行なった。

【結果】Slc9a5抗体を用いた免疫染色では、Slc9a5<sup>+/+</sup>マウスの成熟期エナメル芽細胞および象牙芽細胞にお

いて陽性反応が認められた。SEM観察では、Slc9a5<sup>-/-</sup>マウスの臼歯側面エナメル質に亀裂を認めた。また、μCT観察では、Slc9a5<sup>+/+</sup>は臼歯咬頭部を中心に石灰化像が滑らかで連続しているのに対し、Slc9a5<sup>-/-</sup>ではエナメル質形成不全が顕著で、連続性の断裂及び臼歯部エナメル質体積の減少が確認された。切歯においても、Slc9a5<sup>-/-</sup>マウスエナメル質厚の減少傾向及び表層の高密度領域が著しく減弱しており、エナメル質形成が早期に進行している可能性が観察された。

【考察】Slc9a5遺伝子を欠損したマウスでは、臼歯及び切歯においてエナメル質の形成不全を生じ、Slc9a5がエナメル質の形成制御に関与することが示唆された。

## MP1-02 「骨発生初期における間葉系凝集周囲 Hes1 陽性未分化間葉系細胞の骨格への貢献」

中村 彰吾<sup>1</sup>、松下 祐樹<sup>1</sup>(<sup>1</sup>長大 院医歯薬 硬組織発生再生)

骨発生初期では未分化間葉系細胞が凝集し、その後、軟骨原基と周囲の軟骨膜を形成し、その軟骨原基の細胞や軟骨膜細胞が肥大軟骨細胞・骨髄間質細胞・骨芽細胞などの骨格系細胞へと分化する。この一連の過程では、初期の凝集内部の未分化間葉系細胞にSOX9が発現し、ほぼ全ての骨格系細胞の起源となることが知られている。しかし、凝集部を取り囲んでいる未分化間葉系細胞が骨の形成にどのように関与しているかは未だ解明されていない。

今回、われわれは間葉系凝集を取り囲むように、Hes1が発現していることを見出し、Hes1陽性細胞およびその系譜細胞をtdTomatoで標識するHes1-creER; R26RtdTomatoノックインマウスを使用して、細胞系譜

追跡を行った。胎生10.5日、12.5日、14.5日でタモキシフェンを投与し、Hes1陽性細胞の細胞系譜を追跡したところ、胎生10.5日ではHes1陽性細胞は間葉系凝集を取り囲むように存在しており、生後ではHes1陽性系譜細胞は骨髄全体に分布し、骨幹端と骨幹骨髄腔の両方で骨芽細胞や網状間質細胞へと分化していた。一方、胎生12.5日のHes1陽性細胞は軟骨膜を標識し、生後では骨幹部の骨格細胞にのみに寄与した。一方胎生14.5日のHes1陽性細胞の骨格への貢献はわずかだった。

これらのことから、骨発生初期では間葉系凝集を取り囲むようにHes1を発現する未分化間葉系細胞存在しており、骨の発生・成長における骨格前駆細胞の新たな供給源であることが示唆された。

### MP1-03 「機械的ストレスは軽症型低ホスファターゼ症モデルマウスにおける局所的な骨の吸収を増強する」

石束 叡<sup>1</sup>、高橋 有希<sup>2</sup>、松永 智<sup>1</sup>、阿部 伸一<sup>1</sup>、笠原 正貴<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 解剖、<sup>2</sup>東歯大 薬理)

【目的】低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ (TNALP) 遺伝子の変異により、硬組織の石灰化不全や乳歯の早期脱落を特徴とする先天性疾患である。軽症型HPP(小児型、成人型、歯限局型)は症状が不明瞭で診断が難しく、歯科矯正力を加えた際の顎骨の変化も明らかでない。そこで本研究は、軽症型HPPマウス (Akp2+/-マウス) に歯科矯正力を加えた際の顎骨の変化を評価し、HPP患者に対する歯科矯正力の影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】50日齢の雄性Akp2+/-マウスに10 gfのニッケルチタン製クローズドコイルスプリングを装着し、正常マウス (Akp2+/+マウス) と比較した。14日間の第一後臼歯 (M1) の近心移動後、上顎骨を採取し、

micro-CT撮影、骨質の計測を実施した。組織学的解析にはH-E染色、TRAP染色、免疫組織化学染色を行なった。

【結果】Akp2+/-マウスでは、歯の移動距離に差は認めなかったが、圧迫側の歯槽骨において有意に骨吸収が増加し、海綿骨の骨質が低下していた。さらに、破骨細胞が有意に増加していることが確認された。

【考察】臨床において軽症型HPP患者に矯正治療を行っても、表面上は歯の移動距離や骨密度に異常は見られない。しかし本研究結果から、圧迫側では破骨細胞の増加による骨吸収が顕著に進行しており、歯の喪失などの予期せぬ事象が生じる可能性が示唆された。この結果は、歯科矯正治療前に軽症型HPPを鑑別診断することの重要性を裏付けていると考えられる。

### MP1-04 「SCN1A regulates the cell cycle of mesenchymal stem cells」

Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>、Hiroki Kato<sup>1</sup>、Mohammed Majd Sharifa<sup>1</sup>、Liting Yu<sup>1</sup>、Lisha Dai<sup>1</sup>、Arwa Mohamed Aboelmaged<sup>1</sup>、Ying Liu<sup>1</sup>、Soichiro Sonoda<sup>1</sup>、Yukari Kyumoto-Nakamura<sup>1</sup>、Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

[Background] Sodium voltage-gated channel alpha subunit type 1 (SCN1A) is expressed primarily in excitable cells such as neurons. Meanwhile, SCN1A is also expressed in mesenchymal stem cells (MSCs), suggesting its non-canonical functions. In this study, we aim to analyze the cell cycle regulation of SCN1A in MSCs.

[Methods] Human MSCs were treated with siRNA to functionally knock down SCN1A (siSCN1A). The cell cycle was analyzed using flow cytometry. The expression of cell cycle regulators was analyzed using western blotting and RT-qPCR. The protein degradation was also examined using

cycloheximide-chase assay.

[Results] MSCs expressed SCN1A gene and protein. siSCN1A delayed the cell cycle in the S phase associated with reduced AKT, CDK2 and CDK6. Moreover, siSCN1A induced the protein degradation of CDK2.

[Conclusion] In this study, we have unveiled a novel function of SCN1A in regulating the cell cycle in MSCs via AKT, CDK2 and CDK6. This finding provides new insight into the non-canonical function of SCN1A and suggests the potential for further research into its role in stem cell biology.

## MP1-05 「Enhancement of osseointegration after placement of immobilized recombinant osteopontin-coated implants in mouse maxillae.」

Mauricio Andre Zapata-Sifuentes<sup>1</sup>、Angela Quispe-Salcedo<sup>1</sup>、大島 勇人<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, Div Anat Cell Biol Hard Tissue)

**Purpose:** This study analyzed the effects of immobilized recombinant osteopontin (irOPN)-coated implants on osseointegration in mouse maxillae.

**Methods:** After extraction of upper right first molars from 4-week-old ICR mice under deep anesthesia, implant cavities were drilled, and titanium implants coated with irOPN expressed in mammalian cells (irOPN group) or untreated (control) were immediately placed. Samples were collected at 3-, 5-, 7-, 14-, and 28-days after implantation, decalcified, and processed for paraffin sections. Osseointegration dynamics were evaluated by immunohistochemistry for OPN,

Ki67, Cathepsin-K, and Osteonectin.

**Results:** By day 14, the irOPN group showed a positive osseointegration trend with a significantly higher osteopontin-positive perimeter. Early-stage osteoclastic activity and cell proliferation tended to be higher in the irOPN group.

**Conclusion:** These results suggest that protein immobilization for irOPN on titanium implant surfaces could positively affect osseointegration by increasing cell proliferation and OPN deposition at the bone-implant interface 14 days after implantation. This study is collaborated with Dr. Tomohiko Yamazaki (NIMS).

## MP1-06 「テトラサイクリン歯におけるコラーゲンの分子構造解析：顕微ラマン分光法と赤外二色性イメージングによる評価」

村尾 美羽<sup>1</sup>、木村-須田 廣美<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>千歳科技大 院理工)

**【背景】**テトラサイクリン系抗生物質の歯の形成期における服用は、歯の変色や形成異常を引き起こす。我々はこれまで、変色部においてアパタイトの結晶性が低下していることを報告してきたが、これには同部位のコラーゲンの構造的変化が関与している可能性がある。本研究では、テトラサイクリン歯における歯質異常のうち、コラーゲンに着目し、その分子構造レベルでの変化を明らかにすることを目的とした。

**【方法】**14歳でざ瘡治療のためにテトラサイクリン系抗生物質(ミノサイクリン塩酸塩)を服用した患者(22歳女性)および服用歴のない患者(26歳女性)から抜去した上顎第3大臼歯は、頬-口蓋側方向に切断した。それぞれEDTAによる脱灰処理を行い、顕微ラマン分光法と赤外二色性イメージングにより象牙質を評価し

た。

**【結果・考察】**赤外二色性イメージから、正常歯とテトラサイクリン歯のコラーゲン線維は、いずれも象牙細管に沿って配向していることが確認された。一方、テトラサイクリン歯変色部のラマンスペクトルには、終末糖化産物(AGEs)と思われるバンドが観察され、テトラサイクリンの沈着がコラーゲン分子の構造にも影響を及ぼす可能性が示された。

**【結論】**テトラサイクリンの象牙質への沈着は、変色部のアパタイトの結晶性低下に加え、コラーゲンの分子構造の変化および老化を引き起こす可能性が示唆された。

会員外共同研究者：中村郁哉、横関健治、村田勝、東藤正浩、赤澤敏之

MP1-07 「歯髄傷害後における $\alpha$ -平滑筋アクチン陽性細胞の局在と分化能の検討」  
野口 裕季子<sup>1,2</sup>、建部 廣明<sup>1</sup>、岸本 有里<sup>1</sup>、溝口 利英<sup>3</sup>、細矢 明宏<sup>1</sup>、  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 組織、<sup>2</sup>北医療大 歯 矯正、<sup>3</sup>東歯大 口腔科学研究セ)

【目的】 $\alpha$ -平滑筋アクチン (SMA) は未分化間葉系細胞に発現し、様々な臓器で創傷後の治癒過程に見いだされる。本研究では細胞系譜解析的手法を用い、歯髄における $\alpha$ -SMA陽性細胞の局在ならびに分化能を検討した。

【方法】実験には4週齢 $\alpha$ -SMA-Cre<sup>ERT2</sup>/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato ( $i\alpha$ -SMA/ Tomato) マウスを用いた。(1) タモキシフェン投与後0、3、14日に、上顎臼歯歯髄における $\alpha$ -SMA/ Tomato陽性細胞の局在を観察した。(2) タモキシフェン投与後に上顎臼歯を抜歯し、ただちに野生型マウス皮下へ移植した。0、3、14日後に $\alpha$ -SMA/ Tomato、Runx2、Osterixの局在を検討した。

【結果および考察】(1) 4週齢 $i\alpha$ -SMA/ Tomatoマウスの

歯髄において、血管周囲に限局して $\alpha$ -SMA/ Tomato陽性細胞が認められた。この $\alpha$ -SMA/ Tomato陽性細胞の数は3、14日後の歯髄においてほとんど変化しなかった。(2) 皮下移植歯の歯髄では、移植3日後に多数の $\alpha$ -SMA/ Tomato陽性細胞が認められた。この細胞の一部はRunx2とOsterixの陽性反応を示した。14日後、既存の象牙質に接する修復象牙質と、歯髄中央部に骨様組織が形成された。これら2種類の硬組織表面に局在する細胞は $\alpha$ -SMA/ Tomato陽性であり、Runx2およびOsterixと共局在を示した。以上より、 $\alpha$ -SMA陽性歯髄細胞は非刺激時ではほとんど増殖しないが、歯髄傷害後に増殖し、象牙芽細胞と骨芽細胞へ分化することが明らかとなった。

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「生理学部門」（MP1-08～23）

### MP1-08 「母親の結紮誘導歯周炎が仔の脳に及ぼす影響」

今井 千尋<sup>1</sup>、大杉 勇人<sup>2,3,4</sup>、Peiya Lin<sup>2,3</sup>、豊嶋 啓汰<sup>5</sup>、芝 多佳彦<sup>1</sup>、  
片桐 さやか<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup> 科学大・院医歯 歯周病、<sup>2</sup> 科学大・院医歯 口腔生命、<sup>3</sup> 科学大 口腔科学センター  
口腔全身健康部門、<sup>4</sup> ハーバード大学医学部ジョスリン糖尿病センター、<sup>5</sup> 科学大・  
院医歯 総合診療歯科)

母親の歯周病が子供の脳機能に影響を与える可能性が示唆されている。本研究では、母体の口腔内細菌叢の破綻が仔マウスの脳機能に及ぼす影響とその分子・細胞基盤を多角的に検討した。

12週齢のC57BL/6J雌マウスの上顎第二臼歯に絹糸を4週間結紮して歯周炎を誘導後、健全な雄マウスと交配した。出生した雄の仔マウス（8週齢）に行動解析、前頭前野と小脳でのグリア細胞免疫染色、8週齢および胎児期のRNA-seq解析、小脳のカルシウムイメージングを行い、母親の結紮系および母仔の便から16S rRNA遺伝子に基づいた細菌叢解析を実施した。

その結果、仔マウスはオープンフィールド試験で活動量の減少と、社会性の低下を示した。免疫染色では、

前頭前野と小脳においてアストロサイトが増加していた。RNA-seqでは8週齢小脳に主成分分析の差異と脳機能関連遺伝子の発現変動が認められたが、胎児小脳では差異は認められなかった。カルシウムイメージングではプルキンエ細胞の神経活動頻度低下と活動パターンの乱れが示唆された。母親の口腔内細菌叢は多様性が低下し*Klebsiella* 属が増加、腸内細菌叢には変化がなかった。一方、仔マウスでは腸内細菌叢の多様性が低下し*Staphylococcus* 属が増加していた。

以上より、母親の歯周炎は、細菌叢の変化を介して仔の脳機能、遺伝子発現、アストロサイトの増殖に影響を及ぼす可能性が示唆された。

### MP1-09 「リアノジン受容体は象牙芽細胞のステロイド誘発性細胞内遊離 $Ca^{2+}$ 濃度増加に関与しない」

窪山 裕也<sup>1</sup>、木村 麻記<sup>2</sup>、黄地 健仁<sup>2</sup>、倉島 竜哉<sup>2</sup>、新谷 誠康<sup>1</sup>、澁川 義幸<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 東歯大 小児歯、<sup>2</sup> 東歯大 生理)

ステロイドの長期投与で冷・温水による激しい歯痛や歯髓腔形状変化が報告されており、その機序や象牙芽細胞への作用は不明である。本研究では、ヒト培養象牙芽細胞（HOB細胞）のグルココルチコイド受容体（GR）発現、GRアゴニスト投与による細胞内遊離 $Ca^{2+}$ 濃度（ $[Ca^{2+}]_i$ ）動態と石灰化能への影響を検討した。HOB細胞は抗GR抗体に陽性を示した。細胞外 $Ca^{2+}$ 存在下で、GRアゴニストのデキサメタゾン（DEX）を投与すると、 $[Ca^{2+}]_i$ はDEX濃度依存的に0.001-5 nMの範囲で増加した。一方、細胞外 $Ca^{2+}$ 非存在下では、その増加が抑制され、リアノジン受容体阻害薬投与時と有意差はな

かった。GR阻害薬はDEX誘発性 $[Ca^{2+}]_i$ 増加を抑制した。HOB細胞への機械刺激で $[Ca^{2+}]_i$ は増加したが、DEXは影響しなかった。石灰化誘導培地にDEXを添加すると、非添加群と比べ、alizarin red染色で100 nM-250  $\mu$ M、von Kossa染色で100-500 nM、50-250  $\mu$ Mの範囲のDEX濃度で石灰化が抑制された。したがって、象牙芽細胞にGRが機能的に発現し、DEXは細胞外からの $Ca^{2+}$ 流入とリアノジン受容体を介さない $Ca^{2+}$ ストアからの $Ca^{2+}$ 放出を誘発すること、象牙芽細胞の機械感受性に影響しないことが示唆された。加えて、GRの活性化は石灰化を抑制することが示唆された。

## MP1-10 「ステロイド由来歯痛の病態」

関矢 日向子<sup>1</sup>、黄地 健仁<sup>2</sup>、倉島 竜哉<sup>2</sup>、木村 麻記<sup>2</sup>、山田 雅司<sup>1</sup>、澁川 義幸<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 歯内、<sup>2</sup>東歯大 生理)

ステロイド服用患者に象牙質知覚過敏様歯痛（以下ステロイド由来歯痛）が報告されている。この歯痛は、冷水または温水により引き起こされる持続性の複数歯にわたる疼痛を特徴とする。本研究では、デキサメタゾン（DEX）投与によるステロイド由来歯痛発症モデルマウスを作製し、その疼痛行動評価および組織学的評価からステロイド由来歯痛の病態を明らかにすることを目的とした。

生後8～20週齢のC57BL/6マウスを使用した（承認番号：250303）。実験（DEX）群は100 μg/mLのDEXを、対照（without; w/o DEX）群は溶媒を21日間連続で0.2 mLずつ腹腔内投与し、下顎前歯への冷水適用後に疼痛行動評価を行った。実験条件はDEX群、w/o DEX群ともに象牙質露出の有無、知覚過敏抑制材として歯科用象

牙質接着剤を用いたボンディング処理の有無により8グループに分けた。評価には疼痛行動評価スケールを使用し、侵害受容スコアを算出した。投薬開始日を1日目とし、行動観察は0日目、7日目、14日目、21日目に行い、行動評価終了後に屠殺し下顎骨を採取、4%パラホルムアルデヒドで組織固定を行った。脱灰後に作製した凍結切片を用いてH-E染色を行い、炎症性細胞浸潤の評価を行った。

象牙質露出の有無に関わらず、21日目の侵害受容スコアはDEX群がw/o DEX群と比較して有意に高いスコアを示した。また、w/o DEX群と比較したDEX群のH-E染色像は毛細血管の拡張および増生を認め、DEX投与は歯髓充血を誘発した。

## MP1-11 「象牙芽細胞への直接機械刺激は Piezo1 チャンネルの活性化に続くアラキドン酸カスケードの活性化を介して TRPV1 および TRPA1 チャンネルを活性化する」

倉島 竜哉<sup>1</sup>、黄地 健仁<sup>1</sup>、木村 麻記<sup>1</sup>、澁川 義幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 生理)

象牙芽細胞への直接機械刺激はtransient receptor potential (TRP) チャンネルサブファミリー (TRPV1、TRPV2、TRPV4、TRPA1) とPiezo1チャンネル (Piezo1) の活性化を介した細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 増加を誘発するが、この増加はPiezo1の阻害によりほぼ消失する。この結果から我々は、Piezo1が機械感受性応答シグナル過程の最上流に存在し、その下流シグナルでTRPチャンネルを制御していると仮説した。ラット切歯から急性単離した象牙芽細胞を用いて、蛍光免疫染色による細胞内タンパク質発現解析と細胞内Ca<sup>2+</sup>蛍光指示薬を用いた[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>測定を実施した。象牙芽細胞においてPiezo1とTRPV1およびTRPA1は共局在を示した。象牙芽細胞への直接機械刺激は、Piezo1・TRPV1・TRPA1

活性化による一過性[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加とTRPV1活性化による持続性[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加を誘発した。Piezo1活性化薬の投与は、Piezo1による初期[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加に続くTRPV1・TRPA1による第二相[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加、TRPV1による持続性[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加を示した。細胞質型ホスホリパーゼA2 (cPLA2)・シクロオキシゲナーゼ (COX)・アデニル酸シクラーゼ (AC) の阻害は、直接機械刺激による [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加を完全に抑制した。COX活性化薬による[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加はTRPV1・TRPA1阻害薬で抑制された。以上の結果は、象牙芽細胞への直接機械刺激がPiezo1の活性化に続くcPLA2活性化とCOX代謝産物生成を介して、TRPV1とTRPA1を一過性にTRPA1を持続性に活性化することを示唆する。

## MP1-12 「ラット口腔内体性感覚における TRPA1 の関与」

吉田 希海<sup>1,2</sup>、中富 千尋<sup>2</sup>、小野 堅太郎<sup>2</sup>、川元 龍夫<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九歯大 顎口腔機能矯正、<sup>2</sup>九歯大 生理)

TRPA1は化学、温度受容や炎症時の疼痛などに関与する受容体として知られており、口腔内では口内炎や歯科矯正時の疼痛発症に関与する可能性が示唆されている。一方、非侵害性機械刺激の受容での役割は不明

である。本研究ではTRPA1ノックアウトラット (A1K0) を用いて、口腔内触圧覚および口内炎時の疼痛におけるTRPA1の機能を検討した。触圧感覚の評価には粒子性認知試験を用いた。ラットは微結晶セルロース粒子

懸濁液のろ液中に含まれる1.5  $\mu\text{m}$ の微細粒子を認知していることが報告されているため、グルコースを用いた微細粒子への嗜好学習試験により粒子性認知を評価した。口内炎時の疼痛評価には、ラット下顎切歯部唇側歯肉に潰瘍を作成し、2日後に疼痛様行動であるラビング行動を計測した。全ての実験には野生型およびA1K0ラットの雌雄を用いた。粒子性認知試験では、野生型およびA1K0群両群で微細粒子に対する嗜好学習が成立し、両群に有意な差が認められなかった。口内炎

時の疼痛については、A1K0群で潰瘍形成後のラビング時間の有意な増加が認められた。以上の結果は、本実験系での微細粒子認知および口内炎時の疼痛様行動にTRPA1が必須でない可能性を示唆している。過去の報告では、TRPA1阻害薬投与により口内炎時のラビング行動が抑制されており、本研究の結果とは異なる。飼育環境や細菌叢の違い、あるいは遺伝的代償機構の関与により異なる結果が得られた可能性が示唆された。

### MP1-13 「三叉神経節 - 三叉神経脊髄路核吻側垂核経路は口腔顔面の神経障害性疼痛発症に関与する」

井手 唯李加<sup>1,2</sup>、人見 涼露<sup>2</sup>、林 良憲<sup>2</sup>、岩田 幸一<sup>2</sup>、篠田 雅路<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大 歯 補綴 I、<sup>2</sup>日大 歯 生理)

三叉神経脊髄路核吻側垂核(Vo)には非侵害受容ニューロンだけでなく侵害受容ニューロンの存在が報告されている。よって、口腔顔面の神経障害性疼痛発症に対する三叉神経節(TG)-Vo経路の関与が考えられるが、詳細は不明である。本研究では、眼窩下神経部分結紮(PNL)モデルラットを用いて口腔顔面の神経障害性疼痛発症に対するTG-Vo経路の役割を検討した。

深麻酔下にて、眼窩下神経を剖出して神経束の1/3を部分結紮したラットをPNL群、剖出のみ施行したラットをsham群とした。PNL処置により、口髭部皮膚の機械逃避閾値(MHWT)が低下し、その低下はVo破壊により回復した。naive群において、光遺伝学的手法を用

いてTG-Voニューロンを光刺激によって脱分極させることにより、MHWTは低下した。PNL群において、口髭部皮膚への機械刺激に対するVoニューロンの発火頻度が増加したが、この増加は口髭部へのTRPA1阻害薬投与で抑制された。PNLによりCGRPおよびTRPA1陽性TG-Voニューロン数が増加した。さらに、PNL群において、TRPA1作動薬投与により脱分極を起こすTG-Voニューロン数が増加した。

以上より、PNL処置後、TG-VoニューロンはCGRPおよびTRPA1発現の増加によって興奮性が増強し、その興奮性増強が顔面皮膚に機械アロディニアを発症させる可能性が示された。

### MP1-14 「眼窩下神経損傷後の神経障害性疼痛に対する三叉神経節内 CD8 T細胞の役割」

小林 桃代<sup>1</sup>、人見 涼露<sup>2</sup>、林 良憲<sup>2</sup>、坪井 美行<sup>2</sup>、岩田 幸一<sup>2</sup>、篠田 雅路<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大 歯 口内、<sup>2</sup>日大 歯 生理)

三叉神経障害性疼痛に対する三叉神経節(TG)内T細胞の役割は不明である。本研究では、眼窩下神経損傷(IONI)後の三叉神経障害性疼痛に対するTG内T細胞の役割を検討した。

SD系雄性ラットの眼窩下神経支配領域の口髭部に機械刺激を加え、機械刺激に対する逃避閾値(MHWT)を測定した。IONIによりMHWTが低下した。IONI後7日目、TG内インターフェロンガンマ(IFN- $\gamma$ )量および活性化型衛星細胞(SGC)数は増加した。IFN- $\gamma$ 受容体は、SGCに発現した。TG内全細胞のうち、IFN- $\gamma$ 産生細胞の割合はIONI群で増加し、かつ全IFN- $\gamma$ 産生細胞中の約7割がCD8 T細胞であった。インターロイキン-1 $\beta$ (IL-1

$\beta$ )受容体はTGニューロンに発現し、TG内へのIFN- $\gamma$ 受容体アンタゴニスト持続投与は、IONIによるMHWT低下を抑制した。Naive群において、TG内へのIFN- $\gamma$ 投与はMHWTを低下させ、その低下はIL-1 $\beta$ 受容体アンタゴニスト同時投与によって抑制された。Naive群において、IONI後のTGから単離したCD8 T細胞のTG内投与はMHWTを低下させた。IFN- $\gamma$ 刺激は、培養SGCからのIL-1 $\beta$ 分泌量を増加させた。以上より、IONI後、TG内CD8 T細胞から放出されるIFN- $\gamma$ がSGCを活性化し、活性化SGCから放出されたIL-1 $\beta$ がTGニューロンの興奮性を増大させ、口髭部に機械アロディニアが発症することが示唆された。

## MP1-15 「舌癌性疼痛における三叉神経節内マトリックスメタロプロテアーゼ-9 (MMP-9) の役割」

高橋 亮輔<sup>1</sup>、人見 涼露<sup>2</sup>、林 良憲<sup>2</sup>、岩田 幸一<sup>2</sup>、篠田 雅路<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大 歯 口外Ⅱ、<sup>2</sup>日大 歯 生理)

マトリックスメタロプロテアーゼ-9 (MMP-9) は、細胞外マトリックスを分解し、癌の血管新生、浸潤、転移に関与することが報告されている。しかし、舌癌性疼痛における三叉神経節内MMP-9の役割は不明である。本研究は舌癌発症後の三叉神経節内MMP-9の役割を明らかにすることを目的とした。

Fisher系ラットの左舌縁にラット由来扁平上皮癌細胞 (SCC-158) を播種し、舌癌モデルラットを作製した。SCC-158播種後、舌に機械刺激を加え、頭部逃避反射閾値を経日的に測定した。播種後6日目、三叉神経節におけるMMP-9の局在を解析し、MMP-9量を定量した。また、SCC-158播種後、三叉神経節にMMP-9阻害薬

を連日投与し、頭部逃避反射閾値を測定した。さらに、無処置ラットの三叉神経節にMMP-9を連日投与し、頭部逃避反射閾値を測定した。

SCC-158接種後4日目以降頭部逃避反射閾値は低下した。MMP-9は三叉神経節活性化サテライトグリア細胞に発現し、その量は増加した。MMP-9阻害薬投与後6日目以降、SCC-158播種による頭部逃避反射閾値の低下は抑制された。またMMP-9投与後6日目以降、頭部逃避反射閾値は低下した。

以上より、舌癌発症後に三叉神経節活性化サテライトグリア細胞に発現するMMP-9が舌癌性疼痛に関与することが示唆された。

## MP1-16 「ラット口腔癌性疼痛に対する癌浸潤部 Legumain の役割」

田代 茂太<sup>1</sup>、篠田 雅路<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大 歯 生理)

Legumain が腫瘍の進展や浸潤に関与していることは知られているが、口腔癌性疼痛に対する役割は不明である。本研究では、ラット舌癌性疼痛に対するLegumain の関与を検討した。

深麻酔下にて、扁平上皮癌細胞株(SCC-158)をFisher344ラット舌縁部皮下に接種した。浅麻酔下にて舌縁に機械刺激を加え、逃避反射閾値(MHWT)を測定した。SCC-158舌接種後3日目よりMHWTが低下した。培養SCC-158および舌腫瘍部の扁平上皮癌細胞にLegumain

の発現を認め、培養SCC-158を接種した舌腫瘍部においてLegumain量が増加した。Legumain 阻害薬またはPAR2 受容体拮抗薬の舌への連日投与はSCC-158舌接種後のMHWT の低下を抑制した。さらに、無処置ラットへの活性化 Legumain 舌投与はMHWTを低下させた。

以上より、舌腫瘍部の舌扁平上皮癌細胞から放出される Legumain がPAR2 受容体を介して舌投射侵害受容ニューロンの興奮性を増大させ、舌癌浸潤部の機械アロディニアが発症することが示唆された。

## MP1-17 「線条体マトリックス・ストリオソームの神経活動による舌運動の制御」

石丸 佑太<sup>1,2</sup>、吉澤 知彦<sup>1</sup>、木本 大視<sup>1,2</sup>、乾 賢<sup>1</sup>、船橋 誠<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大 院歯 口腔生理、<sup>2</sup>北大 院歯 小児障害者)

舌の運動制御には大脳基底核の線条体が深く関与している。線条体は解剖学的特徴が異なるマトリックスとストリオソームの2種類の区画で構成される。マトリックスは運動皮質由来の、ストリオソームは辺縁皮質由来の神経線維が入力することから、各区画は舌運動制御において異なる役割を担う可能性がある。そこで、我々は摂食行動時におけるマトリックスとストリオソームの神経活動を比較して、各区画の舌運動制御における役割解明を目的として実験を行った。マト

リックス (n = 5) とストリオソーム (n = 5) の各々の神経細胞特異的に遺伝子組み換え酵素Creが発現する遺伝子改変マウスを使用した。Cre依存的に細胞内カルシウムセンサー GCaMP6fを発現させるため、線条体背内側部(DMS)にAAV5. CAG. Flex. GCaMP6f を微量注入した。各マウスに対して、スパウトを舌でリッキングするとスクロース水を与えるオペラント条件付けを実施した。この時、DMSに埋入した光ファイバーを介して465nm光を照射し、GCaMP6fの蛍光を記録した。そ

の結果、マトリックスだけでリッキング開始0.5~1秒前から神経活動の上昇が観察された。さらにマトリックスの神経活動は、記録脳半球と同側のスパウトをリッキングした場合の方が、対側のスパウトをリッ

ングした場合と比較して有意に増加した。以上の結果から、リッキングによる条件付け時の舌運動制御には、主にマトリックスの神経活動が関与していることが示唆された。

## MP1-18 「咽頭炎モデルラットを用いた侵害性気道防御反射機能の解析」

御手洗 直幸<sup>1,2</sup>、中富 千尋<sup>1</sup>、徐 嘉鍵<sup>1</sup>、安田 紘佳<sup>1</sup>、福崎 まり<sup>1,3</sup>、折本 愛<sup>2</sup>、北村 知昭<sup>2</sup>、小野 堅太郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九歯大 生理、<sup>2</sup>九歯大 保存、<sup>3</sup>九歯大 顎口腔機能矯正)

嚥下や咳は気道防御反射であり、咽頭喉頭部での侵害受容体TRPV1やTRPA1の活性化により誘発される。咽頭炎は水刺激反射を低下させることが知られているが、侵害性反射への影響は不明である。

本研究には雄性Wistarラットを用いた。10% 酢酸にて咽頭喉頭部を処理し、咽頭炎を発症させた。刺激溶液として蒸留水、TRPV1作動薬カプサイシン (CPS) およびTRPA1作動薬アリルイソチオシアネート (AITC) を用い、咽頭喉頭部へ流入させた。内視鏡下にて観察し、喉頭蓋挙上によるホワイトアウトを記録した。

複数回のホワイトアウト観察後において、着色した溶液の胃内到達と喉頭内流入を確認した。よって、嚥下と咳に関連した気道防御反射であると考え。健常

群と比較して、咽頭炎群では水刺激反射は低下していたが、CPSとAITCによる反射は維持されていた。CPS誘発反射は連続投与による脱感作の程度が緩やかであり、AITC誘発反射は潜時が延長していた。下咽頭アリテノイドにおいて、神経線維マーカー PGP9.5と共染されたTRPV1もしくはTRPA1陽性線維は粘膜上皮層直下に散在しており、咽頭炎発症によりTRPV1陽性線維に変化はなく、TRPA1陽性線維は少ない傾向にあった。

本結果より、水刺激とは異なり、咽頭炎発症時においてもTRPV1およびTRPA1活性化により気道防御反射が誘発されることが明らかとなった。炎症によるTRPV1感作やTRPA1陽性線維の減少が、咽頭炎後の反射機構に影響していると考えられる。

## MP1-19 「脚橋被蓋核刺激による嚥下反射の減弱における巨大細胞網様核の関与」

穂保 由衣<sup>1</sup>、佐藤 義英<sup>2</sup>、大橋 誠<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 麻酔、<sup>2</sup>日歯大新潟 生理)

【目的】我々は脚橋被蓋核(Ptg)の刺激により嚥下反射が減弱し、巨大細胞網様核(Gi)の刺激により嚥下反射が変調することを報告した。形態学的研究から、PtgはGiへ投射しており、Giは嚥下の中枢性パターン発生器の一部である孤束核に投射していることが明らかにされている。本研究ではPtg刺激による嚥下反射の減弱が、Giの電氣的破壊により影響を受けるか検索した。【方法】実験にはウレタン麻酔下ラットを用いた。上喉頭神経(SLN)の連続電気刺激(持続時間0.2ミリ秒、刺激頻度30 Hz、刺激時間10秒)により嚥下反射を誘発し、顎舌骨筋から筋電図を記録した。最初にSLN単

独刺激を行い、次にSLNとPtgの同時電気刺激を10秒行い、再びSLNの単独刺激を行った。嚥下反射が減弱されたことを確認したのち、Giを電氣的に破壊(30  $\mu$ A, 5分)した。Giの破壊後、破壊前と同様に、最初にSLN単独刺激、次にSLNとPtgの同時電気刺激、最後にSLN単独刺激を行った。嚥下反射の測定後、脳切片を作成し刺激部位と破壊部位を確認した。【結果】Giの電氣的破壊後、Ptg電気刺激による嚥下反射の減弱はGi破壊前に比べ減少した。

【考察】Ptg刺激による嚥下反射の減弱は、Giが関与していることが示唆された。

## MP1-20 「周波数制御式反復微細振動は BMP シグナル経路を介して MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞分化を促進する」

松下 歩夢<sup>1,2</sup>、工藤 忠明<sup>1</sup>、富並 香菜子<sup>1</sup>、安藤 恵子<sup>1</sup>、中井 淳一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 東北大 院歯 口腔生理、<sup>2</sup> 明海大 歯 薬理)

骨粗鬆症治療のための薬物療法は重篤な副作用が認められることがあり、非侵襲的でよりリスクの少ない手法の開発が求められる。物理的的刺激は、骨芽細胞及びその前駆細胞の代謝に影響を与える重要因子であり、骨再生において重要な役割を果たすとされるが、微細振動が骨芽細胞の増殖及び分化に果たす役割は不明である。そこで本研究では、骨代謝研究で使用されているマウス前骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1を用い、周波数制御式反復微細振動 (FRMV) が細胞増殖及び分化に与える影響を検討した。その結果、通常の増殖培地中のMC3T3-E1細胞に対し、42.2 HzのFRMVは増殖を有意に促進したが、92.1 HzのFRMVは増殖に影響を与えなかつ

た。また、分化培地中のMC3T3-E1細胞に対し、42.2 HzのFRMVは、増殖には影響しなかったが、アルカリホスファターゼ (ALP) 酵素活性及びALP遺伝子発現を有意に増加させた。さらに、骨形成タンパク質 (BMP) シグナル伝達阻害剤LDN193189をMC3T3-E1細胞に処理したところ、ALP酵素活性及びALP遺伝子発現のFRMV依存的な亢進が有意に抑制された。これらの結果は、本研究で開発されたFRMV法が、前骨芽細胞の細胞増殖やBMPシグナル伝達経路を介した骨芽細胞分化を調節できることを示唆する。以上よりFRMVは効果的な骨再生技術の開発に貢献する可能性がある。

## MP1-21 「矯正力負荷による島皮質ニューロン応答のプリズムを用いた慢性イメージング記録」

北野 晃平<sup>1</sup>、小林 真之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 日大 歯 薬理)

歯科矯正治療において、矯正力の負荷後に生じる咬合痛は、患者のQOLを低下させる。矯正力負荷中の中枢神経系の変化は広視野イメージング法による急性実験にて検索されてきたが、細胞レベルでの慢性的な変化については未だ不明のままである。そこで本研究では、二光子励起顕微鏡を用いて、矯正力負荷時の歯根膜刺激に対する応答を同一個体で経日的に記録を行った。

【方法】Thy1\_GCaMP6sマウスに頭部固定装置を設置し、側頭筋剥離後、中大脳動脈 (MCA) を目印に開窓し、硬膜を除去して島皮質を露出させた。レンズを埋入し、プリズムを接着することで頭頂部方向からのイメージング記録が可能になった。臼歯間にセパレートゴムを

設置した動物の歯根膜を電気刺激し、その応答を覚醒下で二光子励起顕微鏡を用いて定量評価した。MATLABを用いて得られたデータの動き補正をし、細胞毎の蛍光強度の変化量 $\Delta F/F$ を算出した。

【結果】歯間分離前および分離後1-7日目での慢性記録に成功した。刺激開始前をベースラインとして4SDを超える応答を示す歯根膜刺激応答ニューロンを抽出したところ、時間依存的に応答が変化することが明らかとなった。

【考察】矯正力を負荷した直後に疼痛が増強し、その後時間経過と共に減衰していくことから、島皮質における神経細胞の活動動態は、矯正治療により惹起される疼痛の変化を反映していると考えられる。

## MP1-22 「分泌顆粒内におけるリソソームプロテアーゼの活性センサーの作製」

藤井 みゆき<sup>1</sup>、吉垣 純子<sup>2</sup>、長坂 新<sup>1</sup>、坂東 康彦<sup>1</sup>、小野澤 豪<sup>1,3</sup>、鈴木 海登<sup>1,3</sup>、天野 修<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 明海大 歯 組織、<sup>2</sup> 日大松戸歯 生理、<sup>3</sup> 明海大 歯 口腔顎顔面外科)

【目的】唾液腺腺房細胞は唾液タンパク質を合成し、分泌顆粒に貯蔵する。分泌顆粒の細胞内貯留が長期化すると、分泌顆粒が劣化して組織損傷を引き起こす。組織恒常性維持には、劣化した分泌顆粒を適切に処理しなければならないが、処理機構は不明である。本研究では、劣化した分泌顆粒の処理機構を明らかにするために、分子内FRETタンパク質であるmScarlet

I-protease recognition peptide-mWatermelon (SPW) を用いて、分泌顆粒中のプロテアーゼ活性を測定する方法を開発した。

【方法】SPWが持つプロテアーゼ認識配列をそれぞれ酸性pHと中性pH時にカテプシンBで切断されるように改変した (SPW46, SPW72)。SPW46とSPW72を組み込んだプラスミドを大腸菌に遺伝子導入して発現させ、精製し

た。酸性と中性pHに調整した精製SPWとカテプシンBを0-60分間反応させ、電気泳動後に染色し切断型と非切断型の合計に対する切断型の比率を算出した。また、pHを調整したSPW46またはSPW72をカテプシンBと反応させた際のFRETの変化を蛍光分光光度計で測定した。**【結果と考察】** SPWの切断率とFRETの変化率はよく一致

しており、FRETの変化でSPWの切断を計測できることがわかった。SPW46とSPW72ともに酸性下で切断され、時間とともに切断率が増加していた。一方、中性下ではSPW46とSPW72ともに切断されなかった。これらのことより、SPW46は酸性pHでのカテプシンBの活性センサーとして使用できることが示唆された。

## MP1-23 「オキシトシン / オキシトシン受容体は中枢唾液分泌を促進する」

堀江 謙吾<sup>1</sup>、Lihanfang Liu<sup>1</sup>、美藤 純弘<sup>1</sup>、吉田 竜介<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 口腔生理)

オキシトシン (OXT)は主に視床下部で産生されるホルモン・神経伝達物質であり、末梢や中枢の様々な組織・神経核に発現するオキシトシン受容体 (OXTR)を介して身体機能を調節する。近年、前脳OXTR発現神経細胞が他個体に対する社会・向社会行動を制御することが盛んに報告されてきた。一方、OXTRは脳幹での広範な分布も知られているが、脳幹OXTRが制御する生理機能はいまだに不明な点が多い。

本研究では、マウスの脳幹OXTRの発現を探索し、唾液分泌の中枢である上唾液核にOXTR陽性細胞が豊富に存在することを見出した。また、末梢神経トレーシングによって、上唾液核OXTR陽性細胞は顎下腺・舌下腺を支配する副交感・節前神経細胞であることを明らか

とした。急性脳切片を用いた電気生理学的解析の結果、OXT投与によって上唾液核OXTR神経細胞に活動電位が生じた。さらに、覚醒マウスの上唾液核へのOXT投与が唾液分泌を有意に増加させたことから、上唾液核OXTR/OXTRは生体において唾液分泌促進作用を示すと考えられる。最後に、中枢トレーシングによって室傍核OXTR神経細胞が上唾液核OXTR神経細胞の近傍へと投射を持つことを発見した。

これらの結果は、上唾液核のOXT/OXTRシステムが興奮性神経伝達を介して副交感・節前神経を活性化し唾液分泌を促進することを示しており、中枢唾液分泌の新規分子メカニズムであることを示唆している。

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「生化学部門」（MP1-24～43）

### MP1-24 「高スクロース水の継続摂取による成長期ラットの唾液と顎下腺に及ぼす影響」

吉田 織恵<sup>1</sup>、森田 貴雄<sup>2</sup>、山口 晴香<sup>2</sup>、下村 - 黒木 淳子<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 小児歯、<sup>2</sup>日歯大新潟 生化学)

【目的】器官の成長発育は食事により影響を受けるため、幼少期の栄養摂取は唾液腺の成長発育に影響を与え、齲蝕感受性への関連が示唆される。本研究は幼少期からのスクロースの過剰摂取は唾液腺の成長発育や唾液成分にどのような変化を与えるか検討した。

【材料・方法】ラット(Wistar)の雄をコントロール群(Control:C群, n=10)と実験群(Sucrose:S群, n=10)に分け、C群には蒸留水を、S群には15%スクロース液を継続摂取させ、3～12週齢までの9週間飼育した。餌は同じ通常飼料を選択した。飼育中の体重、血糖値、飲水量、餌摂取量を計測し、摂取カロリーを比較した。3週ごとにピロカルピンの腹腔内投与による全唾液分泌量と唾液中のタンパク質量を測定した。12週齢ラットの顎

下腺を単離し組織重量を測定した。顎下腺組織におけるHE染色及び唾液腺の成長や齲蝕感受性に関与が示唆される遺伝子発現の変化を定量PCRで解析した。

【結果と考察】S群はC群と比較し摂取カロリーが有意に増加した。体重及び血糖値、全唾液分泌量、唾液タンパク質量、組織重量は両群間に差は見られなかった。HE染色においても両群間で明確な違いは見られなかった。定量PCRの結果、S群でEGFおよびCa6の低下、MUC5Bの上昇を認めた。

【結論】高スクロース水の継続摂取は遺伝子レベルで顎下腺の成長因子と齲蝕感受性に影響を与え、齲蝕高リスクへの機能的及び器質的变化が考えられた。

### MP1-25 「シェーグレン症候群モデルマウスにおけるピロカルピン反復投与が与える唾液分泌への影響」

板垣 壮侑<sup>1</sup>、山口 晴香<sup>1</sup>、森田 貴雄<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 生化)

【目的】シェーグレン症候群は外分泌腺機能が障害される自己免疫疾患であり、ムスカリン受容体アゴニストであるピロカルピン(Pilo)はこの疾患に対する唾液分泌促進薬として、使用される。ピロカルピン反復投与による唾液分泌亢進を認めるが詳細については不明である。本研究ではシェーグレン症候群モデルマウスにおけるPilo反復投与による影響について検討した。

【方法】16週齢のシェーグレン症候群モデル(NOD)マウスと野生型(ICR)マウスに麻酔下でPiloを腹腔内投与し、1週間後、同じマウスに同量のPiloを投与し、唾液分泌量変化を解析した。採取した唾液中のタンパク質濃度をQubit、アミラーゼ活性を $\alpha$ アミラーゼ測定キットを用いて解析した。顎下腺膜分画のAQP5発現を

ウェスタンブロットで解析した。

【結果・考察】ICRはPilo反復投与により、唾液分泌量、タンパク質濃度は上昇傾向を示し、アミラーゼ活性は有意に上昇した。NODにおいて、唾液分泌量、タンパク質濃度、アミラーゼ活性においてICRのような上昇傾向は見られなかった。16週齢同士のICR、NODとの比較において、唾液分泌量はICRの方が有意に高く、タンパク質濃度、アミラーゼ活性は低い傾向にあった。Pilo反復投与によりICR、NOD共にAQPとBeta-actinの増加傾向を示した。Pilo反復投与による唾液分泌量におけるICRとNODの違いから、NODにおいて、Pilo投与による唾液分泌増加のメカニズムに障害がある可能性が考えられる。

**MP1-26 「骨抽出物に含まれる非コラーゲン性タンパク質と生理活性物質」**

郡 啓介<sup>1,2</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、唐木田 丈夫<sup>2</sup>、白井 麻衣<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>  
 ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 口腔リハビリ、<sup>2</sup> 鶴大 歯 生化学 )

ラット大腿骨を脱灰した脱灰骨シートは骨再生促進効果を示し、その効果はシートに含まれる骨タンパク質に起因すると考えられている。

【目的】本研究では、脱灰骨中の骨造成に關与する生理活性物質と相互作用する非コラーゲン性タンパク質(NCP)の特定を目的とした。

【材料及び方法】6週齡雄性SDラット大腿骨から軟組織を除去後、粉碎機で骨粉を作製し、塩酸グアニジン(G1画分)、塩酸・ギ酸(H画分)、塩酸グアニジン(G2画分)を用いて連続抽出した。各画分のタンパク質はSDS-PAGE後にクマシーブリリアントブルー染色とStains-All染色により検出した。さらに、ヒト歯根膜

細胞(hPDL)を用いてトランスフォーミング成長因子β(TGF-β)様活性、マウス骨格筋由来線維芽細胞(C2C12)を用いて骨形成タンパク(BMP)様活性を評価した。

【結果】各画分に特有のタンパク質を認め、H画分とG2画分では50~64kDa付近にStains-All陽性の酸性NCPが検出された。hPDL細胞では全画分にTGF-β様活性、C2C12細胞ではH画分およびG2画分にBMP様活性が確認された。

【考察】H画分とG2画分に存在する酸性NCPは、TGF-βおよびBMP様活性と相互作用し、骨造成に寄与する可能性が示唆された。

**MP1-27 「血小板活性化因子(PAF)分解酵素 PLA2G7 遺伝子 rs1051931 非同義多型(Val379Ala)は、術後異常感覚・術後疼痛に關連する」**

林 真由子<sup>1,2</sup>、小鹿 恭太郎<sup>1</sup>、松浦 信幸<sup>1</sup>

( <sup>1</sup> 東歯大 麻酔、<sup>2</sup> 東京都医学総合研究所 臨床医科学研究分野 )

【目的】血小板活性化因子(PAF)は炎症を引き起こす脂質メディエーターであり、PAFがPAF受容体を活性化させPAF産生を増強させることや、動物実験ではPAFと疼痛との關連が報告されている。PAF-Aセチルヒドロラーゼ(AH)(PLA2G7)はPAF加水分解酵素である。今回、PAF-AH活性の低下もしくはPAF-AH血中濃度の低下を引き起こすPLA2G7遺伝子rs1051931非同義多型(Val379Ala)と術後痛關連表現型との關連を検討した。(2024年10月20日に本学学会で発表済み)

【方法】当院で下顎枝矢状分割術を行った303名(TD)と他院で腹腔鏡下婦人科手術を行った332名(JUH)を対象とした。TDサンプルでは異常感覚の評価を行い、JUHサンプルでは術後の疼痛をNumeric Rating Scale

(NRS)で評価した。血液由来DNAを用い、上記多型の遺伝子型を決定し、解析を行った。(倫理審査委員会承認番号812-2、2015053、23-32、21-26(1))

【結果】上記多型は、TDサンプルで異常感覚(p = 0.0491)、JUHサンプルで平均NRS(p = 0.0243)と有意な關連を示した。上記多型のCC遺伝子型ではTT+TC遺伝子型と比べ異常感覚が出やすく、術後痛における平均NRSが大きかった。

【考察】上記多型CC遺伝子型では、血中PAF-AH活性低下に伴い、血中PAF総量が増加することで、PAFが再びPAFを産生するループとなり、PAF受容体を介した炎症応答がより促進され、異常感覚の発生や術後痛の増悪を引き起こす可能性がある。

**MP1-28 「SLITRK1 null 再生筋では小型の筋線維が形成される」**

井上 萌李<sup>1</sup>、白川 智彦<sup>1</sup>、William Addison<sup>2</sup>、松原 琢磨<sup>2</sup>、川元 龍夫<sup>1</sup>、古株 彰一郎<sup>2</sup>

( <sup>1</sup> 九歯大 顎口腔機能矯正、<sup>2</sup> 九歯大 分子情報生化 )

【目的】神経系と骨格系では、発生や恒常性維持において代謝的かつ機能的なクロストークの存在が示唆されている。われわれは最近、細胞膜貫通型タンパク質SLITRK1が骨芽細胞分化を調節し、その欠損が皮質骨の菲薄化をもたらすことを報告した。そこで本研

究では、骨芽細胞と近縁である筋芽細胞に発現するSLITRK1の筋再生における機能を解析した。

【方法】8週齡雄のSLITRK1 nullマウスを用いた。前脛骨筋にカルディオトキシンを注入して損傷を引き起こし、筋再生を誘導した。磁気活性化細胞選別法により

骨格筋組織幹細胞であるサテライト細胞を単離しRNA-seq解析を実施した。

【結果】SLITRK1 nullマウスの再生筋では、筋線維の断面積が有意に減少し、単位面積あたりの筋線維数は有意に増加していた。さらにSLITRK1 null由来のサテライト細胞では、分化初期から小型の筋管を多数形成した。RNA-seq解析では、SLITRK1 nullマウスにおい

て低分子量Gタンパク質関連因子の発現変動が確認され、骨格筋分化に関与することが知られるRhoAタンパク質の増加を認めた。

【結論】SLITRK1欠損によりRhoAの発現が亢進し、サテライト細胞が十分に増殖する前に分化を開始することで、細い再生筋が形成される可能性が示唆された。

## MP1-29 「歯髄炎における組織応答分子のトランスクリプトーム解析」

西村 俊輝<sup>1,2</sup>、埴 太宥<sup>2</sup>、工藤 朝雄<sup>2</sup>、興地 隆史<sup>1</sup>、添野 雄一<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日歯大 生命歯 保存、<sup>2</sup>日歯大 生命歯 病理)

【背景と目的】歯髄炎における分子機構は、基本的な炎症・免疫応答を中心に理解されてきたが、血管、神経、象牙芽細胞を含む歯髄環境では、特異的な刺激応答や病態進行も想定される。本研究では、歯髄の構成的な分子プロセスに注目し、歯髄炎の病態進行に関与する分子を明らかにすることを目的とした。

【方法】歯髄炎の公開バルクトランスクリプトームデータ(GSE198359およびGSE77459: 健常歯髄n=10、歯髄炎歯髄n=10)を用いてそれぞれ発現差解析を実施し、共通の差次的発現遺伝子(DEG)を抽出した。得られたDEGに対して非免疫学的なBiological Processに関するGene Ontology (GO)との積集合を評価した。

【結果と考察】発現差解析では、高発現305個、低発現28個のDEGを得た。それぞれのDEGから、高発現群では免疫関連経路、低発現群では神経機能関連経路の関与が示された。非免疫学的(歯髄構成関連)なGOカテゴリでは、vasculature development; 24個、nervous system development; 33個、odontogenesis; 5個、osteoclast differentiation; 6個、stem cell differentiation; 5個のDEGを抽出した。特に*AQP1*、*LIF*、*COL4A1*、*INHBA*、*SOX18*、*TREM2*は複数のカテゴリに共通しており、血管新生、神経応答、細胞分化、組織構築といった非免疫学的プロセスへの横断的な関与を通じて歯髄応答に働く可能性が示唆された。

## MP1-30 「歯周炎と関節リウマチ病態間の分子作用機序の探索」

泉 雄太<sup>1,2</sup>、埴 太宥<sup>2</sup>、工藤 朝雄<sup>2</sup>、西村 俊輝<sup>2,3</sup>、添野 雄一<sup>2</sup>、沼部 幸博<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日歯大 生命歯 歯周病、<sup>2</sup>日歯大 生命歯 病理、<sup>3</sup>日歯大 生命歯 保存)

【背景と目的】歯周炎と関節リウマチ病態の相互連関について、免疫学的な接点が明らかになってきたが、分子動態の観点では、両疾患併存下での分子間相互作用の探索は難しい。本研究では、歯周炎と関節リウマチの病態進行に関与する分子ネットワークの解明を目的とした。

【方法】GEO (Gene Expression Omnibus) より歯周炎(GSE173078; 健常歯肉n=12、歯周炎歯肉n=12)および関節リウマチ(GSE77298; 健常滑膜n=7、病的滑膜n=16)の公開バルクトランスクリプトームデータを用い、それぞれ発現差解析を実施し、歯周炎と関節リウマチ共通の差次的発現遺伝子(DEG)を積集合にて抽出した。得られた共通DEGに対してIngenuity Pathway Analysis

