

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¹、松尾 福太郎¹、松尾 美樹²、小松澤 均²、谷本 幸太郎¹

（¹ 広島 院医系科学 矯正、² 広島 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% CO₂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^{1,2}、眞島 いづみ³、梅村 春之介⁴、芹川 雅光⁵、宇佐美 晶信⁵

（¹ 奥羽大 院歯 口腔機能解剖、² 奥羽大 歯 歯科保存、³ 奥羽大 歯 口腔病態解析制御、⁴ 奥羽大附属病院 臨床研修、⁵ 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¹、永野 恵司¹
 （¹ 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¹、藤井 秀駿¹、小林 恒²
 （¹ 小林製薬（株） 中央研究所、² 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^{1,2}、朝川 美加李¹、馬 佳楽¹、名本 瑛理³、影山 伸哉¹、高橋 一郎²、竹下 徹¹
 （¹ 九大 院歯 口腔予防、² 九大 院歯 矯正、³ 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¹、桑原 紀子²、瀧澤 智美¹、泉福 英信¹

(¹ 日大 松戸歯 感染免疫、² 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^T）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¹、朝川 美加李¹、馬 佳楽¹、竹下 徹¹

(¹ 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¹、涌井 杏奈^{1,2}、河内 美帆¹、佐野 拓人^{1,3}、鷲尾 純平⁴、佐藤 拓一¹(¹新潟大 院保 臨床化学、²新潟医福大 医療技術、³日歯大新潟、⁴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* を殺菌しジンジパインおよびリポプロテインを不活化する」遠藤 愛^{1,2}、土門 久哲^{1,3}、平山 悟¹、滝澤 史雄^{1,2}、寺尾 豊^{1,3}(¹新潟大 院医歯 微生物、²新潟大 院医歯 歯周診断・再建、³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パイン、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パイン活性を測定した。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、ジンジパイン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¹、斉藤 幸治¹、三枝 禎¹
(¹ 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 μ 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^{1,2}、岸川 咲吏^{1,2}、豊永 憲司^{1,2}、岩沼 青葉¹、根来 (安松) 香奈江¹、
田崎 園子¹、田中 芳彦^{1,2}
(¹ 福歯大 機能生物 感染生物、² 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 γ 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^{1,2}、永尾 潤一^{1,2}、豊永 憲司^{1,2}、岩沼 青葉¹、田崎 園子¹、
根来 (安松) 香奈江^{1,2}、田中 芳彦^{1,2}
(¹ 福歯大 機能生物 感染生物、² 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 Zheng¹

(¹ 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¹、大松 勉²、安部 公博¹、山口 雄大¹、中尾 龍馬¹

(¹ 国立感染症研究所 細菌第一部 第五室 (口腔感染症室)、² 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¹、内記 良一¹、大石 明広¹、西川 清¹、長谷川 義明¹

(1 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の全細胞破碎液を分画し、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 Aβ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^{1,2}、武 洲^{2,3}、佐野 朋美²、兼松 隆²(1 九大 院歯 口腔顎顔面外科、²九大 院歯 口腔機能分子、³九大 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 β (Aβ) 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Aβ (A, 0.1 μM)、P. gLPS (L, 0.1 μg/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、Aβ、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-α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GSK3βのmRNA発現は増加した。GSK3β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Aβ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Aβ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GSK3β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¹、森 大気¹、花岡 麻里子¹、引頭 毅¹

(1 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- γ 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¹、天野 滋³、小田 慎太郎¹、坂上 宏³、林 丈一朗²、猪俣 恵¹
(¹明海大 歯 微生物、²明海大 歯 歯周病、³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 μ 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¹、田中 とも子¹
(¹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(NaN₃)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NaN₃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 *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¹、原 基¹、今井 あかね^{2,3}、二宮 一智^{1,4,5}

