

プログラム

特別講演 (PL-1～PL-2)

ライオン学術賞受賞講演 (L-1)

歯科基礎医学会賞受賞講演 (Y-1～Y-5)

ミニレクチャー (ML-1～ML-3)

男女共同参画セミナー (DS-1～DS-2)

日本学術会議シンポジウム (CS-1～CS-3)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS-1～KS-5)

メインシンポジウム (MS1～MS3)

サテライトシンポジウム (SS1～SS12)

ランチョンセミナー (LS1～LS4)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

■ 特別講演 I (ロツテ基金講演)

PL-1

Irma Thesleff

(Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki)

「Stem and progenitor cells for tooth renewal」

座長：山城 隆 (阪大 院歯 矯正)

日時：9月21日 15:40~16:40

会場：A会場 (コンベンションホール)

■ 特別講演 II (ロツテ基金講演)

PL-2

Bjorn R. Olsen

(Harvard Sch. of Dent. Med.)

「Vascular endothelial growth factor controls formation and homeostasis of bone」

座長：滝川 正春 (岡大 院医歯薬 口腔生化)

日時：9月21日 16:40~17:40

会場：A会場 (コンベンションホール)

■ ライオン学術賞受賞講演

L-1

寺尾 豊

(新大 院医歯 微生物感染症)

「バイオイメージングから展開する感染制御研究」

座長：大浦 清 (大歯大 薬理)

日時：9月21日 14:40~15:40

会場：A会場 (コンベンションホール)

■ 歯科基礎医学会学会賞受賞講演

第 25 回歯科基礎医学会賞

日時：9月22日 14:30~15:30

会場：A 会場（コンベンションホール）

【解剖学分野】座長：佐藤 巖（日歯大 歯 解剖一）

Y-1：石原 嘉人（岡大 院医歯薬 歯科矯正）

「骨組織中でのライブイメージングを用いた自律性細胞内カルシウムオシレーションの検討」

受賞対象論文：In situ imaging of the autonomous intracellular Ca^{2+} oscillations of osteoblasts and osteocytes in bone. Bone 50 巻 842 頁~852 頁（2012 年発行）

【解剖学分野】座長：影山 幾男（日歯大 新潟生命歯 解剖 1）

Y-2：雪田 聡¹、細矢 明宏²、片桐 岳信³、中村 浩彰²（¹静大 教育、²松歯大 解剖 2、³埼医大 ゲノム 病態生理）

「SUMO 化修飾による BMP 応答能の制御」

受賞対象論文：Ubc9 negatively regulates BMP-mediated osteoblastic differentiation in cultured cells. Bone 50 巻 1092 頁~1099 頁（2012 年発行）

【生理学分野】座長：二ノ宮裕三（九大 院歯 口腔機能解析）

Y-3：佐藤慶太郎（獨協医大 医 生理）

「*E2f1* 欠損型 NOD/SCID マウスは唾液腺の腺房/導管の構造変化と AQP5 の発現レベル低下により口腔乾燥症を呈する」

受賞対象論文：*E2f1*-deficient NOD/SCID mice have dry mouth due to a change of acinar/duct structure and the down-regulation of AQP5 in the salivary gland. Pflugers Archiv-European journal of Physiology 465 巻 271~278 頁（2013 年発行）

【生化学分野】座長：平田 雅人（九大 院歯 口腔細胞工）

Y-4：吉村健太郎（昭大 歯 口腔生化）

「モノカルボン酸トランスポーター-1 はインターロイキン- 1β で刺激した軟骨細胞様 ATDC5 細胞の後期 NF- κ B 活性化および食細胞型 NADPH オキシダーゼの発現によって誘導される細胞死に必要である」

受賞対象論文：Monocarboxylate transporter-1 is required for cell death in mouse chondrocytic ATDC5 cells exposed to interleukin- 1β via late phase activation of nuclear factor κ B and expression of phagocyte-type NADPH. The Journal of Biological Chemistry 286 巻 14744 頁~14752 頁（2011 年発行）

【薬理学分野】座長：大浦 清（大歯大 薬理）

Y-5：兒玉 大介（愛院大 歯 薬理）

「ヒト骨芽細胞における α_1 アドレナリン受容体のシグナル経路と生理機能」
受賞対象論文：Noradrenaline stimulates cell proliferation by suppressing potassium channels via $G_{i/o}$ -protein-coupled α_{1B} -adrenoceptor in human osteoblast. British Journal of Pharmacology 168 巻 1230 頁～1239 頁（2013 年発行）

■ ミニレクチャー（第 3 回岡山医療教育・研究国際シンポジウム共催）

ML-1：Daniel Haas

(Fac. of Dent., Univ. of Toronto)

「Research at the Faculty of Dentistry, University of Toronto」

座長：宮脇 卓也（岡大 院医歯薬 歯科麻酔・特別支援歯学）

ML-2：Jae il Lee

(Dept. of Oral Pathol., Sch. of Dent., Seoul National Univ.)