(IPA)によるパスウェイ解析とGene Ontology (GO)を用いたBiological Processの探索を行った。

【結果と考察】発現差解析では、歯周炎歯肉組織で高発現461個、低発現79個のDEG、関節リウマチ滑膜組織では高発現1,520個、低発現2,499個のDEGが得られ、それらの積集合から共通高発現遺伝子117個、共通低発現遺伝子7個を抽出した。IPAでは、自然免疫による食作用、B細胞活性化や抗体産生経路の活性化がみられた。共通高発現遺伝子のGOカテゴリとして、破骨細胞分化や脈管発生、組織応答などの非免疫学的プロセスのほか、神経発生など両疾患で発現プロファイルが異なったカテゴリも見出され、歯周組織固有の病態基盤が示唆された。

## MP1-31 「シグナル分子 PRIP の欠損は腸管免疫制御の破綻を引き起こす」

神園 藍<sup>1</sup>、松田 美穂<sup>1</sup>、自見 英治郎<sup>1,2</sup>( <sup>1</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学、<sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ )

腸管には腸管関連リンパ組織 (GALT) という独自の粘膜免疫系が発達し、腸内環境の恒常性を維持している。腸管免疫系が自己組織への免疫応答を回避しつつ生体防御機能を発揮するメカニズムの全容解明には至っていない。我々はシグナル分子PRIP (PLC-related but catalytically inactive protein) に着目し、*Prip* 遺伝子欠損 (PRIP-KO) マウスの解析からGALT代表組織であるパイエル板の欠損を見出した。このことからPRIPがパイエル板形成や腸管免疫の制御に関与する可能性が示唆された。細胞種特異的*Prip*欠損マウスの解析から、パイエル板形成不全の主な原因は、リンパ

球系のLTi細胞における*Prip*ファミリーである*Prip2*欠損であることが判明した。そこで、PRIP2-KO (KO) マウスにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 溶液を投与し腸炎マウスモデルを作製したところ、KO群はWT群に比べ腸炎重症度 (DAIスコア) が有意に高く、死亡例も認められた。また肉眼解剖より、KO群では腸管長の短縮や脾臓の肥大を認めた。組織学的解析では、大腸陰窩構造の破壊やマクロファージ数の有意な増加が観察された。以上より、*Prip*欠損は腸管免疫機構の破綻と防御機能の低下を引き起こすことが示唆された。

## MP1-32 「In vivo エレクトロポレーション法及び RNA 干渉法を用いた局所的遺伝子ノックダウンによる口内炎発症機序の解明」

芝 典江<sup>1</sup>、宮内 睦美<sup>1</sup>、太田 耕司<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 広大 院医系科学 )

【緒言】口内炎は最も頻度の高い口腔粘膜疾患であり、疼痛により著しいQOLの低下をきたす。我々は口内炎発症の開始期過程を再現したモデルハムスター (口内炎モデル) を構築し、漢方薬の約7割に配合される甘草の主成分 (グリチルリチン酸; GL) を予防的に連用することで、口内炎の発症が軽減されることを見出した。本研究では、口内炎モデルにおける網羅的遺伝子発現解析データから口内炎発症に関与する候補遺伝子を抽出し、逆遺伝学的手法により新たな口内炎発症機序を解明することを目的とした。

【材料・方法】1)口内炎モデル頬粘膜のRNA-Seq結果から、GL連用群で発現上昇が抑制される遺伝子 (口内炎発症に関与する候補遺伝子) を抽出した。2)RNA干渉

法による候補遺伝子の局所的ノックダウン (KD) を行うために、エレクトロポレーション (EP) 法による遺伝子導入条件を組織学的に検証し確立した。3) 2で確立した条件を用い siRNAを口内炎モデルの頬粘膜に導入し候補遺伝子をKDした後、口内炎を誘発した。

【結果】1)RNA-SeqのGene Ontologyエンリッチメント解析結果から、8つの候補遺伝子を抽出した。2,3)確立した条件を用いEP法により候補遺伝子のsiRNAを頬粘膜に導入後、口内炎を誘発した結果、炎症性サイトカインの保護タンパク質であるArid5aをKDした場合において口内炎の発症は有意に抑制された。

【結論】Arid5aが口内炎発症の責任遺伝子である可能性を逆遺伝学的にはじめて示した。

## MP1-33 「炭酸脱水酵素 12 のエナメル質形成過程における動態」

片岡 伶惟<sup>1</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、高野 隼人<sup>3</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、唐木田 丈夫<sup>2</sup>、野々山 駿<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>、長野 孝俊<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 鶴大 歯 歯周病、<sup>2</sup> 鶴大 歯 生化学、<sup>3</sup> 鶴大 歯 小児歯 )

エナメル質の石灰化は形成期と成熟期の二段階で進行する。成熟期エナメル質では、結晶形成に伴って生じたプロトンは炭酸脱水酵素 (CA) の触媒作用により中和化される。CAにはいくつかのアイソザイムが存在し、エナメル質形成ではこれまでにCA2やCA6の作用が報告されている。

【目的】新たにCA12のエナメル質形成過程における動態を明らかにすることを目的とした。

【方法】マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT9d) をTGF- $\beta$ で刺激し、次世代シーケンシング (NGS) を行い、CAアイソザイムの発現レベルを比較した。この結果を基に、生後5日および11日齢マウスの歯におけるCA12の

局在を免疫染色にて調べた。さらに、生後約5ヶ月のブタ永久切歯エナメル器を用いてCA12遺伝子の発現を定量PCRにて分析した。

【結果と考察】mHAT9d細胞のNGS解析では、TGF- $\beta$ 刺激によってCA12の発現が増強していた。免疫染色では、CA12は生後11日齢のエナメル芽細胞の遠位細胞膜に陽性を示したが、生後5日齢では確認出来なかった。さ

らにブタ永久切歯エナメル器のCA12遺伝子発現解析では形成期と比較し、移行期および成熟期に高発現していた。

【結論】CA12はエナメル質形成過程においてTGF- $\beta$ によって遺伝子発現が増強され、成熟期エナメル芽細胞膜に局在しながらプロトンの中和化に関与していることが示唆された。

#### MP1-34 「ブタエナメル質形成における無機リン酸供給機構について」

兒玉 羽矢<sup>1</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、濱仲 正二<sup>2</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>、長野 孝俊<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病、<sup>2</sup>鶴大 歯 生化学)

【目的】エナメル質形成で結晶の構成要素である無機リン酸(Pi)の供給について解明することを目的とした。

【方法】生後約5ヶ月のブタ切歯歯胚より形成期、移行期、成熟期のエナメル芽細胞を抽出し、ヌクレオチドピロホスファターゼ(Enpp)1, 4, 5、酸性ホスファターゼ(Acp) 4、リン酸トランスポーター(Xpr1)、パネキシン3(Panx3)、およびピロリン酸トランスポーター(ANKH)および組織非特異的アルカリホスファターゼ(Tnap)の遺伝子発現を定量PCRにて解析した。また、ブタ第二大臼歯歯胚より形成期および成熟期のエナメル質を採取し、アデノシン三リン酸(ATP)とピロリン酸(PPi)定量を行うとともに、ACPおよびアルカリホスファターゼ(ALP)の活性を測定した。

【結果】Enpp4, 5、Acp4、Xpr1、Panx3、ANKHおよびTNAPは基質形成期で高い発現を示し、Enpp1は成熟期で顕著な発現を示した。ATPは幼若エナメル質にて顕著に検出され、PPiはエナメル質結晶に結合して存在し、その量は成熟期エナメル質において多かった。また、ALP活性は両期において検出されたが、ACP活性は基質中でほとんど検出されなかった。

【考察】ブタエナメル質形成過程における無機リン酸の供給機構としては、(1)Xpr1を介した直接的供給機構、(2)Panx3によるATP-Enpp-Tnapによる生成機構、(3)ANKHによるPPi-Tnapによる生成機構が示唆された。

【結論】エナメル質の結晶成長において様々なPi供給機構が重要な役割を担っている。

#### MP1-35 「オステオプロテゲリンのヒト遺伝子変異が細胞外分泌およびRANKL結合に与える影響」

鈴木 怜奈<sup>1</sup>、福田 尚代<sup>2</sup>、福田 しんじ<sup>2</sup>、佐藤 琢麻<sup>1</sup>、宮澤 健<sup>1</sup>、鈴木 崇弘<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>愛院大 歯 矯正、<sup>2</sup>愛院大 歯 生化)

矯正治療における歯の移動には骨リモデリングが深く関わっており、破骨細胞上のRANKと骨芽細胞上のRANKLの結合が重要である。この結合により、破骨細胞が分化・活性化し、骨吸収が促進される。一方、Osteoprotegerin (OPG)は骨芽細胞から分泌され、RANKLのデコイ受容体として働き、RANKL-RANK結合を阻害することで破骨細胞の分化を阻害し、骨吸収を抑制する。OPGの機能不全は、過剰な骨吸収を引き起こし、代謝性骨疾患を生じる。OPGはTNFRSF11B遺伝子によってコードされており、これまでに若年性骨Paget病など骨リモデリングの異常疾患におけるOPGのTNFRSF11B遺伝子変異が報告されている。しかし、各変異がどの

ようにOPGの機能に影響を与えるのかについては未解明であった。我々は*Gaussia luciferase* (GLase)を融合させたOPGタンパク質を用いて、TNFRSF11B遺伝子変異がOPG分泌へ与える影響を評価した。その結果、6つの変異型OPG全てにおいて野生型と比較して分泌異常を示した。さらに、1つの変異(F117L)を除き、他の5つの変異型OPGは小胞体で滞留することを明らかにした。現在、F117L変異がもたらすOPG機能異常の分子機構を明らかにするために、RANKLとの結合能実験を行っている。

【利益相反】開示すべき利益相反関連事項はない。

## MP1-36 「骨吸収誘導性 TGF-βが破骨細胞活性と骨芽細胞分化に及ぼす影響」

大熊 理紗子<sup>1</sup>、唐木田 丈夫<sup>1</sup>、山本 竜司<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 鶴大 歯 生化学)

トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF-β) は骨基質中に大量に存在していて、破骨細胞による骨吸収によって活性化され放出される。

【目的】我々は骨吸収によって放出されたTGF-βが骨カップリングに及ぼす影響を調べることを目的とした。

【材料・方法】潜在型TGF-βを結合させたCa-Pコーティングプレートを用いて、RAW264細胞およびマウスより抽出した骨髄細胞を用いて、破骨細胞へと分化させ、骨吸収活性を測定した。またqPCRおよび組織学的解析を行った。さらに、RAW264細胞の培養上清 (CM) を回収し、CMを骨芽細胞 (ST2細胞) または骨細胞 (UMR106細胞) にそれぞれ添加し、ALP活性の測定またはqPCRを行った。

【結果・考察】RAW264細胞、マウス骨髄細胞ともに、TGF-β存在下では骨吸収活性が有意に上昇していた。また、TGF-β存在下では骨リモデリングに関与する遺伝子およびタンパク量が有意に増加していた。さらにCMの添加によって、ST2細胞はALP活性が上昇し、UMR106細胞はRankl/Opnの割合が減少していた。以上より、骨吸収によって放出されたTGF-βは、破骨細胞自身および破骨細胞前駆細胞を活性化させ、骨吸収を促進することが示唆された。そして、TGF-βは破骨細胞からのカップリング因子の産生を促進することにより、間接的に骨芽細胞分化誘導を促進することが示唆された。

## MP1-37 「生物発光を用いたスクレロスチンの分泌イメージングと疾患関連変異体の評価」

谷 太久哉<sup>1,2</sup>、福田 尚代<sup>2</sup>、近藤 久貴<sup>3</sup>、佐藤 琢麻<sup>1</sup>、宮澤 健<sup>1</sup>、福田 信治<sup>2</sup>、鈴木 崇弘<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 愛院大 歯 矯正、<sup>2</sup> 愛院大 歯 生化、<sup>3</sup> 愛院大 短大)

矯正治療における歯の移動には、骨形成と骨吸収からなる骨リモデリングが重要である。このうち骨形成の制御に関与する因子として、骨細胞が産生するスクレロスチン (sclerostin, SOST) が知られている。sclerostinはSOST遺伝子にコードされる分泌タンパク質であり、WntのアンタゴニストとしてLRP5/6に結合し、Wnt経路の活性化を阻害することで骨形成を抑制する。これまでに骨硬化症などの疾患に関連してSOST遺伝子の塩基変異がいくつか報告されているが、遺伝子変異データベースClinVarに登録されている多くの変異について未だ十分な機能解析が行われておらず、疾患発症に関わる分子機構はほとんど不明である。本

研究において我々は、発光酵素 *Gussia luciferase* (Glase) を用いてsclerostin の分泌動態を解析した。骨細胞様細胞株MLO-Y4に野生型ヒトsclerostin とGlaseとの融合タンパク質 (SOST-Glase) を発現させ、発光顕微鏡システムにより開口分泌の瞬間を可視化した。また、培養上清および細胞抽出液中の発光活性を指標としSOST-Glaseの分泌を定量し、細胞外への分泌が低下するsclerostin変異体を同定した。本研究は、生物発光を用いてsclerostin の分泌を可視化・定量した初めての報告であり、SOST遺伝子変異による骨代謝疾患の病態解明に新たな知見を提供するものである。

## MP1-38 「エネルギー代謝における Id4 の役割」

木下 航志<sup>1,2</sup>、林 慶和<sup>1,3,4</sup>、佐伯 彩華<sup>1</sup>、高橋 一郎<sup>2</sup>、平田 雅人<sup>4</sup>、自見 英次郎<sup>1,5</sup>、安河内 (川久保) 友世<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>2</sup> 九大 院歯 矯正、<sup>3</sup> 福歯大 機能構造、<sup>4</sup> 福歯大 口腔医学研究セ、<sup>5</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学)

Id proteins (Inhibitor of differentiation/DNA binding proteins)は、bHLH型転写因子ファミリーに属するタンパク質で、主に細胞の分化や増殖の制御に関与する転写抑制因子として知られている。哺乳類で

はId1からId4の4種類が存在するが、Id4の標的分子や生理機能の詳細は不明である。そこで本研究では、肝臓におけるId4の役割について、Id4欠損 (Id4 KO) マウスを用いた解析を行った。

本研究で用いたId4 KOマウスは、野生型 (WT) マウスと比較し、低体重で、死因は不明であるが約20日齢で致死となるため、その解析は2週齢で行った。RNA-seq解析において、Id4 KOマウスの肝臓における脂肪酸合成酵素、脂肪酸伸長酵素の顕著な低下が認められ、それらの発現制御に関わる転写因子をコードする遺伝子群の発現が減少していた。また、Id4 KOではWTマウス

と比較し、血糖値、血清遊離脂肪酸濃度が有意に上昇していることが示された。さらに、Id4 KO マウスでは WTマウスに比べて、肝臓における脂肪酸合成が低下していることが確認された。以上より、Id4 が肝臓における脂肪酸合成に関与していること、また、脂肪酸合成・代謝不全がId4 KOマウスの生存期間短縮に寄与している可能性が示唆された。

### MP1-39 「ブラジル産グリーンプロポリス含有 4-META/MMA-TBB レジン系修復材料の試作」

鶴田 はねみ<sup>1</sup>、神谷 真子<sup>2</sup>、シィファ ラハマン<sup>1</sup>、新谷 耕平<sup>3</sup>、池野 久美子<sup>4</sup>、中村 源次郎<sup>4</sup>、川木 晴美<sup>5</sup>、奥山 克史<sup>1</sup>、近藤 信夫<sup>6</sup>

(<sup>1</sup>朝日大 歯 保存・歯冠修復、<sup>2</sup>朝日大 経営 化学、<sup>3</sup>朝日大 歯 理工、<sup>4</sup>秋田屋本店 研究開発部、<sup>5</sup>朝日大 歯 口腔生化、<sup>6</sup>朝日大 歯 化学)

【目的】4-META/MMA-TBBレジン は歯質接着性や生体親和性に優れ、歯科用接着材として広く使用されているが、これに治癒効果の促進を目的としてブラジル産グリーンプロポリス (Brazilian Green Propolis: BGP) の添加を試みた。我々は既に、BGPが抗D3抗体刺激脾細胞の炎症性サイトカイン (IFN- $\gamma$ ) の産生を抑制し、IL-2の産生を介して抑制性サイトカイン産生を促進すること、およびBGP添加4-META/MMA-TBBレジン は機械的強度が損なわれないことを確認している。本研究では抗炎症作用への影響を評価した。

【方法】MMAIに0.5 ~ 10 wt% BGPを添加した4-META/MMA-TBBレジン (Super Bond、サンメディカル) を用いた。

24週齢以上のC3H/HeN系雄性マウスの脾細胞をRPMI 1640培地に懸濁し、48ウェルプレートにBGP含有レジン硬化体を敷き、抗CD3抗体ビーズと共に脾細胞を播種し37℃、5 %CO<sub>2</sub>で48時間培養した。培養上清中のIL-2産生量をELISA法で測定した。

【結果】BGP添加群では、コントロールと比較してIL-2産生量の増加が認められた。

【結論】BGPを混和した4-META/MMA-TBBレジン は、接触培養した抗CD3抗体刺激脾細胞のIL-2産生を促進することで、抑制性サイトカイン産生を促進する可能性が示された。

### MP1-40 「ブラジル産グリーンプロポリス (BGP) の主要成分 Artepillin C による抗体刺激マウス脾細胞の炎症性および Th2 サイトカイン産生制御」

シィファ ラハマン<sup>1</sup>、鶴田 はねみ<sup>1</sup>、神谷 真子<sup>2</sup>、高橋 萌<sup>3</sup>、池野 久美子<sup>4</sup>、中村 源次郎<sup>4</sup>、川木 晴美<sup>5</sup>、村松 泰徳<sup>3</sup>、奥山 克史<sup>1</sup>、近藤 信夫<sup>6</sup>

(<sup>1</sup>朝日大 歯 保存・歯冠修復、<sup>2</sup>朝日大 経営 化学、<sup>3</sup>朝日大 歯 口外、<sup>4</sup>秋田屋本店 研究開発部、<sup>5</sup>朝日大 歯 口腔生化、<sup>6</sup>朝日大 歯 化学)

我々は既に、ブラジル産グリーンプロポリス (BGP) が、その主要成分であるアルテピリンC (Art-C) を介して抗CD3抗体刺激脾細胞の炎症性サイトカインを抑制する一方でIL-2産生を顕著に促進し、抑制性サイトカインを促進することを示してきた (Tsuruta H, 2022)。

一方、中国産プロポリス (CP) の主要成分であるカフェイン酸フェネチルエステル (CAPE) も、刺激脾細胞の炎症性および抑制性サイトカイン産生に対して、Art-Cとよく似た制御を行うことが判明し (Ando M, 2023)、さらに CAPEがIL-2を介してIL-4およびIL-10産生を促進していることを明らかにした (Takahashi M, 2024)。

本研究では、Art-Cによる刺激脾細胞の炎症性サイトカインおよび抑制性サイトカインであるTh2サイトカイン産生におよぼす影響を評価し、抗IL-2中和抗体を用いて、それらサイトカイン産生に関与するIL-2の機能について検討した。その結果、Art-Cは刺激脾細胞においてIL-2を介してIL-4、IL-10などのTh2サイトカイン産生を促進することと、IL-5、IL-13産生を抑制するが、これらの産生は部分的にIL-2の機能によりその産生が維持されていることが判明した。

以上の結果よりArt-CはIL-2を介する系と介さない系でTh2サイトカイン産生を特異的に制御することが示唆された。

## MP1-41 「LepR 陽性歯根膜細胞の性状および長期的動態解析」

Satsuki Shidara<sup>1</sup>、溝口 利英<sup>2</sup>( <sup>1</sup>東歯大 矯正、<sup>2</sup>東歯大 口腔科学研究セ)

【目的】我々はレプチン受容体(LepR)陽性細胞が歯根膜(PDL)に局在し、歯周組織の硬組織維持に寄与することを報告した。本研究ではLepR-CreERマウスの1年に亘る細胞系譜解析と1細胞解析からLepR<sup>+</sup>PDL細胞の性状の解明を目的とした。

【方法】LepR-CreER;R26tdTomato(Tom)マウス(2週齢)に40H-タモキシフェン(100 mg/kg)を3日間投与してLepR<sup>+</sup>細胞をTom蛍光で標識し(LepR-Tom<sup>+</sup>細胞)、2日、2カ月、半年、1年後に上顎第一臼歯部の凍結切片を観察した。また、LepR-Cre;R26-tdTom;Runx2-GFPマウスの上顎臼歯周囲PDLを回収し1細胞解析を行った。

【結果】<細胞系譜解析>標識2日後のPDLにLepR-Tom<sup>+</sup>細胞を認めたが、骨細胞(OCY)とセメント細胞(CM)には認められなかった。LepR-Tom<sup>+</sup>細胞由来OCYとCMIはそ

れぞれ2カ月後と半年後をピークに増加してその後減少した。1年後ではLepR-Tom<sup>+</sup>細胞由来OCYは存在したが、CMIは認められなかった。

<1細胞解析>PDLにおけるLepR<sup>+</sup>細胞はRunx2<sup>+</sup>とRunx2<sup>-</sup>の2集団に分類された。擬時間解析の結果、LepR<sup>+</sup>Runx2<sup>+</sup>細胞がLepR<sup>+</sup>Runx2<sup>-</sup>細胞を介してセメント芽細胞(CB)と骨芽細胞(OB)に分化することが示された。またLepR<sup>+</sup>Runx2<sup>+</sup>細胞集団では他のPDL集団やCB/OB集団より破骨細胞誘導因子RANKLの高発現傾向を認めた。

【考察】LepR<sup>+</sup>PDL細胞の長期に亘る硬組織形成細胞への寄与が示された。また、CMの供給源は加齢に伴いLepR<sup>+</sup>PDL細胞から他の細胞にシフトすることが示唆された。

## MP1-42 「Erythromyeloid progenitor-derived osteoclast precursors provide the main source of neonatal osteoclasts essential for tooth eruption.」

李 若萱<sup>1</sup>、何 治鋒<sup>1</sup>、中道 裕子<sup>1</sup>、宇田川 信之<sup>1</sup>、小林 泰浩<sup>1</sup>( <sup>1</sup>Matsumoto Dent Univ, Inst Oral Sci)

Osteoclast precursors (OCPs) can be derived from not only hematopoietic stem cells (HSC) but also erythromyeloid progenitors (EMP). Our investigation focuses on the EMP-derived OCPs that give rise to osteoclasts (OCs) with functional distinctions compared to HSC-derived OCs. Here, temporally controlled conditional gene knockout experiments revealed that deletion of RANK in OCPs in the speculate mid embryonic stage suppressed osteoclastogenesis in the bone marrow with narrowed cavities on postnatal day 0 mice. Through generation of RANK-Cre; Csf1r cKO mice, EMP-derived macrophages are specifically eliminated, whereas HSC-derived macrophage

development is normal. Genetic ablation of EMP-derived OCPs suppressed the osteoclastogenesis and decreased the bone marrow cavity area. However, OCs gradually appeared and bone marrow cavities also expanded with a delay. Meanwhile, the three-to-four-week-old mice exhibited absent or incomplete tooth eruption. Taken together, EMP-derived OCPs are critical for osteoclastogenesis in neonatal period, and directly contribute to the formation of bone marrow cavity. Moreover, EMP-derived OCPs differentiate into OCs required for the tooth eruption.

**MP1-43 「The environmental glutamine induces cross-regulation of glucose and glutamine in the growth and metabolism of normal and oral squamous cell carcinoma cells.」**

Shan Liu<sup>1</sup>、Jumpei Washio<sup>1</sup>、Nobuhiro Takahashi<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生化)

Background:Our previous study has suggested a link between glutamine and glucose metabolism in cancer cells, but the effects of glutamine on their growth and glucose metabolism remains poorly explored.

Methods:Normal (HaCaT) and oral squamous cell carcinoma (HSC-2 and HSC-3) cells were cultured in medium (containing 1 g/L glucose) supplemented with glutamine (0, 0.25, 0.5, 1, and 2 mM) to evaluate the effect of glutamine on the growth. The effect on glucose metabolic activity by cells after 24 h and 72 h (HSC-2 and HSC-3)/48 h (HaCaT) of culture was also evaluated.

Results and conclusions:Glutamine significantly

enhanced growth in all cells. Glucose metabolic activity tended to decrease depending on glutamine concentration during 24 h of culture, and continued to decrease even after 72 h in HSC-2 and HSC-3, whereas glucose metabolic activity recovered and even increased after 48 h in HaCaT. These results suggest that cancer cells adapt to use glutamine instead of glucose as a cellular material and energy source (shift to glutaminolysis), whereas normal cells continue to use glucose as an energy source and glutamine as a cellular material, even at high glutamine concentrations.

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「薬理・病理学部門」（MP1-44～51）

- MP1-44 「抗酸化機構を標的とした4-オクチルイタコン酸による抗腫瘍作用」  
 佐伯 彩華<sup>1</sup>、林 慶和<sup>1,2,3</sup>、吉本 尚平<sup>3,4</sup>、平田 雅人<sup>3</sup>、自見 英治郎<sup>1,5</sup>、  
 安河内（川久保）友世<sup>1</sup>  
 （<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>2</sup>福歯大 機能構造、<sup>3</sup>福歯大 口腔医学研究セ、  
<sup>4</sup>福歯大 病態構造、<sup>5</sup>九大 院歯 口腔細胞工学）

クエン酸回路において産生されるイタコン酸（IA）は炎症制御因子として知られているが、近年、がん進展機構にも寄与している可能性が報告されている。従来、IAの機能解析には、4-オクチルイタコン酸（OI）などのIA誘導体を使用されてきたが、IAとOIの生理活性の違いは不明である。そこで本研究では、メラノーマ細胞に対するIAとOIの抗腫瘍効果について解析した。

培養細胞を用いた実験では、細胞外に添加したIAやOIは細胞内に取り込まれ、OIの一部はIAに変換されることがLC-MS/MS解析で明らかになった。また、OI添加によって増殖抑制効果が認められたが、IAは細胞増殖活性に影響を及ぼさなかった。RNA-seq解析により、

OI処理でグルタチオン代謝異常が生じる可能性が示唆され、その後の解析から、OIによる細胞内グルタチオンの枯渇、活性酸素種の蓄積、DNA損傷、細胞老化、ミトコンドリアの酸化的リン酸化阻害などが確認された。なお、OIは正常メラノサイトの細胞増殖活性にはあまり影響を及ぼさなかった。さらに、担がんマウスに対するOI腹腔内投与は腫瘍の増殖を有意に抑制し、*in vitro*と同様の機序で増殖を抑制することが確認された。

以上より、OIはIAとは異なる生理活性をもつこと、また、OIは抗酸化システムの破綻とミトコンドリア機能障害を介してメラノーマ細胞の増殖を抑制することが示唆された。

- MP1-45 「歯周病モデルマウスでは歯槽骨吸収に伴い根尖部周辺の骨形成が誘導される」  
 上川 正悟<sup>1,2,3</sup>、唐川 亜希子<sup>2,3</sup>、畔津 佑季<sup>2,3</sup>、茶谷 昌宏<sup>2,3</sup>、池田 めぐみ<sup>4</sup>、  
 山本 松男<sup>1</sup>、高見 正道<sup>2,3</sup>  
 （<sup>1</sup>昭医大 歯 歯周病、<sup>2</sup>昭医大 歯 歯科薬理、<sup>3</sup>昭医大 歯 薬理科学研、  
<sup>4</sup>昭医大 歯 歯内治療）

【目的】本研究では、歯周病モデルマウスを用いて歯槽骨吸収のメカニズムを解析した。その結果、歯槽骨吸収の進行に伴って新たな骨組織が根尖周囲に形成され、それが抗RANKL抗体によって抑制されることを見出したので報告する。

【方法】1. 歯周病モデルマウス ①辺縁性歯周炎：上顎右側第二臼歯に絹糸を結紮し14日後に上顎骨のμCT解析、組織学的解析、および遺伝子発現解析を行った。②根尖性歯周炎：上顎右側第二臼歯の咬合面に窩洞を形成し露髄させ、14日後に上記と同様の解析を実施した。2. 抗RANKL抗体投与：①と②のマウスに抗マウスRANKL抗体を施術直後と7日後に投与した。

【結果】①および②の両マウスにおいて、7日後に軽度

の歯槽骨吸収と根尖部周辺の骨形成が認められ、14日後には骨吸収と骨形成が亢進していた。組織染色では破骨細胞（TRAP陽性）と骨芽細胞（ALP陽性）が根尖部の固有歯槽骨と新生骨に認められた。抗RANKL抗体は、破骨細胞形成阻害により歯槽骨吸収を抑え、それに伴って新生骨形成も抑制された。①と②では形状に違いがあるがいずれも新生骨が認められた。RANKL、Cathepsin K（破骨細胞マーカー）およびRUNX2、ALP（骨芽細胞マーカー）の発現レベルの上昇傾向を認めた。

【考察】歯周病が骨吸収だけでなく骨形成を誘導することを見出した。抗RANKL抗体がこれを抑制したことから、炎症条件下に特有の破骨細胞と骨芽細胞のカップリング機構が存在すると予想される。

## MP1-46 「軽症型低ホスファターゼ症モデルマウスにビスホスホネート製剤を投与すると骨の治癒不全が生じる」

平井 研吾<sup>1</sup>、高橋 有希<sup>2</sup>、石束 叡<sup>3</sup>、新谷 誠康<sup>1</sup>、笠原 正貴<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 小児歯、<sup>2</sup>東歯大 薬理、<sup>3</sup>東歯大 解剖)

【目的】低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子の変異により発症する遺伝性疾患で、長管骨の低形成や乳歯の早期脱落などを主徴とする。軽症型HPPでは明確な症状が乏しく、骨粗鬆症と誤診されることがある。その結果、骨粗鬆症治療薬であるビスホスホネート製剤 (BP) が誤って投与され、非定型骨折が生じたとの報告がある。そこで本研究は、BPが軽症型HPPモデルマウス (Akp2<sup>+/-</sup>マウス) の下顎骨に与える影響を検討した。

【方法】4週齢のAkp2<sup>+/-</sup>マウスにゾレドロン酸 (Zol) 1 mg/kgを週1回、計5回の皮下投与を行い、9週齢で下顎

骨を摘出した。一方、Zol投与下のマウス下顎骨に直径1 mmの円形欠損を付与し、12週齢で骨治癒を評価した。対照群としてAkp2<sup>+/+</sup>マウスを用いた。

【結果および考察】Zol投与による下顎骨の骨量の増加はAkp2<sup>+/+</sup>マウスのみで認められた。また、Zol投与後に骨欠損を形成した結果、Akp2<sup>+/-</sup>マウスでは仮骨形成が著しく抑制されていた。これらの結果から、軽症型HPPにおいてBPが骨修復に悪影響を及ぼす可能性を示しており、HPPと骨粗鬆症の鑑別診断の重要性が示唆された。

## MP1-47 「骨再生におけるスフィンゴ糖脂質の役割 - 頭蓋冠骨欠損モデルマウスを用いて -」

佐奈 愛梨<sup>1,2</sup>、長尾 麻由<sup>1</sup>、佐藤 琢麻<sup>2</sup>、宮澤 健<sup>2</sup>、濱村 和紀<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛院大 歯 薬理、<sup>2</sup>愛院大 歯 矯正)

【目的】細胞膜に存在するスフィンゴ糖脂質は細胞増殖、分化、細胞間情報伝達に関与している。我々は、スフィンゴ糖脂質の1種であるGb4が骨芽細胞に発現していること、またGb4が欠損しているGb3合成酵素遺伝子欠損 (Gb3S K0) マウスでは、骨芽細胞数が減少することで骨形成が抑制され、骨量が減少することを見出した。しかし、Gb4が新生骨形成において果たす役割は未だ不明な点が多い。そこで本研究では、Gb4が欠損しているGb3S K0マウスを用いて骨欠損部の新生骨形成にGb4が及ぼす影響を検討することとした。

【試料および方法】8週齢のGb3S K0マウスと野生型 (WT) マウスの頭蓋冠から骨芽細胞を採取し、それぞれの骨芽細胞におけるGb4の発現をフローサイトメトリーに

て検討した。次に、8週齢のGb3S K0マウスとWTマウスの頭蓋冠に直径5 mmの円形骨欠損窩洞を穿孔し、頭蓋冠骨欠損モデルマウスを作成した。術直後と術後12週でマウス頭部を $\mu$ -CT撮影し、それぞれの骨欠損部における骨閉鎖率、新生骨形成量を比較検討した。

【結果】WTマウス由来の骨芽細胞ではGb4の発現が認められたが、Gb3S K0マウスでは認められなかった。また術後12週においてGb3S K0マウスでは、WTマウスと比較して骨閉鎖率、新生骨形成量が有意に低下した。

【結論】本研究より、Gb3S K0マウスではWTマウスと比較して骨閉鎖率、新生骨形成量が有意に低下していたことから、Gb4が骨再生に関与することが示唆された。

## MP1-48 「miR-15b-5p はマクロファージのM1 分極を促進する」

園山 卓<sup>1</sup>、佐野 朋美<sup>1</sup>、溝上 顕子<sup>2</sup>、兼松 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ)

マクロファージは、炎症性のM1マクロファージ (M1) や抗炎症性のM2マクロファージ (M2) に分極する。炎症組織では、M1が有意に存在することから、マクロファージの分極機構の解明は炎症の制御につながる。本研究では、M1分極により発現が大きく変動するmicroRNA (miR-15b-5p) がM1分極に与える影響につい

て明らかにすることを目的とした。

マウスマクロファージ様細胞株RAW264.7をM1に分極させるとmiR-15b-5pの発現は有意に低下した。RAW264.7にmiR-15b-5pを導入し、LPSとINF- $\gamma$ でM1分極を誘導するとNF- $\kappa$ B経路 (p65のリン酸化) が亢進し、iNOS, TNF- $\alpha$ の発現が増加した。また、LPSまたはIFN-

$\gamma$ の単独刺激では、miR-15b-5p導入によりLPS誘導性のNF- $\kappa$ B経路が亢進したがIFN- $\gamma$ 誘導性のJAK-STAT経路は亢進しなかった。そこで、NF- $\kappa$ Bシグナルの関連分子に着目しmiR-15b-5pの標的遺伝子を探索した。IRAK-Mは、コントロール群と比較してmiR-15b-5p導入で有意

に発現抑制された。よってIRAK-MがmiR-15b-5pの1つの標的分子である可能性が示唆された。

以上より、マクロファージのM1分極を促進するmiR-15b-5pは、炎症制御の新たなアプローチになると考えられる。

#### MP1-49 「エナメル質形成における多価飽和脂肪酸パルミチン酸の影響」

中川 真舞<sup>1</sup>、水澤 典子<sup>2</sup>、岩脇 有軌<sup>3</sup>、工藤 保誠<sup>2</sup>、田中 栄二<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 顎顔面矯正、<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔生命、<sup>3</sup>徳大 院医歯薬 補綴)

【目的】エナメル質形成不全はう蝕の原因となる他、変色などによる審美的問題をも生じる。エナメル質は、乳歯では母胎の妊娠7週以降、永久歯は妊娠3ヶ月から数年の間に形成されるため、母胎および学童期までの栄養状態が影響すると考えられた。本研究では、多価飽和脂肪酸として血中に多く存在するパルミチン酸の、ヒトエナメル芽細胞における影響を検討した。

【方法】エナメル上皮腫由来ヒト細胞株HAM3を用い、パルミチン酸 (50  $\mu$ M, 24時間) 処理後 RNAを抽出し、マウスエナメル質形成不全症関連遺伝子約60種類を含めたamelogenesisプライマーセットによるqRT-PCRアレイ解析を行った。

【結果】HAM3細胞において、93種類のうち、有意差検定により21種類 (*TUFT*, *AMBN*, *AMTN*, *BMP2*, *CLDN*, *CNNM4*, *GDNF*, *IRF6*, *ITGB1*, *LAMB3*, *RUNX1*, *SMAD3*, *FOXJ1*, *PLAU*, *IL1 $\alpha$* , *IL1 $\beta$* , *IL6*, *TNF $\alpha$* , *GDF15*, *HBEGF*, *PPAR $\delta$* ) の遺伝子発現が上昇し、3種類 (*BCL11B*, *PITX2*, *TGFB1*) および、常時活性化型で低石灰化に参与する*HRAS*の発現は低下していた。

【考察】HAM3細胞では、基質タンパク質の遺伝子発現が上昇する傾向が認められ、パルミチン酸処理によってエナメル芽細胞の分化が誘導される可能性が示唆された。

#### MP1-50 「神経向性口腔癌細胞株に高発現する non-coding RNA の解析」

埴 太宥<sup>1</sup>、工藤 朝雄<sup>1</sup>、西村 俊輝<sup>1,2</sup>、佐藤 かおり<sup>1</sup>、田谷 雄二<sup>1</sup>、添野 雄一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理、<sup>2</sup>日歯大 生命歯 保存)

【背景と目的】口腔扁平上皮癌 (OSCC) における神経周囲浸潤 (PNI) は予後不良に参与する。PNIの詳細な分子機序は不明であるが、タンパク質をコードしない non-coding RNA (ncRNA) は、RNA結合タンパク質と協働して多様な機能を担うことが知られており、PNI機序への関与が想定される。本研究では、神経親和性の異なるOSCC細胞株群のRNA-seqデータを用いてPNIに関わるncRNAの解析を行った。

【材料と方法】神経向性を示すH0-1-u-1を含む7種のヒトOSCC細胞株のRNA-seqデータを用いてH0-1-u-1特異的遺伝子を検索した。得られた候補分子については、5種のOSCC細胞株およびヒト不死化ケラチノサイトのqPCRで発現を検証した。さらに、変異解析、細胞分画

による局在解析、RNA-protein pull-downアッセイおよび質量分析によるタンパク質同定を組み合わせncRNA機能を追究した。

【結果および考察】H0-1-u-1で高発現する遺伝子群のうち19.3%がncRNAであった。特に、small nucleolar RNAの*SNORA36B* は、qPCRで高発現を確認でき、頭頸部扁平上皮癌症例ではその高発現が予後不良と相関した。RNA配列上に変異はなかったが、核内偏在性およびpull-downアッセイの結果から、*SNORA36B* が既知のrRNA修飾やスプライシング制御に加えて、神経親和性を特徴づける細胞機能制御に参与している可能性が示唆された。

本研究はJSPS科研費#24K23635の助成を受けた。

## MP1-51 「ホルマリン固定パラフィン包埋検体の口腔細菌叢解析への応用可能性について」

佐野 拓人<sup>1</sup>、佐藤 拓一<sup>2</sup>、東理 頼亮<sup>1</sup>、大野 淳也<sup>1</sup>、岡田 康男<sup>1</sup>( <sup>1</sup>日歯大新潟 病理、<sup>2</sup>新潟大 院保健 臨床科学)

【目的】ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体を細菌叢研究に応用することで、過去の膨大な数の検体を用いた遡及的な研究が可能となる。しかし、FFPE検体ではホルマリン固定に起因する検体中DNAの損傷が見られる。本研究では、FFPE検体作製過程が検体中の細菌DNA及び細菌叢解析 (メタ16S解析) 結果に与える影響を検証することを目的とした。

【方法】9名の被験者から安静時唾液を採取し、唾液を遠心して得られたペレットからFFPE検体を作製した。新鮮唾液検体と唾液のFFPE検体中の細菌16S rRNA遺伝子の可変領域V1-9、V1-2、V3-4の存在量を相対的に比較した。また、メタ16S解析を行い、2つの検体タイプの結果を比較した。加えて、26個の口腔扁平上皮癌の

FFPE検体を用いたメタ16S解析を行った。

【結果と考察】FFPE検体では細菌叢解析のための標的となる細菌の16S rRNA遺伝子が断片化することが示された。しかし、V1-2領域 (約300bp) はV1-9領域 (約1500bp) やV3-4領域 (約450bp) と比較してよく保存されていた。加えて、新鮮検体とFFPE検体の間で細菌叢の $\alpha$ 多様性および $\beta$ 多様性に有意差はなく、細菌叢構成は類似していた。口腔扁平上皮癌のFFPE検体からは品質フィルタリング後に平均28598リードが得られた。FFPE検体を用いた口腔細菌叢解析においては、16S rRNA遺伝子のV1-2領域等の短い領域が解析に適しており、これら領域を標的としたFFPE検体による口腔細菌叢解析の可能性が示された。

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「微生物学部門」（MP1-52～70）

### MP1-52 「エリスリトール・硝酸カリウム併用が *Neisseria* 属増加を伴う健康型口腔フローラを形成する」

赤津 友基<sup>1</sup>、藤井 明彦<sup>1</sup>、惣野 初美<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>花王 ヒューマンヘルスケア研)

【目的】歯周病は口腔菌叢のdysbiosisが関与する。我々は軽度歯周病時の歯肉縁下では硝酸還元菌が減少するとともに、良好な歯周組織を保つ高齢者では硝酸還元菌が豊富な菌叢を形成していることを報告した。さらに、硝酸還元菌の一種*Neisseria*に歯周病菌の感染阻害作用があることを見出した。これらの知見を踏まえ、*Neisseria*に着目した健康型口腔フローラ形成方法の開発を検討した。

【検討1：歯垢BFモデル評価】歯垢*ex vivo* BFモデルと16S rRNA解析を用いて*Neisseria*を増加させる有効成分を探索した。その結果、エリスリトール（Ery）と硝酸カリウム（KN03）併用で*Neisseria*と*Haemophilus*属菌種の増加が認められた。このとき*Streptococcus*の減少を伴い、培養上清中の乳酸濃度低下とpH低下抑制も

確認された。

【検討2：ヒト有効性試験】花王（株）社員を対象に2週間の二重盲検RCTを実施した。Ery+KN03洗口剤の使用で唾液中の*Neisseria*が有意に増加し、*Prevotella*の減少が認められた。また、*Neisseria*の変化率は*Prevotella*、*Saccharibacteria*（TM7）[G-1]、*Streptococcus*等の変化率と負相関を示した（ $r < -0.4$ ）。

【考察】EryとKN03の併用は、*Neisseria*の増加を伴い歯周病菌やう蝕菌を抑制する可能性が示された。*Neisseria*は主要な硝酸還元菌の一種であることから、EryとKN03の使用は硝酸還元菌優位な健康型口腔フローラ形成を促し、予防歯科のさらなる発展に寄与する可能性がある。

### MP1-53 「*Stenotrophomonas maltophilia* の口腔内からの分離と性状解析に関する包括的な報告」

西濱 早紀<sup>1</sup>、松尾 美樹<sup>2</sup>、柴 秀樹<sup>1</sup>、小松澤 均<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup> 広大院医系科学 歯髓生物、<sup>2</sup> 広大院医系科学 細菌)

*Stenotrophomonas maltophilia*は多剤抗菌薬耐性を有する院内感染の起炎菌として知られており、菌血症や呼吸器感染症における粗死亡率は時に50%を超える。我々の研究室では、第65回歯科基礎医学会学術大会にて、ヒト口腔に多剤耐性*S.maltophilia*が高い割合で常在することを報告した。これは、口腔多剤耐性*S.maltophilia*による血流感染や誤嚥性肺炎による敗血症を惹起する可能性を示唆している。本研究では、口腔由来多剤耐性*S.maltophilia*の特徴を解明する目的で、口腔から分離した臨床分離株30株の性状解析及びRNA sequence解析を行った。結果、全ての株はバイオフィルムを形成し、

形成量に多様性を認めた。自己凝集や人工唾液凝集は菌株特異性があり、*Streptococcus mutans*等の口腔内細菌と共凝集した。遺伝子発現解析の結果、バイオフィルム形成と凝集は、鞭毛やIV型線毛の形態と運動関連因子の遺伝子発現と関連する可能性が示唆された。本研究では口腔由来*S.maltophilia*の性状および関連因子に関して、知り得る限り初めての包括的報告を行った。本研究結果から、口腔は*S.maltophilia*がヒト感染症を引き起こす重大な潜伏先である可能性があり、口腔は感染制御において重要であることが示唆された。（会員外共同研究者：鈴木 優仁、Vo Minh Ngoc、川柳 智暉）

MP1-54 「口腔細菌叢の細菌構成と腸内細菌叢の多様性および細菌構成との関連性解析」  
山 和馬<sup>1</sup>、南木 悠<sup>2</sup>、堤 康太<sup>1</sup>、翠川 優希<sup>2</sup>、近澤 貴士<sup>1</sup>、牧 利一<sup>1</sup>、竹田 綾<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>ライオン(株) 研究開発本部、<sup>2</sup>(株)サイキンソー)

【目的】口腔と腸の細菌叢の関係性を明らかにするため、先行文献に基づき分類した2タイプの口腔細菌叢とそれらに特徴的な5属、う蝕・歯周病関連菌に注目し、腸内細菌叢との関連を解析した。

【方法】247名から唾液と糞便を採取し16S rRNA遺伝子V1-V2領域を測定。各属・種の組成比とシャノン多様性指数を算出し、関連性を解析した。

【結果】先行知見と同様に口腔細菌叢は、*Veillonella*属やう蝕関連細菌*S.mutans*の比率が高いタイプ1と、*Neisseria*属比率が高いタイプ2に分類された。各タイプと腸内細菌叢の多様性(腸内では多様性が高いと安定的で良いとされる)との関連解析の結果、タイプ1であると多様性が低く、タイプ2は多様性が高い関係を

見出した。また、タイプ1に特徴的な*Veillonella*は、口腔で比率が高いと腸内から検出されやすく、腸内の多様性が低いこと、*S.mutans*は、口腔で検出されると腸内でも検出されやすいことを明らかにした。一方、タイプ2に特徴的な*Neisseria*は、腸内でほとんど検出されず、口腔で比率が高いと腸内の多様性が高い関係を明らかにした。これら結果は、口腔の細菌構成と腸内の多様性が関連する可能性を示しており、先行文献にて*Neisseria*が特徴的なタイプは口腔疾患リスクが低い可能性が示されていることを考慮すると、口腔疾患リスクが低い状態と、腸内の多様性が高く安定的な状態が関連する可能性が考えられる。

MP1-55 「D-アミノ酸によるう蝕・歯周病原細菌のバイオフィーム形成抑制に関する検討」  
川野 亜希<sup>1</sup>、八木 孝和<sup>1</sup>、黒野 剛<sup>2</sup>、吉村 徹<sup>2</sup>、吉田 幸恵<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>神常大 口腔保健、<sup>2</sup>Dアミノ酸ラボ株式会社)

生体内のアミノ酸は主にL体で構成されているが、近年、D体アミノ酸も様々な生理機能を持つことが報告されている。特に、D-セリンは神経伝達、D-アスパラギン酸はホルモン調節に関与し、D-アラニンやD-トリプトファンは免疫応答や感染防御に関与することが注目されている。本研究では、D-アミノ酸が歯科疾患の主要な原因菌に与える影響を明らかにし、う蝕・歯周病に対する新たな治療法の可能性を検討した。供試菌には*Streptococcus mutans* (*S. m.*) および*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a.*) を使用し、D-セリン、D-アラニン、D-アスパラギン酸を用いて、最小発育阻

止濃度(MIC)および最小殺菌濃度(MBC)を測定した。さらに、クリスタルバイオレット染色法によりバイオフィーム形成能への影響を評価した。その結果、D-アスパラギン酸は両菌種に対して濃度依存的に抗菌およびバイオフィーム形成阻害効果を示し、*S. m.*ではMICが12.5 mM、MBCが250 mM、*A. a.*ではMICが31.3 mM、MBCが250 mMと推定された。一方、D-セリンおよびD-アラニンには有意な効果は認められなかった。これらの結果から、D-アスパラギン酸は歯科領域における細菌感染症に対する新たな治療ターゲットとなる可能性が示唆された。なお、本研究成果は特許出願中である。

MP1-56 「口腔細菌 *Streptococcus oralis* の単一感染モデルマウスが引き起こす膀胱炎症の病態生理学的解析」  
飯岡 康太<sup>1</sup>、森崎 弘史<sup>2</sup>、深町 はるか<sup>2</sup>、立川 哲史<sup>1</sup>、増田 陸雄<sup>1</sup>、桑田 啓貴<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>昭医大 歯 全身管理 麻酔、<sup>2</sup>昭医大 歯 口腔微生物)

【目的】口腔内常在細菌である*Streptococcus oralis*は、プラーク形成に寄与する初期定着菌として知られている。一方で、観血的処置や誤嚥により血中や気道に侵入し、心内膜炎や誤嚥性肺炎を引き起こす可能性が示唆されているが、*S. oralis*単独での病態誘導の仕組みは不明である。本研究では、*S. oralis*を用いたノトバイオームモデルマウスを作成し、宿主への影響、特に膀胱炎

症への影響を調べた。

【方法】*S. oralis*を無菌Balb/cマウスに投与し、生まれた仔マウスをノトバイオームマウスとした。各臓器における菌の分布および腸管粘膜の組織学的評価を行った後、膀胱の組織学的評価と排尿パターンを調査した。膀胱組織の遺伝子発現変化は、次世代シーケンサーによるRNAシーケンスおよびqRT-PCRで評価し、膀胱

粘膜下の免疫細胞はフローサイトメトリーで解析した。

【結果と考察】*S. oralis*単独定着マウスでは、口腔に加えて腸管でも菌が検出されたが、血中、肺、膀胱では検出されなかった。軟便や頻尿などの症状が観察され、病理学的解析により膀胱組織の萎縮や浮腫が確認され

た。膀胱組織のbulk RNA発現解析では、慢性炎症関連遺伝子の発現上昇と抗酸化関連遺伝子の発現低下が認められた。以上の結果から、無菌マウスへの*S. oralis*単独感染により、間質性膀胱炎様症状が誘発されることが示唆された。

### MP1-57 「*Streptococcus mutans* 感染における自然免疫応答の解析」

岩沼 青葉<sup>1,2</sup>、豊永 憲司<sup>1,3</sup>、永尾 潤一<sup>1,3</sup>、岸川 咲吏<sup>1,3</sup>、岡 暁子<sup>2,3</sup>、田中 芳彦<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup> 福歯大 機能生物 感染生物、<sup>2</sup> 福歯大 成長発達 小児歯、<sup>3</sup> 福歯大 口腔医学 研究セ)

口腔内に様々な病原微生物が存在していることは広く知られているが、宿主免疫を介してう蝕や歯周病などの病態に至る機構には不明な点が多い。病原体感染に対する宿主防御応答では、まずマクロファージや樹状細胞といった自然免疫細胞が重要な役割を担うが、これらの細胞には病原体センサーとして様々な自然免疫受容体が発現している。これらの受容体はPAMPsと呼ばれる病原体に特徴的な繰り返し構造を認識することから、パターン認識受容体 (PRRs) ととも呼ばれる。その解析はToll様受容体 (TLRs) を中心に展開されて

きたが、NOD様受容体 (NLRs) やRIG-I様受容体 (RLRs) などいくつかの受容体ファミリーも加わり、認識するリガンドに関してもタンパク質や核酸、糖鎖など多岐にわたることが明らかとなってきた。

我々は、う蝕原性細菌として知られるミュータンス連鎖球菌*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) による自然免疫活性化に、アダプタータンパク質CARD9が寄与していることを見出した。本演題では、CARD9上流の*S. mutans*認識受容体やそのリガンド、およびう蝕形成におけるCARD9の役割について議論したい。

### MP1-58 「mfa2 挿入変異により伸長した Mfa1 線毛を発現する *Porphyromonas gingivalis* トランスポゾン変異体の同定」

三輪 尚慶<sup>1,2</sup>、藤本 実結菜<sup>1,2</sup>、榮 宏太郎<sup>2</sup>、岩瀬 智彦<sup>2</sup>、廣畑 誠人<sup>2</sup>、内記 良一<sup>2</sup>、西川 清<sup>2</sup>、名和 弘幸<sup>1</sup>、長谷川 義明<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 愛院大 歯 小児歯、<sup>2</sup> 愛院大 歯 微生物)

【目的】*Porphyromonas gingivalis*はmfa1-5オペロンにコードされるMfa1~Mfa5から構成されるMfa1線毛を有する。Mfa1をコードするmfa1はその配列の多様性により70A型、70B型、及び53型に分類され、70A型Mfa1は約70-kDaの分子量を示す。70A型に分類される標準株のMfa1線毛は100nm程度の長さで菌体表面に強固に結合している。近年、我々は73-kDaのMfa1を発現するD83T3株を新たに同定した。本研究では同株におけるMfa1線毛の特徴を明らかにし、mfa1型分類法の確立に資することを目的とした。

【方法】菌体及び培養上清中のMfa1をウエスタンブロット法により検出した。菌体におけるMfa2の発現や精製線毛中に含まれるMfa3~Mfa5の検出も行った。精製Mfa1線毛を透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察した。

D83T3株ドラフトゲノムで未決定であったmfa1下流領域の塩基配列をダイターミネーター法により決定した。

【結果】D83T3株では、73-kDaのMfa1が培養上清中で強く検出された。TEM観察では1μm以上に伸長した線毛構造が確認された。Mfa2の発現は著しく低下しており、精製線毛中にMfa3~Mfa5は検出されなかった。塩基配列解析の結果、D83T3株のmfa1-mfa2間にトランスポゾンが逆向き挿入されていた。

【考察】D83T3株では、トランスポゾン挿入によりmfa2が不活性化され、それに伴い異常に長いMfa1線毛が形成されたと考えられる。本株の特徴は、Mfa1線毛の構造形成におけるMfa2の重要性を示唆している。

## MP1-59 「マクロライド誘導体 EM982 の Toll-like receptor 2 シグナルに対する作用解析」

齋藤 瑠郁<sup>1,2</sup>、土門 久哲<sup>1,3</sup>、磯野 俊仁<sup>1</sup>、寺尾 豊<sup>1,3</sup>(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 う蝕、<sup>3</sup>新潟大 院医歯 高度口腔)