(¹ 日歯大新潟 薬理、² 日歯大新潟 生化、³ 日歯大 新潟短大 歯科衛生、⁴ 日歯大 新潟病院 総合診療科、⁵ 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 $\mu\text{g/mL}$ 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 $\mu\text{g/mL}$ により *C. albicans*は24時間後も酵母のままで、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¹、中澤 太²、村田 清志³

(¹ 奥羽大 歯 口腔病態解析制御、² インドネシア大 歯 口腔生物、³ 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℃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。本研究結果は、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 $\beta 2$ -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¹、堂前 英資¹、花岡 麻里子¹、引頭 毅¹

(¹ 朝日大 歯 口腔微生物)

$\beta 2$ -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Ca²⁺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Ca²⁺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 Liang¹、Takayuki Nambu¹、Hiroki Takigawa¹、Hugo Maruyama¹、
Chiho Mashimo¹、Toshinori Okinaga¹
(¹ 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¹、坂東 絢子¹、森 あり沙^{1,2}、大野 誠之^{1,3}、池田 恵莉¹、
川端 重忠¹
(¹ 阪大 院歯 口腔細菌、² 阪大 院歯 口外 2、³ 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¹、齋藤 真規¹、泉福 英信¹

(¹ 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*を添加した場合では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の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 Suzuki¹、石河 太知²、三浦 利貴²、根本 優子^{2,3}、根本 孝幸^{2,3}

(¹ 岩医大 歯 口外、² 岩医大 歯 分子微生物、³ 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¹、土門 久哲^{1,2}、寺尾 豊^{1,2}

(¹ 新潟大 院医歯 微生物、² 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¹、田村 宗明²、今井 健一²

(¹日大 歯 補綴 I、²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¹、齋藤 真規²、竹内 麗理¹、田中 陽子³、平塚 浩一¹

(¹日大松戸歯 生化、²日大松戸歯 感染免疫、³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^T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G0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³、野村宇稔⁴（⁴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^{1,2}、永尾 潤一^{1,2}、田崎 園子¹、岸川 咲吏^{1,2}、岩沼 青葉¹、
根来（安松）香奈江^{1,2}、田中 芳彦^{1,2}
（¹ 福歯大 機能生物 感染生物、² 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^{1,2}、平山 悟¹、寺尾 豊^{1,2}
（¹ 新潟大 院医歯 微生物、² 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- κ 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^{1,2}、安部 雅世¹、天野 滋³、坂上 宏³、中村 浩平²、猪俣 恵¹
（¹ 明海大 歯 微生物、² 岐阜大 院連農、³ 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℃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 1×10^5 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℃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¹、川端 重忠¹

(¹ 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^{1,2}、澤瀬 萌々¹、白倉 佳奈¹、根本 優子^{1,2}、三浦 利貴²、石河 太知²、藤田 優子¹

(¹ 長大 歯 小児、² 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¹、大西 智和¹、松口 徹也¹

(1 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)¹、真下 千穂¹、南部 隆之¹、円山 由郷¹、瀧川 博樹¹、沖永 敏則¹

(1 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、OD₆₀₀ = 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¹、松本 愛理¹、大貝 悠一¹、中田 匡宣¹

(1 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℃ と 25℃ 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℃ 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℃ 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℃ での培養時と比較して、37℃ 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¹、前田 豊信²、遊佐 淳子³、加藤 靖正²

(¹ 奥羽大 歯 口腔衛生、² 奥羽大 歯 口腔生化学、³ 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 λ 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 λ 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¹、山口 晴香²、森田 貴雄²

(¹ 日歯大新潟 放射線、² 日歯大新潟 生化学)

【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¹、藤兼 亮輔^{1,2}、日高 真純^{1,2}

(1 福歯大 細胞分子生物、2 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 Li¹、武部 克希¹、吉田 国弘^{1,3}、土佐 郁恵²、江口 傑徳¹、大原 直也²、岡元 邦彰¹

