

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」(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¹、大杉 勇人^{2,3,4}、Peiya Lin^{2,3}、豊嶋 啓汰⁵、芝 多佳彦¹、
片桐 さやか^{2,3}

(¹ 科学大・院医歯 歯周病、² 科学大・院医歯 口腔生命、³ 科学大 口腔科学センター
口腔全身健康部門、⁴ ハーバード大学医学部ジョスリン糖尿病センター、⁵ 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、母親の結紮糸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¹、木村 麻記²、黄地 健仁²、倉島 竜哉²、新谷 誠康¹、澁川 義幸²
(¹ 東歯大 小児歯、² 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 μ M、von Kossa染色で100-500 nM、50-250 μ 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¹、黄地 健仁²、倉島 竜哉²、木村 麻記²、山田 雅司¹、澁川 義幸²
(¹東歯大 歯内、²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¹、黄地 健仁¹、木村 麻記¹、澁川 義幸¹
(¹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Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) 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Ca²⁺蛍光指示薬を用いた[Ca²⁺]_i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[Ca²⁺]_i増加とTRPV1活性化による持続性[Ca²⁺]_i増加を誘発した。Piezo1活性化薬の投与は、Piezo1による初期[Ca²⁺]_i増加に続くTRPV1・TRPA1による第二相[Ca²⁺]_i増加、TRPV1による持続性[Ca²⁺]_i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 [Ca²⁺]_i増加を完全に抑制した。COX活性化薬による[Ca²⁺]_i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^{1,2}、中富 千尋²、小野 堅太郎²、川元 龍夫¹
(¹九歯大 顎口腔機能矯正、²九歯大 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 μm 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^{1,2}、人見 涼露²、林 良憲²、岩田 幸一²、篠田 雅路²
(¹日大 歯 補綴 I、²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¹、人見 涼露²、林 良憲²、坪井 美行²、岩田 幸一²、篠田 雅路²
(¹日大 歯 口内、²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- γ)量および活性化型衛星細胞(SGC)数は増加した。IFN- γ 受容体は、SGCに発現した。TG内全細胞のうち、IFN- γ 産生細胞の割合はIONI群で増加し、かつ全IFN- γ 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 β (IL-1

β)受容体はTGニューロンに発現し、TG内へのIFN- γ 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- γ 投与はMHWTを低下させ、その低下はIL-1 β 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- γ 刺激は、培養SGCからのIL-1 β 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- γ がSGCを活性化し、活性化SGCから放出されたIL-1 β 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¹、人見 涼露²、林 良憲²、岩田 幸一²、篠田 雅路²
(¹日大 歯 口外Ⅱ、²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¹、篠田 雅路¹
(¹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^{1,2}、吉澤 知彦¹、木本 大視^{1,2}、乾 賢¹、船橋 誠¹
(¹北大 院歯 口腔生理、²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^{1,2}、中富 千尋¹、徐 嘉鍵¹、安田 紘佳¹、福崎 まり^{1,3}、折本 愛²、北村 知昭²、小野 堅太郎¹

(¹九歯大 生理、²九歯大 保存、³九歯大 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¹、佐藤 義英²、大橋 誠¹

(¹日歯大新潟 麻酔、²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 μ 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^{1,2}、工藤 忠明¹、富並 香菜子¹、安藤 恵子¹、中井 淳一¹
(¹ 東北大 院歯 口腔生理、² 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¹、小林 真之¹
(¹ 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¹、吉垣 純子²、長坂 新¹、坂東 康彦¹、小野澤 豪^{1,3}、
鈴木 海登^{1,3}、天野 修¹
(¹ 明海大 歯 組織、² 日大松戸歯 生理、³ 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¹、Lihanfang Liu¹、美藤 純弘¹、吉田 竜介¹
(¹ 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。