【背景】マクロライド系薬は免疫調節作用を有し、非細菌性の炎症疾患に対しても有効である。しかし、抗菌薬であるが故に頻用には耐性菌出現のリスクが伴う。エリスロマイシン誘導体のEM982は、抗菌性を有さない構造に改変したため、耐性菌を誘発させるリスクが少ない。一方で、マクロライド系薬としての免疫調節作用は保持しており、Toll-like receptor (TLR) 4下流のシグナル伝達分子のリン酸化を抑制、転写因子NF- $\kappa$ Bの活性化を調節する。本研究ではさらに、TLR2シグナルに対するEM982の影響を解析した。

【方法と結果】TLR2を強制発現するHEK293細胞に、EM982とPam3CSK4 (TLR2/1リガンド) またはFSL-1 (TLR2/6リガンド) を混合添加して培養し、NF- $\kappa$ Bの活性化に伴い分泌されるアルカリホスファターゼ (SEAP) の活性

を測定した。その結果、各リガンドを単独添加した群と比較して、EM982を混合添加した群ではSEAP活性が有意に低かった。続いて、THP-1細胞にEM982と各TLR2リガンドを混合添加して培養し、培養上清中のサイトカイン濃度をELISAで測定した。その結果、各リガンドを単独添加した群と比較して、EM982を混合添加した群において、炎症性サイトカインIL-6、TNF- $\alpha$ およびIL-8濃度が有意に低かった。

【考察】EM982はTLR2下流のNF- $\kappa$ B活性化を抑制し、炎症局所のサイトカイン産生を調整することが示唆された。

会員外共同研究者:砂塚敏明、廣瀬友靖、池田朱里 (北里大学)

MP1-60 「*Filifactor alocis* による骨芽細胞からの IL-6 産生と破骨細胞分化誘導」鶴田 侑万<sup>1,2</sup>、Tongxin Liu<sup>1,3</sup>、横井 春奈<sup>1,4</sup>、西岡 貴志<sup>5,6</sup>、多田 浩之<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔微生物、免疫、<sup>2</sup>東北大 病院 卒後研修セ、<sup>3</sup>東北大 歯、<sup>4</sup>獨協医大埼玉医療セ 共同研究セ、<sup>5</sup>東北大 院歯 リエゾン、<sup>6</sup>東北大 病院 顎口腔画像)

【緒言】歯周病原細菌*Filifactor alocis*は、破骨細胞の活性化により歯周炎の病態形成に関わるが、本菌による骨芽細胞への影響は不明である。本研究は、*F. alocis*による骨芽細胞の炎症誘導ならびに*F. alocis*による骨芽細胞の活性化を介した破骨細胞分化誘導について検討した。

【材料と方法】マウス骨芽細胞株MC3T3-E1をアスコルビン酸含有培地で骨芽細胞へと分化させた。*F. alocis*をBHI培地で嫌気培養した。*F. alocis*生菌、凍結乾燥全菌体およびextracellular vesicles (EVs) 刺激による同細胞のサイトカイン産生をELISA、mRNA発現をRT-qPCRで測定した。また、マウス骨髄細胞由来マクロファージをM-CSF、RANKLとともに*F. alocis*で刺激した骨

芽細胞の培養上清で処理し、破骨細胞分化誘導をTRAP染色で検出した。

【結果】*F. alocis*は骨芽細胞のIL-6 mRNA発現ならびにTLR2依存的にIL-6産生を著明に誘導した。興味深いことに、セルカルチャーインサートをを用いて*F. alocis*と骨芽細胞の物理的接触を遮断してもIL-6産生は観察された。また、*F. alocis*で刺激した骨芽細胞の培養上清は破骨細胞分化を著明に誘導した。

【考察】*F. alocis*は骨芽細胞のIL-6産生ならびに骨芽細胞を介した破骨細胞分化を誘導する。歯周炎において、*F. alocis*は骨芽細胞に炎症を誘導し、破骨細胞分化を誘導する可能性が示唆される。

## MP1-61 「マクロファージ分泌タンパク質 AIM が肺炎球菌に及ぼす影響の解析」

安井 惟人<sup>1,2</sup>、平山 悟<sup>1</sup>、土門 久哲<sup>1,3</sup>、寺尾 豊<sup>1,3</sup>(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 歯周診断・再建、<sup>3</sup>新潟大 院医歯 高度口腔)

【目的】わが国では、誤嚥性肺炎を含む肺炎により毎年10万人以上が死亡する。肺炎重症化機序を解明するた

め、肺炎球菌感染マウスの肺胞洗浄液をプロテオーム解析し、感染時に増加する宿主タンパク質群を同定し

た。その中から、マクロファージ由来のAIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) に着目した。AIMは様々な疾患に関連することが知られているが、肺炎球菌性肺炎との関連については報告がない。本研究では、肺炎球菌感染におけるAIMの機能を検索した。

【方法と結果】 AIMと肺炎球菌の結合性を調べるため、菌体に組換えAIMを添加し、菌体画分をウェスタンブロット (WB) した。AIMをCa<sup>2+</sup>及びBSAと共に添加した場合のみ、菌体画分からAIMが検出された。次に、U937マクロファージ細胞に肺炎球菌を添加し、貪食された菌数をコロニーカウント法で測定した。AIM添加

群では非添加群に比較して有意に多くのコロニーを確認した。肺炎球菌は好中球を傷害しエラスターゼ (NE) を漏出させることが知られている。AIMとNEを混合しWBすると、AIMは検出されなかった。

【考察】 AIMはCa<sup>2+</sup>とBSAの存在下で肺炎球菌と結合し、マクロファージによる貪食を促進することが示唆された。また、肺炎球菌感染に伴い放出されるNEは、AIMを分解することが示された。これらの結果から、感染時にAIMを補充することで、肺炎球菌の除去を促進し、肺炎重症化を抑制できる可能性が考えられる。

## MP1-62 「空間トランスクリプトミクスによる細菌性肺炎の重症化機構の解析」

石本 由祐<sup>1,2</sup>、工藤 保誠<sup>3</sup>、田中 栄二<sup>2</sup>、住友 倫子<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 徳大 院医歯薬 口腔微生物、<sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 顎顔面矯正、<sup>3</sup> 徳大 院医歯薬 口腔生命)

高齢者はインフルエンザなどのウイルス感染症に罹患した後、口腔や鼻咽腔に常在する細菌による細菌性肺炎を合併することが多い。また、糖尿病や慢性肺疾患などの加齢関連疾患は、肺炎重症化のリスク因子となる。我々はこれまでに、気道上皮の表層に誘導されるGP96が細菌性肺炎の増悪因子であることを証明した。しかし、感染肺組織におけるGP96の発現や炎症には空間的不均一性が認められ、肺炎病態の解明には感染局所における細胞間のミクロな相互作用の理解が重要であると考えた。本研究では、肺炎の重症化と病態形成につながる分子機構を空間トランスクリプトミクスにより検討した。

ヒト病理検体を用いた空間トランスクリプトーム解析において、GP96の強い発現と免疫細胞浸潤が認めら

れた領域では、炎症応答を促進させる経路に関わる遺伝子群の発現増加を認めた。一方で、細菌のクリアランスに重要なCXCL1とCXCL2の発現は著しく低下した。また、GP96の高発現領域では、炎症老化で注目される線維芽細胞の増殖とコラーゲンの産生を促す創傷治癒経路の活性化を認めた。さらに、プレオマイシン誘発性肺線維症マウスモデルに肺炎球菌を経鼻感染させたところ、コントロール群と比較して、細菌の下気道への伝播と定着、ならびに炎症細胞の浸潤にともなう組織傷害が亢進した。

以上の結果から、炎症老化にともなう気道組織の線維化が高齢者肺炎の重症化の一因である可能性が示唆された。

## MP1-63 「変異型 *metK* を有する PAS 耐性結核菌の SAM 合成活性解析」

西谷 悠希<sup>1,2</sup>、武部 克希<sup>3</sup>、土佐 郁恵<sup>2</sup>、中山 真彰<sup>2</sup>、有村 友紀<sup>1</sup>、岡元 邦彰<sup>3</sup>、大原 直也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 口腔再建外科、<sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 口腔微生物、<sup>3</sup> 岡大 院医歯薬 歯科薬理)

【目的】 結核は日本において減少傾向であるが、世界的には脅威である。これまで、抗結核薬であるPAS人工耐性株をワクチン株BCGにて作製し、*S*-adenosylmethionine (SAM) 合成タンパクをコードする*metK*に点変異が生じていることを明らかにした。本研究では、点変異がMetKの活性にもたらす影響を検証することとした。

【材料と方法】 1) *metK*の変異によるSAM合成量の変化を、菌のライセートを用いて [<sup>35</sup>S]Met標識にて測定した。2)

野生型および変異型*metK*でスメグマ菌を形質転換し、アフィニティークロマトグラフィーおよびイオン交換カラムを用いて菌体からMetK組換えタンパクを精製した。3) 同定された点変異とMetKの酵素活性との関連を分子動力学計算にて検証した。

【結果と考察】 ライセートを用いたSAM合成量の測定結果より、MetK変異株では野生株に比べてSAM合成量が減少し、MetKの活性の低下が示唆された。MetK変異株

で見られた点変異は、分子動力学計算より、ATP結合ポケットの開閉に影響を与えることで、ATP取り込み、およびSAMの解離への関与が示唆された。最後にスメグマ菌にて野生型および変異型MetK組換えタンパクを

単離・精製した。得られた組換えタンパクを用いて、HPLCにてSAMの合成量を測定し、MetKの比活性を算出し、変異と活性の直接的な関係を検証した。会員外共同研究者：飯島洋(日大 薬)

## MP1-64 「肺炎球菌感染における High-Mobility Group Box 1 の解析」

滝澤 史雄<sup>1,2</sup>、土門 久哲<sup>1,3</sup>、平山 悟<sup>1</sup>、前川 知樹<sup>1,2,3</sup>、齋藤 瑠郁<sup>1,4</sup>、  
安井 惟人<sup>1,2</sup>、遠藤 愛<sup>1,2</sup>、寺尾 豊<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 歯周診断・再建、<sup>3</sup>新潟大 院医歯 高度口腔、<sup>4</sup>新潟大 院医歯 う蝕)

【背景】ダメージ関連分子パターン (DAMPs) は、細胞死や炎症性刺激に伴って細胞外へ放出される分子群であり、パターン認識受容体に結合し炎症反応などを誘導する。本研究では、肺炎球菌感染時に宿主細胞から漏出したDAMPsが、過剰な炎症反応を誘導するという仮説を立て検索を進めた。

【方法と結果】肺炎球菌感染マウスから気管支肺胞洗浄液を採取し、定量プロテオーム解析を行った。その結果、High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) を含む様々なDAMPsの増加が確認された。そこで、肺炎球菌感染マウスの肺組織切片を作製し、ハマトキシリンエオジン染色およびAlexa488標識によるHMGB1などのDAMPs免疫蛍光染色を行った。それらの結果、肺炎球菌感染マ

ウスでは非感染マウスと比較して、肺組織の損傷、損傷部位における多型核白血球の浸潤およびHMGB1の緑染が観察された。続いて、肺炎球菌の膜孔形成毒素ニューモリシン (Ply) をヒト好中球に添加して培養後、培養上清を採取し、Western blottingで解析した。その結果、非添加群と比較してPly添加群でHMGB1が検出された。次に、RAW264.7細胞に組換えHMGB1を添加培養し、培養上清中のTNF- $\alpha$ 濃度をELISAで測定した。その結果、HMGB1添加群では、非添加群と比較してTNF- $\alpha$ の濃度が有意に高かった。

【考察】HMGB1は、肺炎球菌Plyにより好中球の細胞外へ漏出し、周囲マクロファージのTNF- $\alpha$ 産生を増大させ、肺炎の重症化を引き起こすことが示唆された。

## MP1-65 「緑膿菌の外膜透過性制御に関わる遺伝子の網羅的解析」

小林 零<sup>1</sup>、邱 辰軒<sup>1</sup>、永野 恵司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 微生物)

緑膿菌の高い自然耐性の一因として、低い外膜透過性が挙げられる。外膜透過性を亢進させることで、既存の抗菌薬の効果を増強させる可能性がある。本研究では、ランダム変異導入法を用いて、外膜透過性の制御に関わる遺伝子の網羅的探索を試みた。ラフィノース代謝関連遺伝子を導入した緑膿菌PA01株に、トランスポゾンを用いてランダム変異を誘発した。得られた変異株を、ラフィノース (三糖) を唯一の炭素源とする最小培地で連続培養し、増殖速度の速い変異株を選抜した。これらの変異株は、グルコース (単糖) を唯一の炭素源とする最小培地では、親株と増殖速度に差異はみられなかったが、ラフィノースおよびスタキ

オース (四糖) を含む培地では顕著な増殖促進を示した。さらに、変異株は、複数の抗菌薬に対する最小発育阻止濃度 (MIC) が親株の1/2 ~ 1/4に低下した。DNA配列解析により、解析した変異株はすべて、cyclic di-GMP受容体MorAをコードする*morA*遺伝子にトランスポゾンの挿入が確認された。これらの結果は、MorAが緑膿菌の外膜透過性の調節に関与することを示唆する。一方、ラフィノースなどの高分子物質の外膜透過性の制御に関わるOprFポーリンのタンパク質発現量に明確な変化はみられなかった。今後、OprFポーリンの構造変化を含む外膜透過性の亢進機序について、さらに研究を進める予定である。

## MP1-66 「壊死性筋膜炎マウスモデルにおいて化膿レンサ球菌の感染が病態形成と腎障害に与える影響」

森 あり沙<sup>1,2</sup>、広瀬 雄二郎<sup>1</sup>、坂東 絢子<sup>1</sup>、池田 恵莉<sup>1</sup>、大野 誠之<sup>1,3</sup>、川端 重忠<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔細菌、<sup>2</sup> 阪大 院歯 口外2、<sup>3</sup> 阪大 院歯 バイオインフォ、<sup>4</sup> 阪大 CiDER)

壊死性筋膜炎を主たる病変とする劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、化膿レンサ球菌の感染によって引き起こされる致死率の高い疾患である。本研究では、マウス壊死性筋膜炎モデルを用い、化膿レンサ球菌が産生する主要な溶血毒素streptolysin S (SLS) およびstreptolysin O (SLO) が病態形成および腎障害に与える影響を検討した。

まず、化膿レンサ球菌5448株を親株 (WT) として、SLS欠失株 ( $\Delta sagA$ )、SLO欠失株 ( $\Delta slo$ )、およびSLS・SLO二重欠失株 ( $\Delta sagA\Delta slo$ ) を作製した。各菌株を定常期まで培養し、PBSに再懸濁後、マウス後肢に筋

肉注射した。感染24時間後のマウス後肢には明らかな病変は認めなかったが、感染48時間後にはWT感染群および $\Delta slo$ 感染群で $\Delta sagA\Delta slo$ 感染群と比較して重度な病変を認めた。血中IL-6、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、横紋筋融解の指標であるミオグロビンおよび腎障害の指標であるBUN濃度は、感染24時間後の時点で非感染群および $\Delta sagA\Delta slo$ 感染群に比べてWT感染群において有意に上昇していた。

以上の結果から、SLSおよびSLOは壊死性筋膜炎モデルにおいてサイトカインストーム、横紋筋融解、それに伴う腎障害に寄与している可能性が示唆された。

## MP1-67 「病原真菌 *Candida albicans* のバイオフィルムに対する抗真菌薬と消毒薬の効果の検証」

浦崎 奈緒<sup>1,2</sup>、永尾 潤一<sup>2,3</sup>、岸川 咲吏<sup>2,3</sup>、田中 芳彦<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup> 福歯大 口腔歯学部 リサーチスチューデント、<sup>2</sup> 福歯大 機能生物 感染生物、<sup>3</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

病原真菌*Candida albicans* (*C. albicans*) は、歯科補綴物などの医療器具にバイオフィルムを形成することで口腔カンジダ症の原因となる。超高齢社会がより深刻になっていく我が国において、口腔カンジダ症の患者数は近年増加しており、社会的関心は高い。口腔カンジダ症は高齢者や免疫不全患者などの生体防御能が著しく低下した易感染宿主において発症する。*C. albicans*のバイオフィルムは、酵母形と菌糸形で形成され、その周囲に多糖を主成分とする細胞外マトリックスが存在する。形成されたバイオフィルムは抗真菌薬

などに対して耐性を示すことが報告されており、治療が困難となるため問題とされている。本研究では、*in vitro*において*C. albicans*のバイオフィルム形成を評価する系を構築し、薬剤 (抗真菌および消毒薬) によるバイオフィルム形成阻害活性および形成されたバイオフィルムに対する抗バイオフィルム活性を評価することを目的とする。我々はこれまでに、いくつかの薬剤がバイオフィルム形成阻害活性あるいは抗バイオフィルム活性を示すことを明らかにしたので報告する。

## MP1-68 「口腔 *Rothia* 属による硝酸塩・亜硝酸塩代謝に関する生化学的特性の検討」

柴田 怜<sup>1,2</sup>、鷲尾 純平<sup>1</sup>、江副 和子<sup>1</sup>、金高 弘恭<sup>2</sup>、高橋 信博<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 東北大 院歯 口腔生化、<sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔矯正)

【目的】ヒト口腔マイクロバイオーーム (OMB) 構成細菌が緑黄色野菜や唾液に含まれる硝酸塩 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) を抗菌や血管拡張効果を持つ亜硝酸塩 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) へと代謝変換し、細菌性口腔疾患や循環器疾患の抑制に寄与することに注目が集まっている。我々は、OMB中のNO<sub>3</sub><sup>-</sup>代謝菌を網羅的に探索し、*Actinomyces*属、*Veillonella*属、

*Neisseria*属、*Rothia*属などが主なNO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生菌であること、また、*Actinomyces*属や*Veillonella*属のNO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生・分解活性が様々な口腔環境因子により影響されることを明らかにしてきたが、その影響は菌種により異なっていた。そこで、多様な代謝能を持ちながらもあまり研究されてこなかった*Rothia*属のNO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生・分解活性に

ついて検討した。

【方法】*Rothia dentocariosa*の標準株を通法培地で好気培養し菌懸濁液を作成し、NO<sub>3</sub>-またはNO<sub>2</sub>-を加えた際のNO<sub>2</sub>-産生および分解活性をGriess試薬にて評価した。さらに、諸環境因子（グルコース:Glu、乳酸:Lac、エタノール:Ethといった代謝基質、pH）による影響を解析した。

【結果・考察】Glu、Lac、Eth共存下でのNO<sub>2</sub>-産生活性は、非共存下と比較し、それぞれ約3倍、6倍、1.6倍高かった。一方、pH 7とpH 5での活性はほぼ同じだった。一方、NO<sub>2</sub>-分解活性は産生活性に比べ極めて低かった。以上の結果から、本菌がGlu、Lac、Ethという多様な基質の代謝と共役し、主にNO<sub>2</sub>-産生菌として機能することが示唆された。

## MP1-69 「口腔常在細菌 *Veillonella*、*Neisseria*、*Rothia* 属による赤色蛍光物質産生に関する生化学的検討」

志満 雅子<sup>1,2</sup>、鷲尾 純平<sup>1</sup>、江副 和子<sup>1</sup>、田中 圭<sup>1</sup>、金高 弘恭<sup>2</sup>、高橋 信博<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 東北大 院歯 口腔生化、<sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔矯正)

近年、口腔マイクロバイーム (OMB) や初期う蝕の易視覚化に、細菌が発する赤色蛍光 (RF) を利用するQLF法が用いられている。RFは細菌が産生するPorphyrin類に由来するとされているが、その代謝の詳細は不明である。予備実験にて、RF物質産生能を持つ細菌として*Veillonella*、*Neisseria*、*Rothia*属などの多種の常在菌を認めたことから、OMBのRF産生の有無は、必ずしも特定の細菌種によらない可能性が示された。そこで、細菌によるRF産生が、代謝環境中の基質により影響されるかを検討した。

実験には*V.atypica*、*N.mucosa*、*N.sicca*、*R.denticariosa*、*R.aeria*の標準株を用いた。各菌の懸濁液に0.05% 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) を添加し、37°Cでインキュベ-

ト後のRFを410 nm励起光による蛍光スペクトラムで評価した。全菌種において630 nm付近のRFが検出され、RF責任物質はprotoporphyrin IXのようなporphyrin類と考えられた。5-ALAに代わりトリプトン (アミノ酸/ペプチド混合物) を添加すると、5-ALA添加時よりも低いものの同様のRFが検出され、そのRFはグルコースや乳酸の添加によって増加した。以上のことから、これらの細菌はアミノ酸とエネルギー基質から5-ALAを経由してRF責任物質であるporphyrin類を合成し、その合成は環境中の代謝基質により変化することが示され、RFが特定の細菌種によらず口腔内栄養環境によって変化することが示唆された。

## MP1-70 「口腔細菌がマウスガード材料エチレンビニルアセテートの変色に及ぼす影響」

大石 明広<sup>1</sup>、内記 良一<sup>1</sup>、廣畑 誠人<sup>1</sup>、西川 清<sup>1</sup>、朝倉 正紀<sup>2,3</sup>、林 裕基<sup>3</sup>、林 達秀<sup>2</sup>、近藤 尚知<sup>3</sup>、長谷川 義明<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 愛院大 歯 微生物、<sup>2</sup> 愛院大 歯 理工、<sup>3</sup> 愛院大 歯 冠橋義歯・インプラント)

【目的】歯や顎関節を保護するマウスガード (MG) は、様々な口腔細菌に曝露されることで汚染や変色が懸念される。本研究ではMGに広く使用されているエチレンビニルアセテート (EVA) の変色に及ぼす種々の口腔細菌の影響を検討した。

【方法】2種のグラム陰性嫌気性桿菌*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*)及び*Fusobacterium nucleatum*、3種のグラム陽性通性嫌気性球菌*Streptococcus mutans*、*Streptococcus oralis*及び*Staphylococcus aureus*を用いた。加熱吸引がEVAの変色に与える影響を評価するため、石膏模型への加熱吸引の有無で比較した。EVAを各菌の培養液に1または2週間浸漬した。変色は色差計によるL\*a\*b\*値の測定から

色差 ( $\Delta E$ ) で評価した。

【結果】*P.g.*との浸漬では1・2週間いずれにおいても $\Delta E$ は他菌に比べ有意に高く顕著な色調変化が認められた。また、*P.g.*の1週間の浸漬では加熱吸引の有無で差は認められなかったが、2週間では加熱吸引あり群が有意に高かった。

【考察】EVAの変色は*P.g.*に特異的に引き起こされること、加熱吸引による加工は長期的にその影響を受けやすくなる可能性が示唆された。今後はEVA変色に関与する*P.g.*の代謝産物の同定を進め、より衛生的なMG使用に向けた基礎的知見の蓄積を目指す。

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

**モリタ優秀発表賞審査「臨床・再生医学部門」（MP1-71～78）****MP1-71 「ヒト骨組織を用いた骨細胞の網羅的遺伝子発現解析 – 皮質骨再生に向けた分子基盤の探索 –」**西澤 千晶<sup>1,2</sup>、高垣 裕子<sup>3</sup>、道上 敏美<sup>1</sup>、宮川 和晃<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>大阪母子 骨発育、<sup>2</sup>阪大 院歯 口外1、<sup>3</sup>神歯大 院歯)

【目的】骨は外側の皮質骨と内部の海綿骨から構成される。術後の長期安定性を得るには再生骨と周囲骨組織との一体化、特に皮質骨の連続性獲得が重要である。そこで本研究では、骨恒常性維持の要である骨細胞に着目し、皮質骨および海綿骨に含まれる骨細胞の機能的差異を解析することで、皮質骨を任意に再生できる技術開発の端緒となる分子基盤の解明を目的とした。

【材料・方法】学内倫理審査委員会の承認下、患者・代諾者の同意を得て骨移植術の際に残余検体となったドナー腸骨（女兒、平均6.5歳、n=6）を解析に使用した。前腸骨稜下の二次海綿骨および皮質骨から5回のコラゲナーゼ処理によって骨髄や骨芽細胞を除去し、各骨片中に残った骨細胞のbulk RNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析を行い、皮質骨骨細胞と海綿骨骨細胞を比

較した。

【結果】全発現変動遺伝子（1393遺伝子）を対象としたIPA pathway解析では、皮質骨骨細胞にて活性化するpathwayは57個、海綿骨骨細胞で活性化するpathwayは2個だった。海綿骨骨細胞に比べ、皮質骨骨細胞で2倍以上高発現する遺伝子（439遺伝子）を対象としたEnrichment解析では、細胞外基質の形成、石灰化、骨格成長、軸索ガイダンスに関連する生物学的Termが顕在化された。

【考察】皮質骨と海綿骨に含まれる骨細胞の遺伝子発現プロファイルは明確に異なった。今後、骨細胞の機能的多様性に関する研究が新規骨再生治療に寄与する可能性が示唆された。

**MP1-72 「歯小囊細胞からセメント芽細胞への分化における Hertwig 上皮鞘基底膜成分の役割」**新藤 美湖<sup>1,2</sup>、池崎 晶二郎<sup>2</sup>、大津 圭史<sup>2</sup>、加倉 加恵<sup>1</sup>、原田 英光<sup>2</sup>(<sup>1</sup>福歯大 インプラント、<sup>2</sup>岩医大 歯 発生生物)

歯根の成長過程で歯根象牙質の歯根膜側では歯小囊細胞が遊走してセメント芽細胞に分化し、セメント質を形成する。しかし、歯小囊細胞が象牙質表面でセメント芽細胞に分化するメカニズムは不明である。電子顕微鏡による観察からHertwig上皮鞘(HERS)が歯根象牙質表面に形成した基底膜構造が存在し、この構造がセメント芽細胞への分化誘導に深く関わると考えた。Hertwig上皮鞘細胞株(HERS02T)が分泌する基底膜成分の中で検出量の多かったlaminin332、tenascin、periostinの複合体について機能解析を行った。まず、これらのタンパクが歯根発生中の歯根象牙質表面に存在することを免疫組織学的に明らかにした。これらのタンパクをアパタイトの培養プレートにコート

して歯小囊細胞株(MDF)の接着性について検討した結果、非コートプレートでは培養2日目にはすべての細胞が凝集して剥がれて、細胞分化や石灰化は観察されなかった。一方、コートした培養プレートでは時間経過とともに高いALP活性とコラーゲン、Runx2、Osterixの遺伝子発現の上昇を認めた。さらにセメント芽細胞マーカーであるSparcl1(SPARC-like1)とbone sialoprotein(Ibsp)のタンパク発現ならびに遺伝子発現の上昇を認めた。以上のことから歯小囊細胞はHertwig上皮鞘が分泌した基底膜タンパクを介して象牙質表面に接着することがセメント芽細胞への分化誘導の起点となることが示唆された。

## MP1-73 「イモリ下顎切除後の細胞分化と再生機序の解明」

坪崎 健斗<sup>1</sup>、田谷 雄二<sup>1,2</sup>、埴 太宥<sup>1</sup>、工藤 朝雄<sup>1</sup>、佐藤 かおり<sup>1</sup>、添野 雄一<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理、<sup>2</sup>日歯大 生命歯 初年次教育)

【目的】本研究ではヒト顎骨再生の実現のため、高度な再生能力をもつ両生類イモリを使って下顎切除後の再生機序の解明を目指した。

【材料と方法】アカハライモリの下顎前方1/2を切除し、64週にわたり下顎再生過程を解析した。

【結果】切除後2週までに断端組織は再生上皮で被覆、4週後には上皮下に再生芽を形成し、骨芽細胞などの細胞分化がみられた。骨・軟骨では、4週後にメッケル軟骨が再生し、8週後になると軟骨にガイドされて膜性骨化によって歯槽骨が再生し始め、歯槽骨再生部では歯胚発生と歯質形成が生じ始めた。16週後には再生軟骨が細くなりつつ正中まで達し、歯槽骨も伸長するとともに下顎骨体部の再生を始めた。32週後には下顎骨底部ができ、64週後には切除前の状態にほぼ回復

した。qPCR解析では、再生芽マーカ*kazald1*、軟骨細胞の分化マーカ*sox9*、骨芽細胞の分化マーカ*runx2*、エナメル質形成マーカ*amelogenin*の発現について、組織所見と一致した結果が得られた。

【結論】切除された下顎組織は顎骨や歯牙を含めて64週余りでほぼ復元した。イモリでは早期な再生上皮の被覆後、肉芽形成を伴わずに再生芽からの細胞分化と組織再生を生じた。メッケル軟骨が骨再生と伸長をガイドすること、膜性骨化により骨再生することなどが明らかとなった。

【会員外共同研究者】同大学 藤田和也、川本沙也華、慶応義塾大学 貴志和生・石井龍之、筑波大学 千葉親文。

## MP1-74 「口腔組織由来間葉系幹細胞の抜歯窩治癒過程における細胞動態と骨分化制御機構の解明」

宮田 春香<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>鹿大 院医歯 顎顔面補綴)

【目的】口腔内には様々な歯周組織由来の間葉系幹細胞(MSC)が存在し、分子特性によって局在する組織が異なることが報告されている。しかし分子発現の異なるMSCを生体内で同時に評価した報告は少なく、また各MSCが骨形成においてどのような機能を担っているか解明されていない。本研究では抜歯窩治癒過程における各MSCの局在や遺伝子発現を評価し、それぞれの機能解明につなげることを目的とする。

【材料と方法】10週齢オスC57BL/6Jマウスで下顎第2臼歯抜歯モデルを作成し、抜歯後1、3、5、7日目に下顎骨を採取し組織切片を作成した。作成した組織切片をH&E染色および、各MSCマーカで免疫染色を行った。同タイムラインで下顎骨を回収し、RNAの抽出およびcDNAに逆転写後、RT-PCRにて各遺伝子発現評価を

行った。

【結果】生理的条件下では骨髄組織にLepR+/Axin2LowMSCおよびAxin2HighMSCを認めた。これら分子発現の異なるMSCは治癒過程において異なる局在を示した。RT-PCRでは抜歯1日後にMSCマーカの遺伝子発現は減少傾向を認め、一方で骨分化マーカであるRunx2は増加傾向を認めた。また、Axin2の発現をRunx2と依存して制御すると報告されているHdac3の発現も増加する傾向を認めた。

【考察】本研究でAxin2陽性MSCが顎骨骨髄組織にも存在することを示した。生理的条件下および抜歯窩の治癒過程において各MSCが異なる局在を示すことから、骨再生においても異なる役割を担っていることが示唆された。

## MP1-75 「細胞増殖活性に基づく歯根膜幹細胞の細胞動態解析」

小野 喜樹<sup>1,2,3</sup>、土橋 梓<sup>1</sup>、小林 水輝<sup>1</sup>、Pwint Phyu Hlaing<sup>1</sup>、加来 賢<sup>1</sup>(1)新潟大 院医歯 生体補綴、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 オミックス組織再生、<sup>3</sup>新潟大 研究統括)

【目的】歯根膜は歯と歯槽骨を結合し、口腔機能において重要な組織である。しかし、歯根膜幹細胞 (PDLSC) の局在ならびに増殖分化動態は十分に解明されていない。そこで本研究では、組織幹細胞の特徴である組織中での増殖活性に着目し、これをLabel-retaining cell (LRC) として検出するとともに、誘導性の多色蛍光ラベリングを用いて、発生、リモデリング、再生過程における細胞増殖活性の変化を解析することを目的とした。

【方法と結果】LRCの検出には、生後15日齢のマウスに5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を投与し、12週間にわたり標識細胞を追跡した。投与直後では歯根膜全域にEdU陽性細胞が検出されたが、12週間後には陽性細胞数は減少し、セメント質近傍に局在していた。

また、LRCは高頻度で幹細胞マーカーを発現していた。次に、RGBow: UBC-CreERT2マウスを用いて、薬剤誘導性に多色蛍光標識を行い、単一細胞に由来する細胞クラスターを追跡した。リモデリング過程における最長1年間の追跡では、細胞クラスターの成長速度は緩やかであるものの、歯根膜全域で多細胞クラスターが確認された。一方、発生期および再生 (即時再植) 過程では、細胞クラスターの細胞数が顕著に増加し、特にセメント質表面で明瞭な多細胞クラスターが検出された。

【結論】従来、PDLSCが好局在するとされてきた骨近傍の血管周囲だけではなく、セメント質近傍にもPDLSCが存在することが示唆された。

## MP1-76 「BMP-2 誘導骨による免疫・造血機能の再構築」

土佐 郁恵<sup>1</sup>、大原 直也<sup>1</sup>、窪木 拓男<sup>2</sup>(1)岡大 院医歯薬 口腔微生物、<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)

【目的】BMP-2は再生医療への応用が進んでおり、本邦でも顎骨再生を目的とした治験が開始されている。再生骨には力学的支持に加え、免疫機能の担保も求められる。血球細胞は骨髄で産生され、そのニッチはCAR (Cxcl12-abundant reticular)細胞が構築する。本研究では、BMP-2により形成された骨 (BMP-2誘導骨)が、機能的な骨髄ニッチを持つかを検討した。

【材料および方法】Cxcl12-GFPマウスおよび野生型マウスにrhBMP-2/ $\beta$ -TCP複合体を皮下移植し、4週後に形成された骨を回収した。組織学的解析、フローサイトメトリー、scRNA-seqにより長管骨骨髄と比較した。放射線照射マウスに対してBMP-2誘導骨由来細胞または骨髄細胞を静脈投与し、造血再構築とニッチ機能を評価した。

【結果】BMP-2誘導骨は骨髄に類似した構造を持ち、造血幹細胞、CAR細胞、血球系細胞を含んでいた。scRNA-seqでは、細胞群の遺伝子発現が長管骨骨髄と高い類似性を示した。BMP-2誘導骨由来細胞の移植により、放射線照射マウスの生存率は0%から100%に回復し、末梢血および骨髄細胞の大半がドナー由来GFP陽性細胞で置換された。照射を受けたBMP-2誘導骨内にも、CD45.1陽性造血幹細胞の生着が確認された。主要な免疫細胞もドナー由来として再構築されており、BMP-2誘導骨の免疫造血機能が示唆された。

【結論】BMP-2は造血ニッチを備えた機能的な骨髄組織を異所的に誘導する。

会員外共同研究者：大野充昭 (岡大 院医歯薬)

MP1-77 「上皮封鎖性向上を目的とした Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> インプラントの表面性状の最適化」山森 庄馬<sup>1</sup>、浦野 絵里<sup>1</sup>、望月 文子<sup>2</sup>、岩佐 文則<sup>3</sup>( <sup>1</sup>昭医大 歯 補綴、<sup>2</sup>昭医大 歯 口腔生理、<sup>3</sup>明海大 歯 冠橋義歯補綴)

【目的】インプラントの長期的な成功には十分な周囲軟組織封鎖性の獲得が重要だが、チタン(Ti)代替材料として注目されるCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(Zr)の上皮付着を促進する最適な表面性状は未解明である。そこで本研究では、マウス歯肉接合上皮細胞(JE-1)を用いてCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の表面性状が歯肉上皮細胞接着に及ぼす影響を検討した。

【方法】TiおよびZr基盤に機械研磨(M)または鏡面研磨(Mr)を施し、各基盤の表面性状はSEM、AFM、およびRa値により評価した。各基盤上でJE-1を培養し、MTS法にて細胞増殖を評価した。また、接着性タンパク質(Laminin-5、Integrinβ4、Cadherin-1)の発現を免疫組織化学染色(IHC)と定量リアルタイムPCR(qPCR)で解析した。さらに、振動刺激による細胞接着試験により

基盤と細胞との接着強さを測定した。

【結果】Ra値は、MTiおよびMZrで約0.9μm、MrTiおよびMrZrで約0.02μmであった。いずれの基盤上のJE-1の増殖は培養時間とともに増加し、7日目にはMTiよりもMrTiで、MZrよりもMrZrで有意に増殖が亢進した。IHCでは各基盤上のJE-1にLaminin-5、Integrinβ4、Cadherin-1の発現を認め、qPCRでは、MZrと比較してMrZrでLaminin-5とIntegrinβ4の発現量が高い傾向を示した。さらに、細胞接着試験において、MZrと比べてMrZrとJE-1との接着強さが有意に強かった。

【結論】Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>において、鏡面研磨は歯肉上皮細胞の接着性を高める有効な表面処理である可能性が示唆された。

## MP1-78 「接合上皮細胞の修復材料への再付着に関する ODAM の効果」

高満 正宜<sup>1</sup>、大津 圭史<sup>2</sup>、池崎 晶二郎<sup>2</sup>、野田 守<sup>1</sup>、原田 英光<sup>2</sup>( <sup>1</sup>岩医大 歯 う蝕、<sup>2</sup>岩医大 歯 発生生物)

【背景】接合上皮はエナメル質と接着することで歯周組織への異物の侵入を防ぐ役割を担っているが、歯頸部齲蝕の場合、修復材料によっては接合上皮の接着性の低下が生じる。そこで材料への上皮細胞接着性を向上させるために接合上皮分泌タンパクであるODAM(odontogenic, ameloblast associated protein)が有用であるかを検討した。

【方法】ハイドロキシアパタイトディスク(Hp)上に窩洞を形成し、コンポジットレジン(CR)を充填した培養プレートを作製した。そのプレートのODAMコート群と非コート群で接合上皮細胞株(mHAT-JE01)の初期接着、接着時の細胞の形態、細胞増殖能、アクチンフィラメ

ントの形成等について検討した。また走査電子顕微鏡(SEM)撮影にて細胞形態の違いや細胞突起の形態や数を調べた。

【結果】ODAMコート群は非コート群に比べて極めて高い初期接着能、増殖能、細胞の伸展に伴ったアクチン形成能を示した。SEM解析からもODAMコートしたCRの方が、より細胞の伸展性や突起形成を顕著に認めた。

【考察】以上の結果から、ODAMコートはレジン充填による接合上皮接着能・増殖能の低下を回復させる可能性が示された。ODAMで表面コートすることは、コンポジットレジン修復による治療ケースでも歯周病予防効果が期待できると思われる。

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリ夕優秀発表賞審査「留学生部門」（MP1-79～95）

### MP1-79 「PRIP deficiency promotes YAP nuclear translocation enhancing tissue fibrosis」

袁美群<sup>1</sup>、佐野朋美<sup>1</sup>、溝上顕子<sup>2</sup>、高靖<sup>3</sup>、兼松隆<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>3</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)

Fibrosis is characterized by excessive accumulation of extracellular matrix components. Accumulating evidence has highlighted the critical role of YAP/TAZ in the regulation of fibrogenesis. Phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) is widely expressed in organs and is involved in numerous cellular processes. PRIP has been shown to inhibit PI3K/AKT signaling, a downstream pathway of TGF- $\beta$  signaling. Here, we investigated the function and mechanism of PRIP in fibrosis. Wild-type (WT) and Prip-knockout (KO) mice were treated with angiotensin II to induce tissue fibrosis. Prip-KO mice showed significantly

increased collagen deposition in the kidney and heart compared to WT mice. Mouse embryonic fibroblasts (MEFs) derived from WT and Prip-KO mice were treated with TGF- $\beta$ 1 and showed that PRIP deficiency upregulated the expression of fibrosis markers. In addition, cell migration was accelerated in Prip-KO MEFs. PRIP deficiency-promoted PI3K/AKT activation facilitated the phosphorylation of MST2 at threonine 117 compared to that in WT MEFs. Subsequently, p-MST2 (Thr117) decreased YAP phosphorylation and increased YAP nuclear translocation, leading to tissue fibrosis.

### MP1-80 「Neutrophil elastase release in the trigeminal ganglion induced by trigeminal nerve root compression contributes to orofacial pain hypersensitivity」

Yue Zhou<sup>1</sup>、Hitomi Suzuro<sup>1</sup>、Koichi Iwata<sup>1</sup>、Masamichi Shinoda<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Nihon Univ Sch Dent, Dept Physiol)

Trigeminal neuralgia is primarily caused by vascular compression of the trigeminal root. However, the pain mechanism remains unclear. This study aims to elucidate the role of neutrophils in the trigeminal ganglion (TG) in the pathogenesis of trigeminal neuralgia. A glass rod was inserted through the rat skull to compress the left trigeminal nerve root (TNC group). No compression was applied in the sham group. On day 7 after TNC, mechanical head-withdrawal threshold (MHWT) decreased compared with sham group. The number of TG neurons immunoreactive (IR) for the neuronal damage marker ATF3 and

the amount of neutrophil elastase (ELA2) in the TG were both increased in the TNC group. The ELA2 receptor PAR2 was expressed in TG neuron. The number of ELA2-IR neutrophils was also increased in the trigeminal nerve root. ELA2 or PAR2 inhibition in the TG, as well as systemic administration of carbamazepine, a medication for trigeminal neuralgia, attenuated the TNC-induced decrease in MHWT. These results suggest that TNC-induced neuronal damage and accumulation of ELA2-producing neutrophils in the TG probably activates PAR2-expressed TG neurons, contributing to orofacial pain hypersensitivity.

**MP1-81 「Testosterone-mediated downregulation of fatty acid synthesis suppresses microglial inflammation in a sex-specific mechanism」**

Haolin Zheng<sup>1</sup>、溝上 顕子<sup>2</sup>、佐野 朋美<sup>1</sup>、山脇 洋輔<sup>3</sup>、自見 英治郎<sup>2,4</sup>、兼松 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子、<sup>2</sup>九大 院歯 口腔脳機能病態、<sup>3</sup>第一薬科大 先端薬理、<sup>4</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)

Emerging evidence suggests that chronic inflammatory conditions such as obesity and periodontitis may exacerbate Alzheimer's disease (AD) through systemic inflammation, highlighting the importance of inflammatory immune signaling pathways. AD has marked sex differences, with women having a higher prevalence and severity of the disease. This study investigated the role of testosterone in regulating sex-specific microglial inflammation via miRNA-mediated pathways. Hippocampal microglia male and female mice revealed significant sex differences in miRNA expression via microarray analysis, with

males showing greater changes, particularly in miRNAs targeting fatty acid synthesis. MG6 microglial cells showed that testosterone upregulates male-enriched miRNAs and suppresses the expression of fatty acid synthase (FASN). This testosterone-induced FASN downregulation attenuated NF- $\kappa$ B/p65 phosphorylation and reduced TNF- $\alpha$  secretion after LPS-induced inflammation. These findings reveal the anti-inflammatory role of testosterone in male microglia via the miRNA-FASN-NF- $\kappa$ B axis, which may attenuate AD susceptibility. The study provides insight into AD pathogenesis and therapeutic strategies.

**MP1-82 「メカニカルストレスが歯肉上皮細胞の pro-IL-1 $\beta$ 発現におよぼす影響」**

Chengwei Li<sup>1</sup>、井上 博<sup>1</sup>、寒川 延子<sup>1</sup>、合田 征司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大歯大 生理)

【目的】ブラキシズムは歯ぎしりや食いしばりによる過度なメカニカルストレス (MS)で歯や顎、歯周組織に影響を及ぼし、歯の動揺や歯肉退縮、さらには心血管系など全身への影響も報告されている。歯槽骨や歯根膜への影響は多く研究されているが、同様の力が歯肉上皮細胞に与える影響は不明である。本研究ではヒト歯肉上皮細胞株Ca9-22を用い、MSがpro-IL-1 $\beta$ 発現に与える影響とそのシグナル伝達経路について検討した。

【方法】Ca9-22細胞をType IVコラーゲンでコートしたシリコンチャンバーに播種し、10%FBS存在下で培養した。80~90%の密度に達した後、5Hz・20%伸展率で、10分伸展・10分休止を1サイクルとし、計5サイクル伸展刺激を加えた群を実験群、伸展を行わず静置した細

胞を対照群とした。刺激終了後、37°Cで20分間静置しサンプルを回収した。Pro-IL-1 $\beta$ 発現および関連タンパク質のリン酸化をウェスタンブロットティング法で解析した。

【結果】(1) MSによりpro-IL-1 $\beta$ 発現が上昇した。(2) MSによりFAK, p130Cas, ERK 1/2のリン酸化が誘導された。(3) MSにより自然免疫応答を誘導する細胞内受容体NOD2の発現が上昇した。

【考察】ヒト歯肉上皮細胞Ca9-22におけるMSによるpro-IL-1 $\beta$ 発現とNOD2発現上昇にはFAK, p130Cas, ERK 1/2のリン酸化が関与している可能性が示唆された。

【利益相反】本研究において開示すべき利益相反関係にある企業はない。

**MP1-83 「Effects of metabolites of indigenous oral bacteria *Veillonella* species on the proliferation of normal and oral squamous cell carcinoma cells」**

Wenhui Xu<sup>1</sup>、Jumpei Washio<sup>1</sup>、Satoko Sato<sup>1</sup>、Kazuko Ezo<sup>1</sup>、Yuki Abiko<sup>1</sup>、  
Nobuhiro Takahashi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生化)

**Introduction:** The effects of metabolites of major periodontopathic bacteria, such as *Porphyromonas gingivalis*, on host cells have been well investigated, but the effects of others are unclear. Therefore, we investigated the effects of *Veillonella* species-indigenous bacteria commonly less associated with the pathogenicity of oral diseases-on host cells.

**Methods:** *V. atypica* (Va) was cultured anaerobically, and the culture supernatant was obtained. HaCaT (normal cell) and HSC2 (cancer cell) were cultured with the filtered supernatant of Va, and the effect on their proliferation was evaluated. Similarly, the effect of propionate,

the most abundant metabolite detected in the supernatant, was evaluated.

**Results and Conclusion:** Va supernatant inhibited the proliferation of both cells, and the inhibition rate was higher in HSC2 than in HaCaT cells. Propionate similarly inhibited both cells, suggesting that it may be one of the responsible substances for the inhibition. In further, the effect on HSC2 was observed in earlier days ( $\leq 1$  days) and under lower concentrations ( $\leq 2.5$  mM) compared to HaCaT, suggesting that propionate at a certain concentration may selectively inhibit cancer cells.

**MP1-84 「Growth Inhibitory Effect of 5-Aminolevulinic Acid on Cariogenic Bacteria」**

Peipei Luo<sup>1</sup>、Takayuki Nambu<sup>2</sup>、Hiroki Takigawa<sup>2</sup>、Hugo Maruyama<sup>2</sup>、  
Chiho Mashimo<sup>2</sup>、Toshinori Okinaga<sup>2</sup>、Kazuya Takahashi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Osaka Dent Univ, Dept Geriatric Dent、<sup>2</sup>Osaka Dent Univ, Dept Microbiol)

5-Aminolevulinic acid (5-ALA), one of the amino acids, is metabolized within bacterial cells, leading to intracellular accumulation of porphyrins. When these porphyrins are irradiated with specific wavelengths of light, they generate reactive oxygen species (ROS), such as singlet oxygen, which exert cytotoxic effects against bacteria. This mechanism is being actively investigated for its clinical applications in photodynamic therapy (PDT). In our studies focusing on PDT targeting cariogenic bacteria, specifically *Streptococcus mutans*

and *Streptococcus sobrinus*, we discovered that the simple addition of 5-ALA phosphate to the culture medium inhibits bacterial growth even in the absence of light irradiation. Furthermore, this growth inhibitory effect was observed exclusively under aerobic conditions, suggesting that oxidative stress or metabolic disruptions triggered by oxygen presence may be involved. Currently, we are conducting detailed investigations into this novel antimicrobial mechanism of 5-ALA, which does not depend on photoactivation.

**MP1-85 「Osteogenesis imperfecta-specific stem cells exhibit cell cycle dysfunction via p21」**

Arwa Mohamed Aboelmaged<sup>1</sup>、Yukari Kyumoto-Nakamura<sup>1</sup>、M Majed Sharifa<sup>1</sup>、  
Liting Yu<sup>1</sup>、Lisha Dai<sup>1</sup>、Ying Liu<sup>1</sup>、Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>、Soichiro Sonoda<sup>1</sup>、  
Hiroki Kato<sup>1</sup>、Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

**Background:** Osteogenesis imperfecta (OI) disrupts extracellular matrix integrity via defective type I collagen, impairing skeletal growth.

While growth plate (GP) failure in long bones is established, the role of stem cells/progenitor cells in the GP remains unclear in OI pathology.

This research aims to identify the cell cycle regulation of OI-specific stem cells (OI-SCs).

**Methods:**We analyzed the cell cycle condition, its related molecules, and their proteolytic status in our established OI-SCs by flow cytometry, western blotting, and immunofluorescence.

**Results:**OI-SCs exhibited delayed G1/S transition associated with nuclear accumulation of p21. The

p21 degradation was impaired due to proteasomal dysfunction in OI-SCs.

**Conclusion:**Aberrant p21 stabilization via defective proteasomal degradation contributes to the cell cycle dysregulation in OI-SCs. This dysregulation may underlie OI pathology and represents a target for therapeutic intervention.

## MP1-86 「BMP9による解糖系活性化と乳酸シグナルを介した骨分化制御機構」

成 昌奐<sup>1</sup>、楠山 譲二<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 科学大 生体情報継承)

Bone morphogenic protein 9 (BMP9)は、BMP2やBMP4を凌駕する強力な骨誘導能を有することが報告されてきたが、BMP9による骨分化能の特異性を説明づける分子機構は十分に解明されていない。我々は、骨芽細胞が骨基質を形成する成熟骨芽細胞へと分化する過程において、糖代謝による大量のエネルギー産生が不可欠である点に着目した。そこでマウス骨芽細胞株MC3T3E1、ヒト骨芽細胞株MG63にBMP2、BMP4、BMP9による分化を誘導し、エネルギー代謝の細胞外フラックス解析、細胞内代謝物のメタボローム解析、RNA-seq解析を行ったところ、BMP9はBMP2やBMP4に比べて解糖系の活性化が顕著であり、ATPと乳酸の産生量が著しく増加していることが分かった。BMP9はKLF4、NFATC2

等による特徴的な複数の転写因子の発現誘導を介し、解糖系初期に関与するHexokinase 2 (HK2)の発現レベルを上昇させ、解糖系のドライバーとして機能させていた。さらに、BMP9による乳酸産生の増加は、乳酸によって安定化されるシグナル伝達因子であるNDRG3と、ヒストン修飾の一種であるヒストンラクチル化を顕著に上昇させており、それぞれがBMP9誘導性の骨分化関連遺伝子の発現上昇に寄与していた。このようにBMP9は基盤的なATP産生、乳酸を介して活性化されるNDRG3シグナル、ヒストンラクチル化という骨分化促進を担う3つ組を同時に活性化することで、強力な骨分化能を発揮していると考えられる。

## MP1-87 「魚鱗ゼラチンの粘稠度が左右する骨形成特性の差異 —骨幅と緻密骨様骨量の視点から—」

陳 徳容<sup>1</sup>、青木 和広<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 科学大・院医歯 セラミックバイオ、<sup>2</sup> 科学大・院医歯 口腔基礎工)

【目的】骨の局所再建において、成長因子などのシグナル分子をその場に保持する足場材料の開発は重要な課題である。我々は、骨形成促進因子を注射により標的的部位に投与して骨幅を増加させる新たな治療法を開発を進めているが、足場材料の粘稠度が新生骨の形成様式に与える影響は十分に検証されていない。本研究では、粘稠度の異なる足場材料が骨伝導能に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】魚鱗由来ゼラチンを0.1、0.3、0.5 mg/mlの3濃度で調製し、粘稠度を測定した。各ゼラチンにBMP-2 (0.3 μg) とRANKL結合ペプチド (0.66 mg) を含浸させ、8週齢C57BL/6Jマウスの上顎切歯と第一大臼歯間に注入した。4週後にμCT像を取得し、ImageJで新生骨の幅と骨量を定量評価した。また、新生骨と母

骨の境界は、蛍光ラベルによるラベリング像で確認し、von Kossa染色で石灰化骨量を測定した。統計解析はShapiro-Wilk検定で正規性を確認後、ANOVAとTukey検定を用いた。

【成績】せん断速度3/sにおける粘稠度は約20、400、2000 mPa・sであった。新生骨幅は低粘稠度群で0.23 ± 0.11 mm、高粘稠度群で0.06 ± 0.02 mmとなり、有意に増加した (+283%、p < 0.05)。緻密骨様骨量は低粘稠度群33.29 ± 1.90%、高粘稠度群66.79 ± 2.34%で、有意に減少した (-50%、p < 0.05)。

【結論】低粘稠度の足場材料は骨幅の拡大に寄与し、高粘稠度の材料は緻密骨様骨の形成を促進する可能性が示唆された。

**MP1-88 「CCN3 Knockout Reduces Osteoarthritis Severity in Mice by Preserving Cartilage Matrix Components」**

Janvier Habumugisha<sup>1,2</sup>、Hiroshi Kamioka<sup>2</sup>、Satoshi Kubota<sup>1</sup>、Takako Hattori<sup>1</sup>  
 (1Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Biochem Mol Dent、2Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Orthodont)

Osteoarthritis (OA) is a common degenerative joint disease characterized by cartilage degradation, synovial inflammation, and subchondral bone remodeling. Our previous studies showed that CCN3 expression increases with age in knee cartilage, and cartilage-specific overexpression of CCN3 induces senescence-associated secretory phenotype (SASP) and OA-like changes. Here, we examined the effects of CCN3 deletion on OA development in a murine model of destabilization of the medial meniscus (DMM). Histological analysis revealed that CCN3 knockout (KO) mice exhibited reduced cartilage

degradation and proteoglycan loss. Gene and protein analyses demonstrated that CCN3 knock out suppressed matrix-degrading enzymes production (MMP-13, ADAMTS-5) and attenuated cartilage degradation. Immunofluorescence showed increased Ki-67 expression in KO OA cartilage, indicating enhanced chondrocyte proliferation. In wild-type OA samples, colocalization of CCN3 and CD44 suggested a possible interaction affecting chondrocyte function. These findings suggest that CCN3 contributes to OA progression, making it a potential therapeutic target.