(1 Okayama Univ, Dept Dent Pharmacol、2 Okayama Univ, Dept Oral Microbiol、3 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 α/β -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 α/β -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 β -tubulin increased and accumulated around the nucleus. Our findings demonstrate that Rab11 critically regulate α/β -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^{1,2}、Thinh Truong¹、藤井 慎介^{1,3}、清島 保¹

(¹ 九大 院歯 口腔病理、² 九大 院歯 口腔顎顔面外科、³ 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していた。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¹、佐藤 かおり¹、埴 太宥¹、田谷 雄二¹、添野 雄一¹

(¹ 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、 α -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¹、佐野 拓人¹、大野 淳也¹、東理 頼亮¹、佐藤 拓一²、戸谷 収二³

(¹ 日歯大新潟 病理、² 新潟大 院保健 臨床化学、³ 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¹、美原 希美¹、根岸 翼¹
 （¹日歯大 生命歯 生化）

Mucosa-associated lymphoid tissue 1 (MALT1) は、血球系で、NF- κ 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¹、高橋 萌衣²、宮内 睦美¹、太田 耕司¹
 （¹ 広大院医系科学、² 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、洗口液の予防的な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 Sunohara¹、Kazuto Shimada¹、Miyoko Yokoyama¹、Kingo Suzuki¹
(¹Nippon 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- β_1 (TGF- β_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^{1,2}、長岡 良礼²、八田 光世²
(¹福歯大 矯正、²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- β_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- β_1 誘導性SE)が形成されることが明らかになった。TGF- β_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GO-termが抽出された。またFN1、SERPINE1、SOX4遺伝子領域でTGF- β_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- β_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- β_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¹、松山 加乃¹、山崎 英俊¹(¹三重大 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¹、楠山 譲二²(¹産医大 産業保健 人間情報、²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*^{-/-}）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*^{-/-}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^{1,2}、藤兼 亮輔^{2,3}、日高 真純^{2,3}(¹福歯大 矯正、²福歯大 分子機能、³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（ΔMSH2）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、ウェ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¹、沢 禎彦²

(¹ 福歯大 成長発達 矯正、² 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な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¹、島村 瑠々花¹、坂上 宏²、天野 滋²、佐藤 卓也¹、坂東 健二郎³、
崎山 浩司¹

(¹ 明海大 歯 解剖、² 明海大 歯、³ 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、G2+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^{1,2,3}、豊田 博紀⁴、吾郷 由希夫⁵、加藤 隆史⁶、田熊 一敬^{1,2,3}(1 阪大 院歯 薬理、² 阪大 院薬 神経薬理、³ 阪大 院連合小児発達、⁴ 愛院大 歯 生理、⁵ 広大 院歯 薬理、⁶ 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ョ糖嗜好性の低下、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¹、吉田 彩佳²、吉野 文彦³、黒田 英孝¹(1 神歯大 院歯 歯科麻酔、² 神歯大 院歯 歯学教育、³ 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 H_2O_2 +紫外線 (UV) 系で、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ は TiO_2 + H_2O_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 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、100 ng/mL 、10 ng/mL 、1 ng/mL) を添加して酸化ストレスを比較した。統計解析にはDunnett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 $\mu\text{g/mL}$ と100 ng/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 pg/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。

【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 $\mu\text{g/mL}$ と100 ng/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 pg/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¹、根津 顕弘¹、谷村 明彦¹

(1 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 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IP₃受容体局在の変化、Ca²⁺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IP₃センサーを用いてIP₃動態解析を進めている。これによりアストロサイトのCa²⁺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¹、早川 和宏¹、川口 高德¹、松下 歩夢¹、安達 一典¹
(¹ 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¹、喜多村 洋幸¹
(¹ 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(TD₅₀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、TD₅₀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TD₅₀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TD₅₀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、TD₅₀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が示された。

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^{1,2}

(¹ こいで歯科医院 Koide Dental Office、² 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。