

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」（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¹、森田 貴雄²、山口 晴香²、下村-黒木 淳子¹

(¹ 日歯大新潟 小児歯、² 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¹、山口 晴香¹、森田 貴雄¹

(¹ 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 α 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 「骨抽出物中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^{1,2}、山本 竜司²、大熊 理紗子²、唐木田 丈夫²、白井 麻衣¹、山越 康雄²
 (¹ 鶴大 歯 口腔リハビリ、² 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^{1,2}、小鹿 恭太郎¹、松浦 信幸¹

(¹ 東歯大 麻酔、² 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-ア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、JUHSAMPLE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($p = 0.0491$)、JUHSAMPLE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¹、白川 智彦¹、William Addison²、松原 琢磨²、川元 龍夫¹、古株 彰一郎²

(¹ 九歯大 顎口腔機能矯正、² 九歯大 分子情報生化学)

【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^{1,2}、埴 太宥²、工藤 朝雄²、興地 隆史¹、添野 雄一²
(¹ 日歯大 生命歯 保存、² 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^{1,2}、埴 太宥²、工藤 朝雄²、西村 俊輝^{2,3}、添野 雄一²、沼部 幸博¹
(¹ 日歯大 生命歯 歯周病、² 日歯大 生命歯 病理、³ 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¹、松田 美穂¹、自見 英治郎^{1,2}(¹ 九大 院歯 口腔細胞工学、² 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¹、宮内 睦美¹、太田 耕司¹(¹ 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¹、大熊 理紗子²、高野 隼人³、山本 竜司²、唐木田 丈夫²、野々山 駿¹、山越 康雄²、長野 孝俊¹(¹ 鶴大 歯 歯周病、² 鶴大 歯 生化学、³ 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が炭酸脱水酵素 (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- β 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- β 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- β 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¹、大熊 理紗子²、山本 竜司²、濱仲 正二²、山越 康雄²、長野 孝俊¹
(¹鶴大 歯 歯周病、²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¹、福田 尚代²、福田 しんじ²、佐藤 琢麻¹、宮澤 健¹、鈴木 崇弘²
(¹愛院大 歯 矯正、²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¹、唐木田 丈夫¹、山本 竜司¹、山越 康雄¹
(¹ 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^{1,2}、福田 尚代²、近藤 久貴³、佐藤 琢麻¹、宮澤 健¹、福田 信治²、鈴木 崇弘²
(¹ 愛院大 歯 矯正、² 愛院大 歯 生化、³ 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 *Gaussia 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^{1,2}、林 慶和^{1,3,4}、佐伯 彩華¹、高橋 一郎²、平田 雅人⁴、自見 英次郎^{1,5}、安河内 (川久保) 友世¹
(¹ 九大 院歯 OBT 研究セ、² 九大 院歯 矯正、³ 福歯大 機能構造、⁴ 福歯大 口腔医学研究セ、⁵ 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 K0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 K0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 K0ではWTマウスと比べ、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 K0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 K0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。

ウスと比べ、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 K0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 K0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¹、神谷 真子²、シィファ ラハマン¹、新谷 耕平³、池野 久美子⁴、中村 源次郎⁴、川木 晴美⁵、奥山 克史¹、近藤 信夫⁶

(¹朝日大 歯 保存・歯冠修復、²朝日大 経営 化学、³朝日大 歯 理工、⁴秋田屋本店 研究開発部、⁵朝日大 歯 口腔生化、⁶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- γ)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 %CO₂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¹、鶴田 はねみ¹、神谷 真子²、高橋 萌³、池野 久美子⁴、中村 源次郎⁴、川木 晴美⁵、村松 泰徳³、奥山 克史¹、近藤 信夫⁶

(¹朝日大 歯 保存・歯冠修復、²朝日大 経営 化学、³朝日大 歯 口外、⁴秋田屋本店 研究開発部、⁵朝日大 歯 口腔生化、⁶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 Shidara¹、溝口 利英²(¹ 東歯大 矯正、² 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⁺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⁺細胞をTom蛍光で標識し(LepR-Tom⁺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⁺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⁺細胞由来OCYとCM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⁺細胞由来OCYは存在したが、CMは認められなかった。

<1細胞解析>PDLにおけるLepR⁺細胞はRunx2⁺とRunx2⁺の2集団に分類された。擬時間解析の結果、LepR⁺Runx2⁺細胞がLepR⁺Runx2⁺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⁺Runx2⁺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⁺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⁺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¹、何 治鋒¹、中道 裕子¹、宇田川 信之¹、小林 泰浩¹(¹Matsumoto 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 Liu¹、Jumpei Washio¹、Nobuhiro Takahashi¹

(¹ 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.