**MP1-89 「Identification and characterization of a novel bone resorption modulator in c-Src/p130Cas axis」**

李 傲男<sup>1</sup>、Jing Gao<sup>1</sup>、自見 英治郎<sup>1,2</sup>  
 (1九大 院歯 口腔細胞工学、2九大 院歯 OBT 研究セ)

Podosome formation is essential for osteoclastic bone resorption, serving as the structural basis for the sealing zone that enables bone resorption. Mice lacking conventional c-src or its adaptor p130Cas specifically in osteoclasts exhibit osteopetrosis caused by impaired osteoclastic bone resorption due to defective podosome formation. We previously showed that c-Src and p130Cas form a complex with Pyk2. To identify novel effectors of this complex, we performed anti-Pyk2 immunoprecipitation followed by mass spectrometry using osteoclasts from WT, c-srcKO, and p130Cas $\Delta$ OCL<sup>-/-</sup> mice. Through a

series of immunoprecipitation experiments, we narrowed down the candidates to 18 proteins, we focused on molecule X, which plays a critical role in actin cytoskeleton remodeling. Knockdown of X in RAW264.7 or bone marrow-derived cells resulted in reduced actin ring formation, impaired multinucleation, and diminished bone resorptive activity. Immunofluorescence analysis revealed that X colocalizes with p130Cas at the actin ring, and co-immunoprecipitation demonstrated that X is a downstream effector of c-Src/p130Cas signaling, regulating actin ring formation and osteoclastic bone resorption.

**MP1-90 「Elucidation of the physiological role of p130Cas in palatogenesis」**

Tao Han<sup>1</sup>、Jing Gao<sup>1</sup>、Wei Wu<sup>1</sup>、Eijiro Jimi<sup>1,2</sup>  
 (1Kyushu Univ Fac Dent Sci, Lab Mol Cell Biochem、2Kyushu Univ Fac Dent Sci, OBT Res Cent)

Palatogenesis is a complicated and intricate process involving multiple morphogenetic events, and its disruption can result in cleft palate,

a common congenital anomaly. In this study, we investigated the role of p130Crk-associated substrate (p130Cas), an adaptor protein involved

in integrin and cytokine signaling, during palate development. Analysis of published RNA-Seq dataset confirmed that p130Cas expressed in palatal shelves. Using tamoxifen-inducible p130Cas-deficient mice (p130Cas<sup>fllox/fllox</sup> x CAG-Cre/ERTM), we found that p130Cas-deficient embryos exhibit cleft palate between embryonic day (E) 16.5 and E18.5, with palatal shelf growth arrested in the horizontal direction. Histological analysis revealed delayed

elevation of the palatal shelves at E14.5, and immunostaining for Ki-67 showed reduced cell proliferation at the same stage. Furthermore, bulk RNA sequencing demonstrated significant downregulation of genes associated with key developmental pathways. These findings indicate that p130Cas is essential for promoting cell proliferation and regulating the proper elevation and fusion of the palatal shelves during palatogenesis.

### MP1-91 「Novel expression and role of IRR in dental pulp stem cells」

Ying Liu<sup>1</sup>, Yukari Kyumoto-Namakura<sup>1</sup>, M. Majd Sharifa<sup>1</sup>, Liting Yu<sup>1</sup>,  
Arwa Mohamed Aboelmaged<sup>1</sup>, Lisha Dai<sup>1</sup>, Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>, Soichiro Sonoda<sup>1</sup>,  
Hiroki Kato<sup>1</sup>, Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

**Object:** Dental pulp stem cells (DPSCs) possess the odontoblast differentiation capacity, responsible for dentin formation. Insulin receptor-related receptor (IRR) is known as an alkaline pH sensor, assuming the association with dentin mineralization. Here, we aim to verify the expression of IRR in rat DPSCs and explore its potential role in odontoblast differentiation.

**Methods:** We isolated DPSCs from dental pulp tissues of rat incisors and cultured them under temporal and periodic alkaline stimulation (pH 7.4 and pH 8.4). We then analyzed IRR expression and assessed odontoblast differentiation.

**Results:** Rat DPSCs expressed the IRR gene and protein. The temporal and periodic pH 8.4 stimulation could increase the alkaline phosphatase (ALP) activity and induce mineralized matrix deposition by ALP and Alizarin Red S staining. The alkaline stimulation could upregulate the gene expression of bone gamma-carboxyglutamate protein, a late-stage odontoblast marker.

**Conclusion:** This study is the first to report IRR expression in DPSCs and suggests its responsible role in dentin mineralization.

### MP1-92 「Epigenetic regulation of HNF6 in biliary atresia」

Liting Yu<sup>1</sup>, Soichiro Sonoda<sup>1</sup>, M. Majd Sharifa<sup>1</sup>, Arwa Mohamed Aboelmaged<sup>1</sup>,  
Lisha Dai<sup>1</sup>, Ying Liu<sup>1</sup>, Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>, Yukari Kyumoto-Nakamura<sup>1</sup>,  
Hiroki Kato<sup>1</sup>, Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

**Background:** Biliary atresia (BA) is a rare congenital bile duct blockage. The unknown molecular pathogenesis makes it hard to develop alternative therapies. Our established BA-specific stem cells expressed elevated hepatocyte nuclear factor 6 (HNF6). This study aims to investigate the epigenetic mechanism of elevated HNF6 in BA-specific stem cells.

**Methods:** Our established BA-specific stem cells were analyzed by western blot and immunofluorescence (IF) to detect the protein and nuclear localization of candidate transcription factors, Brahma-related gene 1 (BRG1), Brahman (BRM), and nuclear factor kappa B subunit P65 and P50. They were also assessed by chromatin immunoprecipitation-qPCR (ChIP-qPCR) and ChIP-

re-ChIP-qPCR to detect them and their complexes around the HNF6 promoter region.

**Results:** BRM and nuclear factor kappa B subunit P65 and P50 were enriched around the HNF6 promoter in BA-specific stem cells, but not BRG1.

The BRM-P65 complex is significantly bound around the HNF6 promoter in BA-specific stem cells.

**Conclusion:** The BRM-P65 complex plays a key role in epigenetic chromatin remodeling around the HNF6 promoter in BA-specific stem cells.

### MP1-93 「Tumor-derived Apoptotic Vesicles Modulate Lymph Node Immune Microenvironment via Fibroblastic Reticular Cells」

M Majd Sharifa<sup>1</sup>、Soichiro Sonoda<sup>1</sup>、Reona Aijima<sup>2</sup>、Ying Liu<sup>1</sup>、  
Mhd Fouad Zakaria<sup>1</sup>、Yukari Kumamoto-Namakura<sup>1</sup>、Hiroki Kato<sup>1</sup>、  
Yoshio Yamashita<sup>2</sup>、Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat、<sup>2</sup>Saga Univ Fac Med, Dep Oral Maxillofac Sur)

**Background:** Cancer cells can metastasize early to lymph nodes (LNs), whereas the mechanism of pre-metastatic niche conditioning remains unclear. In this study, we aim to investigate the effects of apoptotic vesicles (ApoVs) derived from dying cancer cells on targeting fibroblastic reticular cells in LNs (LNFRCs), key regulators of LN immunity.

**Methods:** We isolated LNFRCs from murine LNs. LNFRCs were primed by ApoVs extracted from staurosporine-treated human oral squamous carcinoma cell line HSC-3 cells, which possess a high metastatic potential. ApoV-primed LNFRCs

were analyzed for T-cell modulation under coculture with CD3/CD28-activated LN cells.

**Results:** LNFRCs exhibited stromal and antigen-presenting markers. ApoV-precondition reduced the CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T-cell population one day after coculture and depleted the CD8<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> high and CD4<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> population. In contrast, ApoVs induced LNFRC apoptosis after 3 days under serum-depleted conditions.

**Conclusion:** Cancer cell-derived ApoVs suppress T-cell immunity and viability of LNFRCs. This dual mechanism is suggested to prime LNs for metastasis.

### MP1-94 「The role of VEGFR2 expression in oral squamous cell carcinoma progression. 口腔扁平上皮癌における血管内皮細胞増殖因子受容体2 (VEGFR2) 発現の働き」

Li-Jie Li<sup>1,2</sup>、宇佐美 悠<sup>1,3</sup>、寺本 朱里<sup>1,4,5</sup>、廣瀬 勝俊<sup>1,3</sup>、豊澤 悟<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup>台湾台北医学大学 歯学研究科、<sup>3</sup>阪大 感染症総合教育拠点、<sup>4</sup>阪大 院歯 口外2、<sup>5</sup>済生会吹田病院 口外)

Vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR2) promotes angiogenesis and regulates endothelial cell proliferation through nuclear translocation upon VEGFA binding. In a 4-NQO-induced oral squamous cell carcinoma (OSCC) mouse model, VEGFR2 inhibition (VEGFR2i) delayed progression to SCC, suggesting roles beyond angiogenesis. This study examined VEGFR2 expression and function in OSCC. Spatial transcriptomics revealed elevated VEGFR2 and VEGFA in mouse cancer regions.

Immunohistochemistry (IHC) confirmed increased nuclear VEGFR2 and VEGFA with cancer progression, while VEGFR2i reduced proliferation marker expression. In human OSCC, public datasets showed upregulation of VEGFR2 and VEGFA in tumors compared to normal tissues. IHC further revealed positive correlations between nuclear VEGFR2, tumor stage, metastasis, and Ki67 levels. In vitro, VEGFA enhanced cytoplasmic and nuclear VEGFR2 expression and promoted proliferation in both primary mouse SCC and human OSCC cells,

which was suppressed by VEGFR2 blockade. These findings suggest the VEGFA-VEGFR2 axis drives

OSCC progression and highlight VEGFR2 as a potential therapeutic target.

**MP1-95 「Deamidation of NF- $\kappa$ B p65 at N139 enhances proliferation and anti-apoptotic properties in oral squamous cell carcinoma cells」**

Yiran Tu<sup>1</sup>, Jing Gao<sup>1</sup>, Takenobu Katagiri<sup>2</sup>, Eijiro Jimi<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, Lab Mol Cell Biochem, <sup>2</sup>Saitama Med Univ, Div. Biomed Sci, RCGM, <sup>3</sup>Kyushu Univ Fac Dent Sci, OBT Res Cent)

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common malignant tumor of the oral cavity and head and neck region. Deamidation, a post-translational modification, often alters protein structure and function. Two deamidation sites in p65, a subunit of NF- $\kappa$ B, N64, and N139 have been identified in cancer cells, but their roles remain unclear. In this study, endogenous p65 was knocked out (KO) in SCCVII cells using CRISPR-Cas9, followed by transfection with Flag-tagged p65 variants: wild-type (WT), N64D, N139D, and double mutant (N64D/N139D; DD). Luciferase assays showed that N139D and DD

mutants significantly reduced p65 transcriptional activity, while N64D had no effect, suggesting that deamination at N139 (N139D) is critical for regulating the transcriptional activity of p65. Stable cell lines expressing Flag-tagged WT, N64D, N139D, and DD were generated. Compared to WT, N139D exhibited the highest proliferation rate, followed by DD, while N64D matched WT. Upon TNF $\alpha$  stimulation, N139D and DD mutants showed enhanced resistance to cell death. These findings suggest that the N139D mutation in p65 positively regulates proliferation and anti-apoptotic properties in OSCC cells.

日時：9月6日（土）9:00～17:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## モリタ優秀発表賞審査「学部学生部門」（MP2-01～10）

### MP2-01 「トガリネズミ科の実験動物スunksを用いた連続した歯列のパターン形成のモデル」

田中 裕太郎<sup>1</sup>、山中 淳之<sup>1</sup>、後藤 哲哉<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 鹿大 院医歯 機能形態)

【背景】歯列のパターン形成、つまり、歯がどの位置に、どのタイミングで形成されるのかを制御するメカニズムについてはあまり良く分かっていない。齧歯類マウスの歯列は高度に特殊化しているので、哺乳類一般の歯列形成を調べるのに適していない。そこで、全ての歯種を揃え、乳歯胚と永久歯胚の2世代の歯胚を有する真無盲腸目トガリネズミ科の実験動物スunks (*Suncus murinus*) を使って、歯列のパターン形成を調べた。

【材料と方法】妊娠期間30日のスunksの胎仔（E16～E30）を収穫し、顎のサイズを計測した後、上下顎から歯胚列のみを切り出し、各歯胚のサイズを計測した。その後、whole-mount *in situ* hybridizationにより歯

胚のシグナリングセンターであるエナメル結節（EK）のマーカ遺伝子 *Shh*, *Fgf4* の発現を調べ、全ての歯胚に対してEKがどの位置に、どの順番で形成されるのかを追跡した。

【結果と考察】上顎は3つ、下顎は2つの乳歯胚のEKが同時に形成されることにより歯胚形成が開始したが、顎の成長に伴い全ての乳歯胚、永久歯胚のEKは先行する隣接歯から遅れて順番に形成された。この遅延のカスケードは近心方向にも遠心方向にも作用していた。これらの結果を基に、マウスの大臼歯形成における抑制カスケードモデルを拡張した哺乳類の連続した歯列のパターン形成のモデルを提出する。

### MP2-02 「唾液腺発生におけるムスカリン性アセチルコリン受容体 M1 の役割」

Xuanchi Ji<sup>1</sup>、中村 卓史<sup>1</sup>、高橋 かおり<sup>1</sup>、若森 実<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 東北大 院歯)

唾液分泌は、交感神経と副交感神経により制御される。器官完成後には、自律神経からの指令に応答するため、自律神経受容体が唾液腺器官内に適切に配置される必要がある。唾液腺の発生は上皮と間葉の相互作用により主に制御されているが、自律神経系からの神経性シグナルの関与も近年注目されている。とくに副交感神経終末から放出されるアセチルコリン（ACh）は、唾液腺発生の初期段階から合成されており、唾液腺上皮細胞にはムスカリン性アセチルコリン受容体（mAChR）が発現していることが明らかとなっている。mAChR M1（M1受容体）およびmAChR M3（M3受容体）ノックアウトマウスが、いずれも唾液分泌量の低下を示すことが報告されているが、これら

のマウスの唾液腺発生は十分には解析されていない。本研究では、M1受容体ノックアウトマウスの唾液腺組織および唾液腺上皮細胞株を用いて、M1受容体が唾液腺の分枝形成や上皮細胞の分化決定に与える影響を解析した。その結果、発生中の唾液腺上皮では主にM1受容体が発現し、特にM1受容体が唾液腺上皮細胞の増殖と腺房細胞への分化において重要な役割を担うことが明らかとなった。さらに、M1受容体ノックアウトマウスでは腺房細胞の分化が抑制されており、M1受容体が発生初期から唾液腺上皮細胞の器官形成と機能的成熟に寄与することが明らかとなった。本発表ではこれらの結果を考察し、M1受容体の唾液腺発生における新たな発生制御機構について議論する。

## MP2-03 「共焦点レーザー顕微鏡を用いた骨細胞のイメージング観察と機能解析」

伊藤 才造<sup>1</sup>、谷村 明彦<sup>2</sup>( <sup>1</sup>北医療大 歯5年、<sup>2</sup>北医療大 歯 薬理)

【目的】近年、骨代謝や体内の電解質代謝における骨細胞の重要性を示唆する新しい知見が増えている。

本研究では、蛍光物質を使って細胞および骨基質の石灰化部をラベルし、組織透明化技術と共焦点レーザー顕微鏡を使ったイメージング観察によって、骨細胞の3次元的な解析を行っている。また、生きた頭頂骨と新規低親和性Ca<sup>2+</sup>プローブ (KLCA301または501) を用いて、骨細胞周囲の細胞外Ca<sup>2+</sup>濃度の解析を試みる。

【方法】カルセインやアリザリンレッドを加えた培養液中でマウスから摘出した頭頂骨を培養して、骨の石灰化部を染色した。この骨組織をパラホルムアルデヒドで固定後、蛍光ファロイジンで骨細胞を染色して共焦点レーザー顕微鏡を用いて、骨細胞の突起や骨小腔

の立体構造を観察した。

【結果と考察】低倍率の観察像では、骨表面や骨基質の骨髄の境界部にカルセインにより染色された石灰化部や蛍光ファロイジンで染色された骨表面の骨芽細胞や骨深部の骨細胞等が観察された。高倍率では蛍光ファロイジンで染色された骨細胞の細胞体および細胞突起の周囲に、カルセインが沈着した骨基質が観察され、三次元的観察で骨細胞の突起同士が繋がったネットワーク構造が観察された。今後、未固定の骨組織と新規低親和性カルシウムプローブを使って、骨小腔内のCa<sup>2+</sup>濃度の算定を試みる。

【結論】培養頭頂骨を使ってイメージングによって骨細胞の機能を解析する。

## MP2-04 「食酢および酒類の生化学的特性に基づく酸蝕リスクの総合評価」

小林 英里香<sup>1</sup>、花井 亮太<sup>1</sup>、安彦 友希<sup>1</sup>、鷲尾 純平<sup>1</sup>、高橋 信博<sup>1</sup>( <sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生化)

【目的】酸蝕症は細菌を介さず酸によって歯が脱灰される現象である。近年「飲む酢」の人気の高まり、また日本酒等の伝統酒は食事や会話とともにゆっくり味わうスタイルが一般的で、口腔内に長く滞留する機会がある。これら飲料の酸蝕リスクの評価には、pHに加え、pH緩衝能、カルシウム (Ca)、リン酸 (P)、フッ素 (F) のイオン濃度を考慮する必要がある。そこで本研究ではこれらの因子を測定し、酸蝕リスクを総合的に評価した。

【方法】市販の食酢 (5種)、日本酒 (2種)、焼酎 (2種)、ウイスキー (1種) を対象とした。食酢は飲用の推奨濃度に脱イオン水で希釈した。pH、pH緩衝能、F濃度は複合電極、Ca、P濃度は比色法 (OCPC法、Fiske-

Subbarow法) にて測定した。

【結果および考察】食酢ではCa (34.2 ~ 207.8 μg/mL)、P (7.2 ~ 419.9 μg/mL)、pHは2.6 ~ 3.6、pH緩衝能は6.2 ~ 85.5 mL (8倍に希釈した試料 (8 mL) を中和するのに必要な 0.01 M NaOH量) であった。酒類ではCa (0.6 ~ 32.7 μg/mL)、P (0 ~ 84.7 μg/mL)、pHは4.1 ~ 7.2、pH緩衝能は0 ~ 1.6 mLであった。Fは全飲料で低値 (0 ~ 0.4 ppm) であった。

食酢のCa、Pは高く、ヒドロキシアパタイトの溶解を抑制する可能性はあるが、pHが低く、pH緩衝能が大きいいため、酸蝕リスクが高いと考えられた。一方、酒類はCa、P、pHが低いもののpH緩衝能は小さく、唾液存在下では酸蝕リスクは相対的に低いと考えられた。

## MP2-05 「インフルエンザウイルス感染に対する S-PRG フィラー抽出液の抗ウイルス効果」

五井 麻由里<sup>1</sup>、神尾 宜昌<sup>1</sup>、今井 健一<sup>1</sup>( <sup>1</sup>日大 歯 感染免疫)

インフルエンザは高齢者において重症化しやすく、死に至ることも多いため、その予防は極めて重要である。演者らはこれまで、ウイルス感染と口腔細菌との関係に着目し、歯科医療によるインフルエンザ予防の可能性について検討してきた。今回、実際の臨床現場におけるインフルエンザ予防の可能性を検討するた

め、歯科材料に応用されているS-PRGフィラーに着目した。S-PRGフィラーは、コンポジットレジンや歯ブラシなどに応用されており、6種のイオン (フッ化物、ストロンチウム、ホウ酸、ナトリウム、アルミニウム、ケイ酸) を放出することにより、口腔環境の健全化に寄与することが報告されている。本研究では、S-PRG

フィラーを蒸留水に24時間浸漬して得られた抽出液が、インフルエンザウイルス感染に及ぼす影響を検討した。イヌ腎臓由来上皮細胞株 (MDCK細胞) にインフルエンザウイルスA/Udorn/307/72 (H3N2)をMOI 0.001で感染させた後、S-PRGフィラー抽出液を含む培養液で24時間培養を行なった。培養上清を回収し、プラークアッセイによりウイルス力価を測定した。その結果、

S-PRGフィラー抽出液は濃度依存的にウイルス力価を有意に低下させた。以上の結果から、S-PRGフィラーを含有する歯科材料の使用が、インフルエンザの発症および重症化予防に貢献する可能性が示唆された。現在、S-PRGフィラー抽出液による抗ウイルス効果のメカニズムを解析中である。

## MP2-06 「炎症性痛覚過敏に関わる侵害受容性二次ニューロンの過興奮性に対するアスタキサンチンの効果：NSAIDs との比較」

千田 理彩子<sup>1</sup>、武田 守<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>麻布大 生命・環境 食品生理)

アスタキサンチン(AST)は *in vitro*でNSAIDsと同様にCox-2の発現を抑制することが報告されているが、*in vivo*での効果は不明である。本研究は、炎症性痛覚過敏の緩和に対するAST の効果を検討し、ASTがセレコキシブ(CEL)の代替となるか否か解析した。Wistar 雄ラットを、口髭部に0.9%NaClを投与したNaïve群、起炎物質(CFA)を投与したCFA炎症群、CFA+AST投与群、CFA+CEL投与群に分けた。口髭部に対してvon Frey hairs を用いて逃避反射閾値を測定し、炎症性痛覚過敏を判定してASTまたはCELの投与によって緩和されるか否かを評価した。次に、三種混合麻酔を行い頸部を外科切開しSpVc領域を露出した。この部位にタングステン記録電極を刺入し口髭部への機械刺激に

応じるSpVc単一ニューロンの活動電位の細胞外記録を行い、Power Labシステムにより過興奮の指標を評価した。CFA群の逃避反射閾値はNaïve 群と比較し有意に低下した。AST, CEL投与群の逃避反射閾値は炎症2日目にNaïve群レベルにまで回復した。CFA群で確認された炎症性痛覚過敏に関わるSpVcニューロンの機械刺激閾値の低下、誘発放電頻度の増加、自発放電頻度の増加、受容野サイズの拡大はAST, CEL投与群においてNaïve群レベルにまで回復した。本研究により、ASTの投与が主に炎症部位のCox-2シグナルカスケードを阻害した結果、侵害受容性二次ニューロンの過興奮を減弱させることにより、炎症性痛覚過敏を緩和することが推察された。

## MP2-07 「侵害受容性一次ニューロンの興奮性に対する“エピガロカテキンガレート”の局所麻酔効果の検討：リドカインとの比較」

宇都木 正悟<sup>1</sup>、武田 守<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>麻布大 生命・環境 食品生理)

エピガロカテキンガレート(EGCG)は*in vitro*において一次感覚ニューロンのNavチャンネル電流の抑制とKvチャンネル電流促進や酸感受性チャンネルASIC3を阻害することが報告されている。本研究では、侵害機械刺激に応じる三叉神経節 (TG) ニューロンの単一ユニット放電に対するEGCG局所投与による修飾効果の有無を検討し、リドカインと麻酔効果を比較することを目的とした。Wistar雄ラットを用い、三種混合麻酔薬で麻酔を行った。大脳皮質よりTGに刺入したタングステン記録電極と交流アンプに接続したPower Labを使い、口髭部分へvon Frey hairを用いた機械刺激に応じる細胞外単一ユニットを記録し、放電頻度に対するEGCGと1%リドカインの局所投与の効果を経時的に記録し、

解析した。口髭部分に受容野を持ち、非侵害・侵害刺激に応じて発火頻度が増加する単一TGニューロン活動を細胞外より記録した。EGCGの投与によってTGニューロンの放電頻度は5分後をピークに減少し、投与後20分以内で回復する可逆的効果を示す傾向が見られた。またEGCGの投与により、機械刺激に応答するTGニューロンの発火頻度の抑制率は濃度依存性に増大した。1%リドカイン(37mM)とEGCG (10mM)の抑制率はほぼ同等であった。本研究において、一次侵害受容ニューロンの興奮性が、EGCGによりNavチャンネル抑制とKvチャンネル促進とASIC3抑制により起動電位と活動電位の両者を抑制することで局所麻酔効果を発揮することが示唆された。

## MP2-08 「舌運動に関与する大脳皮質の部位について」

樽元 淳也<sup>1</sup>、佐藤 文彦<sup>1</sup>、堤 友美<sup>1,2</sup>、孫 在隣<sup>1</sup>、橘 吉寿<sup>1,3</sup>、吉田 篤<sup>1,4</sup>、  
古田 貴寛<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔解剖 2、<sup>2</sup> 兵庫医大 院医 解剖 (神経科学)、<sup>3</sup> 神戸大 院医 生理、<sup>4</sup> 宝塚医療大 保健医療)

咀嚼、嚥下、構音、呼吸を円滑に行うには、顎の動きに加え、舌の協調した動きが不可欠であるが、これらの舌運動調節に関しては未だ十分に解明されていない。本研究では、舌下神経核へ入力する運動前ニューロンが存在する延髄腹外側部網様体へ下行投射する大脳皮質ニューロンの分布と、舌下神経核へ直接投射する大脳皮質ニューロンの分布とを調べた。イソフルラン麻酔下のラットで、舌下神経の電気刺激に対する神経応答を記録して舌下神経核を同定し、その部位またはそれよりやや腹外側へ逆行性神経トレーサーであるCholera Toxin B subunit (CTb)を微量注入した。標識細胞を大脳皮質運動野と感覚野で調べた。その結果、舌下神経核へ注入した例では大脳皮質に標識細胞をほ

とんど認めなかった。一方、舌下神経核への運動前ニューロンが存在する舌下神経核の腹外側部網様体へ注入した例では、大脳皮質一次運動野(M1)の吻側および大脳皮質二次運動野(M2)の吻側3分の1、大脳皮質一次体性感覚野(S1)の吻側4分の1に多くの標識細胞が認められた。また、M1、M2、S1のいずれの部位においても両側性に多くの標識細胞が認められたが、注入部位に対して反対側の方が優位に多かった。以上より、大脳皮質から舌下神経核へ直接情報を送らず、運動前ニューロンを介することで複雑かつ繊細な舌運動の発現と、咀嚼を含む顎運動、嚥下、構音、呼吸などと協調した運動に関与していると考えられる。(COI:なし)

## MP2-09 「塩味嗜好性と女性ホルモンとの関連解析」

吉松 昌悟<sup>1</sup>、西原 咲希<sup>1</sup>、乾 千珠子<sup>2,3</sup>、河野 彰代<sup>2,4</sup>、脇坂 聡<sup>2,5</sup>、本田 義知<sup>3</sup>、  
大庭 伸介<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 阪大 歯学部、<sup>2</sup> 阪大 院歯 口腔解剖 1、<sup>3</sup> 大歯大 口腔解剖、<sup>4</sup> 大手前短大 歯科衛生、<sup>5</sup> 関西女子短大 歯科衛生)

味覚障害は高齢女性で多く認められるがその原因は不明である。高齢期の女性ホルモン低下が特に塩味に影響を及ぼすことが報告されているが、その機序は明らかではない。本研究では女性ホルモン低下と塩味嗜好性との関連を明らかにすることを目的とした。卵巢摘出雌性SDラット (OVX) と低亜鉛食で飼養した雌性SDラット (低亜鉛) において、48時間ニビン選択法により塩味嗜好性を検討するとともに、有郭乳頭の上皮性ナトリウムチャネル受容体 (ENaC  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) 発現量をRT-qPCR法により調べた。OVX群では対照群と比べ、0.3 Mおよび0.6 M NaClに対する嗜好性が上昇した。OVX群への女性ホルモン ( $\beta$ -estrogen progesterone in oil) 投与により、上昇した塩味嗜好性は対照群

と同程度の値に戻った。OVX群のENaC  $\beta$ の発現量は対照群と比べ有意に減少する一方、ENaC $\alpha$ は減少傾向、ENaC $\gamma$ は増加傾向を示した。OVX群への女性ホルモン投与によりいずれのENaC発現量も対照群と同程度の値に戻った。また、低亜鉛群では対照群に比べ、0.3 Mおよび0.6 M NaClに対する嗜好性が有意に上昇した。低亜鉛群への女性ホルモン投与により、上昇した塩味嗜好性は対照群と同程度の値に戻った。低亜鉛群のいずれのENaC発現量も対照群より増加の傾向を示したが、女性ホルモン投与により対照群と同程度の値に収束した。以上より、女性ホルモン低下による味覚障害には女性ホルモン補充療法が有効である可能性が示唆された。

MP2-10 「3歳児における母子の *Streptococcus mutans* 保有とう蝕との関係」

名本 瑛理<sup>1</sup>、影山 伸哉<sup>1</sup>、朝川 美加李<sup>1</sup>、竹下 徹<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔予防)

【目的】 *Streptococcus mutans* (Sm) はう蝕病原性細菌として知られており、小児う蝕のリスク要因と考えられている。本研究では、3歳児とその母親のSm保有と3歳児のう蝕との関係性について調べた。

【方法】 福岡市東区で行われた3歳児健診を受診した294名(双子を3組含む)とその母親を解析対象者とし、舌スワブ検体の採取を行った。得られた585検体からDNAを抽出したのち、リアルタイムPCR法を用いて各検体中のSmを検出した。

【結果】 母親では229名(78.8%)からSmが検出されたのに対し、3歳児では19名(6.5%)からのみ検出され、その検出率は3歳児で有意に低かった。3歳児では18名

(6.1%)においてう蝕が認められたが、Sm未検出児では12名(4.4%)、Sm検出児では6名(31.6%)においてう蝕が認められ、その有病率はSm検出児で有意に高かった。また、Sm未検出の母親の児63名からはう蝕は検出されず、Smが検出された母親の児からのみう蝕が検出された。一方、母親のSm検出は児のSm検出とは有意に関連していなかった。

【結論】 自身のSm保有のみならず、母親のSm保有も3歳児のう蝕有病率と関連していた。一方、母親のSm保有は児のSm保有と相関しておらず、児のう蝕への関わりについてはさらなる検討が必要である。

## ■一般演題（ポスター）（P）

日時：9月6日（土）9:00～17:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## 一般演題（ポスター）（P2-01～55）

## P2-01 「日本人中切歯における副根管の三次元的評価と発生頻度の検討」

笠原 典夫<sup>1</sup>、松永 智<sup>2</sup>、塩崎 一成<sup>3</sup>、北村 啓<sup>1</sup>、菊池 布恵<sup>1</sup>、阿部 伸一<sup>2</sup>、  
山本 仁<sup>1</sup>（<sup>1</sup>東歯大 組織発生、<sup>2</sup>東歯大 解剖、<sup>3</sup>日大松戸歯 解剖）

【目的】本研究は、日本人中切歯における主根管の形態分類および副根管の発生頻度を明らかにし、根管治療時、あるいは根管治療後の根管再感染への関連性について、その一端を解明することを目的とした。

【試料および方法】試料は、東京歯科大学解剖学講座所蔵の日本人下顎中切歯50本、上顎中切歯50本である。試料をMicro-CTにて撮像し、その後三次元立体構築を行い、Vertucciの分類に基づいて形態を分類した。さらに、副根管の有無とその発生部位を解析し、それぞれの発生頻度を算出した。

【結果および考察】下顎中切歯では完全な1根管であ

るType Iが85.7%、次いで1根管-2根管-1根管であるType IIIが10.5%であり、舌側根管を有するType IVおよびVIIも僅かながら認められた。副根管の発生率は36.7%であり、過去の報告よりも高頻度であった。一方、上顎中切歯では全例がType Iであったが、副根管の発生率は66.9%と下顎中切歯に比べて高く、1歯に複数の副根管を有する例も認めた。これらの結果から、中切歯の歯髓腔は一見単純に見えても複雑な形態を呈しており、これらの形態が根管治療の成否を左右している可能性が示唆された。

## P2-02 「肥満2型糖尿病モデルラットにおける下顎第一臼歯舌側歯肉の形態学的研究」

平山 和幸<sup>1</sup>、角 陽一<sup>1</sup>、上村 守<sup>1</sup>（<sup>1</sup>大歯大 解剖）

肥満は2型糖尿病の主要な危険因子であり、また2型糖尿病と歯周病の間には双方向性の関連が認められると報告されている。本研究では、肥満2型糖尿病（ODM）モデルの下顎第一臼歯舌側歯肉の粘膜上皮、上皮結合組織および毛細血管の形態学的差異を正常群と比較した。ODM群として生後8週齢雄性SDT fattyラット12匹（体重：約309g、空腹時血糖値：約148mg/dL、HbA1c：約5.5%）、正常群として同週齢・同性SDラット12匹（体重：約232g、空腹時血糖値：約73mg/dL、HbA1c：約3.7%）を用いて、粘膜上皮、上皮結合組織および毛細血管について比較した。粘膜上皮では、特に歯肉上部の角質層および顆粒層がODM群で有意に肥厚し、また歯肉最表層の上皮細胞の易剥離性が認められた。上皮結合

組織では、ODM群では正常群と比較して膠原線維から成る稜線の形態学的差異が観察された。また、ODM群が正常群より上皮結合組織の断面積、結合組織乳頭の断面積および高さが有意に減少していた。毛細血管では、ODM群が正常群より直径が有意に小さく、また毛細血管網が不均一な網目状構造を呈していた。以上から、ODM環境において、歯肉の異常角化や易剥離性、結合組織の退行性変化、そして毛細血管において細小血管障害が引き起こされることが示唆された。本研究は、糖尿病および肥満が歯周組織の微細構造に及ぼす影響を形態学的に解明し、歯周病の進展機序に対する新たな視点を提供するものである。

P2-03 「エナメル質形成過程における TGF- $\beta$  誘導性 EMT/MET の可逆的制御」宮川 友里<sup>1</sup>、唐木田 丈夫<sup>2</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、小林 冴子<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>、朝田 芳信<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 鶴大 歯 小児歯、<sup>2</sup> 鶴大 歯 生化学 )

TGF- $\beta$ は体内のさまざまな細胞によって産生される生理活性物質の1つであり、哺乳類では3種類 (TGF- $\beta$  1、 $\beta$ 2、 $\beta$ 3) のアイソフォームが知られている。これまで我々は先行研究で、(1)エナメル質形成には活性型TGF- $\beta$ が必要であること、(2)マウスエナメル上皮細胞株mHAT9d細胞に活性型TGF- $\beta$ を添加すると上皮間葉転換(EMT)が生じること、(3)mHAT9d細胞のEMTはTGF- $\beta$ アイソフォームごとに反応性が異なることを明らかにした。

【目的】 TGF- $\beta$ によって誘導されたmHAT9d細胞の形態変化と遺伝子発現の解析を通じて、エナメル質形成の機構および動態を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】 mHAT9d細胞にTGF- $\beta$ 1、 $\beta$ 2、および $\beta$ 3を添加して刺激し、EMTを誘導した。その後、(1) TGF- $\beta$

の添加を継続した群と(2) TGF- $\beta$ の添加を中止して培養を続けた群に分け、両群の細胞形態の比較と遺伝子発現解析を行った。

【結果】 EMTが生じた後にTGF- $\beta$ の添加を中止すると、細胞形態は間葉系特有の突起状から上皮系特有の敷石状に変化したことから、間葉上皮転換(MET)が生じたと考えた。遺伝子発現解析の結果、TGF- $\beta$ 1および $\beta$ 3添加群では間葉系マーカーであるN-cadherinやVimentinの遺伝子発現の上昇が認められた。さらに、TGF- $\beta$ の添加を中止すると、全群で間葉系マーカーの遺伝子発現が減少し、コントロール群と同レベルとなった。

【結論】 mHAT9d細胞におけるEMT/METは可逆的な現象であることが示された。

## P2-04 「ブタエナメル質形成過程におけるアルカリホスファターゼ活性の動態

Dynamics of alkaline phosphatase activity during porcine enamel formation」

小林 冴子<sup>1</sup>、山本 竜司<sup>2</sup>、兒玉 羽矢<sup>3</sup>、大熊 理紗子<sup>2</sup>、濱仲 正士<sup>2</sup>、朝田 芳信<sup>1</sup>、山越 康雄<sup>2</sup>( <sup>1</sup> 鶴大 歯 小児歯、<sup>2</sup> 鶴大 歯 生化学、<sup>3</sup> 鶴大 歯 歯周病 )

エナメル質形成において、アルカリホスファターゼ(ALP)は基質合成と初期石灰化の双方で重要な役割を担う酵素である。

【目的】 ブタ形成期および成熟期エナメル質中のALPの動態を解明することを目的とした。

【方法】 生後約5か月齢のブタ永久切歯エナメル器(EOE)を用い、各種タンパク分解酵素阻害剤存在下でインキュベーションを行い、遊離ALP活性およびALP関連遺伝子発現を評価した。さらに形成期および成熟期エナメル質から抽出した画分中のALP活性、ALP量、ピロリン酸および遊離無機リン酸を測定した。

【結果と考察】 EOEのALP活性は時間依存的に上昇し、セリンプロテアーゼ阻害剤で抑制された。しかしながら、遊離したALP活性そのものは同阻害剤の影響を受

けなかったことより、EOEからのGPIアンカー型ALPの切断には、EOEに存在する何らかのセリンプロテアーゼが関与しているものの、基質中に存在するセリンプロテアーゼはALPの失活には関与しないことが示唆された。このセリンプロテアーゼとしては、定量PCRの結果より、トリプシン様セリンプロテアーゼ11dやセリン型エンドペプチダーゼ23の発現が高かった。次にエナメル質中のALP活性は形成期でやや高値を示したが成熟期との間で有意差はなかった。また、両期で結晶結合型ピロリン酸とALP作用後における遊離無機リン酸を検出した。

【結論】 エナメル質形成過程においてALPは結晶形成に必要な無機リン酸を供給する重要な役割を担っている。

**P2-05 「象牙芽細胞の cannabinoid 1 受容体活性化による細胞内 cAMP・Ca<sup>2+</sup> 濃度動態」**  
Maki Kimura<sup>1</sup>、Takehito Ouchi<sup>1</sup>、Ryuya Kurashima<sup>1</sup>、Yoshiyuki Shibukawa<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 東歯大 生理)

象牙質表面に様々な刺激が加わると、象牙芽細胞膜が伸展することで機械感受性イオンチャネルが活性化され細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルが生じる。その細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルは象牙質形成や象牙質痛の発生に重要な役割を果たす。我々のこれまでの研究で、細胞内cyclic AMP (cAMP) が細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルを調節する可能性が示唆された。そこで、本研究では象牙芽細胞のcannabinoid受容体活性化で生じる細胞内cAMPシグナルと細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルを検討した。細胞はヒト培養象牙芽細胞を用いた。細胞内cAMPレベルはmNeon Green based cAMP sensor、細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度はfura2-AMを用いて計測

した。細胞外Ca<sup>2+</sup>存在下で、非選択的cannabinoid受容体アゴニストの2-arachidonoylglycerol (2-AG) の投与は細胞内cAMPレベルを増加した。その増加は、アデニル酸シクラーゼ阻害薬または選択的cannabinoid 1受容体阻害薬の投与で抑制された。加えて、細胞外Ca<sup>2+</sup>存在下での2-AGの投与は細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度を増加した。これらの結果から、象牙芽細胞にG<sub>s</sub>タンパク質共役型受容体であるcannabinoid 1受容体が発現しており、cannabinoid 1受容体の活性化は細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度を増加することが示唆された。

**P2-06 「DSPP 欠損マウスを用いた修復象牙質形成における象牙芽細胞の役割」**  
松山 加乃<sup>1</sup>、磯野 加奈<sup>1</sup>、山崎 英俊<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 三重大 院医 幹細胞発生)

我々は、象牙芽細胞をGFPで検出可能であり、Tamoxifen存在下でCreの発現を誘導できるDsp-GFP-mer-Cre-merマウスを用いて実験を行ってきた。

これまで、DSPPを産生可能なDsp-GFP/+マウスを用い、切削後の象牙芽細胞における活性をGFPによって評価した。切削24時間後GFP陽性の象牙芽細胞が消失し、14日後にGFP陽性の象牙芽細胞が再活性化することを報告した。Dsp-GFP/+ -mer-Cre-merマウスとジフテリア毒素 (DT) 受容体を発現できるRosa-DTRマウスを用いてTamo/DTにより象牙芽細胞死を誘導し、切削21日後にGFP輝度と修復象牙質量が減少することを報告した。

本年はDSPPの役割を明らかにするためにDSPPを産生できないDsp-GFP/GFPマウスを用いた。切削21日後Dsp-GFP/GFPマウスはDsp-GFP/+マウスに比べて有意にGFP輝度上昇を示した。GFP/+マウスでは切削部直下の象牙細管でNestinの発現が多くみられたがDsp-GFP/GFPマウスではあまり認められなかった。更にDSPPの欠損にも関わらず大量の修復象牙質形成が認められた。

現在、Dsp-GFP/GFP : Rosa-DTRマウスを用いて、DSPPを発現しない象牙芽細胞を欠損させることで修復象牙質形成及びその性質に影響があるかを検討中である。

**P2-07 「象牙質形成過程における CD166 の局在」**  
渋井 徹<sup>1</sup>、細矢 明宏<sup>2</sup>、高橋 昌巳<sup>1</sup>、柴田 俊一<sup>1</sup>、入江 一元<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 北医療大 歯 解剖、<sup>2</sup> 北医療大 歯 組織)

【目的】歯の形態形成はBMPsおよびWntsなどの成長因子、RunxやOsterix (OSX) をはじめとする転写調節因子などが関与する。しかし象牙芽細胞分化に関連する遺伝子についてはどの分子が重要であるかは不明である。CD166は間葉系幹細胞に発現が認められるタンパク質である。本研究では、象牙質形成過程におけるCD166の局在を検討した。

【材料と方法】Wistar系ラット臼歯の発生過程をCD166、Osterix (OSX) ならびにOsteopontin (OPN) の局在を

免疫組織化学的に検討した。

【結果】歯冠形成期 (出生後2、7、10日) では、歯冠象牙質の形成が進行する領域の前象牙芽細胞でOSXの免疫反応が多数観察されたが、発達した象牙芽細胞ではOSXの免疫反応は弱まった。一方CD166の免疫反応は厚い象牙質に接する発達した象牙芽細胞で認められた。またOPN陽性の骨ではOSX陽性細胞が観察された。歯根形成期 (出生後14、28、35日) になると、初期歯根形成領域でOSX陽性細胞とCD166陽性細胞が強く観察

された。歯根が伸長した時期（出生後28, 35日）でも、根尖側の象牙芽細胞でOSXとCD166の免疫反応が観察された。OPN陽性のセメント質と骨ではOSX陽性細胞が観察されたが、CD166の免疫反応は認められなかった。

【結論】以上よりCD166は歯冠形成期では成熟象牙芽細胞の機能調節に関与し、歯根形成期では象牙芽細胞の分化調節に関わることが示唆された。  
(COI：なし)

## P2-08 「Histological changes in dental pulp of mature teeth after extra-oral subcutaneous transplantation from mice treated with NLRP3 inflammasome inhibitor MCC950」

Jorge Luis Montenegro Raudales<sup>1</sup>、Masaki Honda<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)

We have shown that after extra-oral subcutaneous transplantation of mouse molars, host cells differentiated into odontoblasts in immature donor molars but not in mature molars. The NLRP3 inflammasome (NLRP3) may hinder vascularization by suppressing autophagy. Thus, we aimed to study the effect of NLRP3 inhibition in odontoblast differentiation/survival of mature teeth with this model. Both donor wild type and recipient green fluorescent protein (GFP) mice received 40 mg/kg of the NLRP3 inhibitor, MCC950, for 1 week (MCC950 group) or were left untreated (control group). Then, mature molars were

transplanted into the dorsum of GFP mice and continued to receive MCC950 for 5 weeks or were left untreated. H&E staining and immunostaining with nestin (odontoblast marker) and GFP antibodies were used for histological analyses. H&E-staining showed that the dental pulp in both groups consisted of a matrix with cells, vessel-like structures, and hard tissue which was more prominent in the control group than in the MCC950 group. Also, nestin immunoreactivity was greater in the MCC950 group, with few GFP co-expressing cells. This suggests that NLRP3 inhibition maintains odontoblast survival.

## P2-09 「Tet-off システムを用いた細胞増殖制御可能な無限分裂ヒト歯髄幹細胞の樹立と特性評価」

折本 愛<sup>1</sup>、中富 千尋<sup>2</sup>、有吉 渉<sup>3</sup>、小野 堅太郎<sup>2</sup>、北村 知昭<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九歯大 保存、<sup>2</sup>九歯大 生理、<sup>3</sup>九歯大 感染分子生物)

歯髄幹細胞は多様な組織への分化能を有し、細胞治療用細胞源として注目されている。歯髄幹細胞研究では、初代細胞が用いられることが多いが、ロット間差が大きく基礎研究には不向きである。これまでに、変異型CDK4、サイクリンD、TERTを導入するK4DT法により無限分裂可能なヒト歯髄幹細胞 (hDPSC-K4DT) を樹立したが、K4D遺伝子発現が長期分化誘導実験には適さない課題があった。本研究では、ドキシサイクリン (DOX) によりK4D遺伝子の発現を可逆的に制御できる無限分裂歯髄幹細胞 (Tet-off K4DT) を樹立し、その特性をhDPSC-K4DTと比較した。変異型CDK4、サイクリンD1、EGFPを2Aペプチドで連結し、Tet-off システム搭載のトリプル遺伝子発現レトロウイルスベクター

を構築した。Lonzaのヒト歯髄幹細胞に、レトロウイルスを用いて変異型CDK4、サイクリンD、TERTの3遺伝子を導入し作製した。Tet-off K4DT細胞は、ウエスタンブロットにてK4D発現が確認され、DOX添加で時間依存的に発現低下した。連続継代培養により217日以上持続的な細胞分裂を示し、長期継代後も正常な染色体パターンを維持していた。FACS解析では、間葉系幹細胞マーカー (CD90、CD44) が陽性、造血系マーカー (CD34、CD45) が陰性であり、幹細胞性を維持していた。さらに骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞への分化能も示唆された。今後、歯髄幹細胞を用いた細胞治療の進展に貢献しうる無限分裂ヒト歯髄幹細胞が樹立できた。

## P2-10 「 $\gamma$ -D-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) 刺激ヒト歯髓由来線維芽細胞の tissue inhibitor of metalloproteinase-1 産生に対する RIP2 の影響」

Xianang Hou<sup>1</sup>、井上 博<sup>1</sup>、寒川 延子<sup>1</sup>、合田 征司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大歯大 生理)

【目的】ヒト歯髓由来線維芽細胞(hDPFs)で構成的に発現されるヌクレオチド結合オリゴマー化ドメイン1 (NOD1) はD-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) を感知する。iE-DAPは、細菌の構成成分であり、NOD1 によって 微生物特異的分子として認識され自然免疫応答を惹起する。本研究では、iE-DAP刺激 hDPFs の TIMP-1 産生におけるRIP2の影響について検討した。本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った(承認番号111300)。

【方法・結果】(1) iE-DAPで24時間刺激後、細胞増殖試薬WST-8と反応させ細胞増殖能を検討した。細胞増殖に対するiE-DAP刺激の影響は認められなかった。(2) iE-DAPで24時間刺激後、上清を濃縮してサンプルを作

成し、TIMP-1をウエスタンブロットティング (WB)にて確認した。iE-DAP刺激によりTIMP-1産生は増強した。(3) GSK583 (RIP2阻害剤)で30分前処理した後に(2)同様にWBにてTIMP-1 産生を確認した。TIMP-1産生の増強はGSK583 (RIP2阻害剤)により抑制された。(4) (3)同様に細胞をGSK583で前処理し、iE-DAPで10分刺激後にサンプルを作成し、WBにてERK1/2とJNKのリン酸化を検討した。ERK1/2 とJNKのリン酸化の抑制が確認された。

【考察】以上の結果から、iE-DAP刺激がhDPFsからのTIMP-1産生を増強する可能性が示唆された。また、その作用のメカニズムにはRIP2を介したERK1/2とJNKのリン酸化が関与している可能性が示唆された。

## P2-11 「チタンに対する FDC-SP を応用した細胞接着性の評価」

城戸 勇磨<sup>1</sup>、池崎 晶二郎<sup>2</sup>、新藤 美湖<sup>1</sup>、高満 正宜<sup>2</sup>、大津 圭史<sup>2</sup>、加倉 加恵<sup>1</sup>、原田 英光<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>福歯大 インプラント、<sup>2</sup>岩医大 歯 発生生物)

インプラント喪失の主な原因の一つとして歯周病に類似したインプラント周囲炎が知られており、その予防と対策は極めて重要な課題である。天然歯では、接合上皮が直接エナメル質と強固に接着することで、細菌や有害刺激の侵入を防ぐ生物学的バリアとして機能している。一方で、インプラントの粘膜貫通部の周囲上皮は、接合上皮とは異なり、生物学的バリアによる防御機構を十分に有していないと考えられる。本研究では接合上皮が分泌するFollicular Dendritic Cell-Secreted Protein (FDC-SP) をインプラント粘膜貫通部と上皮細胞間との接着に応用することで、インプラ

ント周囲粘膜上皮のバリア機能の向上を目的とした。実験では、アパタイト及びチタン表面にFDC-SPを塗布し、マウス口腔粘膜上皮細胞 (mOE-T2) の初期付着と増殖に及ぼす影響、さらに細胞接着関連分子 (インテグリン等)、細胞増殖関連分子 (Ki-67)、細胞骨格 (アクチン、ケラチン等)、細胞成長因子 (TGF等) の発現を免疫染色とRT-qPCRで解析した。その結果、FDC-SPがアパタイトやチタンへの結合能を有すると同時にインプラント周囲粘膜上皮の接着性や増殖性を向上させて、バリア機能を向上させることに有用であることが示唆された。

## P2-12 「肥満病態下での歯周病感染による血液脳関門バリア障害の解析」

大植 香菜<sup>1</sup>、山脇 洋輔<sup>2</sup>、應原 久一<sup>3</sup>、吾郷 由希夫<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>広島大 病院 歯科麻酔科、<sup>2</sup>第一薬科大 薬 薬物治療、<sup>3</sup>広大院医系科学 歯周、<sup>4</sup>広大院医系科学 細胞分子薬理)

【緒言】認知症は世界で最も罹患者数の多い神経疾患である。認知機能障害の発症メカニズムには脳内炎症の関与が指摘されているが、有効な予防・治療法は確立されていない。我々はこれまでに、肥満と歯周病の

共存により認知機能が障害されることを明らかにし、この障害に脳内ミクログリアの活性化が関与していることを見出した。本研究では、肥満病態下の歯周病感染が、血液脳関門機能へ与える影響を検討した。

【方法】C57BL/6J雄性マウスに12週齢から18週間高脂肪食を与え、食餌誘発性肥満モデルを作製した。その後、歯周病菌 (*Porphyromonas gingivalis*) を6週間臼歯部に塗布し肥満-歯周病複合モデルを確立した。血液脳関門のタイトジャンクション構成分子の発現解析をリアルタイムPCR法にて行った。さらに、血液脳関門の透過性を評価するために、エバンスブルー色素の静脈内投与を行った。

【結果】脳血液関門のバリア機能を担うタイトジャンク

ションタンパク質の遺伝子発現解析において、肥満-歯周病マウス群では海馬におけるZO-1およびOccludinのmRNA発現量が有意に低下していた。また、同群では脳実質へのエバンスブルー色素の漏出が観察された。

【結論】本研究により、肥満病態下での歯周病感染が脳血液関門の機能低下を引き起こす可能性が示唆された。本結果は、肥満と歯周病の共存が中枢神経系に悪影響を及ぼし、認知機能障害を惹起する一因となる可能性が示された。

## P2-13 「ヒト初代歯根膜細胞におけるエピカテキンの抗炎症効果の検討」

佐野 朋美<sup>1</sup>、兼松 隆<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 九大 院歯 口腔機能分子)

歯周病の研究には、細胞株や動物モデルなどが用いられ、組織学的に歯周炎を模倣しているが、時間とコストがかかる。そこで、本研究は、リアルな微細構造と生物学的機能を再現し、ヒトの歯周組織の解剖学および機能的特性を備えた歯周組織オルガノイドの確立を目指し3次元 (3D) 細胞培養を行った。

ヒト初代歯根膜細胞 (PDLs) は台北医学大学雙和醫院にて治療上抜歯が必要と判断し抜去した歯から採取した。PDLs、ヒト歯髄幹細胞 (PDSCs)、ヒト骨芽細胞様細胞株 (MG-63) を用い、3D培養を行った。培養には超低接着表面の細胞培養用ウェルプレートを用いた。培養細胞をDAPIおよびphalloidinで免疫蛍光染色し、組織学的特徴を観察した。また、細胞株やモデル

マウスで歯周病の抑制効果を示したエピカテキン (EC) で前処理したPDLsを*Porphyromonas gingivalis*由来LPSで刺激した際の炎症性サイトカイン発現を定量した。

3D 培養された細胞は、平面で単層に細胞が増殖する2D培養とは対照的に、細胞同士のクラスターを形成や細胞自身による細胞外マトリックス形成が観察された。また、PDLsをLPS刺激した際に亢進したIL6、TNF $\alpha$ 、IL1 $\beta$ およびCCL19発現は、EC処理によって抑制された。

本研究は、台北医学大学口腔医学院の張維仁教授との共同研究として実施された。

## P2-14 「ヒト歯根膜前駆細胞の骨およびセメント質分化誘導にはPiezo1の活性化が関与する」

河野 祐里<sup>1,2</sup>、鍛治屋 浩<sup>2,3</sup>、前芝 宗尚<sup>2,4</sup>、後藤 加寿子<sup>2,5</sup>、藤田 亜美<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 福歯大 矯正、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ、<sup>3</sup> 福歯大 細胞生理、<sup>4</sup> 福歯大 有床義歯、<sup>5</sup> 福医短大 歯科衛生)

【目的】ヒト歯根膜由来の多能性間葉系幹細胞のヒト歯根膜前駆細胞 (hPDLPC) を用い、機械感受性イオンチャネルPiezo1の活性化による骨芽細胞またはセメント芽細胞への分化誘導に与える効果について解析することを目的とした。

【試料と方法】hPDLPCを4つの条件で0～24時間培養し細胞を回収した:1. コントロール2. Piezo1活性剤のYoda1投与 3. シリコンチャンバーで培養した細胞に伸展圧縮装置による持続的な伸展4. シリコンチャンバーで培養した細胞に伸展圧縮装置による持続的な伸展にPiezo1阻害剤Dooku1投与。これらの条件での目的分子の発現変化を定量性RT-qPCR法、WB法で評価した。またPiezo1 KO細胞を作成し同様の評価を行った。

【結果と考察】hPDLPCはPiezo1とPiezo2を発現し、Yoda1投与によりCa<sup>2+</sup>が流入した。同時に、Ca<sup>2+</sup>/CREB伝達経路を介して骨芽細胞とセメント芽細胞分化関連分子の発現を有意に促進した。一方、伸展刺激に対しては、主に骨芽細胞関連分子の発現を促進したが、Dooku1存在下では、骨芽細胞分化関連分子の発現促進が抑制された。また、Piezo1 KO細胞では、Yoda1投与や伸展刺激による骨芽細胞とセメント芽細胞分化関連分子の発現が認められなかった。

以上の結果から、歯根膜のhPDLPCは、歯列矯正による機械的ストレスをPiezo1を介して受容し、Ca<sup>2+</sup>/CREB伝達経路の活性化を介して骨芽細胞およびセメント芽細胞へと分化することが示唆された。

## P2-15 「ヒト歯根膜線維芽細胞におけるオステオポンチン遺伝的バリエーション間での網羅的遺伝子発現解析」

高井 理衣<sup>1</sup>、高田 鮎子<sup>1</sup>、荒川 俊哉<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 生化)

オステオポンチン (OPN) は、骨芽細胞をはじめ様々な細胞で発現する糖タンパク質である。OPNには2つのアイソフォームがあり、分泌型は細胞外マトリックスや炎症性サイトカインとして、細胞内型はシグナル伝達に関与すると報告されている。OPNは石灰化を抑制することも知られているが、そのメカニズムは不明である。口腔領域でも、ヒト歯根膜線維芽細胞に2種類の遺伝的バリエーションが存在するとされるが、機能の違いは明らかになっていない。

そこで本研究では、ヒト歯根膜線維芽細胞に存在する2つのOPNバリエーション (OPN-v1, OPN-v2) を強発現させ、マイクロアレイおよびqPCRにより遺伝子発現の網羅的解析を行い、各バリエーションの機能の比較を行っ

た。

その結果、マイクロアレイ解析ではOPN-v1強発現細胞で2160遺伝子、OPN-v2強発現細胞で2315遺伝子に1.5倍以上の発現変化がみられた。両バリエーション間で比較すると、SCUBE1がOPN-v1で、MALがOPN-v2で著しく発現上昇していた。石灰化に関連するものでは、細胞外マトリックスやサイトカインに関する30遺伝子に変化していた。qPCR解析では、石灰化に関する遺伝子のASPNやCOMP、BMP2、TGFβ3などで有意な発現変化が確認された。

以上より、OPNは両バリエーションとも石灰化に関与し、OPN-v1はシグナル伝達、OPN-v2はサイトカインに関与する可能性が示唆された。

## P2-16 「温度制御式反復温熱刺激 (TRTS) 依存的骨芽細胞分化誘導メカニズムの検討」

石垣 寛高<sup>1</sup>、冨並 香菜子<sup>2</sup>、工藤 忠明<sup>2</sup>、國分 俊繁<sup>1</sup>、安藤 恵子<sup>2</sup>、中井 淳一<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東北大 院歯 国際連携イノベーション歯学、<sup>2</sup>東北大 院歯 口腔生理)

骨のリモデリング過程において骨芽細胞は重要である。本研究の目的は、マウス前骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1の骨芽細胞分化に対する温度制御式反復温熱刺激 (TRTS) の効果を調査することである。プログラム温度調節が可能な特殊ガラス製加熱プレートを使用し熱刺激を与え、培地温度と加熱プレート表面温度との相関を測定した。プレートに播種したMC3T3-E1細胞は、増殖用または分化誘導用培地の中で、加熱プレートを介し3つの異なる温度のTRTSに曝露された (加熱プレート設定表面温度: 39.5℃、42℃、45℃とし、18時間/日までとした。アルカリホスファターゼ (ALP) 活性アッセイとアリザリンレッド染色アッセイにて骨

芽細胞分化の程度を評価した。またリアルタイムPCR法により、TRTS負荷に伴う分化マーカー遺伝子発現変動の短期的影響 (初期応答) を評価した。39.5℃でのTRTS曝露は18時間/日までの条件では細胞増殖率は減少せず、ALP活性の増加と石灰化の増強が惹起された。また骨芽細胞分化マーカー遺伝子のALPやSp7の発現レベルも TRTS により有意に上昇することが明らかとなった。さらに、これら遺伝子発現レベルの上昇はBMPシグナル阻害剤により有意に抑制された。以上よりTRTSはBMPシグナル依存的に前骨芽細胞の骨芽細胞分化を誘導することが示唆され、将来の骨再生技術の発展に寄与する可能性がある。

## P2-17 「Periodontal Ligament Cells Contribute to Newly Formed Alveolar Bone after Orthodontic Tooth Movement in Mice」

Xiuping Nie<sup>1</sup>、黒坂 寛<sup>1</sup>、岩山 智明<sup>2</sup>、犬伏 俊博<sup>1</sup>、竹立 匡秀<sup>2</sup>、山城 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大 院歯 矯正、<sup>2</sup>阪大 院歯 口腔治療)

Orthodontic tooth movement involves active remodeling of alveolar bone and periodontal ligament (PDL). Previous studies using genetic lineage tracing identified various cell types, including osteoblasts, as contributors to newly

formed bone during tooth movement. However, the specific contribution of PDL cells remains controversial due to limited marker specificity, as prior markers were expressed in multiple cell types, making it difficult to exclude osteoblast

contamination.

