

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」(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¹、山中 淳之¹、後藤 哲哉¹

(¹ 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) のマーカー遺伝子 *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 Ji¹、中村 卓史¹、高橋 かおり¹、若森 実¹

(¹ 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¹、谷村 明彦²(¹ 北医療大 歯 5 年、² 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Ca²⁺プローブ (KLCA301または501) を用いて、骨細胞周囲の細胞外Ca²⁺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Ca²⁺濃度の算定を試みる。

【結論】培養頭頂骨を使っ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¹、花井 亮太¹、安彦 友希¹、鷲尾 純平¹、高橋 信博¹(¹ 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¹、神尾 宜昌¹、今井 健一¹(¹ 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¹、武田 守¹

(¹ 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¹、武田 守¹

(¹ 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效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¹、佐藤 文彦¹、堤 友美^{1,2}、孫 在隣¹、橘 吉寿^{1,3}、吉田 篤^{1,4}、古田 貴寛¹

(¹ 阪大 院歯 口腔解剖 2、² 兵庫医大 院医 解剖 (神経科学)、³ 神戸大 院医 生理、⁴ 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¹、西原 咲希¹、乾 千珠子^{2,3}、河野 彰代^{2,4}、脇坂 聡^{2,5}、本田 義知³、大庭 伸介²

(¹ 阪大 歯学部、² 阪大 院歯 口腔解剖 1、³ 大歯大 口腔解剖、⁴ 大手前短大 歯科衛生、⁵ 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時間二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 α , β , γ)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(β -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 β の発現量は対照群と比べ有意に減少する一方、ENaC α は減少傾向、ENaC γ 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¹、影山 伸哉¹、朝川 美加李¹、竹下 徹¹(¹ 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。