

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¹、林 慶和^{1,2,3}、吉本 尚平^{3,4}、平田 雅人³、自見 英治郎^{1,5}、
安河内（川久保）友世¹（¹九大 院歯 OBT 研究セ、²福歯大 機能構造、³福歯大 口腔医学研究セ、
⁴福歯大 病態構造、⁵九大 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^{1,2,3}、唐川 亜希子^{2,3}、畔津 佑季^{2,3}、茶谷 昌宏^{2,3}、池田 めぐみ⁴、
山本 松男¹、高見 正道^{2,3}（¹昭医大 歯 歯周病、²昭医大 歯 歯科薬理、³昭医大 歯 薬理科学研、
⁴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¹、高橋 有希²、石束 叡³、新谷 誠康¹、笠原 正貴²
(¹東歯大 小児歯、²東歯大 薬理、³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^{+/-}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^{+/-}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^{+/+}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^{+/+}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^{+/-}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^{1,2}、長尾 麻由¹、佐藤 琢麻²、宮澤 健²、濱村 和紀¹
(¹愛院大 歯 薬理、²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μ-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¹、佐野 朋美¹、溝上 顕子²、兼松 隆¹
(¹九大 院歯 口腔機能分子、²九大 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-γでM1分極を誘導するとNF-κB経路（p65のリン酸化）が亢進し、iNOS、TNF-αの発現が増加した。また、LPSまたはINF-

γ の単独刺激では、miR-15b-5p導入によりLPS誘導性のNF- κ B経路が亢進したがIFN- γ 誘導性のJAK-STAT経路は亢進しなかった。そこで、NF- κ 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¹、水澤 典子²、岩脇 有軌³、工藤 保誠²、田中 栄二¹

(¹徳大 院医歯薬 顎顔面矯正、²徳大 院医歯薬 口腔生命、³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 μ 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 α* , *IL1 β* , *IL6*, *TNF α* , *GDF15*, *HBEGF*, *PPAR δ*)の遺伝子発現が上昇し、3種類(*BCL11B*, *PITX2*, *TGFB1*)および、常時活性型で低石灰化に關与する*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¹、工藤 朝雄¹、西村 俊輝^{1,2}、佐藤 かおり¹、田谷 雄二¹、添野 雄一¹

(¹日歯大 生命歯 病理、²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)は予後不良に關与する。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機序への關与が想定される。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に關わる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關した。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關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¹、佐藤 拓一²、東理 頼亮¹、大野 淳也¹、岡田 康男¹(¹ 日歯大新潟 病理、² 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 α 多様性および β 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。