In this study, we utilized a novel lineage-tracing mouse model (Plap-1-GFP-2A-CreER; Rosa26-tdTomato), which exclusively labels PDL cells, enabling precise assessment of their role in bone formation under orthodontic forces. Combined with calcein labeling after force application, our results show substantial PDL cell contribution to new alveolar bone on the tension side. Based

on scRNA-seq analysis, a subtype of PDL cells with stem cell characteristics was identified, exhibiting the potential to differentiate into osteoblasts.

This study is the first to demonstrate the direct role of PDL cells in alveolar bone formation during orthodontic treatment, with key implications for promoting healthy bone remodeling.

## P2-18 「老化細胞由来 Dkk1 は骨芽細胞分化を負に調節する」

石田 昌義<sup>1</sup>、岩本 莉奈<sup>1</sup>、宇田川 信之<sup>2</sup>、小林 泰浩<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>松歯大 総歯研、<sup>2</sup>松歯大 生化)

μCT解析の結果から老齢マウスの骨量は減少していた。なぜ、加齢による骨量減少が引き起こされるのか？我々は、老化細胞に着目した。老齢マウスの骨では老化細胞マーカー p16、p21発現量は増加し、老化細胞で高発現する炎症性サイトカイン (SASP) の発現量も増加していたことから加齢に伴って骨組織に老化細胞蓄積と慢性炎症が生じることが示唆された。そこで、マウス骨髄由来間葉系幹細胞株ST2細胞を繰り返し継代し細胞老化を人為的に誘導した。老化ST2細胞では骨芽細胞分化が抑制され、Wntシグナル抑制因子Dkk1の発現が有意に上昇していた。ST2細胞にcGAS-STING経路

の下流分子の2、3-cGAMPやIFN-betaを添加するとDkk1の発現上昇が観察された。興味深いことにin vivoにおいても老齢マウスでは骨髄内Dkk1陽性細胞数増加と血中cGAMP量は有意に増加を示した。また、老齢マウスに老化除去薬であるdasatinibとqueceratinを複数回投与すると、骨におけるDkk1産生は減少した。以上より、老齢マウスで骨量減少には、老化細胞由来Dkk1によるものと示唆され、Dkk1産生源は老化細胞の蓄積であり、老化細胞ではcGAS-STING経路を介してDkk1産生が引き起こされることが示唆された。

## P2-19 「破骨細胞を用いた重力ストレスセンサーの探索」

高橋 夏大<sup>1,2,3</sup>、藤田 昭彦<sup>2,3,4</sup>、畔津 佑季<sup>2,3</sup>、唐川 亜希子<sup>2,3</sup>、高見 正道<sup>2,3</sup>、  
茶谷 昌宏<sup>2,3</sup>  
(<sup>1</sup>昭医大 歯 医科歯科連携、<sup>2</sup>昭医大 歯 歯科薬理、<sup>3</sup>昭医大 薬理科学研、  
<sup>4</sup>昭医大 歯 矯正)

【背景】宇宙空間では骨量減少が顕著であるが、重力ストレスが破骨細胞に及ぼす影響は不明である。本研究では、過重力発生装置を用い、破骨細胞の骨格構造および骨吸収能に対する重力の影響を解析した。

【方法】C57BL/6J雄マウス骨髄由来の破骨細胞に、1G、3G、5G、30Gの環境で30～60分間の重力変化を与え、細胞骨格構造の変化を調べた。TRAP染色、Tubulin・Vinculinの免疫染色、アクチンリングを構成するF-actinのPhalloidin Rhodamine染色を実施した。また、Dentin slice上で破骨細胞の単独培養および骨芽細胞との共存培養を1G、30G環境で10日間実施し、Pit assayおよびToluidine blue染色により骨吸収能を評価した。さらに、破骨細胞のリン酸化プロテオーム解

析を行った。

【結果・考察】過重力群では最低30分間の過重力変化でアクチンリングの帯幅の一部が増大し、蛍光輝度の顕著な低下が確認された。また、核がアクチンリングに偏在する傾向が認められ、骨吸収窩の面積が減少した。リン酸化プロテオーム解析の結果、5G群では1G群と比較してリン酸化が116個のタンパク質で増加、165個で減少した。一部の細胞骨格構造タンパク質では最大約100倍のリン酸化増加を認めた。以上より破骨細胞は短時間の過重力変化に対してアクチンリング構造を変化させて応答し、骨吸収能を制御することが示唆された。破骨細胞のアクチンリングは重力ストレスセンサーとして機能する可能性が示された。

## P2-20 「Periostin 遺伝子欠損マウスは加齢に伴い硬組織の形態異常を呈する」

藤田 昭彦<sup>1</sup>、茶谷 昌宏<sup>2,3</sup>、高橋 夏大<sup>2,3,4</sup>、唐川 亜希子<sup>2,3</sup>、畔津 佑季<sup>2,3</sup>、坂井 信裕<sup>2,5</sup>、高見 正道<sup>2,3</sup>(<sup>1</sup> 昭医大 歯 矯正、<sup>2</sup> 昭医大 歯 歯科薬理、<sup>3</sup> 昭医大 薬理科学研、<sup>4</sup> 昭医大 歯 医科歯科連携、<sup>5</sup> 昭医大 歯 歯学教育)

【背景】 Periostin (POSTN) は硬組織近傍に発現し、骨芽細胞分化に関与するといった報告がある。しかし、その破骨細胞の分化過程における機能は明らかではない。本研究では、Postn遺伝子欠損型マウスの硬組織形態解析と、破骨細胞の分化過程での機能解析を行った。

【方法】  $\mu$ CTを用いて、Postn遺伝子欠損型マウスと野生型マウスの形態解析および骨量解析を行った。また、破骨細胞分化における機能解析のため、破骨細胞の分化誘導系にPOSTNを添加する培養実験とそのRNA-seq解析を行った。

【結果】 Postn遺伝子欠損型マウスの $\mu$ CT解析から、切歯に18から62週齢への加齢に伴う形態異常を認めた。また、下顎骨の肥厚化などの形態変化を認めた。大腿

骨では膝蓋骨周囲の異所性骨化を認め、骨量解析から加齢に伴う骨量の低下が抑制されていた。培養実験から、培養一日目にPOSTNを添加すると、破骨細胞の分化が抑制された。さらには、RNA-seq解析でPOSTN添加により、Nfatc1、Rank、Ctskなどの破骨細胞分化関連遺伝子の発現が低下し、M1マクロファージ関連遺伝子などの免疫関連遺伝子の発現が上昇した。

【考察】 POSTNは、加齢に伴う硬組織の恒常性維持に寄与する因子である可能性が示唆された。培養実験において、POSTN存在下で破骨細胞への分化が抑制され、免疫系細胞への分化を支持する遺伝子発現が認められたことから、POSTNが破骨前駆細胞の分化運命を抑制的に制御する可能性が示された。

## P2-21 「破骨細胞分化では RNA 代謝酵素群の発現が変動する」

中島 和久<sup>1</sup>、出野 尚<sup>1</sup>、山下 照仁<sup>2</sup>、二藤 彰<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 鶴大 歯 薬理、<sup>2</sup> 松歯大 歯 生化)

破骨細胞の分化・成熟の過程はRANKLが惹起して、単球・マクロファージ系前駆細胞が酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 陽性の多核細胞へと分化する。破骨細胞の分化・多核化に伴う、転写の制御機構とRNA転写産物とその量の変化の全容は明らかではない。今回、我々は前駆細胞とRANKL刺激細胞にてRNAセンサー群とRNA代謝酵素群の発現を網羅的に解析した。

【結果】 RANKL刺激24時間後では、細胞内RNAセンサー分子の発現に変化はないものの、分泌型RNase並びに一部の細胞質型RNaseの発現が減少した。RNA代謝酵素群転写量の変化の意味を探るために、マウス骨髓細胞

由来マクロファージにアデノウイルスを感染させた。アデノウイルス感染24時間後にRANKL刺激で分化誘導すると、外来性cDNAを発現しないAd-null感染細胞は多核化を示した。一方、外来性cDNAを発現するアデノウイルス感染群ではTRAP陽性細胞は出現するものの多核化が阻害された。一方、破骨細胞分化が開始したRANKL刺激24時間後の細胞に感染させると多核細胞が出現した。

【考察】 以上の観察はRANKL刺激によるRNAセンサー群とRNA代謝酵素群の発現調節が、破骨細胞への分化と多核化に重要である可能性を示唆している。

## P2-22 「無歯期から乳歯列期、永久歯列期にいたる副鼻腔と眼窩下管における三次元形態の変遷」

松永 智<sup>1</sup>、笠原 典夫<sup>2</sup>、塩崎 一成<sup>3</sup>、山本 仁<sup>2</sup>、阿部 伸一<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 東歯大 解剖、<sup>2</sup> 東歯大 組織発生、<sup>3</sup> 日大松戸歯 解剖)

【目的】 副鼻腔の本格的な成長発育は歯の萌出後に起きることが知られているが、その一方で神経系を内包する眼窩下管は成長のピークが早いとされる。しかしながら、副鼻腔や眼窩下管が中顔面の成長発育に与える影響とその相互的な関係については、不明な点が多く残されている。そこで本研究では、無歯期、乳歯列

期、永久歯列期のそれぞれの歯齢における副鼻腔 (上顎洞と前頭洞) と眼窩下管の体積を検索することで、副鼻腔と眼窩下管の相互的な成長発育が顎顔面領域の形成に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

【方法】 試料として、東京歯科大学解剖学講座所蔵の

インド人乾燥頭蓋骨を用いた。歯の萌出状態により、無歯期、乳歯列期 (Hellmanの歯齢ステージIIA)、永久歯列期 (Hellmanの歯齢ステージIVA) の3グループを設定した。CT撮像後に、上顎洞、前頭洞および眼窩下管における三次元立体構築を行った。また体積計測を行い、各グループにおける平均値と標準偏差を算出した。

【結果】乳歯列期、永久歯列期の双方で眼窩下管は鼻

腔に対する割合がほぼ一定だったが、上顎洞は永久歯列期に急激な高値を示した。前頭洞は乳歯列期に出現するが、必ず左右非対称であった。

【考察】歯の萌出にともない上顎洞の体積は顕著な増加を起し、眼窩下管を眼窩下壁に押し込むように上顎骨体全体に広がり、顎顔面領域の形成に大きく関与することが示唆された。

## P2-23 「下顎無歯顎の顎堤高さと歯槽頂骨密度に関する検討」

岩崎 正敏<sup>1</sup>、榊 実加<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大松戸歯 顎口腔機能補綴、<sup>2</sup>日大松戸歯 解剖)

【緒論】義歯に加わる咬合圧は顎堤によって負担されることから、義歯製作の際に歯槽頂部の骨性状を理解する事は重要である。本研究では、下顎無歯顎患者のCT画像を用いて顎堤高さと歯槽頂部皮質骨の骨密度の関係をCT値を用いて検討した。

【方法】下顎無歯顎の男性47名 (75.2±6.2歳)、女性50名 (76.7±7.1歳) の計97名の左右前頭断CT画像194枚を用いた。CT値の測定箇所は、オトガイ孔から10mm遠心部の断面画像から、歯槽頂部と下顎骨最下点部を5名の補綴専門医が選択した。測定は5回行いその平均値とした。また、オトガイ孔上縁と下縁の高さから残遺歯槽頂残存率を算出し3群に分類した。さらに、歯槽頂部のCT値と下顎骨最下点部のCT値から歯槽頂部骨密

度を算出した。統計学的分析は、一元配置分散分析を用いた。多重比較には、Bonferroni法を用いた。残遺歯槽残存率と歯槽頂部骨密度の相関関係は、Spearmanの順位相関係数を用いて評価した。

【結果と考察】計97名の残遺歯槽頂部残存率は平均で0.56±0.37であり、歯槽頂骨密度は0.75±0.16であった。また、最も残遺歯槽頂残存率が高い群では低い骨密度0.59±0.15を示し、低い群では高い骨密度0.83±0.13を示し群間に有意差が認められた(P<0.05)。つまり、下顎骨無歯顎の顎堤は高さが高いほど歯槽頂部の骨密度は低下する傾向にあった。よって、高さが高く状態が良好と思われるほど歯槽頂に強い咬合圧がかからないような配慮が望ましい。

## P2-24 「液状食の継続摂取により発育阻害されたラット下顎頭に対する固形食への変更が与える発育改善効果」

田村 千景<sup>1,2</sup>、高橋 茂<sup>1</sup>、佐藤 匡<sup>1</sup>、八若 保孝<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>北大 院歯 口腔機能解剖、<sup>2</sup>北大 院歯 小児障害者)

【目的】これまで私たちは成長期ラットに液状食を継続的に摂取させると下顎頭の発育が阻害されることを報告してきた。本研究では、発育阻害された下顎頭は液状食から固形食への変更により改善可能なのかについて明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】生後21日齢で離乳したWistar系雄性ラットに液状食を8週間与えた後固形食に変更し4週間飼育した(変更食群)。比較対照として液状食(液状食群)あるいは固形食(固形食群)を12週間与える群を設定した。飼育期間が終了したラットには灌流固定を行い、μCTにより下顎頭の幅径、高径、長径を測定した。また、下顎頭部の前頭断H-E標本作製し、顕微鏡観察を行うとともに下顎頭軟骨の線維層、増殖層、肥大軟骨層

の厚さを計測した。

【結果と考察】μCT解析では、変更食群の下顎頭は液状食群よりも幅径、高径、長径全てにおいて有意に大きく、さらに高径、長径に関しては固形食群と有意差が認められなかった。しかし、変更食群の幅径は固形食群よりも有意に小さかった。組織学的には、変更食群の肥大軟骨層は液状食群のそれよりも厚かったが、全ての軟骨層において固形食群との間には有意差がみられなかった。

以上の結果より、液状食の継続摂取により発育阻害されたラット下顎頭は固形食への変更により概ね改善することが明らかとなった。

## P2-25 「トウレット症候群関連遺伝子 Slitrk1 による骨伸長制御」

峠 智之<sup>1,2</sup>、松原 琢磨<sup>1</sup>、白川 智彦<sup>2,3</sup>、永野 健一<sup>4</sup>、中富 満城<sup>5</sup>、井上 萌李<sup>1,2</sup>、Addison William<sup>1</sup>、川元 龍夫<sup>2</sup>、古株 彰一郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化、<sup>2</sup>九歯大 顎口腔機能矯正、<sup>3</sup>Oral Medicine, Infection, and Immunity, Harvard School of Dental Medicine、<sup>4</sup>長大 院医歯薬 口腔病理、<sup>5</sup>産医大 産業保健 人間情報)

トウレット症候群 (TS) は、運動性チックや音声チックを主症状とし、注意欠陥多動障害などの神経精神疾患を併発する。さらに、TS患者では骨成熟の遅延や相対的な低身長が挙げられるが、その詳細なメカニズムは不明である。われわれは最近、トウレット症候群関連遺伝子 Slitrk1 遺伝子欠損マウス (Slitrk1 KO) の体長が有意に短いという知見を得た。そこで本研究では、成長板軟骨における Slitrk1 の発現と軟骨形成における Slitrk1 の機能解析を行った。

8週齢雄マウスの大腿骨および脛骨の長さより、Slitrk1 KO は野生型と比較して短く、さらに3週齢の Slitrk1 KO では成長板が有意に薄かった。In situ hybridization 法より、Slitrk1 mRNA は成長板の増殖

軟骨層に強く発現していた。背部に BMP2 含有コラーゲンペレットを埋入し、異所性軟骨形成を観察した。アルシアンブルー染色と定量的 PCR により評価した結果、Slitrk1 KO では、野生型と比較して軟骨形成の遅延が認められた。軟骨前駆細胞株 ATDC5 をインスリン・トランスフェリン・セレン存在下で軟骨細胞への分化を誘導したところ、Slitrk1 の発現量は分化の進行に伴い減少した。Slitrk1 の発現をノックダウンした ATDC5 の生存を WST-8 で検討した結果、コントロールに比べ Slitrk1 ノックダウン群の細胞の生存が減少していた。

これより、Slitrk1 は成長板の増殖軟骨層に発現し、軟骨細胞の増殖を制御することで、骨伸長に関する可能性が示唆された。

## P2-26 「レチノイドの局所投与による誘導的骨成長」

内部 健太<sup>1</sup>、河野 尚平<sup>1</sup>、寺山 隆司<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 広大 院医系科学 顎顔面解剖)

成長期における成長板軟骨の損傷は、骨の成長障害や変形を引き起こし、その後の成長のインバランスを招く原因となる事が知られている。現時点においては、骨端閉鎖術に代表される外科的処置が唯一の治療法である。

一方で、ビタミン A の過剰症は骨の成長板軟骨の早期消失を引き起こすことが知られているが、その発生機序は現在まで明らかとなっていない。本研究では、ビタミン A の活性型代謝産物であるレチノイン酸による成長板軟骨の制御機構を明らかにし、骨成長の調整への応用の可否を検討することを目的とした。成長期のマウスにレチノイン酸受容体 (RAR $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ ) の選択

的アゴニストを全身投与したところ、RAR $\gamma$  アゴニストの投与によって著しい成長阻害が見られたが、RAR $\alpha$ 、RAR $\beta$  アゴニストでは明らかな影響は見られなかった。ナノ粒子を用いたアゴニストの局所投与においては、コントロール粒子を投与した側と比較して骨成長の抑制が見られ、投与部位の調整により角状変形を誘導することも確認された。これらの結果より、ナノ粒子を用いた RAR $\gamma$  アゴニストの局所投与は、標的の成長板の機能を調整することで、成長板損傷によって生じた四肢の長さの不一致や角状変形に対する薬剤治療の手法となる可能性がある事が明らかとなった。

## P2-27 「Nuclear localization of CCN2 and its roles in chondrocytes」

Thi Xuan Nguyen<sup>1</sup>、西田 崇<sup>1</sup>、滝川 正春<sup>2</sup>、久保田 聡<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Biochem Mol Dent、

<sup>2</sup> Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ARCOCS)

We previously reported that cellular communication network factor 2 (CCN2) regulates chondrocyte proliferation and differentiation. A

nuclear localization signal (NLS)-like sequence near the C-terminus of CCN2 suggests its ability to translocate into the nucleus in chondrocytes.

However, its nuclear localization and functions remain unclear. In this study, we examined whether CCN2 is localized to the nucleus and investigated its nuclear roles. Rat chondrocytic RCS cells were transfected with a Ccn2 expression plasmid tagged with HA at the C-terminus (pCcn2-HA). After 48h, immunofluorescence and Western blot analyses of cytoplasmic and nuclear fractions showed that CCN2 was localized in the nucleus. RT-qPCR revealed a significant

upregulation of Spi1 expression in pCcn2-HA-transfected cells. Gel shift assays confirmed that CCN2 binds to DNA fragments of the Spi1 promoter. Moreover, lubricin expression, a marker of the superficial zone of articular cartilage, was significantly increased in Spi1-overexpressing RCS cells. These data suggest that nuclear CCN2 acts as a transcriptional cofactor for Spi1 and promotes lubricin expression, contributing to articular cartilage maintenance.

## P2-28 「トランスクリプトーム解析を用いた secondary calciprotein particles により惹起される骨格筋分化抑制機序の解明」

河野 尚平<sup>1</sup>、内部 健太<sup>1</sup>、寺山 隆司<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 広大院医系科学 顎顔面解剖)

骨格筋が量的・機能的に低下する病態を呈するサルコペニアは、慢性腎臓病 (CKD) に頻発する合併症であり、予後不良因子として知られている。近年、CKDの進展とともに増加するリン酸カルシウム-タンパク質凝集体 (secondary calciprotein particles, CPP2) が、CKDとその合併症の増悪因子として注目されている。我々は、ヒト初代培養筋芽細胞 (hMb) 筋分化モデルを用いて、CPP2がMyogeninやMYF5などの骨格筋分化に必須な転写因子群の発現変動を阻害し、筋細胞への分化及び筋管形成を抑制することを見出したが、その起点となる分子機序は不明である。そこで、hMb筋分化モデルを用いてトランスクリプトーム解析

を実施した。発現変動遺伝子 (DEGs) のエンリッチメント解析の結果、Myogenesis関連遺伝子の発現がCPP2により抑制されることが確認された。興味深いことに、CPP2は筋分化誘導では本来発現変動しない遺伝子群の増加・減少を惹起した。これらのDEGsのエンリッチメント解析の結果、CPP2によるBMP2及びTGF- $\beta$ シグナルの活性化が示唆された。間葉系細胞の筋細胞/骨芽細胞への分化には、それぞれの細胞分化を担うシグナルの適切なオン・オフが要求される。したがって、本研究結果はCPP2が筋芽細胞において骨芽細胞分化シグナルを異所性に活性化し、筋細胞分化を抑制する可能性を示唆する。

## P2-29 「腱組織形成におけるエピジェネティック制御因子 G9a の機能」

出野 尚<sup>1</sup>、和田 悟史<sup>2</sup>、中島 和久<sup>1</sup>、二藤 彰<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 鶴大 歯 薬理、<sup>2</sup> 鶴大 歯 矯正)

H3K9のメチル化酵素として同定されたエピジェネティック制御因子G9aは様々な細胞分化に関与することが報告されている。我々は、マウス初代培養腱細胞にてG9aを欠損させると腱細胞の分化と増殖が抑制される事をすでに報告した。そこで今回本研究では、G9aが腱組織形成をどの様に制御するか、in vivoとin vitroにて解析した。解析はG9a flox/floxマウスとSox9-Creマウスから作出したG9a conditionalノックアウト(cK0)マウスを用いた。まず、Sox9-Cre;Rosa26-LacZマウスの腱組織のLacZ陽性細胞を観察し、Sox9-CreによるCreリコンビナーゼが腱前駆細胞で機能する事を確認した。cK0マウスの腱組織は野生型マウスに比べ形成不全である事を組織切片とwhole tissueで観

察した。cK0マウスと野生型マウスの腱組織における腱関連遺伝子 (Scx、Col1、Tnmd) と増殖関連因子のmRNA発現をISHにて調べたところ、cK0マウスでそれらの発現が抑制されていた。BrdUラベリングではcK0マウスでBrdU陽性細胞数の減少が認められた。一方TUNEL染色ではcK0マウスと野生型マウスに差は見られなかった。野生型マウス由来の初代培養腱細胞にアデノウイルスを用いてG9aを過剰発現したところCol1、Tnmdの発現亢進がmRNAとタンパク質で認められ、またH3K9me2レベルも顕著に増加した。一方で、ScxのmRNAレベルはG9a過剰発現にて抑制された。以上の結果から、G9aが腱組織形成過程の増殖と分化に必須であることが示唆された。

## P2-30 「咀嚼筋腱および周囲組織の解剖学的再評価—咀嚼筋腱・腱膜過形成症への臨床・画像診断へのアプローチ—

塩崎 一成<sup>1</sup>、笠原 典夫<sup>3</sup>、榊 実加<sup>1</sup>、松野 昌展<sup>1</sup>、五十嵐 由里子<sup>1</sup>、松永 智<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大松戸歯 解剖、<sup>2</sup>東歯大 解剖、<sup>3</sup>東歯大 組織)

開口障害を呈する疾患の一つに咀嚼筋腱・腱膜過形成症 (Masticatory Muscle Tendon Aponeurosis Hyperplasia) があり、その特徴として①無痛性であるとともに緩やかに進行する硬性の開口障害であること、②比較的若い世代での発症が多いということ、③咬筋前縁における索状硬結の蝕知があること、④Square Mandibleを呈することが知られている。

さらに、本疾患では強制開口時に硬性開口障害があり、かつ下顎枝外側部での咬筋の発達および骨としての下顎角部の膨隆を呈する機会が多いが、前述のような顔貌の形態的特徴のない症例も報告されている。この場合には側頭筋あるいは内側翼突筋に腱、腱膜の過形成があると考えられる。また、診断評価にはMRI・

CT画像が用いられ、その評価により開口訓練が行われ、場合によっては外科的治療が行われている。

外科的治療が選択された場合には、過形成を生じている部位の腱および腱膜を切離、切除するが、同時に筋突起を切離することで術後の開口量の回復が良好するとの報告もある。解剖学的に考えて、咀嚼筋のうち筋突起に停止する側頭筋に過形成があった場合には、筋突起切離を行うことで開口量が回復することは容易に想像できるが、同時に他咀嚼筋に過形成があった場合でも開口量が回復することにはいささかの不明点が残っている。そこで咀嚼筋各部位を含めた顎関節の肉眼解剖を行い、再評価を行ったのでその概要を報告する。

## P2-31 「新規高輝度発光 IP3 センサー LUCINA とハイスループット測定法の開発」

谷村 明彦<sup>1</sup>、郷 賢治<sup>1</sup>、根津 顕弘<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理)

イノシトール1,4,5-三リン酸 (IP3) は細胞内ストアからCa<sup>2+</sup>を放出させる重要な細胞内情報伝達物質である。近年、ホタルルシフェラーゼの約100倍のシグナルを発する発光タンパク質としてGreen Enhanced Nano lantern (GeNL) と、それを使った発光センサーが開発されている。我々はGeNLの発光タンパク質NanoLuc部にIP3受容体リガンド結合ドメイン (IP3R-LBD) を挿入した発光IP3センサー (LUCINAシリーズ) とプレートリーダーを使った簡便なIP3濃度測定法を開発した。IP3によるLUCINAの発光シグナルの変化をプレートリーダーを使って測定したところ、IP3濃度依存的な発光の増加が認められた。この発光シグナルの増加に対するIP3のEC50は約0.1μMで、最大変化

率は約20%であった。またこのIP3センサーを発現するCOS-7細胞のATP刺激による最大発光変化率は約8%であった。さらにAlphaFoldを用いた分子構造予測の結果に基づいて、発光タンパク質NanoLucとIP3R-LBDを使った改良型発光IP3センサー (LUCINAII) を開発した。LUCINAIIでは発光強度が約10倍でシグナル変化率が約2倍に改善された。これらの発光IP3センサーや発光Ca<sup>2+</sup>センサー (GeNLCa<sup>2+</sup>) を使った実験結果として、Ca<sup>2+</sup>応答に必要な細胞内IP3濃度やCa<sup>2+</sup>シグナルの発生におけるIP3のCa<sup>2+</sup>の相互作用等について報告する。

会員外共同研究者: Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia Rezon Yanual、大阪大学産業化学研究所 永井健治

## P2-32 「摂食速度は覚醒時の唾液分泌低下を簡便に評価するための指標となりうる」

根津 顕弘<sup>1</sup>、高橋 茂<sup>2</sup>、加藤 志織<sup>1</sup>、谷村 明彦<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理、<sup>2</sup>北大 院歯 口腔機能解剖)

唾液は食事時の食塊形成や嚥下に重要な役割を果たすことから、唾液分泌低下が食餌時間の延長や飲水量を増加させる可能性が考えられる。我々は、ラットの摂食速度や飲水量と覚醒時の唾液分泌変動との関係を調べるため、分泌を抑制する薬物や分泌低下モデルラットを用いて検討した。24時間絶食したWistar/STラットに固形餌1gを60分間隔で摂餌させ、完食までの

時間を測定した。ラットは飲水することなく固形餌1gを完食し、繰り返した3回の摂餌時間はそれぞれ272、248、262秒であった。この結果は、十分な間隔を開けることでラットは固形餌1gを一定速度で摂餌することを示している。摂食速度に対する唾液分泌低下の影響を調べるため、分泌低下を起こす薬物を用いて検討した。ブチルスコポラミン投与前と投与後の摂餌時間は

それぞれ232および378秒、またブメタニド投与前と投与後で223および372秒と、いずれの薬物でも摂餌速度が延長した。さらに液状餌飼育ラットの摂餌時間を測定した。固形餌群と液状餌群の摂餌時間はそれぞれ222および368秒で、液状餌群の摂餌速度は有意に長

かった。また液状餌群では、アセチルコリンの持続投与（60-720 nmol/min）による唾液分泌が固形餌群の50-85%に低下していた。ラットの固形餌の摂餌速度は唾液分泌の低下で延長することから、覚醒時の唾液分泌の簡便な指標となる可能性が示唆された。

## P2-33 「唾液腺腺房細胞のクローディン発現変化に対する BMP の効果」

吉垣 純子<sup>1</sup>、横山 愛<sup>1</sup>、加藤 治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 日大松戸歯 生理)

唾液腺腺房細胞のタイト結合は主にclaudin-3で構成されており、水やナトリウムイオンを通す性質を持つ。しかし放射線照射などの組織傷害を受けると、それまで発現していなかったclaudin-4を発現し始める。また、組織傷害にตอบสนองしてマウス耳下腺ではBMP2の発現が増加し、細胞増殖を促すことを我々は報告している。そこで本研究では、BMPに対する阻害剤がタイト結合タンパク質の発現に与える影響について検討した。ラット耳下腺から腺房細胞を酵素処理によって単離し、2%ラット血清存在下で培養を行った。その際、BMPおよびTGFβファミリーの受容体に対する阻害剤を添加して培養し、タンパク質を回収してウエスタ

ンブロットングを行った。我々は、耳下腺腺房細胞に酵素処理を行うことで組織傷害シグナルがトリガーされ、claudinの発現変化が起こることを既に報告している。阻害剤非存在下ではclaudin-4の発現増加が確認されたが、LDN-193189、SB431542の添加により発現が抑制された。しかし、LDN-212854の添加では変化しなかった。LDN-212854はALK1および2の阻害剤であり、LDN-193189はALK1、2以外にALK3および6を阻害する。したがって、claudin-4の発現増加は、ALK3およびALK6のリガンドであるBMP2またはBMP4で制御されていることが予想された。

## P2-34 「唾液腺の導管組織における Trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP2) の発現と局在」

福島 美和子<sup>1</sup>、井上 知<sup>1</sup>、藤川 芳織<sup>1</sup>、野中 直子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 昭医大 歯 口腔解剖)

加齢唾液腺では腺房細胞の著しい減少がみられる一方、導管組織の数量的な変化は顕著ではなく、形態的に細胞の萎縮性変化がみられ、その残存能力には何らかのメカニズムが関与すると考えられる。我々は導管の残存メカニズムとして細胞接着装置が関与する可能性を考えた。Trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP2)は膜貫通型タンパク質であり、細胞表面におけるタイト結合の発現を安定化させることが知られている。我々は、TROP2の導管組織における持続的な発現が加齢唾液腺での導管の残存に関与すると仮定した。そこで、免疫染色法を用い、若齢および加齢唾液腺におけるTROP2の発現および細胞内局在を解析した。その結果、TROP2は若齢雌マウスの顎下腺におい

て、小葉間導管から線条部導管の細胞表面かつ基底側膜に局在していることが示された。TROP2陽性細胞は特に線条部導管に多く、一方、顆粒性細胞では弱陽性、介在部導管では陰性であった。また、TROP2との共局在が報告されているタイト結合タンパク質のClaudin-7は小葉間導管から介在部導管の基底側膜に陽性を示した。一方、老齢マウスの唾液腺では、TROP2は萎縮した導管細胞や介在部導管にも陽性を示し、Claudin-7と共局在を示した。以上のことから、TROP2は加齢唾液腺の導管では若齢時に発現しない導管組織においても発現し、Claudin-7と機能的に関連する可能性が示唆された。

## P2-35 「マウス顎下線における PER2::LUC 概日変動の発振および発達過程の検討 The development of PER2 circadian rhythm on murine salivary glands」

内田 仁司<sup>1</sup>、中村 渉<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>長大 院医歯薬 加齢口腔生理)

生体には1日24時間の環境変化に適応し、その時刻によって最適な生理機能を発揮するための制御機構が存在する。これは時計遺伝子によって構成される概日時計機構が担っていると考えられており、その中枢は視床下部視交叉上核に存在する。また、視交叉上核以外の脳神経部位や各末梢組織にも末梢時計と呼ばれる固有の時計機構が存在し、中枢時計は末梢時計を組織化することで生理機能の時間制御が行われると想定されている。しかしながら、概日時計機構が「いつ」、「どのように」備わるかについて不明な点も多い。そこで本研究では、マウス唾液腺における概日時計機構の発振・発達過程の検討を行った。概日時計の振動の検出には時計遺伝子Period2 (Per2)の下流にLuciferase

(Luc)を組み込んだ遺伝子改変 (Per2::Luc) マウスによる生物発光レポーターアッセイを用い、胎生期から成獣期のPer2::Lucマウスから唾液腺を摘出し、ex vivoで測定を行った。その結果、胎生期唾液腺の分枝形態形成の進行に伴ってPER2::LUC発光振動が徐々に出現し、出生前に明瞭な概日変動を示すことを見出した。また、生後発達期にPER2::LUC概日変動の頂位位相が成熟の過程を経て、離乳1週間後(生後4週齢)に成獣と同等の位相となることが明らかとなった。以上のことから、末梢組織の概日時計機構は分化の段階に伴って組織自律的に出現し、組織の機能成熟に伴って適切な位相をとる過程を経ることが明らかとなった。

## P2-36 「喫煙やうま味刺激が唾液プロテオームのフラクタル性に及ぼす影響」

古山 昭<sup>1</sup>、大須賀 謙二<sup>1</sup>、川合 宏仁<sup>1</sup>、山崎 信也<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔機能分子生物)

喫煙や味覚刺激が唾液中タンパク質の発現パターンに及ぼす影響を明らかにすることを目的として、非喫煙者および喫煙者の男性ボランティアを対象に、安静時およびうま味刺激後(2分後・22分後)の唾液を採取し、2次元電気泳動(2DE)を用いた網羅的解析を行った。実験は顎舌下腺唾液を用いた1回目と、総唾液を用いた2回目の、合計2回実施した。各実験ではそれぞれ7名分の唾液をプールして6種のサンプルを作成し、それぞれのサンプルに対して2DE解析を行った。タンパク質スポットは銀染色またはコロイドCBB染色により可視化し、PDQuestソフトウェアでスポット強度を定量化した。得られたデータに中央値センタリングを施し、非中心相関距離を距離指標としてaverage

linkage法により階層的クラスタリングを行った。両実験でタンパク質スポット群はともに、8つのクラスターに分類され、そのうち5つのクラスターでは、実験間で高い類似性が確認された。さらに、スポット強度と累積スポット数の両対数プロットを行い、ベキ関数または指数関数で近似して、唾液タンパク質の全体的な発現パターンを解析した。その結果、総唾液では、非喫煙者で、ベキ分布傾向がうま味刺激後特に顕著で、フラクタル性が認められたのに対し、喫煙者では指数分布傾向でフラクタル性が認められなかった。顎舌下腺唾液ではフラクタル性が不明瞭だったが、クラスター単位では、総唾液と類似したフラクタル性が認められた。

## P2-37 「老化が耳下腺の副交感性血流増加および唾液分泌に及ぼす影響と口腔乾燥症との関連性」

佐藤 寿哉<sup>1</sup>、島谷 真梨<sup>1</sup>、石井 久淑<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>北医療大 歯 生理)

【目的】我々は、口腔感覚入力により唾液分泌と共に唾液腺に副交感性血流増加が誘発され、この血流増加が唾液分泌と密接に関わることを報告してきた。高齢者はしばしば唾液分泌低下による口腔乾燥を伴うが、

その発症機序における唾液腺の副交感性血流調節の関与は明確にされていない。耳下腺は刺激唾液の分泌に重要であり、顎下腺と比較して老化による萎縮や脂肪変性が顕著である。そこで本研究は老化が耳下腺の副

交感性血流増加と唾液分泌に及ぼす影響を検討し、老化に伴う口腔乾燥の発症機序を解明することを目的とした。

【方法】10週齢（若齢）および40週齢（老齢）のWistar系雄性ラットをウレタン麻酔下に管理し、耳下腺を支配する副交感神経は舌咽神経を求心性に電気刺激し反射的に活性化させた。唾液分泌は綿球法により定量し、血流動態は2次元血流計を用いて記録した。

【結果】舌咽神経刺激は若齢・老齢ラットの耳下腺において刺激頻度依存性の唾液分泌および血流増加を誘

発したが、老齢群では唾液分泌および血流増加ともに若齢群と比較して約40%の低下が認められた。また、血流増加と唾液分泌には正の相関が認められた ( $r = 0.90$ ,  $p = 0.003$ )。これらの反応は自律神経節遮断薬の静脈内投与により顕著に抑制された。

【結論】耳下腺の副交感性血流増加および唾液分泌は老化により低下することが明らかとなり、唾液分泌の低下と副交感性血流増加の減弱との密接な関連性が示唆された。

## P2-38 「シェーグレン症候群モデルマウスの骨髄環境における B 細胞分化機構の解明」

牛尾 綾<sup>1</sup>、木下 祐理<sup>1,2</sup>、石井 麻未<sup>1,3</sup>、布川 裕規<sup>1</sup>、石丸 直澄<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 科学大・院医歯 口腔病理、<sup>2</sup> 科学大・院医歯 咬合矯正、<sup>3</sup> 科学大・院医歯 歯科麻酔)

シェーグレン症候群 (SS) は涙腺や唾液腺を標的とする自己免疫疾患であり、閉経期の女性に好発する。自己免疫疾患患者における血清中の自己抗体検査は重要な診断基準の一つであり、SSでも抗SS-A/Ro抗体や抗SS-B/La抗体検査はSSの診断に有用である。抗体産生細胞を含むB細胞は骨髄にて前駆細胞であるプロB細胞やプレB細胞へと分化し、末梢組織にて成熟B細胞として存在する。我々が使用しているSSモデルマウスにおいても、血清中の自己抗体値の上昇や標的臓器におけるCD19陽性B細胞の増加がみられるが、その前駆細胞産生場である骨髄環境についてはよくわかっていない。関節リウマチマウスの骨髄中では未熟B細胞を含むB細胞系統の細胞数が減少していることが報告さ

れており、T細胞が主体をなすと考えられている自己免疫疾患でも骨髄レベルで様々な変化が起きていると推察できる。本研究では、SSモデルマウスの骨髄環境について特にB細胞の分化に焦点を当てて解析することで、SSの病態解明を目指す。

これまでに、雌SSモデルマウスの骨髄では、CD45R陽性IgM陰性IgD陰性CD19陰性CD43陽性のpre-pro B細胞やCD45R陽性IgM陰性IgD陰性CD19陽性CD43陽性pro B細胞数が減少していることを確認した。現在、SSモデルマウスの骨髄にみられるこれらの変化における性差の有無について検討するとともに、骨髄環境と標的臓器に観察される病態及び血清自己抗体値との関連について検討中である。

## P2-39 「亜鉛欠乏性味覚障害の鑑別診断としての血清亜鉛値と唾液亜鉛値の比較」

藤山 理恵<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 長大 院医歯薬 総歯臨教)

亜鉛欠乏は味覚異常の主な原因の一つと考えられ、その診断は血清亜鉛値測定により行われることが通例である。一方、唾液分泌障害患者では、味覚障害を高率に合併することが知られており、味覚障害の診断治療において、唾液分泌能検査は、重要である。また、唾液中にも亜鉛が含まれていることは知られており、唾液中亜鉛濃度を亜鉛欠乏の診断に用いることが可能であれば、患者・医療者双方の負担軽減に有益と考えられる。しかし、唾液、血清亜鉛濃度の相関を検討した報告は乏しいのが現状である。

今回、長崎大学病院味覚外来の初診患者を対象とし

た。しかし、すでに亜鉛製剤服用中または亜鉛のサプリメントを摂取している患者は除外した。通常診療と同じように初診での問診、味覚検査（電気味覚計による検査およびソルセイブを用いた検査）、サクソテストを行ったのち、血清亜鉛値および血清銅値測定のための採血を行った。その後、唾液亜鉛値測定のための唾液採取を行った。すべての検査は午前中に行った。血清亜鉛値と唾液亜鉛値の関連性について解析した結果、両者には正の相関がみられた。亜鉛欠乏症の診断に侵襲性の少ない唾液を用いた診断の可能性が示唆された。

## P2-40 「スルファミン酸塩の種特異的甘味感受性の分子メカニズム」

寛松 敬介<sup>1,2,3</sup>、永里 侑貴<sup>1</sup>、川端 由子<sup>1</sup>、高井 信吾<sup>1</sup>、重村 憲徳<sup>1,3</sup>(<sup>1</sup> 九大 院歯 口腔機能解析、<sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ、<sup>3</sup> 九大 院歯 五感応用デバイス)

味覚Gタンパク質共役受容体であるTAS1R2/TAS1R3は、甘味受容体として機能する。ヒトは人工甘味料サッカリンNaやアセスルファミンKといったスルファミン酸塩に対してマウスよりも高い感受性を示すことが知られている。しかしながら、その種特異的感受性の種差を生じるメカニズムは不明である。そこで本研究では、甘味受容体を強制発現させたHEK293細胞におけるカルシウムイメージングと分子動力学シミュレーションを用いて、その分子メカニズムの解明を試みた。キメラ体解析の結果、TAS1R2のVenus flytrapドメイン (VFD) がスルファミン酸塩の種差に必須であることが明らかとなった。分子動力学シミュレーションにより、スル

ファミン酸塩はVFD内のポケットに結合し、ヒトではIle-67、マウスではLeu-70と直接相互作用することが示された。ヒトTAS1R2におけるマウス型変異 (I67L) はスルファミン酸塩に対する受容体活性および結合安定性を低下させ、逆にマウスTas1r2のヒト型変異 (L70I) はそれらを増加させた。構造-活性相関解析では、イソロイシンの炭素骨格が結合の安定性において重要な役割を果たしていた。これらの結果から、スルファミン酸塩の種特異的感受性はTAS1R2細胞外領域の一アミノ酸残基により決定づけられることが明らかになった。

## P2-41 「単体苦味溶液に味覚嫌悪を条件づけられたラットの苦味識別性と条件づけ消去の特徴」

高橋 慎平<sup>1</sup>、岩田 周介<sup>1</sup>、安尾 敏明<sup>1</sup>、諏訪部 武<sup>2</sup>、碓 哲崇<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 朝日大 歯 口腔生理、<sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔解剖)

【目的】我々は苦味混合溶液に味覚嫌悪を条件づけたラットが、甘味混合溶液に条件づけられたものに比べ、その含有物の識別性が低いこと、および、甘味に条件づけられたものより条件づけの消去時間が長いことを示してきた。本研究では、苦味単体溶液に条件づけられたラットでも苦味混合溶液に条件づけた時と同様の行動応答がみられるかを検討した。

【方法】7週齢の雄性Wistar / STラット (各味質に対してn=13) を用いた。条件刺激 (CS) として0.3mM 塩酸キニーネ (Q)、0.3mM 安息香酸デナトニウム (D) を用いた。苦味に事前暴露を行ったラットを実験群と対照群に分け、0.15M LiCl (対象群は生理食塩水) 腹腔内投与を無条件刺激とした味覚嫌悪を条件づけ、10

秒間のリック抑制率を10日間観察した。

【結果と考察】どのCSに条件づけられたラットも、実験4日目までCSを含めて使用した3つの試験溶液に般化し、苦味物質間での識別が困難であることが示唆された。5日目以降からDに条件づけられたラットの一部から条件づけの消去が見られ始め、実験10日目であってもQとDに条件づけしたラットの30%以上は条件づけを消去しなかった。

以上の結果とこれまでの報告との比較から、条件刺激が混合物か単体かに関わらず苦味溶液の識別能力は、甘味溶液に比べて低く、条件づけの消去にかかる時間が長いことがわかった。

## P2-42 「扁桃体内側核の苦味経路ニューロンにおける口腔内サッカリン刺激への興奮性応答の味覚新規性および味覚嫌悪学習による変化」

杉田 誠<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 広大 院医系科学 口腔生理)

扁桃体内側核のニューロン活性は味覚新規性恐怖に関連することが報告されている。一方で、生得的に嗜好性を示すサッカリン溶液を新規に摂取した後に、内臓不快感を誘発する塩化リチウムを腹腔内投与された際には、味覚嫌悪学習を獲得し、学習後にはサッ

カリウム溶液に嫌悪性反応を呈する。本研究では苦味受容体細胞にトレーサー (WGA-DsRed) を発現するトランスジェニックマウスを用い、味細胞から移行したWGA-DsRedにより標識される扁桃体内側核の苦味経路ニューロンについて、口腔内サッカリン溶液刺激によ

り誘発される興奮性応答を最初期遺伝子Zif268発現により検出し、サッカリン溶液への応答性がサッカリン味覚の新規性や学習に依存するかを探究した。扁桃体内側核でWGA-DsRedにより標識される苦味経路ニューロンの中では、サッカリン初回刺激で興奮性応答を示すニューロンの割合に比べ、サッカリンによる前刺激を3日行った後のサッカリン刺激で興奮性応答を示すニューロンの割合は低値を示した。対照的に、サッカ

リン初回刺激の場合に比較し、味覚嫌悪学習獲得後に苦味経路ニューロンの中でサッカリン刺激により興奮性応答を示すニューロンの割合は高値を示した。扁桃体内側核でWGA-DsRedにより標識される苦味経路ニューロンはサッカリン溶液の味覚への新規性恐怖や味覚嫌悪学習の獲得に応じ、サッカリン刺激への興奮性応答を変化させることが示唆された。

## P2-43 「カプサイシン添加による糖輸送体を介したマウス味溶液摂取行動への影響」

岩田 周介<sup>1</sup>、安尾 敏明<sup>1</sup>、高橋 慎平<sup>1</sup>、諏訪部 武<sup>1,2</sup>、安松 啓子<sup>3</sup>、碓 哲崇<sup>1</sup>、二ノ宮 裕三<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔生理、<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔解剖、<sup>3</sup>東京歯科大学短期大学、歯科衛生学科、<sup>4</sup>モネル化学感覚研)

香辛料は食のおいしさを際立たせる独特のフレーバーを醸成し、食味構築に重要な役割を果たすが、その味覚効果の実体は未だ不明である。唐辛子辛味成分カプサイシン (CAP) は三叉神経末端に存在する痛み受容陽イオン非選択的イオンチャネルTRPV1を刺激することは明らかになっているが、味覚への影響に関しては、相反する結果も含め多種多様の報告がなされている。しかし、これらの報告の多くは、TRPV1の感受性低下 (脱感作) を生じる30 $\mu$ M以上のCAPを用いており、味覚測定の再現性の問題も強く示唆される。我々は、脱感作を生じる可能性の低い3 $\mu$ M CAPの添加により、野生型 (C57BL6J/B6) マウスの鼓索神経応答で、

糖特異的な甘味応答およびNaClに対する応答が増強することを見出した。この増強効果は、甘味受容体構成分子T1R3遺伝子欠損マウス、新規甘味受容経路である糖輸送体SGLT1阻害薬フロリジン処理により消失した。併せて考えると、CAPによる甘味応答の増強は、SGLT1を介していることが予想されたが、この増強効果が、マウスの味溶液に対する摂取行動に影響を及ぼすかは調べられていなかった。本報告では、10秒間短時間リック試験を用い、3 $\mu$ M CAPの添加が、B6マウスにおける各種味溶液に対する摂取行動に変化を生じるか、さらにフロリジン処理がどのような影響を与えるか検証した。

## P2-44 「増粘剤添加コーヒーがラットの鼓索神経応答および嗜好性に与える影響」

酒井 純<sup>1</sup>、前田 知馨代<sup>3</sup>、大塩 茉奈<sup>1</sup>、高橋 慎平<sup>2</sup>、岩田 周介<sup>2</sup>、安尾 敏明<sup>2</sup>、諏訪部 武<sup>4</sup>、岩瀬 陽子<sup>3</sup>、谷口 裕重<sup>1</sup>、碓 哲崇<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>朝日大 歯 摂食嚥下リハビリ、<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生理、<sup>3</sup>朝日大 歯 障害者、<sup>4</sup>朝日大 歯 口腔解剖)

【緒言】市販の増粘剤添加コーヒーが、増粘剤無添加の場合と比べて、どのような味覚特性を持っているのかをラットの鼓索神経応答および行動応答をもとに検討した。

【方法】実験1:市販のインスタントまたはドリップコーヒーを味刺激とし、Wistar/STラット (雄8週齢、n=6) の舌に滴下した時の鼓索神経応答を電気生理学的手法で検討した。解析は、増粘剤添加溶液に対する実際の神経応答と、非添加溶液および増粘剤単独溶液に対する応答の算術和とを比較することで行なった。実験2: Wistar/STラット (雄8週齢、n=12) を用いて48時間の二瓶選択試験を行った。呈示溶液は、インスタントコーヒーと蒸留水にそれぞれ、増粘剤を添加したものとし

なかったものとし、それぞれの組合せでの嗜好率を検討した。

【結果】実験1:増粘剤添加インスタントコーヒーは、非添加および増粘剤単独溶液の算術和よりも有意に強い神経応答を示した (t-test:  $p < 0.05$ )。

実験2:増粘剤添加インスタントコーヒーは、増粘剤単独溶液よりも有意に多く摂取された (t-test:  $p < 0.01$ )。

【結論】以上の結果から、本実験で使用したインスタントコーヒーへの増粘剤添加は、鼓索神経応答および嗜好性の両方を増強させる可能性が示唆され、増粘剤が味覚応答および嗜好性を変化させている可能性が示唆された。

## P2-45 「うま味嗜好獲得メカニズムの解明に向けた行動実験パラダイムの確立」

乾 賢<sup>1</sup>、長谷川 桃子<sup>2</sup>、石丸 佑太<sup>3</sup>、吉澤 知彦<sup>1</sup>、船橋 誠<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>北大 院歯 口腔生理、<sup>2</sup>北大 院歯 矯正、<sup>3</sup>北大 院歯 小児障害者)

うま味に対する嗜好はうま味溶液の摂取経験で高められることがマウスを用いた研究によって示唆されているが、そのメカニズムは明らかではない。そこで本研究では、うま味物質の一つであるグルタミン酸ナトリウム (monosodium glutamate, MSG) に対する嗜好をマウスに獲得させる実験パラダイムの確立を目指した。被験体として雄性C57BL/6マウス(n = 6)を用いた。17時間の給水制限後に0.01 mM MSGを15 分間呈示する試行を5回繰り返したが摂取量に変化はみられなかった。次に100 mMあるいは300 mM MSGを2時間呈示する試行を3回繰り返したところ、摂取量が有意に増加した (one-way ANOVA,  $p < 0.01$ )。この摂取量増加のメカニズムを調べるために、新たな個体 (n = 6) に対

して、リック微細構造分析法による嗜好性評価を行った。蒸留水の2時間呈示を1日おきに3回行った後に、300 mM MSGを4回呈示した。MSGにおいてのみ、試行の経過とともにバーストサイズ (高頻度リックの持続数) の有意な増大がみられた (one-way ANOVA,  $p < 0.01$ )。バーストサイズの増加は嗜好性上昇の指標となることから、本実験の結果はMSGの嗜好が上昇したことを示している。以上の結果から、1日2時間のMSG呈示を繰り返す方法は、うま味嗜好獲得メカニズムを解析するための行動実験パラダイムに有用であることが分かった。他のうま味物質についても同様の実験を行う予定である。

## P2-46 「神経障害性疼痛における脊髄後角ニューロンへのシナプス入力再編機構」

寺山 隆司<sup>1</sup>、内部 健太<sup>1</sup>、河野 尚平<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 広大 院医系科学 顎顔面解剖)

末梢神経損傷後に脊髄後角でグリア細胞の活性化が起こり、このような変化が神経障害性疼痛の発症に関与していると考えられている。本研究では神経損傷後の脊髄後角ミクログリアが脊髄後角ニューロンへのシナプス入力再編機構および神経障害性疼痛の発症にどのように関与するかについて検討した。末梢神経損傷モデルとしてラットの脛骨神経の結紮・切断を用いた。神経損傷後3日および7日で、脛骨神経投射領域における侵害熱刺激によるc-Fos誘発細胞が対照群と比較して減少し、神経損傷後14日ではc-Fos誘発の有意な回復が認められた。ミクログリアの活性抑制剤であるミノサイクリン(30 mg/kg/day)を神経損傷当日から

8日間連続で腹腔内投与したところ、脊髄後角でのミクログリアの細胞マーカーであるOX-42蛍光免疫陽性像の神経損傷による増強が抑制された。また同様のミノサイクリン投与により脊髄後角二次ニューロンに対する侵害受容一次ニューロンからの過剰な収斂投射が抑制された。しかしながら神経損傷後7日目から8日間連続でミノサイクリンを投与した場合、ミクログリアの活性化および収斂投射の抑制効果は見られなかった。これらの結果は末梢神経損傷後のミクログリアの活性化が脊髄後角ニューロンに対する異常な侵害受容入力と神経障害性疼痛の発症において重要な役割を果たしていることを示している。

## P2-47 「口内炎疼痛に対する精油成分リナロールの鎮痛効果」

飯田 理人<sup>1</sup>、人見 涼露<sup>2</sup>、岩田 幸一<sup>2</sup>、溝口 尚子<sup>1</sup>、政井 桜子<sup>1</sup>、守永 琢磨<sup>1</sup>、篠田 雅路<sup>2</sup>、村本 和世<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 明海大 歯 形態機能成育 生理、<sup>2</sup> 日大 歯 生理)

近年リナロールによる鎮痛作用が報告されているが、口腔顔面領域の疼痛に対する機序の解明は不十分である。本研究は口内炎疼痛に対するリナロール香気の鎮痛効果の発症機構の一端を解明することを目的とした。50%酢酸を浸したろ紙を雌雄ラット下顎口腔前庭部に30秒間貼付し、口内炎を作製した。アクリル製

ボックス内で1%リナロールを5分間曝露させた。曝露30分後に自発痛の指標となる自発ラビング時間を測定した。嗅球または青斑核にそれぞれ2%リドカインまたはオレキシン受容体拮抗薬を投与した後の自発ラビング時間を計測した。三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) ニューロンおよび青斑核ニューロンにおけるc-Fos発

現を免疫組織化学的に解析した。口内炎惹起後に延長した自発ラビング時間はリナロールの曝露により抑制された。この抑制は嗅球へのリドカイン投与により阻害された。また、Vcにおけるc-Fos陽性ニューロン数は口内炎惹起により増加したが、リナロール曝露によってその数は減少した。一方で、青斑核におけるc-Fos陽性ニューロン数はリナロール曝露によって増

加し、リナロールによる自発ラビング時間の延長の抑制はオレキシン受容体拮抗薬投与により阻害された。以上より、リナロール香気は嗅球-青斑核のオレキシンニューロンを介してVc侵害受容ニューロンの興奮性増強を抑制し、口内炎疼痛に対して鎮痛効果を発揮する可能性が示された。

## P2-48 「正常咬合支持の回復によるアルツハイマー型認知症発症の危険因子発現の抑制効果」

前芝 宗尚<sup>1,2</sup>、鍛冶屋 浩<sup>2,3</sup>、関 貴良史<sup>1,2</sup>、後藤 加寿子<sup>4</sup>、河野 祐里<sup>2</sup>、藤田 亜美<sup>3</sup>、都築 尊<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 福歯大 有床義歯、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ、<sup>3</sup> 福歯大 細胞生理、<sup>4</sup> 福歯大 歯科衛生)

【目的】近年、歯周疾患が認知能の低下を増悪させるとの報告がある。我々は、咬合不調和における過剰咬合も認知能の低下が誘導されることを報告してきた。また、歯の喪失は認知能の低下と共に、社会性や口腔健康QOLなどの口腔機能障害との関連も報告されている。正常な咬合支持の回復が認知能低下の危険因子を低減することは知られているものの、そのメカニズムについては未だ明らかではない。本実験は、アルツハイマー型認知病(AD)モデルマウスを用い、歯の喪失、正常咬合支持の回復と認知能力維持との相関を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】実験は、ADモデルマウス(C57BL/6-App(tm3(NL-G-F))); AppKI(3)) およびそのコントロールマウス (C57BL/6-App(tm1(NL)); AppKI(1)) を用い

た。これらのモデルマウスを、コントロール群、上顎3臼歯抜歯1ヶ月後群、抜歯1ヶ月後正常咬合支持回復群の3群に分けた。マウス脳標本を用いてAD誘発関連分子の発現を評価し、また認知能を行動試験にて評価した。

【結果と考察】AppKI(1)とAppKI(3)マウスでは、抜歯後2と4ヶ月で認知能力が低下した。しかしAPPKI(3)マウスでは、正常な咬合支持を回復させることで、抜歯によるAD誘発関連分子の発現増加が抑制された。これらの結果は、抜歯により誘導された神経変性が海馬におけるAD誘発関連分子の発現を増加させ、正常咬合支持の回復によりこれら危険因子を抑制することが示唆される。

## P2-49 「舌運動方向と線条体マトリックス神経活動の関係」

吉澤 知彦<sup>1</sup>、木本 大視<sup>1,2</sup>、石丸 佑太<sup>1,2</sup>、乾 賢<sup>1</sup>、船橋 誠<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 北大 院歯 口腔生理、<sup>2</sup> 北大 院歯 小児障害者)

大脳基底核の線条体はマトリックスとストリオソームの2種類の区画から構成される。我々は最近、マトリックスの神経活動が舌の側方突出運動に先行して亢進することを発見したが、この活動亢進が側方運動時特有の現象であるか不明であった。そこで本研究では、舌運動と連関するマトリックス神経活動には方向特異性があるという仮説を証明することを目的とした。マトリックス神経細胞特異的に遺伝子組換え酵素Creが発現する遺伝子改変マウスCalb1-IRES-Cre (n = 5) に対して、線条体背内側部にAAV5. CAG. Flex. GCaMP6fを微量注入後、同部に刺入した光ファイバーと頭部拘束具を頭蓋骨に固定した。3週間後、行動実験装置にマウスの頭部を固定し、正面のLED点灯中にマウスが

口元の水スパウトへ舌を突出するとスクロース水を与えるオペラント条件づけを行った。スパウトがマウス顔面の正中にある場合(正中条件)と、側方にある場合(側方条件)において、マトリックス神経活動由来のGCaMP6f蛍光を計測した。正中条件では、マウスは前方に舌を突出してスパウトからスクロース水を摂取し、側方条件では、側方のスパウトに向けて舌を突出して水を摂取した。舌突出運動に先行するマトリックス神経活動の亢進は正中条件では観察されず、側方条件でのみ観察された。これらの結果は、マトリックス神経活動の舌側方運動に対する方向特異性を示唆している。

## P2-50 「マウス咬筋活動に対する延髄腹内側に存在するグリシンニューロンの影響」

松井 美南<sup>1,2</sup>、望月 文子<sup>1</sup>、中山 希世美<sup>1</sup>、壇辻 昌典<sup>1</sup>、笹 清人<sup>1</sup>、中村 史朗<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 昭医大 歯 口腔生理、<sup>2</sup> 昭医大 歯 口外 顎顔面口外 )

【目的】延髄腹内側(VMM)には抑制性神経伝達物質を放出するグリシン作動性ニューロン (Gly) が存在し、脊髄の運動ニューロンへ軸索を投射して筋活動の調節に関与する。一方、VMMのGly (VMM-Gly) は三叉神経運動核にも投射しているが、その影響は不明である。そこで本研究では咬筋活動に対するVMM-Glyの影響を検討した。

【方法】VMM-Glyを抑制するため、破傷風毒素 (TeNTLC) をCre依存的に発現するAAV (TeNTLC群)をGlyT2-CreマウスのVMMに投与し、対称群にはコントロールAAVを投与した。投与後、生体電気信号(脳波、眼電図、頸筋および咬筋筋電図)の記録用電極を留置した。回復・馴化期を経て生体電気信号を24時間記録した。記録は、

覚醒 (W)、ノンレム睡眠 (NREM)、レム睡眠 (REM) に分類し、6時間毎に分けて解析した。頸筋および咬筋の筋活動は4秒エポック毎の積分値で求め、Wの筋活動量の平均値を100%として正規化し評価した。

【結果・考察】対称群と比較して、TeNTLC群の各ステージの時間はWは増加し、NREMおよびREMは減少した。TeNTLC群の頸筋の平均筋活動量は、暗期のNREMおよびすべての時間帯のREMで有意に増加し、咬筋の平均筋活動量は、すべての時間帯のNREMおよび明期のREMで有意に増加した。以上の結果から、VMM-Glyは頸筋と咬筋の筋活動に対して異なる影響を及ぼす可能性が示唆された。

## P2-51 「ロテノンによる急性腸管平滑筋収縮抑制と神経細胞毒性の相関の検討」

川口 高德<sup>1</sup>、早川 和宏<sup>1</sup>、松下 歩夢<sup>1</sup>、佐藤 元<sup>1</sup>、安達 一典<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 明海大 歯 薬理 )

【目的】パーキンソン病 (PD) 患者は、運動症状の前駆症状として早期から消化管障害を呈する。そのためPDにおける消化管障害の解析は、早期診断への応用が期待される。農薬ロテノンはPDモデル作成に有用であるが、ロテノンによる消化管障害における知見は乏しい。本研究では、マウス腸管における急性の収縮抑制効果を検討し、さらにPC12細胞を用いた神経細胞毒性および細胞内ATP濃度への影響を評価した。

【方法】マグヌス法を用いて、12-16週齢の雄C57BL/6Jマウスにおけるアセチルコリン誘導性の腸管 (十二指腸中間部から回腸部) 収縮に対し、ロテノン ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M) の収縮抑制効果を評価した。また、PC12細胞において、WST-8を用いた神経細胞生存率および化学発光を利用

した細胞内ATP濃度測定を行った。

【結果】アセチルコリン誘発性腸管収縮に対し、ロテノン前処理は用量依存的な収縮抑制効果を示した ( $IC_{50}$ :  $3.1 \times 10^{-6}$  M)。PC12細胞における細胞生存率について、ロテノン1時間処理では $10^{-4}$  Mで86.5%であったが、24時間では用量依存的な細胞死が見られ、そのLD50は $3.0 \times 10^{-5}$  Mであった。細胞内ATP濃度に関して、ロテノン1時間処理では $10^{-4}$  Mで対照群の74%の濃度を維持していたが、24時間では用量依存的に減少し、 $1.0 \times 10^{-6}$  Mで50%減少した。

【考察】ロテノンは神経細胞での用量依存的な細胞内ATP濃度の低下と神経毒性を誘発し、消化管障害において重要な役割を果たす可能性が示唆される。

## P2-52 「ティラピア咽頭顎骨内の破骨細胞と神経の局在について」

井村 幸介<sup>1</sup>、船越 健悟<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 横浜市大 医 神経解剖 )

演者らは、ティラピア咽頭顎骨内において、末梢神経の免疫染色 (acetylated tubulin) と、破骨細胞 (OC) を酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ染色で二重染色した結果、神経終末とOCが近接することを報告した (Imura *et al.*, 2024)。この他に、神経線維に近接する複数のOCも観察された。この結果は魚類の末梢神経系

が、骨リモデリングに重要な役割を担う可能性があることを示す。骨内の神経終末とOCの近接は哺乳類では知られており、骨リモデリングに関与することが報告されている (Hara-Irie *et al.*, 1996)。咽頭顎骨に分布する神経線維束は、髄腔内を走行した後に分枝を形成して咽頭歯に分布する。しかしながら、その過程で

神経線維束とOCの分布がどのように構築されているのか、その局所対応性の詳細は明らかでない。今回、演者らは連続切片を作成して神経束が咽頭歯に至るまでに、OCとどのような分布パターンを示すのかを二重染色によって観察した。リモデリングが行われていると思われる歯足骨領域に、OCが多数局在しており神経終末と神経線維に近接していることが観察された。また

同神経線維束を髓腔方向へ追跡すると神経線維の間にOCが分布している場合も観察された。従って髓腔から咽頭歯に向かう神経線維束の走行に沿ってOCが局在することがみとめられた。これは、神経系が咀嚼時の感覚を担い、リモデリングにも何らかの影響を与える可能性を示しているのかもしれない。

## P2-53 「代償性に分布する正中動脈の多様性」

Sayako Suzuki<sup>1</sup>、森田 真一<sup>1</sup>、松永 智<sup>1</sup>、石束 叡<sup>1</sup>、廣内 英智<sup>1</sup>、田中 智人<sup>1</sup>、楊 天意<sup>1</sup>、宮本 依利<sup>1</sup>、関谷 凌<sup>1</sup>、阿部 伸一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東歯大 解剖)

【目的】正中動脈(MA)は妊娠初期に発生し、橈骨動脈と尺骨動脈が発生するにつれて消失すると報告されている。一方で成人におけるMA残存は近年増加傾向にあるとされるが、報告が少なく不明な点が多い。本研究では日本人成人におけるMAの遺残、型別および吻合先を調査した。

【方法】試料として、東京歯科大学解剖学講座所蔵の実習用遺体24体48側を用いた。浅掌動脈弓と深掌動脈弓、及びMAを前腕遠位にて剖出し、次いで肘窩にてMAの起始を剖出した。肘窩にて尺骨動脈由来の枝として起始し、その後正中神経に伴走する動脈をMAとした。MAの型は手根管を通過し手掌の栄養に関与していたものを手掌型、手根管を通過し母指球筋上で浅掌枝に吻

合していたものを母指球枝、手根管を通過しないものを前腕型として記録した。

【結果】MAの残存は79.1%、手掌型14.5%、浅掌動脈弓に吻合する例が4側、橈骨動脈に吻合する例が3側、前腕型52.0%、母指球型12.5%であった。橈骨動脈と遠位で吻合する割合は56.2%、浅掌動脈弓に吻合する割合は8.0%だった。

【考察】浅掌動脈弓の主構成要素は、十分な太さを有する尺骨動脈であった。一方で、橈骨動脈は浅掌動脈弓の橈側において十分な太さが確保できず、梗塞や外傷などに対して脆弱であった。MAは、手掌部またはその近位において尺骨動脈と橈骨動脈が形成するアーチを補強する役割を担う可能性が示唆された。

## P2-54 「マウス胎仔の二次口蓋上皮における硬さの部位特異的な違い」

長坂 新<sup>1</sup>、坂東 康彦<sup>1</sup>、藤井 みゆき<sup>1</sup>、小野澤 豪<sup>1,2</sup>、鈴木 海登<sup>1,2</sup>、天野 修<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>明海大 歯 組織、<sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科)

哺乳類の二次口蓋は口蓋突起の伸長、挙上、癒合といった複雑な形成過程を経て完成する。口蓋突起の挙上は鉛直方向に伸びる口蓋突起が水平方向へと持ち上がる現象であり、マウス胎仔の口蓋挙上は胎生13.5日目から14日目にかけて生じる。挙上の原動力に物理的・力学的な要因が関与することが示唆されている。本研究では、口蓋挙上時の組織の物理的特性を定量的に解析することを目的とした。挙上前後における違いを捉えるため、胎生13.5日目と14日目のマウス胎仔の口蓋突起上皮に着目した。計測部位はanterior部(臼歯歯胚より前方,A部)、posterior部(臼歯歯胚より後方,P部)の2部位、さらにそれぞれの舌側と頬側とした。原

子間力顕微鏡を用いて弾性率(硬さ)計測を行い、さらに上皮細胞の数と厚さを調べた。弾性率は、挙上前のA部では舌側・頬側で差がなく、P部では頬側の方がより値が大きかった。挙上後はA部、P部ともに舌側と頬側に差はなかったが、挙上前に比べて値が大きかった。この原因を明らかにするため、増殖細胞とアポトーシス細胞の数を計測したところ、各部位で有意な差はなかった。さらに上皮細胞の厚さを計測したところ、挙上前のP部では頬側の方が厚く、A・P部ともに挙上前よりも挙上後の方が厚かった。以上から、口蓋突起の上皮の硬さは上皮を構成する細胞数の影響は小さく、個々の細胞の厚さが影響することが示唆された。

P2-55 「アレンドロネートは環状グアノシンーリン酸-アデノシンーリン酸シターゼ (cGAS) の発現増強を介してリピドAが誘導するインターフェロン $\beta$ の放出を増加する」

玉井 利代子<sup>1</sup>、清浦 有祐<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

窒素含有ビスフォスフォネートの1種であるアレンドロネート(ALN)は、Toll様受容体(TLR)2リガンドまたはTLR4リガンドが誘導するマウスマクロファージ様細胞の炎症性サイトカイン産生を増加する。本研究では、ALNが抗ウイルス活性を有するインターフェロン(IFN)- $\beta$ の産生を増加するか調べた。その結果、ALNによる前処理は、J774.1細胞のリピドAが誘導するIFN- $\beta$ 産生と核内のインターフェロン調節因子(IRF)-5の発現を有意に増加した。さらに、ALN処理によって、同細胞の環状グアノシンーリン酸-アデノシンーリン酸合成酵素(cGAS)、レチノイン酸誘導遺伝子-I(RIG-I)、

およびドッキングタンパク質3(DOK3)の発現が増強した。cGAS抑制剤RU.521でJ774.1細胞を前処理すると、ALNが増加したIFN- $\beta$ の産生、IRF-5の発現増強、およびcaspase-11の発現が抑制された。また、RIG-IアンタゴニストであるRIG012はJ774.1細胞の、ALNが増加したリピドA誘導IFN- $\beta$ 産生を抑制した。さらに、ALNとリピドAは、同細胞のNur77発現を増強した。以上の結果は、ALNで前処理するとcGAS発現の増強を介して、J774.1細胞のリピドAが誘導するIFN- $\beta$ 産生が増加することを示唆する。

日時：9月7日（日）9:00～16:00

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## 一般演題（ポスター）（P3-01～63）

### P3-01 「歯科診療用ユニット水の細菌汚染状況に関する検討」

菅井 克仁<sup>1</sup>、松尾 福太郎<sup>1</sup>、松尾 美樹<sup>2</sup>、小松澤 均<sup>2</sup>、谷本 幸太郎<sup>1</sup>（<sup>1</sup> 広大院医系科学 矯正、<sup>2</sup> 広大院医系科学 細菌）

歯科診療時に歯の切削や洗浄、含嗽に用いられる水は、夜間・休日の未使用状態では給水管路内に水が停滞、残留塩素濃度低下により混入した細菌の増殖が進み、易感染性患者に対しては日和見感染症を発症する可能性がある。そのため、院内感染対策において歯科診療用ユニット水中の細菌汚染状況を把握し、水質の安全性を確保することは病院全体の安全管理に対し重要な課題である。本研究は、広島大学病院の歯科診療科に設置されているユニット水の細菌汚染の状況の把握を目的とした。方法としてユニット水の細菌検査を行い、ユニットの年式、フラッシング及び除菌機能による細菌数の比較検討した。ユニット水の採取は、診

療のない日曜日にコップ給水及びフラッシング前後でスリーウェイシリンジから採取した。細菌数の測定は採取した各ユニット水を100μLずつPGY寒天培地に塗布し、5% CO<sub>2</sub>を含有した37℃インキュベーターにて3日間培養し、コロニー数を測定した。結果、検出される細菌数はユニットにより様々であり、スリーウェイシリンジの水の方がコップ給水より細菌数は多い傾向が認められた。また、年式が新しいユニット、フラッシングすることでコロニー数の減少が認められた。今後はユニット水のみでなく診療室の床やチェア等の汚染状況の検討していくことで、医療現場における微生物動態を明らかにしたい。

### P3-02 「解剖実習体由来微生物叢の探索と同定」

永井 春菜<sup>1,2</sup>、眞島 いづみ<sup>3</sup>、梅村 春之介<sup>4</sup>、芹川 雅光<sup>5</sup>、宇佐美 晶信<sup>5</sup>（<sup>1</sup> 奥羽大 院歯 口腔機能解剖、<sup>2</sup> 奥羽大 歯 歯科保存、<sup>3</sup> 奥羽大 歯 口腔病態解析制御、<sup>4</sup> 奥羽大附属病院 臨床研修、<sup>5</sup> 奥羽大 歯 生体構造）

【目的】「解剖実習体に発生するカビ」は学生の学習効率や意欲の低下を招く、感染源となって健康を害する可能性の高い、早急に解決すべき課題である。本研究では「実習体に発生するカビ」を制御し、新しい実習体の保存・管理方法を提案するため、真菌及び細菌を標的とした献体由来微生物叢の探索と同定を行った。

【方法】本学で実習体に発生したカビをe-スワブで擦過採取した。採取したサンプルを懸濁、分散、段階希釈後、寒天培地に播種し、25℃、10日間、好気及び嫌気下で培養した。得られたコロニーを形状、色、各種染色で判別後、純培養し、genomic DNAを抽出した。真菌はITS遺伝子、細菌は16S rRNA遺伝子を標的とし

てPCR、シーケンス解析後、得られた配列をBLAST検索し、菌種の同定を行った。

【結果】採取した複数のサンプルからは糸状菌、好気性菌、嫌気性菌がそれぞれ全て分離された。また、*Cladosporium halotolerans*、*Bacillus velezensis*、*Cutibacterium acnes*等が優勢的に分離、同定された。

【考察】「実習体に発生するカビ」は糸状菌だけでなく、細菌との共生によって微生物叢を構成していることが明らかになった。また*Cladosporium*属は「黒カビ」として知られており、実習体に発生した場合の視認性を妨害する代表的な真菌だと考えられる。

### P3-03 「難治性歯周炎患者から分離された *Alloprevotella tannerae* 株の性状解析 (第2報) —揮発性代謝産物、プロテアーゼ活性および電子顕微鏡観察—

藤田 真理<sup>1</sup>、永野 恵司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北医療大 歯 微生物)

昨年度の本学会において、難治性歯周炎患者から分離された4株の*Alloprevotella tannerae*臨床分離株について、コロニー性状、グラム染色像、ゲノム解析に加え、代謝活性およびバイオフィーム形成能の解析を行い、*A. tannerae*標準株、近縁種の*Prevotella intermedia*、*P. melaninogenica*、*P. nigrescens*との比較検討を行った結果を報告した。本研究では、新たに揮発性代謝産物、プロテアーゼ活性、透過型電子顕微鏡による菌体表面構造を解析した。血液寒天培地での培養後、ヘッドスペースGC-MS分析により、全菌株からイソ酪酸を検出した。また、2-メチル酪酸は*P. melaninogenica*ならび

に*A. tannerae* (臨床分離株含む) から検出された。アゾカゼインを基質としたプロテアーゼ活性測定では、*Alloprevotella*属の有意な活性が認められた。アルギニン残基認識型トリプシン様酵素活性が低かったことから、本菌種の産生するプロテアーゼが、異なる基質特異性を有する可能性が示唆される。透過型電子顕微鏡観察では、*A. tannerae*標準株に線毛様構造が確認された一方、臨床分離株では観察されなかった。プラスチックプレート上での単独菌種バイオフィーム形成能評価では、標準株も形成能は低く、線毛のバイオフィーム形成への寄与については更なる検討が必要である。

### P3-04 「岩木健康増進プロジェクト・プロジェクト健診 (IHPP) における口臭関連因子についての研究」

吉田 圭佑<sup>1</sup>、藤井 秀駿<sup>1</sup>、小林 恒<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>小林製薬 (株) 中央研究所、<sup>2</sup>弘前大 院医 歯科口腔外科)

【目的】口腔内には多種多様な細菌が存在し、口臭の主な原因となる揮発性硫黄化合物 (VSCs) を産生することが知られている。しかし、口臭の発生には多様な要因が複合的に影響するため、口臭に寄与する細菌について未だ不明な点が多い。

そこで本研究では弘前大学COIにおけるIHPPデータ (20~90才男女、n=702) を用いて口腔内細菌とVSCsの関連について検証した。

【方法】実験1: 口腔内細菌は舌中央奥の部位から舌苔を滅菌綿棒で採取した。細菌検査はアンプリコンシーケンス解析で口腔内細菌を網羅的に検出した。実験2: 口腔内ガスを採取し、オーラルクロマCHM-2 (NISSHA エフアイエス) を用いてVSCsである硫化水素とメチル

メルカプタンの濃度測定を行った。実験3: 16S rRNA シーケンス結果を説明変数として用い、VSCsについてロジスティック回帰分析を実施した。VSCsの値は、オーラルクロマCHM-2で設定されている認知閾値 (硫化水素: 112 ppb、メチルメルカプタン: 26 ppb) を基準として閾値未満か否かで二値にカテゴリ分けした値を用いた。

【結果と考察】ロジスティック回帰分析により、口臭原因菌として報告されている*Fusobacterium*属及び*Veillonella*属に加えて、口臭との関連性が未確認の細菌のVSCsとの関連性が確認された。

以上の結果から、VSCs発生には特定の細菌が寄与する可能性が示唆された。

### P3-05 「高齢者における機械的舌清掃が舌細菌叢に与える影響とその特徴の探索」

板津 李奈<sup>1,2</sup>、朝川 美加李<sup>1</sup>、馬 佳楽<sup>1</sup>、名本 瑛理<sup>3</sup>、影山 伸哉<sup>1</sup>、高橋 一郎<sup>2</sup>、竹下 徹<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔予防、<sup>2</sup>九大 院歯 矯正、<sup>3</sup>九大 歯学部)

舌清掃は舌表面の舌苔を物理的に除去することから舌細菌量の減少に効果的である一方で、その細菌構成に与える影響は不明である。本研究は高齢者における機械的舌清掃が舌細菌叢に与える影響とその特徴について検討した。対象は熊本県阿蘇郡小国町と阿蘇市の

通所介護事業施設で通所リハビリテーションを受けた高齢者154名とした。舌苔は舌清掃2週間前、清掃前後、清掃2週間後の4時点で採取した。採取した検体よりDNAを抽出し、定量PCR法にて舌背部単位面積あたりの総細菌量を算出した。また細菌共通配列のプライマー

を用いて16S rRNA遺伝子 (V1-V2) を網羅的に増幅後、次世代シーケンサー Ion GeneStudio S5を用いて増幅断片の塩基配列を解読し、検体の細菌構成を明らかにした。舌清掃前と比較し、清掃後には舌総細菌量の有意な減少が認められたが、清掃2週間後には再び増加する傾向が認められた。主成分分析の結果、舌清掃前後で細菌構成が有意に異なっており、*Streptococcus salivarius*といった細菌種の構成比率の有意な低下が

認められたが、総細菌量と同様に清掃2週間後には再び増加する傾向が認められた。以上より高齢者における機械的舌清掃は舌表面の総細菌量を減らし、その細菌構成も変化させる可能性が示された。一方で、舌清掃が舌細菌叢に与える影響は一時的であることが示唆され、継続して舌清掃を行う必要がある可能性が示された。【会員外共同研究者：古田美智子、我那覇生純】

### P3-06 「新規長鎖レンサ球菌による齲蝕原性バイオフィルム形成の抑制効果」

齋藤 真規<sup>1</sup>、桑原 紀子<sup>2</sup>、瀧澤 智美<sup>1</sup>、泉福 英信<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大 松戸歯 感染免疫、<sup>2</sup>日大 生化)

我々は先行研究において、健常者口腔内より分離された、非常に長い連鎖配列を示す*Streptococcus*の属の新菌種 (SN-1株) について、その形態的・生化学的性状、全ゲノム配列解析および系統学的解析を通じて報告している。

本研究では、SN-1株の性状の一つとして、齲蝕原性細菌である*Streptococcus mutans*のバイオフィルム形成に与える影響を評価した。

供試菌株 (SN-1株および*S. mutans* ATCC 10449<sup>1</sup>) は、それぞれ単独および混合で、スクロース非含有または0.25%スクロース含有TSY培地にて培養した。バイオフィルム形成能はサフラニン染色後に492 nmの吸光度で定量し、構造はLIVE/DEAD染色後に共焦点レーザー

走査型顕微鏡 (CLSM) で観察した。

スクロース非含有培地では両菌株ともバイオフィルムを形成しなかったが、スクロース含有培地では*S. mutans*はバイオフィルムを形成し、SN-1株は形成しなかった。SN-1株と*S. mutans*の混合培養では*S. mutans*単独時に比べてバイオフィルム形成が有意に抑制され ( $p < 0.01$ )、CLSM観察では死菌の増加と厚さの減少が確認された。

以上より、SN-1株は*S. mutans*によるスクロース依存的バイオフィルム形成を有意に抑制する能力を有し、齲蝕関連バイオフィルム制御因子としての可能性が示唆された。

### P3-07 「16S rRNA 遺伝子全長解析による生後4か月から3歳までの口腔細菌構成の変遷」

影山 伸哉<sup>1</sup>、朝川 美加李<sup>1</sup>、馬 佳楽<sup>1</sup>、竹下 徹<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔予防)

口腔常在細菌叢が宿主の健康に重要な役割を果たすことが示唆されており、その形成過程の解明が求められている。本研究では、4か月児、1歳6か月児、3歳児健診を全て受診した169名の乳幼児 (双子を2組含む) とその母親を解析対象者とし、舌スワブ検体の採取を行った。乳幼児からは各健診時に、母親からは4か月児健診と3歳児健診時に検体採取を行った。得られた841検体からDNAを抽出したのち、PacBioロングリードシーケンスを用いて16S rRNA遺伝子の全長を網羅的に増幅し、各検体の細菌構成を明らかにした。生後4か月、1歳6か月、3歳における細菌構成は母親と有意に異なっていたが、年齢が上がるにつれて母親に近づいていた。母親の年間変動量は中央値0.146 (範囲

0.080-0.266) であったのに対し、生後4か月から1歳6か月までの年間変動量は0.691 (0.440-0.857)、1歳6か月から3歳までの年間変動量は0.327 (0.151-0.585) であった。生後4か月で細菌叢の61.1±33.1%を占めていた細菌種は1歳6か月では検出されなくなり、この期間に新たに獲得した細菌種が1歳6か月の細菌叢の73.2±24.6%を占めていた。同様に、1歳6か月で細菌叢の27.1±21.7%を占めていた細菌種は3歳では検出されなくなり、新たに獲得した細菌種が3歳の細菌叢の27.5±19.3%を占めていた。これらの結果より、口腔細菌叢が生後4か月から3歳の間に細菌種の獲得とターンオーバーを伴いながら劇的に発達することが示唆された。

**P3-08 「口唇微生物バイオフィルムの分子生物学的解析：ワセリンリップ塗布の影響」**  
 関口 未来<sup>1</sup>、涌井 杏奈<sup>1,2</sup>、河内 美帆<sup>1</sup>、佐野 拓人<sup>1,3</sup>、鷲尾 純平<sup>4</sup>、佐藤 拓一<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>新潟大 院保 臨床化学、<sup>2</sup>新潟医福大 医療技術、<sup>3</sup>日歯大新潟、<sup>4</sup>東北大 院 歯 口腔生化)

【目的】コロナ禍を経て、マスク着用による健康への弊害が懸念・注目されている。本研究では、口唇表面の微生物バイオフィルムに焦点を絞り、日中、複数回、ワセリンリップを塗布した場合の影響について検討した。

【方法】インフォームドコンセントを得た、研究室の学生7名を被験者とした。朝9時の段階で口唇全体を滅菌綿棒で丹念に擦過し、生理食塩水に懸濁し、試料とした。直後にワセリンリップ（健栄製薬）を通常使用通りに塗布し、お昼12時および午後3時に再度塗布し、午後6時に試料採取した。試料をCDC血液寒天平板上で嫌気培養し、16S rRNAシーケンス解析により細菌種を同定した。

【結果】朝9時の口唇からは $(3.2 \pm 1.5) \times 10^4$  CFU/mLの細菌が検出され、午後6時（1日に3回ワセリンリップを塗布後）の口唇からは $(1.3 \pm 1.4) \times 10^3$ と、約25分の1に減少した。細菌構成は両者とも*Cutibacterium*、*Staphylococcus*に加えて、*Streptococcus*、*Actinomyces*、*Veillonella*といった口腔細菌種が優勢であった。

【考察】1)口唇表面上には $10^4$ 台の細菌が生息し、2)その構成細菌の由来が皮膚および口腔の両方であること、そして3)ワセリンリップの頻回塗布で $10^3$ 台に減少することが判明した。現在、ワセリンリップを塗布しなかった場合および不織布マスクを着用した場合についても解析を進めている。

**P3-09 「オゾンウルトラファインバブル水は *Porphyromonas gingivalis* を殺菌しジンジpain およびリポプロテインを不活化する」**  
 遠藤 愛<sup>1,2</sup>、土門 久哲<sup>1,3</sup>、平山 悟<sup>1</sup>、滝澤 史雄<sup>1,2</sup>、寺尾 豊<sup>1,3</sup>  
 ( <sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 歯周診断・再建、<sup>3</sup>新潟大 院医歯 高度口腔)

【目的】オゾンは酸化作用により細菌を殺菌する。オゾンを直径1 μm未満の気泡として水中に保持させ、オゾンウルトラファインバブル水（OUFBW）を作製した。本研究では*Porphyromonas gingivalis*ならびにその病原因子であるジンジpain、LPSおよびリポプロテインに対するOUFBWの作用を解析した。

【材料と方法】*P. gingivalis* ATCC 33277株にOUFBWを添加し、コロニーカウント法にて細菌生存率を算定した。次に、OUFBWと*P. gingivalis*培養上清を99:1の割合で混合し、特異的基質を用いてジンジpain活性を測定した。また、OUFBWと混合した*P. gingivalis* LPS (InvivoGen #tlrl-pglps; リポプロテインの混入あり)をTLR2またはTLR4を発現するHEK-Blue細胞に添加してアルカリ

フォスファターゼ（SEAP）活性を測定した。

【結果】OUFBWは*P. gingivalis*を3秒以内に死滅させた。OUFBWと菌培養上清を混合した群は、蒸留水混合群と比較してRgp活性およびKgp活性がともに1%未満であった。LPSとOUFBWを混合した群は、蒸留水混合群と比較してHEK-TLR2細胞のSEAP活性が低かったが、HEK-TLR4細胞では活性に有意差を認めなかった。

【考察・結論】OUFBWは*P. gingivalis*を殺菌するとともに、ジンジpainおよびリポプロテインを不活化した。一方、LPSは不活化しないことが明らかとなった。さらにTEM解析から、OUFBWは菌体表層のベシクルを減少させることも示された。

### P3-10 「大腸菌または歯周疾患関連細菌由来のリポ多糖を全身投与したマウスの行動解析—オープンフィールド試験と強制水泳試験の比較—」

青野 悠里<sup>1</sup>、斉藤 幸治<sup>1</sup>、三枝 禎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 日大松戸歯 薬理)

実験動物の移所行動を解析するopen field (OF) 試験で、OF中央での移動量の減少は不安やうつ状態を反映している。大腸菌 (*Ec*) と歯周疾患関連細菌 (*Pg*) 由来の内毒素のリポ多糖 (*Ec*-と*Pg*-LPS) を全身投与したマウスのOF試験で、OFの中央と辺縁の移所行動は*Ec*-LPSで抑制されたが、*Pg*-LPSの影響は受けなかった (Aono *et al.*, 2024)。強制水泳試験 (forced swimming test: FST) は、水槽で実験動物が浮いたままになる不動時間を短縮する薬物に着目し、抗うつ効果のスクリーニングに用いられてきた。実験的なうつ状態を誘発するため様々な用量や投与間隔で行われる*Ec*-LPSの全身投与は、FSTでマウスの不動時間を延長すること

も示されている (Sabedra Sousa *et al.*, 2019)。このため、OF試験で移所行動を抑制した用量 (800  $\mu$ g/kg) の*Ec*-LPSの全身投与がマウスのFSTの不動時間に及ぼす影響を分析した。比較のため*Pg*-LPSの投与も行い、対照群には溶媒のsalineを投与した。その結果、本研究の*Ec*-、*Pg*-LPS処置では不動時間に目立った変化がなかった。OFで*Ec*-LPS処置がマウスに誘発した行動抑制は、全身状態の回復に関わる可能性がある。本研究のFSTの結果は、*Ec*-と*Pg*-LPSの投与は必ずしもマウスに不安やうつ様の症状は誘発しないとされた我々のOF試験結果 (Aono *et al.*, 2024) を支持するものであった。

### P3-11 「Red complex 細菌応答性の Th17 細胞に着目した歯周病病態形成の制御機構」

永尾 潤一<sup>1,2</sup>、岸川 咲吏<sup>1,2</sup>、豊永 憲司<sup>1,2</sup>、岩沼 青葉<sup>1</sup>、根来 (安松) 香奈江<sup>1</sup>、  
田崎 園子<sup>1</sup>、田中 芳彦<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 福歯大 機能生物 感染生物、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

歯周病は口腔内の歯周病原細菌が原因となる感染症である。近年の解析により、歯周病はIL-17A産生を特徴とするヘルパー T細胞であるTh17細胞が破骨細胞を活性化することで歯槽骨が吸収する免疫疾患であることが分かっている。しかしながら、Th17細胞を誘導する抗原や誘導に関わる環境因子など、Th17細胞を介した歯周病の病態形成の制御機構は不明な点が多い。我々はこれまでにRed complexに属する歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の感染により歯周病を発症するマウスモデルを構築している。本研究では、構築した歯周病マウスモデルを用いて、

*P. gingivalis* 感染により誘導されるTh17細胞に着目して、歯周病の病態形成の制御機構を解明することを目的とする。*P. gingivalis* 感染により*P. gingivalis* 応答性のTh17細胞が全身性に誘導されることが分かった。また、Th17細胞分化に必須の転写因子であるROR $\gamma$ tの阻害剤、およびIL-17Aの中和抗体の投与により歯周病の病態が抑制された。以上のことから、*P. gingivalis* 応答性Th17細胞が産生するIL-17Aが病態形成に重要であることが示された。本発表では、*P. gingivalis* 応答性Th17細胞の制御機構に関して得られた知見を報告する。

### P3-12 「歯周病原細菌感染は脳に免疫学的・神経学的変化を誘導する」

岸川 咲吏<sup>1,2</sup>、永尾 潤一<sup>1,2</sup>、豊永 憲司<sup>1,2</sup>、岩沼 青葉<sup>1</sup>、田崎 園子<sup>1</sup>、  
根来 (安松) 香奈江<sup>1,2</sup>、田中 芳彦<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 福歯大 機能生物 感染生物、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

歯周病は歯周病原細菌感染による慢性的な口腔感染症であり、歯肉の炎症と歯槽骨の吸収を特徴とする疾患であるが、進展すれば歯を喪失するに至る。ライフスタイルの変化によって歯周病は高齢者だけの疾患ではなく、若年者も含めた幅広い世代に発症するようになった。長年、歯周病は口腔だけでなく、全身疾患の

リスクファクターであることが報告されてきたが、そのメカニズムについては不明な点が多い。特に、歯周病は高齢者の認知症を増悪化させることがわかっているが、歯周病原細菌感染が若年者の脳に与える免疫学的・神経学的な影響については不明なままである。そこで我々は、若年者が長期にわたって歯周病に罹患す

ると脳に神経免疫学的な変化が起きることで精神疾患が誘導され、認知症発症の基盤が形成されるのではないかと仮定した。若年者の脳に対する歯周病原細菌感染のリスクが明らかになれば、新たな予防法の提唱や治療法の開発に繋がると期待できる。我々の研究室では、歯周病原細菌の一つである*Porphyromonas gingivalis*を用いてマウス歯周病モデルを構築した。本

研究では、*P.g*感染によるマウス歯周病モデルを活用し、若年齢マウスの脳組織に対する*P.g*感染の影響とマウスの行動変容に着目して、歯周病菌感染による脳組織への神経免疫学的影響を明らかにすることを目的とする。本発表では、*P.g*感染マウスの行動変化と今後の解析について報告する。

### P3-13 「Gingipain-mediated alternative splicing of PD-L1 in macrophages infected with *Porphyromonas gingivalis*」

Yilin Zheng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 岡大 院医歯薬)

*Porphyromonas gingivalis* (Pg), a keystone periodontal pathogen, is known for its ability to evade host immunity, contributing to chronic inflammation. A major virulence factor, gingipains-cysteine proteases unique to Pg-can degrade host immune proteins. While alternative splicing (AS) plays a critical role in immune regulation, its involvement in Pg-mediated immune evasion remains unclear. In this study, RNA sequencing revealed marked alterations in the AS landscape and transcriptome of macrophages infected with either wild-type or gingipain-deficient Pg. Notably, infection elevated the

transcript levels of programmed death-ligand 1 (PD-L1) and selectively promoted an isoform with higher affinity for its receptor, programmed cell death protein 1 (PD-1), thereby contributing to T cell suppression. Biochemical assays confirmed the PD-L1 splicing switch following Pg or gingipain exposure. Structural modeling using AlphaFold 3 further showed that the upregulated PD-L1 isoform exhibited over 80% stronger docking compatibility with PD-1. These findings suggest that Pg exploits gingipain to modulate host splicing machinery, highlighting a mechanism of immune evasion via AS of PD-L1.

### P3-14 「*Porphyromonas gingivalis* 外膜小胞の精製法の検討」

高橋 葵<sup>1</sup>、大松 勉<sup>2</sup>、安部 公博<sup>1</sup>、山口 雄大<sup>1</sup>、中尾 龍馬<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 国立感染症研究所 細菌第一部 第五室 (口腔感染症室)、<sup>2</sup> 東京農工大 院農 共同獣医)

【背景と目的】*Porphyromonas gingivalis* (Pg) の外膜小胞 (OMVs) は、病原因子を保有し、マウスやビーグルの免疫応答を強く誘導することから、歯周病ワクチンに活用できる可能性を秘める。これまでに、超遠心分離法で得られたPg OMVs (粗精製 Pg OMVs) の大きさは様々で、線毛が混入することが知られている。本研究では、Pg OMVsを密度勾配遠心法に供与し、各分画に含まれるOMVsを解析した。

【方法】粗精製Pg OMVsに、Iodixanol濃度勾配 (40~16%) を重層し、再度超遠心分離に供試した。上層から11分画したものを透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察、ウエスタンブロット、口腔上皮細胞株に対する脱離活性試験等に供試した。また、凍結切断したPg OMVsの内部構

造を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

【結果・考察】TEM観察の結果、比重の軽い分画#4に粒子径の大きいOMVs、やや重い分画#8には小さいOMVsが観察された。ウエスタンブロットでは、#4と#8に主要なOMVsタンパクが観察された一方で、#11では線毛が主要バンドとして検出された。また、脱離活性試験により、#4と#8ではプロテアーゼ活性が認められた。以上より、密度勾配遠心法により線毛の除去、及び大きさの異なるOMVsの分取が可能であると明らかとなった。また、Pg OMVs内部構造を観察した結果、大きさに関わらず、幅約10 nmの膜から構成される中空構造を呈していた。今後は、タンジェンシャルフロー濾過法、ゲル濾過なども検討する。

**P3-15 「*Porphyromonas gingivalis* Mfa 線毛タンパク質のプロテアーゼ依存的な成熟化」**  
 廣畑 誠人<sup>1</sup>、内記 良一<sup>1</sup>、大石 明広<sup>1</sup>、西川 清<sup>1</sup>、長谷川 義明<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup> 愛院大 歯 微生物)

【背景】 歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* の V 型線毛である Mfa1 線毛はバイオフィルム形成および凝集に重要な役割を果たす。V 型線毛は N 末端領域に位置するアルギニン残基 (R) およびリジン残基 (K) がジンジパイン (Rgp および Kgp) によって切断され重合が開始される。しかし、Mfa1 線毛の詳細な成熟機構には不明な点が多い。

【方法】 ATCC 33277 の *fimA* 欠損株である JI-1 を親株として、N 末端領域の R および K をアラニン残基 (A) へ置換するミスセンス変異を導入し、*mfa1* 領域変異株として Mfa1R49A、Mfa1K34AR49A および *mfa4* 領域変異株として Mfa4R53A、Mfa4R50AR53A、Mfa4K44AR50AR53A を作製した。親株と変異株の菌体表面線毛発現量を ELISA で比較解析した。更に各株から精製した Mfa1 線毛中の

Mfa1 および Mfa4 について N 末端アミノ酸配列を解析した。また JI-1 の全細胞破砕液を分画し、各画分について Mfa4 の N 末端断片の局在をウェスタンブロットにて解析した。

【結果】 ELISA の結果、Mfa1K34AR49A 株で親株と比較して Mfa1 線毛発現量が有意に減少した。Mfa1R49A 株と Mfa4K44AR50AR53A 株では R もしくは K と異なるアミノ酸残基の C 末端側で切断された。Mfa4 の N 末端断片は主に内膜画分で検出された。

【考察】 Mfa4 および Mfa1 の N 末端領域成熟化にジンジパインが主に関与すること、さらに、ジンジパイン以外のタンパク質分解酵素による N 末端プロセッシング機構の存在する可能性が示唆された。

**P3-16 「低濃度 A $\beta$  環境において *P. gingivalis* 由来 LPS はミクログリア活性化を介してシナプス障害を誘導する」**  
 桂 淑格<sup>1,2</sup>、武 洲<sup>2,3</sup>、佐野 朋美<sup>2</sup>、兼松 隆<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup> 九大 院歯 口腔顎顔面外科、<sup>2</sup> 九大 院歯 口腔機能分子、<sup>3</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)

*P. gingivalis* 由来 LPS (P. gLPS) はアルツハイマー病 (Alzheimer's Disease, AD) の脳病態の誘発および進行に関与することが報告されているが、AD の超早期病態であるシナプスへの影響は未解明である。本研究では低濃度の Amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) 環境下における P. gLPS のシナプス機能への影響を検討した。mouse neuroblastoma 由来の N2a 細胞および mouse microglial 由来の MG6 細胞を用い、低濃度 A $\beta$  (A, 0.1  $\mu$ M)、P. gLPS (L, 0.1  $\mu$ g/mL)、およびその共負荷 (AL) による N2a 細胞におけるシナプス関連因子 SYN1 および PSD95 の発現を解析した。N2a 細胞では P. gLPS、A $\beta$ 、AL のいずれの刺激後も SYN1 および PSD95 の mRNA 発現に有意な変化は認められなかった。一方、MG6 細胞では AL 刺激によ

り TNF- $\alpha$  分泌が顕著に増加した。さらに AL 刺激 MG6 細胞の培養上清 (AL-MCM) を用いた刺激により、N2a 細胞の SYN1 および PSD95 の mRNA およびタンパク質発現は有意に低下し、加えて I 型 TNF 受容体および GSK3 $\beta$  の mRNA 発現は増加した。GSK3 $\beta$  阻害剤 TWS119 による前処理は AL-MCM による SYN1 および PSD95 の低下を抑制した。また A $\beta$  を蓄積する AD モデルマウスにおいて、全身 P. gLPS 投与により大脳皮質の SYN1 および PSD95 発現が低下し、この低下は記憶機能の障害と正の相関を示した。以上の結果から、P. gLPS は低濃度 A $\beta$  環境においてミクログリア活性化を介して、ニューロンにおける GSK3 $\beta$  依存的なシナプス障害を誘導することが示唆された。

**P3-17 「*Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS は細胞内認識を介して IL-18 産生とパイロトーシスを誘導する」**  
 堂前 英資<sup>1</sup>、森 大気<sup>1</sup>、花岡 麻里子<sup>1</sup>、引頭 毅<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup> 朝日大 歯 口腔微生物)

グラム陰性菌の LPS は宿主細胞表面では TLR4 により、また細胞内では caspase-4 (CASP4) などの炎症性カス

パーゼによって認識される。歯周病原細菌 *P. gingivalis* 由来 LPS (LPS-PG) は TLR4 の認識を受けることはよく

知られているが、細胞侵入性を有する本菌のLPSが細胞内での認識を受けるかどうかは未だ不明である。そこで本研究ではLPS-PGの細胞内認識機構の存在について検討した。LPS-PGをヒト口腔上皮細胞株HSC-2に作用させても応答は起こらなかったが、IFN- $\gamma$ でプライミングした細胞にリポフェクション法による細胞内導入を行うことでIL-18の成熟化と分泌、そして細胞膜傷害を伴う細胞死が観察されることを見出した。TLR4ノックアウトやTLR4阻害剤存在下でもLPS-PGの細胞内

導入によって生じるIL-18の成熟化や細胞死には影響しなかった。一方、CASP4阻害剤はLPS-PG導入によって生じるIL-18の成熟化と分泌、そして細胞死を強力に抑制した。リコンビナントCASP4の酵素活性を調べたところ、LPS-PGの存在下において活性化が確認された。以上より、LPS-PGはTLR4による認識機構とは独立して細胞内でCASP4による認識を受け、CASP4の活性を介してIL-18の成熟化と分泌、そして炎症性細胞死であるパイロトーシスを誘導することが示唆された。

### P3-18 「菌糸形態の *Candida albicans* 培養上清が *Porphyromonas gingivalis* のジンジパインの発現に及ぼす影響」

安部 雅世<sup>1</sup>、天野 滋<sup>3</sup>、小田 慎太郎<sup>1</sup>、坂上 宏<sup>3</sup>、林 丈一朗<sup>2</sup>、猪俣 恵<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>明海大 歯 微生物、<sup>2</sup>明海大 歯 歯周病、<sup>3</sup>明海大 M-RIO)

【背景】慢性歯周炎患者の歯周ポケットは嫌気環境下、血清成分である歯肉溝滲出液が増加しており、この環境下では*C. a.*は菌糸を形成することが明らかにされている。実際に歯周ポケット内で菌糸形で存在している報告がある。昨年度、*C. a.*が嫌気環境下、血清濃度依存的に菌糸形を促進すること、さらに菌糸形態の*C. a.*培養上清で*Porphyromonas gingivalis*ジンジパイン産生が促進されることを報告した。今回アルギニンジンジパイン(Rgp)産生促進機構の一端を明らかにしたので報告する。

【方法】*C. a.* SC5314株を嫌気条件下、RPMI-1640培地で24時間培養した上清を菌糸形態培養上清とした。こ

の上清の半量下で*P. g.*を24時間嫌気培養後、*P. g.*が形成した小胞を0.22 $\mu$ mフィルター処理、超遠心100,000g $\times$ 1時間後のペレットから回収した。小胞中に含まれるRgpをウェスタンブロット法で解析した。さらに、小胞の存在を透過型電子顕微鏡で確認した。

【結果】小胞中のRgp量をウェスタンブロット法で解析を行ったところ、*P. g.*単独のRgpよりも*C. a.*培養上清中で培養した*P. g.*の小胞中のRgp量が増加していた。さらに*P. g.*の周りに多くの小胞が観察された。

【考察】菌糸形の*C. a.*の上清が*P. g.*のRgp合成を促進し、小胞のRgpを増加させたと考えられるため、今後、Rgp発現誘導因子を同定する。

### P3-19 「*Candida albicans* のオートファジーを介した鉄獲得機構の解析」

堀江 哲郎<sup>1</sup>、田中 とも子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日歯大 生命歯 衛生)

病原真菌*Candida albicans*は二形性真菌であり、真核生物としての性質から、その代謝や細胞プロセスは宿主に類似している。そのため本菌に対する特異的な抗真菌薬の開発は困難である。我々は*C. albicans*の宿主内での生存戦略を明らかにすることで、新たな薬剤ターゲットを見出すことを目的としている。

オートファジーは細胞質タンパク質の分解を介してアミノ酸のリサイクリングを行う過程として広く知られているが、近年ではその分解産物が生理的機能を担うことも報告されている。*C. albicans*におけるオートファジー経路は高度に保存されており、栄養環境の変動が大きい宿主内における生存に利用されていると考えられる。

鉄は様々な細胞内反応に関与し、生物に必須の微量

元素である。しかし、宿主内では鉄の利用が極めて制限されるため、病原体にとって鉄の獲得は重要な生存戦略の一つである。

アジ化ナトリウム(NaN<sub>3</sub>)は金属イオンと錯体を形成し、細胞内鉄に結合することで、ミトコンドリア電子伝達系を阻害し細胞毒性を示す。本研究では、オートファジーの誘導を検出するためのレポーター遺伝子を本菌に導入し、鉄濃度を制限した条件でオートファジーの活性を評価した。その結果、我々はNaN<sub>3</sub>による鉄枯渇がオートファジーを強く誘導することを見出した。

以上より、本菌におけるオートファジーと鉄代謝の関連について検討した結果を報告する。

### P3-20 「ヒノキチオールの *Candida albicans* に対する抗真菌作用と、既存の抗真菌薬との併用効果」

福井 佳代子<sup>1</sup>、原 基<sup>1</sup>、今井 あかね<sup>2,3</sup>、二宮 一智<sup>1,4,5</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 薬理、<sup>2</sup>日歯大新潟 生化、<sup>3</sup>日歯大 新潟短大 歯科衛生、<sup>4</sup>日歯大 新潟病院 総合診療科、<sup>5</sup>日歯大 新潟病院 口腔外科診療科)

【目的】近年、薬剤耐性が問題とされている。抗真菌薬は種類や数が少なく、耐性発現時に薬の選択が大きな課題となる。そこで、既存の抗真菌薬とは系列の異なる漢方薬剤ヒノキチオールの抗真菌作用を検索し、既存薬との併用効果を調べる。

【方法】ヒノキチオールの *Candida albicans* (*C. albicans*) に対する抗真菌作用と、フルコナゾール、ミコナゾール、アムホテリシンBとの併用効果をDisk法、および微量液体希釈法で調べた。また、活性酸素の誘導を調べた。さらに、*C. albicans*が形成するgerm tubeへの影響を顕微鏡で観察した。

【結果】微量液体希釈法において、ヒノキチオール10 μg/mLは *C. albicans* の増殖を抑制した。Disk法において、

明確な阻止円を示した。単独、またはミコナゾール併用時に活性酸素を誘導した。ヒノキチオール3 μg/mLにより *C. albicans* は24時間後も酵母のまま、germ tube形成は見られなかった。

【考察】ヒノキチオールは単独投与で抗真菌作用を示した。フルコナゾールは静菌的であるのに対し、ヒノキチオールは明確な阻止円を示すことで、殺菌的な抗真菌作用と考えられる。また、併用により、相加作用があると考えられた。ヒノキチオールはgerm tube形成を阻害したことより、*C. albicans* の酵母型細胞から病原性を示す菌糸型への転換を抑制すると考えられた。

### P3-21 「口腔 *Veillonella* におけるフルクトース代謝の生物学的意義」

眞島 いづみ<sup>1</sup>、中澤 太<sup>2</sup>、村田 清志<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔病態解析制御、<sup>2</sup>インドネシア大 歯 口腔生物、<sup>3</sup>奥羽大 薬天然資源)

【目的】*Veillonella* はヒト口腔内における優勢細菌属である。本属細菌は乳酸を中心とした有機酸のみをエネルギー源とすると報告されていたが、近年の我々の研究成果からフルクトースも代謝することが明らかになった。本研究では口腔 *Veillonella* のフルクトース代謝能を経時的に解析し、その生物学的意義を考察した。

【方法】TYH液体培地をコントロールとし、それぞれ1%乳酸添加、0.25%フルクトース添加、1%乳酸-0.25%フルクトースを添加した培地を用いた。*V. atypica* 標準株を嫌気条件下、37°Cで対数増殖期及び定常期まで培養後、菌体細胞を収集してCE-TOFMSによるメタボローム解析を行った。またフルクトース消費量をMegazymeに

より定量した。

【結果】*V. atypica* は乳酸添加時に最も増殖し、乳酸及びフルクトース添加時には定常期を延長した。またフルクトース消費量は定常期に増加した。さらにフルクトース代謝に関わる全ての中間代謝産物は、対数増殖期よりも定常期において高い値で検出された。

【考察】口腔 *Veillonella* の主なエネルギー源は乳酸であるが、その生命維持過程の定常期には、フルクトースを代謝していると考えられる。本研究成果は、口腔バイオフィーム形成過程における、代謝ネットワークを介した口腔細菌間interactionを解明する上で、極めて重要な知見となる。

### P3-22 「歯垢におけるβ2-microglobulin のアミロイド線維化が歯垢バイオフィームに与える影響の解析」

森 大気<sup>1</sup>、堂前 英資<sup>1</sup>、花岡 麻里子<sup>1</sup>、引頭 毅<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔微生物)

β2-microglobulin (B2M) はMHCクラスIの構成要素として知られるが、細胞から遊離すると、血液や唾液などの体液中で抗菌因子として機能するようになる。

通常B2Mは細菌の細胞膜に結合し、膜電位を消失させて静菌作用を示すが、酸性環境下では細胞膜傷害により殺菌作用を示す。酸性環境下でB2MはC末端βシート

構造が重合化したアミロイド線維 (AF) に変化するため、これが殺菌作用に必要と考えられるが詳細は不明である。本研究では、唾液中のB2Mの役割の解明を目指し、歯垢バイオフィームに与える影響を調査した。抗B2M抗体や抗B2M AF抗体を利用した歯垢検体の免疫染色により、歯垢中には様々な形態のB2M AFが存在することが明らかになった。精製B2Mを用いた*in vitro* 実験により、リン酸塩やCa<sup>2+</sup>の存在がB2M AF形成を促進することが分かった。*Streptococcus mutans* に精製B2M、

リン酸塩およびCa<sup>2+</sup>を添加して培養すると、B2M AFがバイオフィームに蓄積されることが分かった。また、事前にAF形成させたB2Mを添加すると、バイオフィーム量が増加する一方、接着性が低下して浮遊することが分かった。*S. mutans* バイオフィームにおいてB2M AFは線維状のマトリックスの形成を誘導していた。以上より、B2Mは歯垢においてAF化し、歯垢バイオフィームの構造や接着性に影響することが示唆された。

### P3-23 「Molecular phylogeny and subspecies profiling of *Fusobacterium nucleatum* from interdental plaque」

Yihao Liang<sup>1</sup>, Takayuki Nambu<sup>1</sup>, Hiroki Takigawa<sup>1</sup>, Hugo Maruyama<sup>1</sup>,  
Chiho Mashimo<sup>1</sup>, Toshinori Okinaga<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 大歯大 微生物)

*Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) is a common member of the human oral microbiota and plays a key role in oral biofilm formation. Previous genome-level phylogenetic analyses have divided *Fn* into four subspecies: *Fn animalis* (*Fna*), *Fn nucleatum* (*Fnn*), *Fn polymorphum* (*Fnp*), and *Fn vincentii* (*Fnv*). In this study, *Fn* strains were isolated from interdental plaque samples in order to analyze biofilm-forming capacity and physiological characteristics among subspecies. Plaque samples obtained from 40 healthy adults were plated

onto *Fn*-selective medium, yielding 80 candidate isolates. High-resolution phylogenetic analysis of 16S rRNA and *rpoB* gene sequences identified 55 isolates as *Fn*, of which 35 were classified as *Fnp*, 14 as *Fna* and 6 as *Fnv*. Recent work further subdivides *Fna* into two clades, with clade C2 showing a strong association with CRC development. We are currently conducting further phylogenetic analyses to refine the classification of *Fna*.

### P3-24 「ゲノムスケール代謝モデリングと iModulon 解析を応用した化膿レンサ球菌 M1 型の生物学的特性の探索」

広瀬 雄二郎<sup>1</sup>, 坂東 絢子<sup>1</sup>, 森 あり沙<sup>1,2</sup>, 大野 誠之<sup>1,3</sup>, 池田 恵莉<sup>1</sup>,  
川端 重忠<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大 院歯 口腔細菌、<sup>2</sup> 阪大 院歯 口外 2、<sup>3</sup> 阪大 院歯 バイオインフォ)

化膿レンサ球菌はヒト上気道に常在性がある一方、多様な急性感染症を引き起こす病原体である。200以上存在する血清型の中でも、M1型は重症感染症に高頻度で関与することから、最も臨床的意義が高い。

ゲノムスケール代謝モデル (GEM) は、細菌の代謝機構の解明、特定の代謝遺伝子や経路の阻害効果の予測、さらには治療標的の候補同定において有用な手法である。我々は化膿レンサ球菌M1型株に対して精度の高いGEMを開発した (mSystems, 2024, PMID: 39158303)。

独立成分解析 (ICA) は、RNA-seqデータの網羅的な発現プロファイルを分解し、細菌のトランスクリプトームにおける基盤的な制御構造を明らかにする解析手法である。ICAを用いることにより、化膿レンサ球

菌 M1型株において42の独立して制御される遺伝子群 (iModulon) を同定し、多様な実験条件下での活性レベルを算出した (mSystems, 2023, PMID: 37278526)。

本発表では、合成培地で培養した化膿レンサ球菌由来のRNA-seqデータを解析するうえで、GEMおよびiModulonの有用性について示す。まず、GEMに代謝遺伝子の発現変動を統合することにより得られた新たな知見を紹介し、次に、iModulonを活用してRNA-seq解析から新規の仮説を導出する方法を紹介する。それにより、2つのシステム生物学的アプローチが、化膿レンサ球菌M1型株における転写制御機構および代謝メカニズムの解明に有力な手段となることを提示する。

## P3-25 「血管内皮細胞の機能変化をもたらす口腔レンサ球菌由来メンブレンベジクル」

瀧澤 智美<sup>1</sup>、齋藤 真規<sup>1</sup>、泉福 英信<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大 松戸歯 感染免疫)

*Streptococcus sanguinis*は膜小胞を放出している。過去の本大会で*S. sanguinis*由来の膜小胞は血管内皮細胞から炎症反応を誘導したことを報告しているが炎症惹起の引き金には酸化ストレス応答が関与する。そこで、*S. sanguinis*全菌体および膜小胞でヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を刺激した場合に酸化ストレス応答が増加するか検討した。

*S. sanguinis*をHUVECに添加し20時間培養後、細胞の破碎液をMS培地に塗抹しコロニーを検出したことから、本菌の細胞内への侵入が示唆された。*S. sanguinis*刺激後20時間培養後におけるMCP-1の産生、NADPHオキシダーゼ (NOX) 1, 2, 4、の発現について調べたところ、

MCP-1が産生され、NOX1 mRNAの発現が増加した。対照群としてHUVECで炎症を惹起しない*S. anginosus*を添加した場合はMCP-1は産生されず、NOX遺伝子の発現増加も認めなかった。また*S. sanguinis*由来膜小胞を添加したHUVECでNOX1遺伝子の発現が増加した。しかしNOX1の阻害剤であるML171を添加したHUVECを*S. sanguinis*由来膜小胞で刺激した場合、MCP-1の産生が抑制されなかった。これらの結果から、*S. sanguinis*全菌体および膜小胞刺激によりHUVECは酸化ストレス応答を少なからず誘導しているが、炎症惹起に与えるNOX1遺伝子の発現増加がどのように関係しているかについてはさらに検討する必要がある。

## P3-26 「がん微小環境における腫瘍免疫破綻因子としての口腔レンサ球菌ジペプチジルペプチダーゼ」

Shu Suzuki<sup>1</sup>、石河 太知<sup>2</sup>、三浦 利貴<sup>2</sup>、根本 優子<sup>2,3</sup>、根本 孝幸<sup>2,3</sup>  
(<sup>1</sup>岩医大 歯 口外、<sup>2</sup>岩医大 歯 分子微生物、<sup>3</sup>長大 院医歯薬 小児)

口腔常在細菌の一部は、口腔・上部消化管の悪性腫瘍のリスク因子とされているが、その詳しい機序は明らかになっていない。食道癌より高頻度に検出される*Streptococcus anginosus*がXaa-Pro dipeptidyl peptidase(DPP)を有しており、腫瘍免疫に必須となるケモカインを切断・不活性化するという報告がある。本研究では、*S. anginosus*をはじめとする口腔レンサ球菌のDPPが腫瘍免疫機構に影響を与える可能性について検討した。

*S. anginosus*とその他口腔常在細菌のDPP酵素のアミノ酸相同性検索を行い、30%以上相同性を有する口腔レンサ球菌5菌株を選択した。また、ヒトおよび*Porphyromonas gingivalis*のDPP4とアミノ酸配列の相同性を検討した。酵素活性はMCA (methyl coumarin

amido) 基質を用い、分光蛍光光度を測定した。

*S. anginosus*と比較し、他の口腔レンサ球菌のDPP4のアミノ酸配列は50%以上の相同性を有していた。SaDPP4とヒトおよび*P. gingivalis*のDPP4は、16%程の相同性を有していた。DPP4の基質であるGly-Pro-MCAやLys-Ala-MCAに対する活性は、*S. anginosus*において他の細菌より特に高い傾向がみられた。rSaDPP4でも同様の結果が得られ、ケモカインが有するXaa-ProおよびXaa-Alaの配列を切断することが確認された。

*S. anginosus*のDPPがケモカインを切断することで腫瘍免疫機構に影響を与える可能性が推察された。

## P3-27 「肺炎球菌が有するプラスミノーゲン結合タンパク質の包括的な発現特性解析」

平山 悟<sup>1</sup>、土門 久哲<sup>1,2</sup>、寺尾 豊<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 高度口腔)

肺炎球菌は、誤嚥性肺炎をはじめとする細菌性肺炎の主要な原因菌である。これまでに肺炎球菌感染マウスの肺胞洗浄液のプロテオミクス及びタンパク質機能解析を通じ、新たに7種のプラスミノーゲン結合タンパク質 (PlgBPs) を同定した。本研究では、これらと

既知の計16種のPlgBPsについて発現特性を解析した。

肺炎球菌D39株のゲノム上に各遺伝子をマッピングし、オペロン構造の有無及びプロモーター領域を*in silico*解析した。各遺伝子はゲノム全体に分布しており、同一のレギュレータに制御されるものは確認され

なかった。次に、D39株をTHY培地のみ、さらにPlgまたはウシ胎児血清（FBS）を添加した条件で培養した。経時的にRNAを回収し、各遺伝子の転写をqPCRで解析した。THY培地のみでは、各遺伝子の対数期における転写量が増加し、定常期に減少または維持される共通の動向を示した。Plg添加培地では、定常期以降に転写量の緩やかな増加傾向がみられた。FBS添加培地で

は、菌の増殖が促進されRNAの採取可能な時間が限られたものの、転写の推移は他条件と概ね一致していた。

肺炎球菌は大腸菌の約半分のゲノムサイズでありながら、16種に及ぶPlgBPsを保有し、いずれも恒常的に発現している。以上の結果から、肺炎球菌は様々な感染段階でPlgBPsにより菌体にPlgを結合させ、感染症を引き起こす可能性が示唆された。

### P3-28 「S-PRG フィラーが口腔内病原菌に及ぼす抗菌効果と臨床応用について」

西浦 英亀<sup>1</sup>、田村 宗明<sup>2</sup>、今井 健一<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大 歯 補綴 I、<sup>2</sup>日大 歯 感染免疫)

【目的】口腔微生物数および微生物叢のコントロールは口腔疾患の予防だけでなく、全身の健康維持および健康寿命の延伸に深く関わっている。S-PRGフィラーはフッ素など6種のイオンを徐放・吸収可能なバイオマテリアルとして口腔微生物への抗菌効果が期待されているが、未だにその報告は少ない。本発表では、S-PRGフィラーが口腔内病原菌に及ぼす抗菌効果と臨床応用への可能性について検討した。

【方法】試料としてS-PRGフィラー含有義歯床用レジン片とフィラーから抽出したイオンを含む水溶液を用い、被験菌は*Enterococcus faecalis*と*Candida albicans*を供試した。*E. faecalis*はイオン水による発育、バイオフィ

ルム形成能と溶血能への影響を比色定量法で評価した。*C. albicans* では一般生活での義歯使用を想定し、S-PRGフィラー含有レジンを用いたイオン水に8時間浸漬したレジンへの付着をCFUで測定した。

【結果および考察】*E. faecalis*のバイオフィルム形成能と溶血能は添加したイオン水により濃度依存的に抑制された。*C. albicans*の付着菌数はS-PRGフィラーとイオン水の濃度依存的に減少し、これらの結果からS-PRGフィラーの臨床応用への可能性が示唆された。

(学会会員外協力者：日大 歯 補綴 I 飯沼利光，株式会社 松風 中塚稔之)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### P3-29 「*Tannerella forsythia* の酸化ストレスに対する遺伝子発現の動態」

栞原 紀子<sup>1</sup>、齋藤 真規<sup>2</sup>、竹内 麗理<sup>1</sup>、田中 陽子<sup>3</sup>、平塚 浩一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大松戸歯 生化、<sup>2</sup>日大松戸歯 感染免疫、<sup>3</sup>日大松戸歯 臨床検査)

口腔の環境は常に変化しており、歯周炎の進行に伴う歯肉溝の変化は、棲息する口腔常在微生物の遺伝子発現と影響を及ぼしあうことが報告されている。今回、歯周病原細菌の一つである*Tannerella forsythia*の酸化ストレスに対する遺伝子発現の動態について検討した。方法：*T. forsythia* JCM 10827<sup>T</sup>株を使用した。*T. forsythia* を嫌気培養後、好気条件下で37℃、30分間の振盪によるエアレーションを酸化ストレスの条件とした。菌体からtotal RNAを抽出し、mRNAを精製した。遺伝子発現のレベルはマイクロアレイにより解析し、コントロールと比較して2倍以上の発現量の変化が見られる遺伝子を検索した。結果：0分をコントロールとして、酸化ストレス付与30分後において315遺伝

子の発現量が2倍以上の変化をしており、そのうち72遺伝子が増加し、243遺伝子が減少した。*T. forsythia* の病原性因子とされるPrtHとPrtGでは遺伝子発現量に変化は認められなかった。今回GO解析を試みたところ、cellular componentに分類されるcell outer membrane と membraneが多く見られた。この中で複数のTonB-related遺伝子の発現量の変化が認められ、pH刺激の実験結果と類似していた。*T. forsythia*のTonB-related遺伝子はバイオマーカーの可能性が考えられた。

会員外共同演者：矢口学<sup>3</sup>、野村宇稔<sup>4</sup> (<sup>4</sup>日大松戸歯 障害者歯科学)

### P3-30 「免疫受容体シグナル関連分子欠損がカンジダ症マウスモデルに与える影響」

豊永 憲司<sup>1,2</sup>、永尾 潤一<sup>1,2</sup>、田崎 園子<sup>1</sup>、岸川 咲吏<sup>1,2</sup>、岩沼 青葉<sup>1</sup>、  
根来 (安松) 香奈江<sup>1,2</sup>、田中 芳彦<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物、<sup>2</sup>福歯大 口腔医学研究セ)

常在真菌として皮膚や粘膜に定着している*Candida albicans* (*C. albicans*) は、時に口腔カンジダ症や播種性カンジダ症を引き起こす。こうした*C. albicans*感染に対する宿主防御には、マクロファージや樹状細胞上に発現しているC型レクチン受容体 (CLR) を介した自然免疫応答や、それに引き続いて誘導されるインターロイキン17 (IL-17) 産生を特徴とするTh17細胞による獲得免疫応答が重要な役割を担う。一方で近年では、口腔カンジダ症のような局所感染、あるいは播種性カンジダ症のような全身性感染、といった菌の定着・発

症部位の相違によって、防御応答に関わる分子群やその作用機序が異なる可能性も示唆されている。こうした背景から我々は、*C. albicans*感染に対する防御応答における免疫細胞のエフェクター機能発現やその制御機構に関して、免疫受容体シグナル関連分子の観点から解析を行っている。本演題では、*C. albicans*を用いた口腔カンジダ症モデルや、血流感染による全身性のカンジダ症モデルにおいて、遺伝子欠損が与える影響について議論したい。

### P3-31 「肺炎球菌ニューモリシンによる自然免疫シグナル活性化機構の解析」

土門 久哲<sup>1,2</sup>、平山 悟<sup>1</sup>、寺尾 豊<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物、<sup>2</sup>新潟大 院医歯 高度口腔)

【目的】肺炎球菌の産生する膜孔形成毒素ニューモリシンは、Toll-like receptor 4 (TLR4)を活性化すると報告されているが、統一見解は得られていない。そこで本研究では、ニューモリシンによる自然免疫活性化メカニズムを解析した。

【方法】ヒトTLR4を強制発現するHEK293細胞 (HEK-TLR4) 培養系に、組換えニューモリシンを添加した。続いて、転写因子NF- $\kappa$ Bの活性化に伴い分泌されるアルカリフォスファターゼ (SEAP) 活性を測定した。次に、HEK細胞親株、HEK-TLR4、HEK-TLR9またはHEK-NOD2培養系に、組換えニューモリシンと共に各種の自然免疫リガンド [Poly (I:C) (TLR3)、LPS (TLR4)、CpG-ODN (TLR9)、C14-Tri-LAN-Gly (NOD1)、またはMDP (NOD2)] を添加し、SEAP活性を測定した。さらに、アミノ酸

置換により非溶血性組換えニューモリシンを作製し、MDPと共にHEK-NOD2培養系に添加してSEAP活性を測定した。

【結果】組換えニューモリシンは、HEK-TLR4細胞のSEAP活性を示さなかった。各種自然免疫リガンドを単独添加したHEK293細胞と比較して、C14-Tri-LAN-GlyまたはMDPと組換えニューモリシンを混合添加した群でのみ、SEAP活性が有意に高かった。一方、非溶血性組換えニューモリシンは、MDPを添加したHEK-NOD2細胞の示すSEAP活性に影響を与えなかった。

【考察】ニューモリシンは膜孔形成を介することで、細胞質受容体NOD1およびNOD2シグナルを増幅させることが明らかとなった。

### P3-32 「*Fusobacterium nucleatum* 感染バクテリオファージの抗菌活性に関する研究」

小田 慎太郎<sup>1,2</sup>、安部 雅世<sup>1</sup>、天野 滋<sup>3</sup>、坂上 宏<sup>3</sup>、中村 浩平<sup>2</sup>、猪俣 恵<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>明海大 歯 微生物、<sup>2</sup>岐阜大 院連農、<sup>3</sup>明海大 M-RIO)

【目的】バクテリオファージ (ファージ) は細菌に特異的に感染するウイルスであり、環境中に幅広く存在する。ファージは抗生物質の代替として、ファージセラピーの分野で注目されており、病原性細菌に感染するファージの分離が進められている。本研究では歯周病原細菌の一種である*Fusobacterium nucleatum* (*Fn*)に着目し、新規に分離された*Fn*ファージの抗菌活性につ

いて測定を行った。

【方法】標準株*Fn* ATCC 31647の重層寒天平板にファージ培養液を塗抹し、37°Cで2日間嫌気培養することによってファージプラークの存在を確認した。生じたプラークを回収し、培地に懸濁後、フィルター滅菌を行い任意のファージ濃度に調製した。*Fn*ファージの*Fn*に対する抗菌活性を確認するために標準株*Fn* ATCC

31647、ATCC 25586及びJCM 12990の培養液を終濃度 $1 \times 10^5$  cfu/wellとなるように96 wellプレートに播種した。ファージ培養液を*Fn*標準株にそれぞれ添加後、37°Cで2日間嫌気培養を行い、OD595測定による生育の確認及びATP発光アッセイによる生菌数の測定を行った。

【結果・考察】OD595及びATP発光アッセイの値は*Fn* ATCC 31647及びATCC 25586で減少し、JCM 12990では有意差は見られなかった。以上の結果から*Fn*ファージは*Fn* ATCC 31647及びATCC 25586に感染し、溶菌させることで抗菌活性を有することを確認した。

### P3-33 「Treg-Dependent Defense Mechanisms in Mice Resistant to Colitis.」

池田 恵莉<sup>1</sup>、川端 重忠<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大 院歯 微生物)

ヒトには多数の微生物が共生しており、口腔や腸はその代表である。常在細菌は宿主免疫の成熟に関与しており、細菌叢構成の異常（ディスバイオーシス）は宿主免疫のバリア機能低下に結びつく。炎症性腸疾患や歯周病など多くの炎症性疾患の病因の一つがディスバイオーシスだとも考えられているが、その機序には未だ不明な点が多い。著者らは、先行研究から腸炎に抵抗性を示す野生型マウス垂系統を同定している。その腸炎抵抗性マウスを利用して、炎症に対する宿主の防御機構において、細菌叢とその代謝物が果たす役割についてメカニズムを探索した。

我々は、マウスに腸管の炎症と腸内細菌叢のディス

バイオーシスを引き起こすデキストラン硫酸ナトリウム塩（dextran sulfate sodium: DSS）誘導性腸炎モデルを実験に用いた。腸炎抵抗性マウスではDSS腸炎誘導後に、免疫系の過剰反応を抑制する役割を持つFoxp3+制御性T (Treg) 細胞が大腸局所で増加していた。さらに、腸管粘膜の保護作用を持ち、Treg細胞の誘導能も有する腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸は、DSS誘導後にも十分な量が産生されていた。

以上から、細菌叢やその代謝物である短鎖脂肪酸が炎症抑制性のTreg細胞を誘導していることが、腸炎抵抗性マウスの疾患防御メカニズムであるということが示唆された。

### P3-34 「S46 ファミリージペプチジルペプチダーゼ (DPP) 11 は DPP7 から進化した」

根本 孝幸<sup>1,2</sup>、澤瀬 萌々<sup>1</sup>、白倉 佳奈<sup>1</sup>、根本 優子<sup>1,2</sup>、三浦 利貴<sup>2</sup>、石河 太知<sup>2</sup>、藤田 優子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 長大 歯 小児、<sup>2</sup> 岩医大 歯 分子微生物)

歯周病菌*Porphyromonas gingivalis*は4種類のジペプチジルペプチダーゼ(DPP)により、栄養タンパク質からほぼ全てのジペプチドを生成し、これにより増殖が担保される。DPP7とDPP11はS46ファミリーに分類され、両者はアミノ酸配列において37%の相同性を示すことから共通の祖先遺伝子から生じたものと考えられる。本研究では両者の進化過程を解析し、一方だけ存在した時代に菌はどのようにジペプチド分解を行っていたのか推察した。

【方法】(i)リコンビナントDPP7のDPP11基質、およびDPP11のDPP7基質への反応性を検討した。(ii)DPP7とDPP11のS 1 アミノ酸 (DPP7: Gly666, DPP11: Arg673) を相互変異し、基質特異性の変化を解析した。

【結果】DPP11はDPP 7基質を全く分解せず、一方DPP7はDPP11基質 (P1-Asp, P1-Glu) をDPP11の約3%の活性で分解した。DPP7Gly666ArgはDPP7活性を失ったが、DPP11基質、特にP1-Asp基質に対しては野生型の7倍の活性を示した。一方、DPP11Arg673Glyは活性を失った。【考察】S46ファミリーの原初遺伝子はdpp7であり、当初はP1-AspやP1-Glu基質をDPP7本来の低活性で分解したと推察される。dpp7遺伝子の重複後、Gly666のコードン(GGX)でGC変異が生じ、Arg666(CGX)への1アミノ酸置換が生じた。その結果、変異型DPP7はP1-Aspに対して特異的に活性を高め、その後現在のdpp11遺伝子に進化したと推察される。

## P3-35 「マスト細胞における骨代謝関連遺伝子の発現に対する LPS の影響の解析」

千葉 紀香<sup>1</sup>、大西 智和<sup>1</sup>、松口 徹也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 鹿大 院医歯 口腔生化)

マスト細胞はIgE結合性のFc受容体を持ち、抗原抗体反応により惹起されるアレルギー喘息などのI型アレルギーの責任細胞として広く知られているが、元来は寄生虫に対する生体防御を担う細胞である。近年には、リポ多糖 (LPS) などのエンドトキシンの分子パターン認識受容体であるToll-like receptorを発現しており、各種サイトカインなど含むケミカルメディエーターを産生し、生体防御に重要な役割を果たす細胞であることが分かってきている。マスト細胞は広範に分布しており、興味深いことに皮質骨内部に数多くのマスト細胞が存在していることや、重度歯周病の炎症部位にマスト細胞が多数存在していることが報告されている。これまで我々はマスト細胞においてLPS刺

激により誘導されるサイトカインなどの免疫関連分子の発現・産生に関して様々な解析を行い報告してきた。今回、我々はマスト細胞においてIgEクロスリンク刺激により誘導されるオステオポンチン (OPN) がLPSにより増強されることを見いだした。OPNは非コラーゲン性の骨基質であるが、近年では生理活性をもつサイトカインとして考えられている。マスト細胞株であるMC/9にIgEを結合させ、そこに抗原であるDNP-BSAをLPSと同時に添加した後の遺伝子発現をリアルタイムPCRで解析したところ、LPS存在下では非存在下に比較して倍の値を示した。これはアレルギー疾患などの増悪因子としての菌体成分の関与の新たな可能性を示している。

P3-36 「*Rothia dentocariosa* LX16 における遺伝子改変技術の構築 Construction of Gene Modification Techniques for *Rothia dentocariosa* LX16」梅燁 (Meiye) 宣 (Xuan)<sup>1</sup>、真下 千穂<sup>1</sup>、南部 隆之<sup>1</sup>、円山 由郷<sup>1</sup>、瀧川 博樹<sup>1</sup>、  
沖永 敏則<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 大歯大 微生物)

【背景】*Rothia*属細菌は、う蝕や歯周病のない口腔に多く存在することが知られており、口腔健康増進に寄与していると考えられる。その一因として、本菌が有する硝酸還元性があげられる。すなわち、硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元し、口腔内で生成された一酸化窒素が抗菌効果を示すとされる。しかし、*Rothia*属細菌では遺伝子改変技術が確立されておらず、この特性を遺伝子レベルで明らかにした報告はない。

【目的】我々は、健常人の唾液から*R. dentocariosa* LX16 (*Rd* LX16)を分離し、pJRD215による形質転換及びトランスポゾン挿入による遺伝子改変に成功した。本研究では、*Rd* LX16の形質転換効率を向上させる条件を検討した。

【方法】HIB培地のpHを調整(6.5、7.0、7.5)し、菌の増殖曲線を測定した。さらに、グリシン添加(0、0.5、0.75、1%)の影響も評価した。以上の結果を基に、培養時間とプラスミドDNA量との組み合わせにより最適な条件を導いた。

【結果】pH 7.0が最も良好な増殖を示した。グリシン添加では濃度依存的に増殖が抑制された。導出された最適条件は、pH 7.0、OD<sub>600</sub>= 0.4、DNA量20 - 30 ngであった。形質転換効率は、これまでの17.5倍であった。

【考察】本研究により、*Rd* LX16における形質転換条件を改良できた。今後はグリシン添加による細胞壁脆弱化等の条件を加えて、さらに検討する予定である。

## P3-37 「化膿レンサ球菌における温度感受性 ScpA 産生機構の解析」

右田 裕乃<sup>1</sup>、松本 愛理<sup>1</sup>、大貝 悠一<sup>1</sup>、中田 匡宣<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 鹿大 院医歯 口腔微生物)

化膿レンサ球菌はヒトを宿主として咽頭炎や膿瘍疹などの局所性化膿疾患や侵襲性感染症を惹起する。本菌が初発感染部位から組織深部へ伝播する過程において、菌体周囲の温度は変化し、特定の細菌因子群の産

生量は温度変化により制御される。本研究では、皮膚感染症由来の臨床分離株を用いて、温度感受性に産生される細菌因子を探索した。体内深部と初発感染部位の温度を反映する 37°C と 25°C で対数増殖期まで培

養した菌体からムタノリジン処理により細胞壁画分を調製し、質量分析により、37°C で検出量が増加する因子として補体分解酵素 ScpA を挙げた。抗 ScpA マウス抗血清を用いて、細胞壁画分と培養上清画分における ScpA を検出し、温度感受性の ScpA 産生を確認した。*scpA* mRNA 量を定量 PCR 法により解析した結果、培養温度の上昇に伴う mRNA 量の増加が認められた。また、*scpA* mRNA 5' 側の非翻訳領域と一致する

ノンコーディング RNA の発現は*scpA* のそれと同様に 37°C でより認められたため、温度感受性の ScpA 産生は転写レベルで制御されることが明らかになった。さらに、*scpA* の正の転写因子である Mga の産生量は、25°C での培養時と比較して、37°C で増加した。以上の結果から、化膿レンサ球菌は感染過程で温度変化を感知し、Mga 産生量の変化を介して ScpA 産生量を調節することが示唆された。

### P3-38 「ラクトフェリンはヒト肺がん由来細胞 A549 において TLR3 活性化による III 型インターフェロン産生を抑制する」

小林 美智代<sup>1</sup>、前田 豊信<sup>2</sup>、遊佐 淳子<sup>3</sup>、加藤 靖正<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔衛生、<sup>2</sup>奥羽大 歯 口腔生化、<sup>3</sup>奥羽大 歯 口腔病理)

【目的】2019年度末から重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2 (SARS-CoV-2)感染症が公衆衛生上の大きな問題となっている。一方、ラクトフェリンは、抗ウイルス作用のある多機能タンパクである。我々は、ウイルス由来の二重鎖RNA を認識するTLR3の活性化によるIII型インターフェロン(IFN)産生とウシラクトフェリン(bLF)との相互作用、およびSARS-CoV-2感染量の変化について検討した。

【材料と方法】宿主細胞は、ヒト肺癌由来のA549細胞におけるII型膜貫通型セリンプロテアーゼとアンジオテンシン変換酵素2の過剰発現株 (A549-TMPRSS2-ACE2)を用いた。TLR3のアゴニストであるPoly(I:C)とbLFで刺激したA549-TMPRSS2-ACE2の培養上清を新たなA549-

TMPRSS2-ACE2と6時間培養したのち、SARS-CoV-2のスパイクタンパクを持つ疑似ウイルスを感染させ、感染量を比較した。

【結果】Poly(I:C)で活性化された培養上清は、SARS-CoV-2疑似ウイルスの感染を、濃度依存的に抑制した。bLFは、Poly(I:C)活性化によるIII型インターフェロン(IFN $\lambda$ 1/2/3)産生を減少させた。しかし、Poly(I:C)刺激による疑似ウイルス感染抑制を、阻害しなかった。

【考察】今回我々の結果は、SARS-CoV-2感染においてbLFが過剰なIFN $\lambda$ s産生を抑制しながら、ウイルス感染を阻害する可能性を示した。

【非会員共同研究者】

谷 英樹 (富山県衛生研究所ウイルス部)

### P3-39 「EGFR 陽性舌癌および顎下腺癌細胞に対するナノボディを用いた近赤外光免疫療法」

白井 愛<sup>1</sup>、山口 晴香<sup>2</sup>、森田 貴雄<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 放射線、<sup>2</sup>日歯大新潟 生化)

【目的】近年、光感受性物質(IR700)の複合体と近赤外光を用いた近赤外光免疫療法(NIR-PIT)が注目されている。本治療法は癌細胞特異的に細胞膜を破壊する画期的な治療法だが、治療の組織深達度が低いなどの問題がある。また、Nanobodyはラクダ科動物の重鎖抗体に由来する抗原結合ドメインで、分子量は15 kDaと小さいため高い組織透過性が期待される。本研究では、頭頸部癌の上皮成長因子受容体 (EGFR)を標的とし、Nanobody を用いたNIR-PITの有効性を検討した。

【材料・方法】細胞実験にはEGFR(+)舌癌細胞 (SAS)とEGFR(+)顎下腺癌細胞 (A253)、EGFR(-)乳癌細胞

(MCF-7)を用いた。抗EGFR NanobodyにIR700を結合させて抗EGFR Nanobody-IR700Dye複合体を作製しNIR-PITを行った。PrestBuleで細胞生存率を測定し、治療前後の細胞像を観察した。

【結果】抗EGFR Nanobody-IR700Dye複合体を用いたNIR-PITは、SAS細胞・A253細胞の細胞膜を選択的に破壊し、ブレブ形成を伴ってほぼすべての細胞が死滅した。

【結論】抗EGFR Nanobody-IR700Dye複合体を用いたNIR-PITは、EGFR陽性頭頸部癌の効果的な治療法となることが示唆された。

### P3-40 「ATAD5 の機能不全によってアルキル化剤感受性が増強されるメカニズムの解明」

得居 果乃<sup>1</sup>、藤兼 亮輔<sup>1,2</sup>、日高 真純<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 福歯大 細胞分子生物、<sup>2</sup> 福歯大 口腔医学研究セ)

ゲノム恒常性はDNA損傷に応答した様々な修復系により維持されている。アルキル化損傷のうちO6-メチルグアニン(O6-meG)は、シトシンと同程度にチミンと誤対合(O6-meG/T)するため、修復されずに複製が進むと突然変異を引き起こす。これを防ぐため、ミスマッチ修復(MMR)はO6-meG/Tを認識して結合し、MMR依存のDNA損傷応答と細胞死を引き起こす。

様々なDNA損傷に対する感受性に影響する遺伝子の網羅的解析の結果、ATAD5欠損がアルキル化剤にのみ高感受性を与えることが示されている(Cell (2020), vol. 182, p481)。ATAD5はPCNAをクロマチンから取り除き、DNA複製、修復、細胞周期を円滑に進行させる因子である。我々はATAD5がどのようにO6-meG損傷応答に関わるか検討した。

子宮頸がん細胞由来HeLa MR細胞で、ATAD5遺伝子をノックダウン(KD)した細胞はアルキル化剤であるMNUに対して高感受性となった。ATAD5-KDによりPCNAのクロマチンへの結合量が増加し、それに伴ってMNUに反応したMMR因子の結合量も増加した。一方で、MMR因子のうちMSH2をKDするとMNU感受性がなくなることから、ATAD5-KD細胞では過剰に集積したMMRによって損傷応答が増強されていると予想された。この感受性の増強は53BP1集積で示される二本鎖切断の増加によるものであることもわかった。MMR陽性がん細胞では、ATAD5活性を変化させることで、アルキル化感受性を増強し効率よく細胞死を誘導することができると考えられる。

### P3-41 「Dynamic instability of microtubules through intracellular transport protein Rab11 in oral cancer」

Xueming Li<sup>1</sup>、武部 克希<sup>1</sup>、吉田 国弘<sup>1,3</sup>、土佐 郁恵<sup>2</sup>、江口 傑徳<sup>1</sup>、大原 直也<sup>2</sup>、岡元 邦彰<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Okayama Univ, Dept Dent Pharmacol、<sup>2</sup>Okayama Univ, Dept Oral Microbiol、<sup>3</sup>Okayama Univ, Dept Oral Maxillofac Surg)

Background: Microtubules are a key component of the cytoskeleton and play a key role in biological processes such as cell division, migration and vesicle transport. Rab GTPases are the largest branch of the Ras superfamily and affect the occurrence and progress of tumors through regulating vesicle transport. Recently, the functional interaction between Rab11 and the microtubules has gradually attracted attention. In this time, we attempted to elucidate their molecular mechanisms.

Methods: Western blot and immunofluorescence (ICC) analyses were employed to measure the expression levels of  $\alpha/\beta$ -tubulin using Rab11

forced-expression (OE) and knockdown (sh) cell lines of SAS cells, human oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell line.

Results and Discussion: In the OE groups, the expression of  $\alpha/\beta$ -tubulin decreased, while the opposite trend was observed in the sh groups. ICC experiments revealed that in the Rab11b knockdown group, the fluorescence intensity of  $\beta$ -tubulin increased and accumulated around the nucleus. Our findings demonstrate that Rab11 critically regulate  $\alpha/\beta$ -tubulin expression and localization in OSCC, suggesting their functional interplay in microtubule dynamics.

**P3-42 「C1r/C1s-ERK/AKT シグナルは口腔扁平上皮癌の増殖を促進する C1r/C1s-ERK/AKT signaling promotes oral squamous cell carcinoma cell proliferation」**

藤本 龍史<sup>1,2</sup>、Thinh Truong<sup>1</sup>、藤井 慎介<sup>1,3</sup>、清島 保<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理、<sup>2</sup>九大 院歯 口腔顎顔面外科、<sup>3</sup>九大 院歯 DDR 研究セ)

発癌過程において腫瘍細胞は複数の遺伝子変異を蓄積し、悪性腫瘍へと進行する。口腔がんでもっとも頻度の高い口腔扁平上皮癌 (OSCC) は、そのほとんどが粘膜上皮から発生し、まれに歯原性上皮や唾液腺から発生する。しかし、これらの発生母地の異なる癌において発生機序の共通点や相違点に関する詳細は不明である。最近、私共は、2種類のOSCC (粘膜上皮由来および歯原性上皮由来) の病理標本を用いて網羅的に遺伝子発現様式を解析した。その結果、これらのOSCCでは「COMPLEMENT」遺伝子セットが共通してエンリッチされていた。一方、OSCC腫瘍形成における補体系の機能は不明である。そこで本研究では、OSCC発生における補

体成分の影響について解析した。siRNAおよびshRNAを用いた実験により、古典的補体経路の構成要素であるC1rおよびC1sの発現が、ERKおよびAKTの活性化を介して、*in vitro*および*in vivo*において、OSCCの増殖を促進することを見出した。また、病理組織標本を用いて免疫組織化学的に検討したところ、C1sは腫瘍部において高発現し、リン酸化ERKとKi-67と共局在を示した。これらの結果から、発生母地の異なるOSCCにおいて共通した腫瘍形成機構があり、新たにC1r/C1s-ERK/AKTシグナルがOSCCの腫瘍形成を促進することが示唆された。

**P3-43 「口腔癌転移に関わる腫瘍リンパ管の形質変化」**

工藤 朝雄<sup>1</sup>、佐藤 かおり<sup>1</sup>、埴 太宥<sup>1</sup>、田谷 雄二<sup>1</sup>、添野 雄一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理)

【背景と目的】癌組織中の異常なリンパ管 (腫瘍リンパ管) は、リンパ節転移の増加と関連することが知られている。近年、腫瘍微小環境中の間質細胞が形質転換を起こし、がん関連線維芽細胞 (CAF) とリンパ管内皮の中間的な性質を有する細胞や、リンパ管様の性質を獲得した腫瘍随伴マクロファージ (TAM) がリンパ管新生や癌の浸潤・転移に重要な役割を示す可能性が示唆されている。本研究では、口腔癌における腫瘍リンパ管のプロファイルとその構成の違いが、頸部リンパ節転移に与える影響を検討した。

【方法】口腔癌モデルマウスの移植癌組織のパラフィン包埋標本に対して、リンパ管内皮 (Lyve1)、TAM

(CD204)、CAF (FAP、 $\alpha$ -SMA) の各マーカーを用いて多重免疫染色を実施、画像解析により癌組織中のリンパ管密度、腫瘍リンパ管 (TAM/CAFマーカー陽性) の局在と頸部リンパ節転移との関連性を評価した。

【結果と考察】口腔癌モデルマウスの移植癌組織では、健常組織と比較してリンパ管密度の増加が生じていた。また、低転移性細胞株と比較して、高転移性細胞株の癌組織ではリンパ管密度が高く、CAF/TAMマーカーに陽性を示す腫瘍リンパ管も検出された。これらの特異的形質を有するリンパ管の出現が口腔癌の頸部リンパ節転移を促進している可能性が示唆された。本研究はJSPS科研費 (課題番号: 25K12995) の助成を受けた。

**P3-44 「口腔癌における病変部細菌叢と臨床的因子、病理組織学的悪性度との関連についての解析研究」**

岡田 康男<sup>1</sup>、佐野 拓人<sup>1</sup>、大野 淳也<sup>1</sup>、東理 頼亮<sup>1</sup>、佐藤 拓一<sup>2</sup>、戸谷 収二<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>日歯大新潟 病理、<sup>2</sup>新潟大 院保健 臨床化学、<sup>3</sup>日歯大新潟病院 口外)

【緒言】口腔内細菌叢の異常により細菌が産生する癌増殖・抑制関連因子にもバランス異常をきたし癌発生に至ると考えている。そこで、口腔癌における細菌叢のDNA塩基配列・分子系統解析 (16S rRNA) と臨床病理組織学的関連について評価した。

【対象・方法】口腔癌患者 (腫瘍群) 40例。病巣表面をスワブで擦過して細菌を採取し、T分類、頸部リンパ節転移 (N分類)、Anneroth組織学的悪性度と菌種、相対量、分子系統解析、構成割合の関連について検討した。

【結果と考察】T分類では、Tが進む程、PrevotellaやFusobacteriumなどの割合が増加し、StreptococcusやHaemophilusなどが減少していた。N分類では、N(+)でFusobacteriumなどの割合が増加し、StreptococcusやNeisseriaなどが減少していた。組織学的悪性度では、合計点が14点以上の場合に、Prevotellaなどの割合が増加し、FusobacteriumやHaemophilusなどが減少していた。多様性解析では、Chao1とFaith's Phylogenetic Diversityにおいて、患者の非腫瘍舌背から採取した細菌（患者非腫瘍舌背群）に比べ、腫瘍

群で高い値を示した。

以上より、口腔内細菌叢のバランス破綻が口腔癌の増殖、進展や組織学的悪性度の高度化に関与していることが示唆された。

本研究は本学部倫理審査委員会の承認を得て行った（ECNG-R-415）。

本研究はJSPS科研費22K10204の助成を受けて行った。

【会員外共同研究者】小根山隆浩（日歯大新潟病院口腔外科）

### P3-45 「口腔扁平上皮癌細胞の MALT1 転写制御因子のスクリーニング」

千葉 忠成<sup>1</sup>、美原 希美<sup>1</sup>、根岸 翼<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>日歯大 生命歯 生化)

Mucosa-associated lymphoid tissue 1 (MALT1) は、血球系で、NF- $\kappa$ Bの活性化によるシグナル伝達機構は知られているが、上皮系ではその制御機構は殆どわかっていない。我々はこれまでに、口腔上皮癌細胞のMALT1が発現量の増加に伴い、癌細胞の浸潤性、遊走能、細胞増殖能などを抑制することを見出した。本研究では、それらの制御機構を明らかにするためにMALT1のプロモーター領域の転写制御因子の存在と関与に関して調べた。MALT1のエクソン1を含むプロモーター領域 -2,500から +700とその領域の5'側から段階的に欠落させた転写活性用ベクター（pGL4.10を使用）を作成し、それらの転写活性の変動をレポーターアッセイにて調べた。結果、MALT1の転写活性で、+491か

ら +501では抑制に、+672から+676では増大する領域が存在ことがわかった。それらの領域に結合する転写因子のデータベース検索を行ったところ、+491から+501でRELA (p65)、+672から+676でc-Mybを見出した。p65は、MALT1siRNAおよび特定した領域の欠失および塩基置換転写活性用ベクターを作成し、レポーターアッセイを行ったところ転写活性が上昇した。また、ChIPアッセイおよびウエスタンブロットで、MALT1発現の抑制にp65が関与していることが確認できた。さらにMALT1の転写活性の増大する領域 +672から +676に結合する転写因子をデータベース検索し、E2F-1、STAT-4、TFII-I、c-Mybを見出した。

### P3-46 「EGFR 阻害薬による口腔粘膜増悪モデルの構築」

芝 典江<sup>1</sup>、高橋 萌衣<sup>2</sup>、宮内 睦美<sup>1</sup>、太田 耕司<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup> 広大院医系科学、<sup>2</sup> アース製薬 研究開発本部 研究部)

【緒言】分子標的治療薬であるエルロチニブは、非小細胞肺癌や膵臓癌の治療に用いられる上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬であり、主な副作用の一つに口腔粘膜増悪が挙げられる。その発症機序は、エルロチニブがEGFRを阻害してがん細胞の増殖を抑制する一方、正常な口腔粘膜のターンオーバーにも影響を及ぼし、結果として粘膜障害を引き起こすことに起因すると考えられている。本研究では、エルロチニブによる口腔粘膜増悪モデルの構築および口腔粘膜増悪に対する洗口液の有効性検証を目的とした。

【材料・方法】1)雄性Syrian系ハムスターを用いエルロチニブを連用することで口腔粘膜増悪が有意に増悪する条件を探索した。2)確立した口腔粘膜増悪モデル

を用い、殺菌成分（塩化セチルピリジニウム）および抗炎症成分（グリチルリチン酸二カリウム、トラネキサム酸）が配合された洗口液の予防的な連用が口腔粘膜増悪に与える有効性を肉眼所見に基づく指標により評価した。

【結果】1) エルロチニブの連用投与により口腔粘膜増悪が有意に増悪する条件を確立した。2) 確立した口腔粘膜増悪モデルを用いて、口腔粘膜増悪に対する洗口液の有効性を検証し、洗口液の予防的連用が口腔粘膜増悪を有意に軽減することを確認した。

【結論】エルロチニブにより口腔粘膜増悪する動物モデルを構築し、洗口液がエルロチニブにより増悪された口腔粘膜増悪を軽減することを確認した。

**P3-47 「Comparative in situ characterization of erythroid cells found throughout tongue and circulation of fetal mice」**

Masataka Sunohara<sup>1</sup>、Kazuto Shimada<sup>1</sup>、Miyoko Yokoyama<sup>1</sup>、Kingo Suzuki<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, Dept Anat)

During mouse development, the primitive erythroid cells produced in the extraembryonic blood islands of the yolk sac begin to circulate as nucleated erythroblasts around embryonic day 9.5 (E9.5). On the other hand, the definitive erythroid progenitors derived from the yolk sac and arterial vessels colonize the fetal liver, where they mature into small, enucleated erythrocytes being released into circulation at E11.5. However, erythroblasts are also generated in situ through hemovasculogenesis within developing fetal organs, being spatiotemporally distinct from the above typical hematopoiesis. In this study, comparative in situ protein

expression analyses of erythroid cells in developing tongue and circulation of fetal mice were performed at E12.5 and E14.5, using immunofluorescence staining of several marker proteins for erythroid cells. We show that erythroblasts in the tongue are primitive and highly express CD31, mature more slowly than those in the circulation. Primitive erythroblasts produced together with immature vascular endothelial cells via hemovasculogenesis in the developing tongue may perform functions other than oxygen supply, such as regulating vascular remodeling.

**P3-48 「Transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) によるスーパーエンハンサー (SE) の誘導と上皮間葉転換遺伝子発現の制御」**

武田 佳奈<sup>1,2</sup>、長岡 良礼<sup>2</sup>、八田 光世<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>福歯大 矯正、<sup>2</sup>福歯大 細胞分子生物 分子機能)

エンハンサーは転写活性化を担うDNA領域であり、そのエンハンサーが複数隣接する巨大な領域はSEと呼ばれている。SEにはBRD4が集中的に存在し、フェノタイプ特異的な標的遺伝子の発現に重要である。ケラチノサイトが上皮間葉転換(EMT)を起こす際にはEMT関連遺伝子の発現が制御される。しかしそのフェノタイプ制御には不明な点が多い。そこでケラチノサイトにおけるTGF- $\beta_1$  誘導性EMT中のSEの動態を調べた。

結果としてH3K27Ac抗体ChIP-SeqデータによりSEを同定した。EMT誘導によって新たに391個のSE(TGF- $\beta_1$  誘導性SE)が形成されることが明らかになった。TGF- $\beta_1$  誘導性

SEからは「細胞周期」「細胞死」「細胞外マトリックス」関連のG0-termが抽出された。またFN1、SERPINE1、SOX4遺伝子領域でTGF- $\beta_1$  誘導性SEが観察された。次に免疫細胞化学染色によりBRD4はHaCaT細胞の核内に局在し、EMT誘導でも変化しなかった。さらにBRD4阻害剤JQ-1によりFN1やSERPINE1などのTGF- $\beta_1$  誘導性EMT関連遺伝子の発現レベルは抑制されるがSOX4の誘導は影響を受けないことが明らかになった。以上のことから、SEの再編成とBRD4の核内分布はHaCaTにおけるTGF- $\beta_1$  誘導性EMTの転写調節に重要であることが示唆された。

### P3-50 「歯の発生における *Irx1* の発現とその機能に関する研究」

磯野 加奈<sup>1</sup>、松山 加乃<sup>1</sup>、山崎 英俊<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>三重大 医 幹細胞発生学)

歯の発生は歯上皮と歯間葉の相互作用によって進行し、発生初期に口腔上皮の一部が歯上皮に分化することが知られている。これまで、歯堤状期に*Pitx2*などの転写因子が歯上皮の運命決定に関与するという報告があるが、口腔上皮から歯上皮への分化メカニズムは十分に解明されていない。本研究では、E12.5マウスの蕾状期における歯上皮と口腔上皮の遺伝子発現の違いを明らかにし、歯上皮に特異的に発現する分子とその機能を明らかにすることを目的とした。

E12.5マウスの新鮮凍結切片を作製し、歯胚の歯上皮と口腔上皮をマイクロダイセクションで単離、RNAを採取してRNA seqを実施した。その結果、歯上皮で

強く発現している*Irx1* に着目した。口腔上皮及び歯上皮細胞における*Irx1*の機能を明らかにするため、*hk14-Irx1-P2A-eGFP* マウスを作成した。このマウスでは*Irx1*の発現をGFPで検出可能であり、現在、歯の発生における*Irx1*の過剰発現による影響を解析しているところである。

*Irx1*は外エナメル上皮に特異的に発現し、内エナメル上皮細胞には発現しないという報告がある。今後、内エナメル上皮における*Irx1*の持続発現がエナメル芽細胞への分化にどう関与するかを、*Amelx-tdTomato*マウスと*hk14-Irx1-P2A-eGFP*マウスを交配して検討する予定である。

### P3-51 「胎生期の低酸素負荷による口唇裂および指趾形成異常発症の高感受性時期の検討」

中富 満城<sup>1</sup>、楠山 譲二<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>産医大 産業保健 人間情報、<sup>2</sup>科学大・院医歯 生体情報継承)

【背景】ヒトの口唇口蓋裂は全身の先天異常の中でも特に高頻度で起こり、しばしば指趾の形態形成異常を併発する事が知られている。我々はこれまでに遺伝要因としての*Msx1*遺伝子変異マウスと環境要因としての胎生期の低酸素負荷を組み合わせ、同一胎仔で口唇裂と指趾形成異常を併発する新規研究モデルを開発してきた。本研究では催奇形性の高感受性時期についての検討を行った。

【方法】*Msx1*遺伝子変異マウスの妊娠母獣に対して10%酸素濃度下で48時間飼育して低酸素負荷を与え、胎齢後期に胎仔を摘出して顔面および指趾の形態異常の有無を解析した。低酸素時期を胎齢10～12日(A群)と

11～13日(B群)に分け、比較を行った。

【結果】*Msx1*ホモ変異マウス(*Msx1*<sup>-/-</sup>)の胎仔について、口唇裂はA群のみに認められた(発症率50%)。*Msx1*<sup>-/-</sup>の指趾形成異常の発症率についてはA群(83.3%)よりもB群(28.6%)において有意に低下した。

【考察】本研究の結果より、遺伝-環境相互作用による口唇裂と指趾形成異常の催奇形性については、B群よりもA群の方が高感受性時期である事が明らかとなった。今後は胎齢9～11日(C群)についても同様の実験を行って比較検討する。これらの成果によりヒトの妊娠中の低酸素負荷に対する高感受性時期についての示唆が得られると期待される。(COI:なし)

### P3-54 「多能性幹細胞が示すストレス超感受性の分子機構の解析」

梅野 正博<sup>1,2</sup>、藤兼 亮輔<sup>2,3</sup>、日高 真純<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup>福歯大 矯正、<sup>2</sup>福歯大 分子機能、<sup>3</sup>福歯大 口腔医学研究セ)

ヒト多能性幹細胞(iPS細胞)は高度なゲノム恒常性維持機構を持つと推定されている。近年、胚性幹細胞(ES細胞)はヒト子宮頸がん細胞由来で知られるHeLa MRと比較すると早いタイミングでかつ、低濃度の薬剤処理で細胞死を起こすことが判明した。そこで私はこの幹細胞特有の感受性の高さのメカニズムを明らかにするため、iPS細胞をアルキル化処理した際の細胞応答を調べた。

正常iPS細胞とミスマッチ修復(MMR) タンパクの一つであるMSH2をノックアウトしたMSH2欠損iPS細胞( $\Delta$ MSH2)を用意した。サバイバルアッセイによりiPS細胞はHeLa細胞と同様にMMR依存的な細胞死を起こすこと、またHeLa細胞と比較してアルキル化剤への感受性が高いことを確認した。次にフローサイトメトリー、ウエスタンブロットにてこの感受性はアポトーシス誘導に起因するものであることを確認した。また、DNA

損傷応答を示すATR/CHK1キナーゼが活性化すること、1回目の細胞周期のG2/M停止後にてアポトーシスを誘導することを確認した。これらの反応はHeLa MRと比較してiPS細胞の細胞死のタイミングは早いものであった。このことからDNA損傷が生じた際、iPS細胞の生

存にはATRの働きが大きく関与している可能性が示唆された。また、iPS細胞はゲノム修復ではなく細胞死によりゲノムの恒常性を維持している可能性が示唆された。

### P3-56 「不正咬合を伴う糖尿病モデルマウス腎尿細管における SGLT2・GLUT2 の発現異常について」

梶原 弘一郎<sup>1</sup>、沢 禎彦<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 福歯大 成長発達 矯正、<sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)

不正咬合と全身疾患との関連が注目される中、咬合支持の低下が糖尿病発症や増悪に関与する可能性が指摘されている。しかし、歯の喪失や不正咬合が糖尿病の病態に与える影響を検証した研究は少ない。高血糖状態では腎近位尿細管においてSGLT2およびGLUT2の発現が亢進し、過剰なグルコース再吸収が行われる。本研究では、人為的に不正咬合を作製した糖尿病モデルマウスを用いて、不正咬合が腎SGLT2およびGLUT2の発現に与える影響を評価し、矯正歯科学的観点から不正咬合が糖尿病増悪の危険因子となりうるかを検討した。STZ投与糖尿病モデルマウスに対し、右側臼歯部咬頭エナメル質の削合によって擬似的不正咬合を作製した。血糖値を測定し、腎SGLT2およびGLUT2のmRNA発

現量をreal-time PCRで解析した。さらに、免疫組織化学染色により両輸送体の発現部位と発現量を観察した。不正咬合を伴うSTZ投与糖尿病モデルマウスはすべて血糖値600mg/dlを超える重度糖尿病状態に達した。また、SGLT2およびGLUT2の発現は、STZ投与糖尿病モデルマウスで不正咬合の有無にかかわらず健常マウスよりも高い血糖値を示した。特に不正咬合を有する糖尿病モデルマウスでは、両輸送体の腎尿細管での発現が顕著に認められた。これらの結果から、不正咬合が高血糖状態下でのSGLT2およびGLUT2の発現促進に関与し、糖尿病の病態を悪化させる可能性が示唆された。

### P3-57 「細胞老化に伴うエピジェネティック関連核タンパク質の局在および発現変動の解析：ヒト皮膚線維芽細胞を用いた検討」

浅見 瑠璃<sup>1</sup>、島村 瑠々花<sup>1</sup>、坂上 宏<sup>2</sup>、天野 滋<sup>2</sup>、佐藤 卓也<sup>1</sup>、坂東 健二郎<sup>3</sup>、  
崎山 浩司<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 明海大 歯 解剖、<sup>2</sup> 明海大 歯、<sup>3</sup> 明海大 歯 生化)

老化は、加齢や酸化ストレス、DNA損傷など複数の要因により進行する生物学的現象であり、種々の疾患の基盤となることから、その分子機構の解明が求められている。中でも、核内タンパク質の局在や機能の変化は、エピジェネティックな制御や転写活性の変動に深く関与するが、コアヒストン、ヒストンH1およびHigh-Mobility Group (HMG) タンパク質の老化過程における局在や発現変動に関する先行研究は乏しいため、これらについて検討した。本研究では、継代に伴うテロメアの短縮によって細胞周期が停止し、最終的に細胞増殖が停止するという特性から、*in vitro*における細胞老化モデルとして確立されている、ヒト正常二

倍体皮膚線維芽細胞を用いた。細胞をPBS(-)で洗浄後、5%過塩素酸を加えHMGB、HMGNやヒストンH1を抽出した。残渣に含まれるコアヒストンは0.4 N硫酸で抽出した。これらにトリクロロ酢酸 (TCA) を加え、沈殿として回収した。SDS-PAGEおよび酢酸/尿素電気泳動法により分子量を推定し、ウェスタンブロッティングによる定量解析を行った。細胞老化に伴い細胞容積が増大することが確認されたので、セルソーターを用いてsubG1、G1、G<sub>2</sub>+M期への分布を評価した。核内タンパク質の老化における量的・質的変動やAGEsとの相互作用について発表する。

## P3-58 「低分子 PAC 1 受容体選択的遮断薬が慢性ストレス負荷マウスに与える影響」

早田 敦子<sup>1,2,3</sup>、豊田 博紀<sup>4</sup>、吾郷 由希夫<sup>5</sup>、加藤 隆史<sup>6</sup>、田熊 一徹<sup>1,2,3</sup>(<sup>1</sup> 阪大 院歯 薬理、<sup>2</sup> 阪大 院薬 神経薬理、<sup>3</sup> 阪大 院連合小児発達、<sup>4</sup> 愛院大 歯 生理、<sup>5</sup> 広大 院歯 薬理、<sup>6</sup> 阪大 院歯 生理)

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) は、多様な生理活性を有し、精神疾患、特に精神的なストレス応答に中心的な役割を果たすことが示されている神経ペプチドである。一方、内側前頭前皮質 (mPFC) は、情動や認知機能などを司る脳領域であり、うつ病患者において構造的・機能的な異常を示す知見が蓄積されてきた。近年、mPFCのPACAPシグナルがストレスによる負の情動行動に関与することが示されているが、その詳細なメカニズムは未だ不明である。そこで本研究では、mPFCのPAC1シグナル遮断が、慢性ストレスマウスの情動行動や神経活動に与える影響を明らかにすることを目的とし、うつ病モデルマウスに対するPACAP選択的受容体PAC1の低分子遮断薬

(PA-915) の効果を行動薬理学的、電気生理学的に解析した。

PA-915 の経口投与は、うつ病モデルとして汎用される反復社会的敗北ストレス (RSDS) マウスで観察される社会性の低下やシヨ糖嗜好性の低下、強制水泳試験での無動時間の増加を改善した。また、PA-915 は、RSDSマウスのmPFC第5層の錐体神経細胞において、投与直後から自発性抑制性シナプス後電流の頻度を減少させた。すなわち、PAC1遮断薬が、mPFCの神経活動を直接的に制御することを見いだした。これらの知見は、mPFCのPAC1シグナル遮断が、慢性ストレスによるシナプス伝達異常の是正を介して、抑うつ症状などの負の情動行動を改善することを示唆する。

## P3-59 「電子スピン共鳴法を用いた脳由来神経栄養因子の酸化ストレスの検索」

藤本 みさき<sup>1</sup>、吉田 彩佳<sup>2</sup>、吉野 文彦<sup>3</sup>、黒田 英孝<sup>1</sup>(<sup>1</sup> 神歯大 院歯 歯科麻酔、<sup>2</sup> 神歯大 院歯 歯学教育、<sup>3</sup> 神歯大 院歯 歯科薬理)

【背景】脳由来神経栄養因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor: BDNF) は、神経細胞の生存維持や分化誘導に関与する一方で、近年は慢性疼痛のバイオマーカーの候補として注目される。しかしBDNFの直接的な抗酸化作用については不明な点が多い。本研究は電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いてBDNFの酸化ストレスを検索した。

【材料と方法】ヒドロキシルラジカル ( $\text{HO}^\cdot$ ) とスーパーオキシド ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) をESR法で検出した。 $\text{HO}^\cdot$  は $\text{H}_2\text{O}_2$ +紫外線 (UV) 系で、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  は $\text{TiO}_2$ + $\text{H}_2\text{O}_2$ +UV系で生成させた。対照に蒸留水 (DDW) を用いて、各生成系にBDNF (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100  $\text{ng}/\text{mL}$ 、10  $\text{ng}/\text{mL}$ 、1  $\text{ng}/$

$\text{mL}$ ) を添加して酸化ストレスを比較した。統計解析にはDunnnett検定を用いて、有意水準は $p < 0.05$ とした。

【結果】DDWと比較して、BDNFは $\text{HO}^\cdot$ の生成に有意な変化を示さなかった。一方、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ と100  $\text{ng}/\text{mL}$ のBDNF添加群では $\text{O}_2^{\cdot-}$ が有意に増加した。

【考察】BDNFは特定濃度で $\text{O}_2^{\cdot-}$ 産生を促進する可能性が示された。脊髄組織中のBDNF濃度は約10  $\mu\text{g}/\text{mg}$ であるが、末梢神経損傷時には上昇すると報告されている。本結果からBDNFの上昇に伴う酸化環境の形成が疼痛調節機構に関与する可能性が示唆された。

## P3-60 「成体ラットアストロサイトにおける脳由来神経栄養因子 BDNF によるカルシウム応答の増強作用」

郷 賢治<sup>1</sup>、根津 顕弘<sup>1</sup>、谷村 明彦<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 北医療大 歯 薬理)

アストロサイトは神経細胞を取り囲みグリオトランスミッター (GT) と呼ばれる生理活性物質を放出する。GTはアストロサイト等の受容体に作用し細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を上昇させる。このGTを介した細胞間コミュニケーションは多様な生理機能に重

要な役割を果たすことが示唆されている。代表的なGTのATPや炎症時に生成されるブラジキニンが $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を上昇させることが知られている。我々はカルシウムセンサー (GCaMP) による成体ラットのアストロサイトにおける $\text{Ca}^{2+}$ 動態イメージング解析で脳由来神経栄養因子

(BDNF) が、GTによるアストロサイトの $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を増強することを見出した。ATPおよびブラジキニン濃度依存的に $[Ca^{2+}]_i$ を上昇させた。BDNFによる12時間前処理はATPとブラジキニンによる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇のEC50を各々1/14および1/6に低下させた。この感受性亢進には受容体発現量やIP<sub>3</sub>受容体局在の変化、Ca<sup>2+</sup>貯蔵量の

調節など複数の機構が関与する可能性がある。

この機構解明のため本研究では新規開発した発光IP<sub>3</sub>センサーを用いてIP<sub>3</sub>動態解析を進めている。これによりアストロサイトのCa<sup>2+</sup>応答メカニズムの理解が深まり神経細胞とグリア細胞間のネットワークの解明に寄与することが期待できる。

### P3-61 「遅発性パーキンソン病モデルマウスに表出する体重減少と高血糖の関連」

佐藤 元<sup>1</sup>、早川 和宏<sup>1</sup>、川口 高德<sup>1</sup>、松下 歩夢<sup>1</sup>、安達 一典<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>明海大 歯 薬理)

【目的】パーキンソン病 (PD) 患者はその前駆期から多彩な非運動障害を発症する。体重減少はPD患者の約半数に発症する非運動障害の1つであり、患者のQOLや生存率の低下を招くが、その発症要因は不明である。本研究では、遅発性PDモデルマウスにおける血糖値を経時的に調べ、表出する体重減少と血糖値の相関の有無を明らかにする。

【方法】C57BL/6J (雄性、20-25週齢) の右側鼻腔内にロテノン (0.35 mg/kg) あるいは溶媒を1日1回4週間連続投与し、5週間の体重を測定した。投与1-4週目および投与終了後1週目 (5週目) に、ロテノン群および溶媒群を22時間絶食し、1時間の自由摂食直前および終了直後から4時間の血糖値を測定し、その血糖値時間曲線から血糖値時間曲線下面積 (AUC) を求めた。

【結果】ロテノン群では、投与2週目以降、体重が有意に減少した。空腹時血糖、ピーク血糖およびAUCに両群で有意な差を認めなかったが、溶媒群に比べてロテノン群では血糖値時間曲線がピークから緩やかに減衰する傾向を認めた。また、投与2週目以降、体重減少とAUCとの相関が正に移行した。さらに、ロテノン群は体重10gあたりの1時間摂食量とAUCとの間に負の相関を示した。

【考察】ロテノン鼻腔内投与マウスでは、ヒトPD患者と類似した血糖値異常が生じ、表出する体重減少と関連する可能性が示唆された。このマウスは、今後、PDと糖尿病との関りを調べる有用なモデルとなる可能性がある。

### P3-62 「リドカインによるけいれん発現を指標とした50%中毒量の算出をコンピューターシミュレーションで行うための統計モデル作成」

荒 敏昭<sup>1</sup>、喜多村 洋幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>松歯大 薬理)

【目的】動物愛護の観点から実験動物数の削減が望まれている。これまでに演者らは局所麻酔薬の実習に使用するシミュレーターを作成した。今回はリドカインによるけいれん発現を指標とした50%中毒量 (TD<sub>50</sub>値) を算出するためのシミュレーターを作成するための統計モデルを作成した。

【方法】リドカインの用量を5段階 (各群50匹) とした。ddy系マウス (5週齢) にリドカインを腹腔内注射し、けいれん発現までの時間を計測した。各判定時間における反応割合を使用してプロビット回帰分析を行い、TD<sub>50</sub>値および最小中毒量の分布 (平均値および標準偏差) を推定した。シミュレーションでは、得られたパラメータ値をもとに各個体の最小中毒量を正規乱数で

発生させ、投与量と比較して反応の有無を決定した。動物実験と同じ用量 (各群15匹) で得られたデータをもとにTD<sub>50</sub>を算出した。このシミュレーションを100回行った。

【結果】判定時間5分ではTD<sub>50</sub>は51.1 mg/kg、最小中毒量 (対数値) の分布のパラメータ値は平均3.960、標準偏差0.277だった。シミュレーションの結果、TD<sub>50</sub>の幾何平均は53.9 mg/kg、中央値は53.0 mg/kg (四分位範囲3.6) であり、動物実験の結果とほぼ同じであった。また、判定時間を変更した場合にもほぼ同じ結果が得られた。

【考察】今回の結果が動物実験と同程度であるため動物実験代替法となりうることを示された。

### P3-63 「生成 AI による歯学研究支援の可能性と展望 — 文献探索・翻訳・比較・設計における効率化と精度向上の観点から」

小出 一久<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>こいで歯科医院 Koide Dental Office、<sup>2</sup>一般社団法人歯科保険診療研修会 General Incorporated Association Dental Health Insurance Practice Study Group)

近年、生成AI (Generative AI) 技術の進化は著しく、多方面での応用が加速している。とりわけ文書生成、翻訳、要約、情報検索支援などの知的作業では、専門職の業務を支えるツールとして活用されている。生成AIは歯学研究においても、研究者が日常的に行う煩雑かつ反復的な作業に対し支援的に機能する。しかし、現時点では生成AIの体系的な導入や活用は緒に就いたばかりであり、具体的な可能性や課題を整理・共有する機会は限られている。

本発表では、ChatGPT、Claude、Gemini、Felo、DeepLなどの代表的な生成AIツールを試用し、歯学研究における活用例を整理した。特に、文献検索や海外論文の翻訳・要約、関連文献との比較検討、疫学調査の設計

支援などにおいて、従来長時間と労力を要していた作業が大幅に効率化され、一定の精度も確保されることが確認できた。また、研究構想立案の初期段階や情報収集、資料整理において、生成AIの活用は研究の進行を円滑にする有力な支援手段となり得ると考えられる。

一方で、生成AIにはハルシネーション（誤情報の生成）のリスクがあり、出力内容にはファクトチェックが不可欠である。また、教育現場への応用についても、教材作成や学生の思考支援ツールとしての可能性を持つ一方で、利用方法や指導体制には今後慎重な検討が必要である。以上のような活用と課題を踏まえ、研究および教育の両面において、生成AIの可能性と今後の展望について考察する。

## ■ Late Braking (ポスター) (LB)

日時：9月6日(土) 9:00～17:30

会場：ポスター会場(会議場1階 イベントホール)

### Late Braking ポスター：2日目 (LB2)

#### LB2-01 「老化耐性モデルを用いた顎関節の分子構造解析」

足立 哲也<sup>1</sup>、柴田 俊一<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学、<sup>2</sup>北医療大 歯 解剖)

【緒言】最大寿命が約37年のハダカデバネズミは各種組織や臓器の老化・機能低下が起こらない。こうしたハダカデバネズミの顕著な老化耐性を含む極めてユニークな生理機能を解明することは、抗老化・抗加齢を制御することに繋がるため、超高齢社会を迎えた我が国において極めて重要である。本研究は非破壊非染色で分子構造を可視化できる分光学解析法(赤外分光およびラマン)とAIを組合せたデータ駆動型分析技術を導入することで、ハダカデバネズミの細胞外基質(ECM)の分子構造を解析し、老化耐性メカニズムを解明することを目的とする。

【材料と方法】ハダカデバネズミ(54週齢)は熊本大学より入手した。頭部を摘出し、HE染色で顎関節組織の形態観察を行い、分光学的手法(放射光赤外分光・

ラマン分光)でECMの分子局在を可視化した。スペクトル分析は材料解析アプリであるWAVEBASE(トヨタ自動車)で行った。

【結果と考察】ハダカデバネズミの顎関節を構成する関節円板は、束状のコラーゲン線維とヒアルロン酸を有する軟骨様組織で構成されていることを見出した。このECM構造が咬合力を緩和し、下顎頭を保護していることが推察された。また、AIによりヒトでは判別できない微視的なスペクトルの変化を検出することに成功した。以上より、ハダカデバネズミにおける顎関節の老化耐性の分子メカニズムの一端を明らかにした。本法で用いた動物モデルや解析技術は、様々な老化関連疾患の病態解明に資することが期待される。

#### LB2-02 「Organoid-Based Injury Models Reveal Conserved Epithelial Regeneration Programs across Organs」

Ji-Su Ahn<sup>1</sup>、Yoojin Seo<sup>1</sup>、Hee-Jeong Park<sup>1,2,3</sup>、Seong Hui Kim<sup>1,2,3</sup>、  
Jeong Hyun Yu<sup>1,2,3</sup>、Yunji Lee<sup>1,2,3</sup>、Ji Won Yang<sup>1</sup>、Hyung-Sik Kim<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dent Life Sci Inst, Dept Oral Biochem、

<sup>2</sup>Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dept Life Sci Dent、<sup>3</sup>Pusan Natl Univ, Edu Res Team for Life Sci Dent)

In multiple organs such as the intestine, liver, lung, epidermis, renal tubule, and brain, various injury-responsive regenerative cell populations have been identified. These cells are transiently activated following tissue damage and play key roles in restoring epithelial or tissue homeostasis through diverse lineage-specific responses. In the intestine, for instance, a rare Sca-1<sup>+</sup> cell population with YAP activation emerges after injury and contributes to regeneration by replenishing LGR5<sup>+</sup> crypt base columnar cells (CBCs) and other epithelial lineages. Using mouse intestinal organoids,

we found that melatonin synergizes with Prostaglandin E2 to enhance epithelial repair by promoting the Sca-1<sup>+</sup> regenerative program, along with increased YAP target expression. We further tested whether similar damage-responsive populations arise in salivary gland organoids. Upon injury, we identified a population expressing fetal genes and acinar progenitor cell markers, suggesting regenerative potential. Our study provides insight into shared injury-induced regenerative programs across tissues and their potential application in organ repair.

**LB2-03 Therapeutic Potential of SOD3-Enhanced Extracellular Vesicles in the Restoration of Salivary Function in Menopausal Xerostomia**Hee-Jeong Park<sup>1,2,3</sup>, Yunji Lee<sup>1,2,3</sup>, Hyeon Seo Lee<sup>1,2,3</sup>, Seong Hui Kim<sup>1,2,3</sup>, Jeong Hyun Yu<sup>1,2,3</sup>, Ji Won Yang<sup>1</sup>, Ji-Su Ahn<sup>1</sup>, Yoojin Seo<sup>1</sup>, Hyung-Sik Kim<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dent Life Sci Inst, Dept Oral Biochem,<sup>2</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dept Life Sci Dent, <sup>3</sup> Pusan Natl Univ, Edu Res Team for Life Sci Dent)

Salivary gland (SG) dysfunction contributes to xerostomia (dry mouth), a condition particularly prevalent among elderly women. To elucidate the mechanisms underlying postmenopausal xerostomia, we utilized an ovariectomized (OVX) mouse model. Histological analysis revealed a significant reduction in acinar cells expressing aquaporin 5 (AQP5), accompanied by an increase in ductal cells. Gene set enrichment analysis (GSEA) indicated significant enrichment of GO terms related to structural modifications, including extracellular matrix (ECM) remodeling and cell junction alterations in OVX-SG. Indeed, the

Keap1-Nrf2 antioxidant pathway was disrupted, with a marked reduction in superoxide dismutase 3 (SOD3), a secretory enzyme crucial for redox balance. To mitigate oxidative stress in OVX-SG, we administered extracellular vesicles (EVs) derived from mesenchymal stem cells overexpressing SOD3. Notably, EV-SOD3 treatment restored salivary flow and reduced damage-associated markers in OVX mice. These findings provide novel insights into the pathogenesis of menopausal xerostomia and suggest that enhanced EV-SOD3 represent a promising therapeutic strategy.

**LB2-04 「Ferritin degradation mediated by TGFβ2 triggers ferroptosis in salivary glands under postmenopausal conditions」**Yoojin Seo<sup>1</sup>, Hyeon Seo Lee<sup>1,2,3</sup>, Yunji Lee<sup>1,2,3</sup>, Seong Hui Kim<sup>1,2,3</sup>, Jeong Hyun Yu<sup>1,2,3</sup>, Hee-Jeong Park<sup>1,2,3</sup>, Ji-Su Ahn<sup>1</sup>, Hyung-Sik Kim<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dent Life Sci Inst, Dept Oral Biochem,<sup>2</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dept Life Sci Dent, <sup>3</sup> Pusan Natl Univ, Edu Res Team for Life Sci Dent)

Xerostomia, commonly referred to as dry mouth, is a condition characterized by reduced salivary flow and altered saliva composition, with a higher prevalence observed in postmenopausal women. Postmenopausal changes are implicated in salivary gland (SG) dysfunction, but the underlying mechanisms remain unclear. Using ovariectomized (OVX) mouse models, this study identifies ferroptosis as a pivotal mechanism mediating menopause-related SG dysfunction. Histological and transcriptomic analyses of OVX-SGs revealed reduced acinar cell density, ductal dilation, and increased expression of TGFβ2 and ferroptosis-related markers.

Functional experiments demonstrated that TGFβ2 triggers ferroptosis in SG epithelial organoids (SGOs) through ferritinophagy, leading to iron dysregulation, lipid peroxidation, and oxidative stress. Notably, co-treatment with SB431542, a TGFβ signaling inhibitor, rescued organoid growth and reduced ferroptotic cell death. Furthermore, administration of Liproxstatin-1 (Lip-1), a ferroptosis inhibitor, restored saliva secretion and mitigated oxidative damage in OVX mice. These findings establish a mechanistic link between TGFβ signaling, ferroptosis, and SG dysfunction, highlighting potential therapeutic targets for postmenopausal xerostomia.

## LB2-05 「*Parvimonas micra*-polarized M2-like tumor-associated macrophages accelerate colorectal cancer development via IL-8 secretion」

Jeong Hyun Yu<sup>1,2,3</sup>、Dang Khoa Nguyen<sup>1,2,3</sup>、Su-Jeong Oh<sup>1,2,3</sup>、Hee-Jeong Park<sup>1,2,3</sup>、Seong Hui Kim<sup>1,2,3</sup>、Yunji Lee<sup>1,2,3</sup>、Hyeon Seo Lee<sup>1,2,3</sup>、Ji Won Yang<sup>1</sup>、Yoojin Seo<sup>1</sup>、Ji-Su Ahn<sup>1</sup>、Hyung-Sik Kim<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dent Life Sci Inst, Dept Oral Biochem、

<sup>2</sup> Pusan Natl Univ, Sch Dent, Dept Life Sci Dent、<sup>3</sup> Pusan Natl Univ, Edu Res Team for Life Sci Dent)

*Parvimonas micra* (Pm), a periodontal pathogen, has been linked to impaired anti-tumor responses in colorectal cancer (CRC). In the CRC tumor microenvironment, tumor-associated macrophages (TAMs) play a key role in regulating immune responses. Their polarization toward an M2-like phenotype promotes tumor progression by suppressing immunity. However, the mechanisms by which Pm contributes to CRC remain unclear. In this study, we examined how Pm infection affects CRC cell behavior, including proliferation, chemoresistance, migration, and macrophage polarization. Pm-infected THP-1-derived

macrophages showed increased IL-10 secretion, indicating M2-like polarization. Conditioned media from these macrophages significantly enhanced CRC cell proliferation, resistance to cisplatin, and migration. IL-8 was identified as a key mediator. Consistent with in vitro findings, oral administration of Pm in an AOM/DSS-induced CRC mouse model accelerated tumor growth. These results provide mechanistic insights into how Pm infection alters the CRC tumor microenvironment through M2-like macrophage polarization, suggesting potential targets for therapeutic intervention.

## LB2-06 「ヒト常在細菌抗原に対する IgG4 関連疾患血清の特異的反応性の解析」

植野 裕司<sup>1</sup>、呉 暁沛<sup>1</sup>、宇田川 信之<sup>1</sup>、吉田 明弘<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 松歯大 細菌、<sup>2</sup> 松歯大 生化)

【目的】IgG4関連疾患 (IgG4-RD) は、全身の複数臓器に炎症性腫大と線維化をきたす慢性疾患であり、常在細菌との関連が注目されている。本研究では、IgG4-RD患者血清IgG4抗体の標的となる細菌由来抗原の探索を目的とした。

【方法】複数の微生物抗原を対象に、IgG4-RD患者125名を含む、265検体の血清を用いてELISA法によるIgG4との反応性を解析した。その結果IgG4-RD患者血清と特異的に反応する抗原を含む微生物画分として細菌 $\alpha$ 由来のクルード画分Xを同定した。さらに同画分に対して、Western blot (WB)法によってIgG4-RDを含む44検体の血清との反応性を検討した。IgG4-RD血清に特異的に反応するタンパク質バンドを質量分析により解

析した。

【結果と考察】複数の微生物抗原に対するELISA法による解析の結果、細菌 $\alpha$ 由来クルード画分Xは、IgG4-RD患者血清に対して特異的にIgG4抗体と反応し、他疾患群や健常者との間に有意な差が認められた ( $P < 0.001$ )。同画分に対するWB法による解析では、IgG4-RD群の80%において70kDa付近に特異的な単一バンドが検出された。これにより、クルード画分Xに含まれる特定タンパク質がIgG4-RDにおける標的抗原である可能性が示唆された。

【結論】細菌 $\alpha$ 由来クルード画分Xに対するIgG4の反応は、IgG4-RDに特異的な免疫応答を反映しており、疾患関連抗原の探索に有用であることが示唆された。

## LB2-07 「Phenol 誘導体の三叉神経節ニューロンに対する効果」

蓮沼 和也<sup>1,2</sup>、黄地 健仁<sup>2</sup>、木村 麻記<sup>2</sup>、倉島 竜哉<sup>2</sup>、小鹿 恭太郎<sup>1</sup>、松浦 信幸<sup>1</sup>、澁川 義幸<sup>2</sup>(1 東歯大 麻酔、<sup>2</sup> 東歯大 生理)

三叉神経節 (trigeminal ganglion: TG) ニューロンは顎顔面・口腔領域の体性感覚刺激を受容する一次感覚ニューロンである。感覚受容には多刺激センサータンパク質であるtransient receptor potential (TRP) チャンネルが関与しており、活性化により細胞内へCa<sup>2+</sup>が流入する。グアヤコールなどのPhenol誘導体は優れた鎮痛作用から根管貼薬剤として臨床応用されているが、研究報告は少ない。本研究ではPhenol類の作用メカニズム解明に向け、Phenol類のTG細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) に対する効果を検討した。

TG細胞はWistarラット (生後5-9日齢) から急性単離後、48時間初代培養したものを用いた。TG細胞に対してPhenol類の単独投与、およびPhenol類を投与しな

がら細胞へ直接機械刺激を与えた際の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>変化を測定、評価した。脱分極による[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の増加を指標にTGニューロンの同定を行った。

TG細胞へPhenol類を単独投与すると[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が増加し、連続投与により脱感作が見られた。TRPV3チャンネルの選択的阻害薬の同時投与で、単独投与時に比べ[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加は有意に抑制された。また、TG細胞へ直接機械刺激を与えた際に起こる[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の増加はPhenol類の投与で有意に抑制された。

以上の結果より、Phenol類はTGニューロンに対して機械感受性Ca<sup>2+</sup>流入を抑制することで鎮痛効果を示す可能性が示唆された。

LB2-08 「歯周病原菌 *Prevotella intermedia* は口腔連鎖球菌による肺炎を相乗的に悪化させる」内藤 真理子<sup>1</sup>

(1 長崎大 院医歯薬 口腔病原微生物)

口腔内嫌気性細菌による呼吸器感染症の正確なメカニズムは未だ解明されていない。16S rRNAを用いた細菌叢解析により、市中肺炎 (CAP) 患者において、嫌気性細菌と常在菌である口腔レンサ球菌属の「隠れた」混合感染が予期せず明らかになった。本研究は、プレボテラ・インターメディアが口腔レンサ球菌性肺炎を増悪させるメカニズムを解明することを目的とした。

マウスに *P. intermedia* の培養上清 (PiSup) を *Streptococcus* 属菌とマウスに口腔咽頭投与したところ、*Streptococcus* 属菌と対照培地を併用投与した場合と比較して、生存率が有意に低下し、肺および脾臓に

おける微生物量が増加した。肺全体のRNAシーケンシングにより、混合感染においてNADPのダウンレギュレーションに起因する好中球の殺菌活性の阻害とミエロペルオキシダーゼ産生の低下が明らかになり、肺における機能不全な好中球蓄積につながった。またPiSupを加熱処理またはプロテイナーゼK処理するとこの効果は消失したため、PiSup中の肺炎を増悪させる物質はタンパク質である可能性が示唆された。また限外濾過処理したPiSupを用いた実験の結果から物質の分子量は30 ~ 100kDaである可能性も示唆された。(会員外共同研究者：芦澤博貴 岩永直樹 迎寛)

## LB2-09 「ご遺体を用いた筋の三次元的な位置関係から予測する下顎第三大臼歯の抜歯に伴う舌神経損傷リスク」

大島 勇人<sup>1</sup>

(1 新潟大 院医歯 硬組織形態)

下顎第三大臼歯の抜歯に伴う舌神経損傷リスクを術前に正確に予測することは困難であった。本研究では、26体の日本人成人ご遺体 (52側) を用いた人体解剖学実習において、舌神経の走行経路と周囲の筋との三次元的な解剖学的関係を調査し、臨床用頭部コンピュー

タ断層撮影 (CT) 画像から患者固有の舌神経の走行経路を予測する手法を確立することを目的とした (新潟大学倫理委員会承認番号2019-0082、研究課題名：解剖体頭部CTによる舌神経3次元的走行経路と筋間隙との関係性の解明)。舌神経は、内側翼突筋と下顎骨の

間を下降し、内側翼突筋の前縁、顎舌骨筋の後縁、上咽頭収縮筋の下縁、および茎突舌筋の内側縁で囲まれた空間を通過した。舌神経は、内側翼突筋の前縁と顎舌骨筋の後縁の間で骨表面に特に近接しており、まれなケースを除き、顎舌骨筋の後縁と接触しながら下降

した。したがって、術前CTにおける顎舌骨筋線の観察に基づき、患者固有の舌神経の走行経路を予測することができ、第三大臼歯との関係から術前の舌神経損傷リスクを評価することが可能であった。本研究は、勝見祐二博士との共同研究である。

## LB2-10 「化学的消化法を用いた歯根膜細胞外マトリックスのプロテオーム解析」

土橋 梓<sup>1</sup>、Pwint Phyu Hlaing<sup>1</sup>、小林 水輝<sup>1</sup>、小野 喜樹<sup>1</sup>、加来 賢<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>新潟大 院医歯 生体補綴)

【目的】細胞外マトリックス (Extracellular matrix: ECM) は、組織の構造支持だけでなく、細胞外環境として細胞挙動にも重要な役割を果たしており、その構成や性質の理解が求められている。しかし、ECMを構成するタンパクの多くは高度に架橋されていることから、従来の方法では十分な網羅的解析が困難であった。本研究では、ECMに特化したプロテオーム解析手法を確立し、ヒト歯根膜組織ならびに培養歯根膜細胞におけるECM組成の網羅的解析を行った。

【方法と結果】化学的なペプチド開裂試薬 (Hydroxylamine) を用いることで、従来の方法と比較して、約2倍のタンパク質抽出効率を達成した。本手法を用いてヒト歯根膜組織のECM組成を解析した結果、ECM中のコ

ラーゲンの組成比は80%以上であり、特にI型、III型、VI型が大部分を占めていた。また、組成比の大きな非コラーゲン性のECMタンパクとして、Periostin、Dermatopontin、Lumicanなどが同定された。一方、培養歯根膜細胞由来のECMは、本来の歯根膜組織のECMと比較して、線維性コラーゲンの含有量が著しく低下していた。

【結論】本研究により、ヒト歯根膜組織ECMタンパクの包括的プロファイルを初めて明らかにすることに成功した。また本研究で確立したプロテオーム解析法は、従来困難であった不溶性ECMタンパクの網羅的解析を可能とし、組織特異的なECM環境の理解や再生医療への応用に有用なツールとなることが示された。

日時：9月7日（日）9:00～16:00

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

## Late Braking ポスター：3日目（LB3）

### LB3-01 「コウモリ類における多様な『顔面裂』形成メカニズム ～口唇口蓋裂研究への発展に向けて～」

目黒 史也<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 筑波大 プレシジョンメディスン開発研究センター)

哺乳類の顔面形態は摂食様式や感覚器配置に応じて多様化するが、コウモリ類はエコロケーションや多様な食性への適応に伴い、同系統内でも著しい種間差を示す。特に、前上顎骨と上顎骨間の両側裂や前上顎骨同士の正中裂として知られる骨性の顔面裂は、ヒトの口唇口蓋裂と類似した形態的特徴を示すため、新しい口唇口蓋裂の研究モデルとして注目されている。ところが、顔面裂に関する過去の報告のほとんどは成体を対象とした記載的研究であり、胎子を用いて発生機構を検証した例はほとんどない。本研究では、異なる裂隙形態を示す4種のコウモリを用い、先行報告 (Meguro et al., 2025) で示唆された両側裂と正中裂の形成過

程の相違性を踏まえた上で、外見上同じ正中裂を呈するヒナコウモリとユビナガコウモリについて追加の比較発生学的解析を行った結果を報告する。検証の結果、両種は成体形態こそ類似するものの、発生過程には明確な相違が認められ、裂隙が複数系統で平行進化した可能性が示唆された。これは従来、十把一絡げにされてきたコウモリ類の裂隙形態を、発生学的見地から再分類する必要性を示唆するものである。さらに本発表では、これら多様な発生メカニズムを踏まえたうえで、コウモリ類の裂隙をヒト口唇口蓋裂研究の新たなモデルとするための展望について議論したい。

### LB3-02 「小胞体ストレスはマクロファージの炎症性シグナル伝達を増幅する」

中南 友里<sup>1</sup>、高畑 佳史<sup>1,2</sup>、波多 賢二<sup>1</sup>、西村 理行<sup>1</sup>、村上 智彦<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 阪大 院歯 生化、<sup>2</sup> 阪大 院歯 ゲノム編集)

小胞体内腔において折り畳み不全タンパク質が蓄積した状態は小胞体ストレスと呼ばれる。先行研究により、小胞体ストレスが糖尿病、神経変性疾患、骨・軟骨疾患、悪性腫瘍、歯周病といった多様な疾患の発症・進展に関与することが報告されている。一方、これらの疾患病変部位では慢性炎症が認められる。これらの知見は、小胞体ストレスと炎症との間に密接な連関が存在し、この相互作用が疾患病態の形成に寄与している可能性を示唆している。

本研究では、炎症において中心的役割を担うマクロファージを対象に、小胞体ストレスと炎症との連関機構を分子レベルで解明することを目指した。炎症刺激にはリポ多糖 (LPS)、小胞体ストレス誘導にはツニカ

マイシン (Tm) を用いた。LPS、Tm、あるいは両者を投与したマクロファージにおける遺伝子発現を網羅的に解析した結果、LPSによって誘導される炎症関連遺伝子群の中に、Tm併用によりその発現がさらに顕著に増強される遺伝子が含まれていた。詳細な解析により、Toll様受容体シグナルからの炎症応答が、小胞体ストレスによって増幅されることが明らかとなった。一方、小胞体ストレス単独では明らかな炎症応答は認められなかった。この小胞体ストレス依存的な炎症応答増強は、マウス敗血症モデルにおいても確認された。以上の結果は、小胞体ストレスが少なくともマクロファージおよび敗血症病態において炎症応答を増幅させる役割を有することを示している。

## LB3-03 「TGFB3 crucially contributes to bile duct deficiency in Alagille syndrome」

Lisha Dai<sup>1</sup>, Soichiro Sonoda<sup>1</sup>, Liting Yu<sup>1</sup>, Fouad MHD Zakaria<sup>1</sup>,  
Yukari Kyumoto-Nakamura<sup>1</sup>, Hiroki Kato<sup>1</sup>, Takayoshi Yamaza<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

Background: Alagille syndrome (ALGS) is mainly caused by a single mutation in the jagged canonical Notch ligand 1 (JAG1) with an unknown intrahepatic bile duct disorder. Transforming growth factor (TGFB) signal controls biliary development. We aim to clarify how the TGFB signal modulates the biliary disorder under the abnormal NOTCH pathway in ALGS.

Methods: We analyzed the *in vitro* bile duct forming capacity of our established ALGS-specific mesenchymal stem cells (ALGS-MSCs) from JAG1-mutated ALGS patients. We further analyzed TGFB3, TGFB receptors, and their associated TGFB signals in ALGS-MSCs. We also examined the cholangiogenic

effects of recombinant human TGFB3 (rhTGFB3) and anti-TGFB3 antibody on control MSCs and ALGS-MSCs.

Results: ALGS-MSCs showed abnormal JAG1-NOTCH signaling. IF images revealed that ALGS-MSCs failed the biliary potency *in vitro*. ALGS-MSCs displayed decreased levels of FOXA1 and increased levels of TGFB3 and SMAD3 phosphorylation. rhTGFB3 and anti-TGFB3 antibody treatments suppressed and rescued biliary deficiency in control MSCs and ALGS-MSCs *in vitro*.

Conclusion: These results suggest that TGFB3 significantly contributes to bile duct deficiency in ALGS.

## LB3-04 「歯周炎およびインプラント周囲炎モデルラットにおける疼痛関連行動の比較」

浪花 真子<sup>1,2</sup>, 中富 千尋<sup>2</sup>, 野代 知孝<sup>3</sup>, 小野 堅太郎<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 九看大 看護福祉 口腔保健、<sup>2</sup> 九歯大 生理、<sup>3</sup> 九歯大 口腔再建リハ)

歯周炎は歯周病原細菌により惹起される炎症性疾患であり、急性期には疼痛を伴うことがあるが、慢性期以降は患者が自覚しないまま進行・重症化することが多く、そのメカニズムは未だ十分に解明されていない点が多いのが現状である。

本研究では、歯周炎に伴う疼痛の発症から消失に至る病態機序を明らかにすることを目的に、モデルラットを作製し、まずは行動学的解析を行った。雄性Wistar系ラットの上顎右側第二臼歯に対して4-0絹糸を結紮し、歯周炎を惹起した。一方、上顎右側第一臼歯を抜歯し、同部位にインプラントフィクスチャーとアバットメントを装着、治癒確認後に4-0絹糸を結紮し、インプラント周囲炎を惹起した。疼痛関連行動としてラビング時間を計測したところ、歯周炎モデルで

は絹糸結紮2週後に疼痛関連行動が増加し、4週後には消失した。一方、インプラント周囲炎モデルでは疼痛関連行動に変化は見られず、多くのインプラント周囲炎患者が疼痛を感じていないという臨床報告と一致する結果となった。また両モデルにおけるX線所見では、結紮部位において骨吸収が確認された。

以上より、歯周組織の炎症による疼痛は天然歯に特異的であることから、歯周炎急発時の疼痛発生には歯根膜の存在が関与している可能性が示唆された。今後は、口腔内の炎症性疼痛への関与が示唆されているTRPA1およびTRPV1に着目し、その発現や機能解析を行い、歯周炎が無痛性に進行する機序の解明を目指したい。

## LB3-05 「膜電位感受性色素を用いた味嗅覚刺激に対する大脳皮質応答の可視化の試み」

溝口 尚子<sup>1</sup>、政井 桜子<sup>1</sup>、守永 琢磨<sup>1</sup>、飯田 理人<sup>1</sup>、村本 和世<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 明海大 歯 生理)

味覚と嗅覚の情報処理は、風味認識に不可欠であると考えられている。我々は、風味認識に関わる神経メカニズムの解明を目的として、味覚および嗅覚に關与する中枢神経活動の可視化に取り組んでいる。これまでラットを用い、味覚・嗅覚神経経路への電気刺激により誘発される大脳皮質表層の膜電位応答を解析してきたが、実際の味およびニオイ刺激による皮質応答を同一個体で光学的に計測した報告は少なく、未解明な点が多い。特に、従来の味嗅覚刺激呈示法では、刺激のタイミングや強度の制御が不十分であり、精密な神経応答の比較を行う上で制約となっていた。そこで今回、精密流体制御・計測装置を導入し、デジタル制御によって刺激タイミングおよび流量制御の精度を安

定的に向上させた刺激呈示システムを構築した。さらに、膜電位感受性色素RH1691および内因性蛍光シグナル（フラビン蛋白）を用いて、ラットにおける皮質応答をそれぞれ10 ms/frmおよび100 ms/frmの時間分解能で記録した。いずれの手法でも、味刺激には島皮質味覚野、ニオイ刺激に対しては梨状皮質において明瞭な応答が確認されたが、応答開始からピーク到達までの時間には、計測手法の違いに起因する差異がみられた。また、味あるいはニオイの単独刺激では、体性感覚野を賦活しない条件下での味嗅覚応答を検出し、電気刺激と実際の味およびニオイの刺激に対する応答領域の相似を確認することができた。

## LB3-06 「破骨細胞と骨芽細胞の直接接触による分化制御機構の解明」

杉原 真衣子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大 院歯 生化)

骨組織は、骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞の協調的な機能により恒常性が維持されており、両者の連関（カップリング）は骨リモデリングにおいて重要である。近年、生体内イメージングにより両細胞間の直接接触が確認されているが、その生物学的意義は不明であった。本研究では、*in vitro* 解析と生体内イメージング法を組み合わせ、破骨細胞が骨芽細胞の生存や分化を制御する新たな細胞間コミュニケーション機構を明らかにした。破骨細胞は分泌因

子に加え、細胞突起を介した骨芽細胞との直接接触を通じて細胞内分子を移行させ、骨芽細胞の分化を制御することを見出した。さらに、この接触依存的な輸送機構を標的とする創薬基盤の確立を目指し、蛍光標識した両細胞を用いた共培養系と、高解像度共焦点顕微鏡を応用したハイスループットスクリーニング（HTS）法を構築した。現在、同定された候補化合物について *in vivo* における効果を検証中であり、骨疾患や顎骨病変を含む歯科領域における新規治療法の開発が期待される。

## LB3-07 「歯原性角化嚢胞用 FFPE 遺伝子パネルを用いた変異解析と予後予測の可能性」

西村 仁希<sup>1</sup>、小野寺 晶子<sup>2</sup>、間 奈津子<sup>2</sup>、明石 良彦<sup>3</sup>、松坂 賢一<sup>3</sup>、渡邊 章<sup>1</sup>、大野 建州<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 東歯大 口腔顎顔面外、<sup>2</sup> 東歯大 生化、<sup>3</sup> 東歯大 臨床病理)

歯原性角化嚢胞（odontogenic keratocyst:OKC）は、錯角化重層扁平上皮に裏装された歯原性発育性嚢胞で、Hedgehog受容体PTCH1の変異が報告されている。再発が多いが、PTCH1変異と発育との関係は不明である。我々は再発例におけるPTCH1変異の関与を示唆しており、本研究ではFFPE標本に対象を広げ、新規作製した遺伝子パネルで再発との関連を検討した。本実験は東京歯科大学倫理委員会（1021-2、1247）の承認の

もと、2023年1月～2025年3月までに東京歯科大学水道橋病院、千葉歯科医療センターでOKCと口腔病理専門医に診断された患者57名（59サンプル）に対して解析を行った。PTCH1、PTCH2、SUFUを対象とした遺伝子パネルを作製し、変異を同定した後、病原性を評価した。59サンプル中31個での解析が可能で、うち22個で変異を検出した。検出された変異はPTCH1とPTCH2に存在し、変異確率が0.4以下のものはPTCH1のみであっ

た。また変異確率が0.4以下のPTCHI変異が認められたものは、再発OKCでは66.7%、初発OKCでは36.3%であった。作製した遺伝子パネルは標的領域を高精度に解析でき、病的変異の検出が可能であった。これによ

りOKCに対する新規遺伝子パネルのOKC解析への有用性が示され、PTCHI変異は再発の分子マーカーとなる可能性が示唆された。

### LB3-08 「Porphyromonas gingivalis 由来 LPS は神経細胞のグルコース代謝障害を引き起こす」 渡辺 数基<sup>1</sup>、小笠原 康悦<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 東北大 加齢研 生体防御)

歯周病は糖尿病など様々な全身疾患の増悪因子となることが明らかとなってきた。中でも認知症との関連が注目を集めており、50歳以上を対象とした研究では歯周病患者は健常者と比較しアルツハイマー型認知症の発症リスクが約1.7倍になることが報告された。しかし一方で、歯周病が神経細胞に与える影響については報告が乏しい。そこで本研究においては、代表的な歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis* (Pg)由来LPSが神経細胞に与える直接的な影響を解明することとした。Pg由来LPSをヒト由来神経芽細胞 (SH-SY5Y細胞) に添加し、遺伝子発現をRNA-seqにより網羅的

に評価した。Pg由来LPSにより発現が低下した遺伝子を用いたKEGG pathway解析では、Insulin signaling pathwayが同定された。またWestern Blottingを行ったところ、Insulin signalingに関連するタンパク質のリン酸化がPg由来LPSにより阻害されることが分かった。Insulin signalingは脳組織においてエネルギー代謝・記憶形成に関与していることが知られており、その機能異常は認知機能障害を引き起こすと考えられている。そのためPgは脳組織のインスリンの機能不全を介して認知症の病態の増悪を引き起こしている可能性が示唆された。

### LB3-09 「SCCVII サブクローン間における腫瘍誘発性骨吸収の相違」 宮川 和晃<sup>1</sup>、西澤 千晶<sup>1</sup>、自見 英治郎<sup>2,3</sup>、道上 敏美<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 大阪母子 骨発育、<sup>2</sup> 九大 院歯 OBТ 研究セ、<sup>3</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学)

【目的】マウス扁平上皮癌細胞株 (SCCVII) を用いたシンジェニックマウスモデルは、顎口腔領域を含む扁平上皮癌の骨病変モデルとして広く用いられている。しかし、本細胞株は単クローン性ではないため、形成された腫瘍モデルの表現型に不均一性が生じることが考えられ、骨病変に対する病態の解釈に影響し得る。本研究は、SCCVIIサブクローン間における腫瘍が骨病変にもたらす骨吸収像の差異とその分子背景を解析した。

【方法】異なる2施設で維持されているSCCVIIをA株およびB株とし、C3H/HeNマウスの下顎枝骨膜下に移植した。また定量化を目的として頭蓋冠にも腫瘍を作成した。移植後1週～3週飼育した後に病変を摘出し、micro-CT撮影、TRAP染色、qPCRにてA株とB株を比較解析した。

【結果・考察】下顎枝モデルにおいて、A株は腫瘍増大に伴う圧迫性骨吸収を示し、B株は皮質骨破壊が著明な骨吸収を示した。頭蓋冠モデルでは、B株はA株よりも腫瘍体積が小さいにもかかわらず、骨穿孔面積が顕著に増加し、破骨細胞数、細胞径の有意な増加を認めた。さらに、頭蓋冠モデルを用いた腫瘍組織の遺伝子発現解析において、B株の腫瘍組織では*Tnf-α*、*Pthrp*の発現が有意に高かった。一方、Matrix metalloproteinase (*Mmp2*、*9*、*13*) の発現に腫瘍間の差はなく、基底膜破壊と破骨細胞誘導能は独立して制御される可能性が示唆された。

【結語】SCCVIIの非クローン性に由来する腫瘍による破骨細胞誘導能には不均一性がみられ、扁平上皮癌の病態に大きく影響することが示された。

**LB3-10 「内側前頭前皮質から中脳水道周囲灰白質腹外側部へ投射する錐体ニューロンに対する $\mu$ オピオイド受容体依存性調節機構」**中谷 有香<sup>1</sup>、北野 晃平<sup>1</sup>、小林 真之<sup>1</sup>( <sup>1</sup>日大 歯 薬理)

内側前頭前皮質 (mPFC) は痛み<sup>1</sup>の感覚的および情動的側面の両方に関与しており、同領域の神経細胞は中脳水道周囲灰白質腹外側部 (vlPAG) に投射している。vlPAGから青斑核や縫線核への下行性投射は、脊髄および三叉神経尾側亜核の神経活動を抑制すると考えられている。

mPFC における $\mu$ オピオイド受容体 (MOR) は主にGABA作動性介在ニューロンに発現しており、同受容体を介する内因性オピオイド系がプラセボ鎮痛に関与することが報告されているが、MOR を発現する抑制性ニューロンが vlPAG へ投射する錐体ニューロンの活動を調節するかどうかは不明であった。本研究では、MOR-Cre-KI ラットの mPFC に AAV-Flex-hChR2(H134R)-mCherry を、

vlPAG に逆行性トレーサーを注入し、全細胞パッチクランプ法により解析を行った。その結果、mCherry 陽性細胞の多くは高頻度スパイク発火型GABA作動性ニューロンであることが示唆された。また、vlPAG に投射する錐体ニューロンでは、光刺激により抑制性シナプス応答が誘発され、この抑制応答は選択的 MOR アゴニス作動薬 DAMGO により減弱し、MOR 拮抗薬 CTAP の投与により回復した。これらの結果から、mPFC における MOR 発現ニューロンは主にGABA 作動性であり、内因性 MOR リガンドが放出される状況下では、これら抑制性ニューロンの活動が抑制され、vlPAG に至る錐体ニューロンの活動が促進される可能性が示唆される。