「The effect of CXCR4 over-expression on the cell proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells」

座長：長塚 仁（岡大 院医歯薬 口腔病理）

ML-3：Tong Cao

(National Univ. Health System and National Univ. of Singapore)

「Exploring functional tissue-organ from human embryonic stem cells」

座長：滝川 正春（岡大 院医歯薬 口腔生化）

日時：9月22日 12:30～14:30

会場：F 会場（レセプションホール）

■ 男女共同参画セミナー

「学術分野における男女共同参画推進にむけて— フィンランドからの展望」

日時：9月22日 13:00~14:00

会場：D会場（405会議室）

座長：山本 照子（東北大 院歯 顎口腔矯正）
城戸 瑞穂（九大 院歯 分子口腔解剖）

DS-1：Irma Thesleff（Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki）

「Towards gender equality in academia」

DS-2：山本 照子（東北大 院歯 顎口腔矯正）

「日本の学術分野での男女共同参画の現状」

■ 日本学術会議シンポジウム

「高齢社会における Oral-Systemic Medicine」

日時：9月21日 9:00~11:00

会場：F会場（レセプションホール）

座長：滝川 正春（岡大 院医歯薬 口腔生化）
岩田 幸一（日大 歯 生理）

CS-1：インクレチン療法の期待と課題

清野 裕（関西電力病院）

CS-2：歯周病と糖尿病の関連性からひもとく Oral-Systemic Medicine の分子基盤

西村 英紀（九大 院歯 歯周病）

CS-3：生命を支えている臓器としての骨組織 —歯周疾患と骨粗鬆症の関連—

宇田川信之（松歯大 口腔生化）

■ 歯科基礎医学会学術シンポジウム

「バイオイメージングの最前線—歯科基礎医学研究を照らす新しい光—」

日時：9月21日 9:00~11:20

会場：A会場（コンベンションホール）

座長：谷村 明彦（北医大 歯 薬理）

飯村 忠浩（東医歯大 院医歯 口腔病理）

KS-1：生体蛍光イメージング技術が拓く次世代骨研究戦略

今村 健志（愛媛大 院医 分子病態医学）

KS-2：骨細胞のバイオイメージングとナノモデル解析

上岡 寛（岡大 院医歯薬 歯科矯正）

KS-3：イメージングを駆使した歯の発生の新たな理解への挑戦

原田 英光、大津 圭史、藤原 尚樹、坂野 深香（岩医大 解剖 発生再生）

KS-4：唾液分泌シグナル応答の intravital イメージングと分泌制御機構の解析

根津 顕弘、森田 貴雄、谷村 明彦（北医大 歯 薬理）

KS-5：蛍光から化学発光へ—バイオイメージングの新潮流—

永井 健治（阪大 産研 生体分子機能科学、JST さきがけ）

■ メインシンポジウム

1. Biodental Engineering —バイオ研究と材料科学の融合—

日時：9月22日 9：00～11：10

会場：A 会場（コンベンションホール）

座長：辻 孝（東理大 総合研究機構）

松本 卓也（岡大 院医歯薬 生体材料）

MS1-1：発生生物学的アプローチによる口腔器官の再生

辻 孝（東理大 総合研究機構）

MS1-2：ゲル材料を使った *in vitro* での腺組織形態形成制御

松本 卓也（岡大 院医歯薬 生体材料）

MS1-3：抗体アレイによる幹細胞集団のキャラクタリゼーション

加藤 功一（広大 院医歯薬保 生体材料）

MS1-4：iPS 細胞を用いたスキャフォールドフリー骨組織再生

江草 宏（阪大 院歯 補綴1）

2. オーミクスから彫塑する疾患像

日時：9月22日 12：30～14：30

会場：A 会場（コンベンションホール）

座長：大原 直也（岡大 院医歯薬 口腔微生物）

久保田 聡（岡大 院医歯薬 口腔生化）

MS2-1：ゲノム解析からみえてきた歯周病細菌の新たな側面

内藤真理子（長大 院医歯薬 口腔病原微生物）

MS2-2：CRISPR による病原性細菌の生存と進化戦略

中川 一路（東医歯大 院医歯 細菌感染制御）

MS2-3：メタボロミクスとインタラクトミクスが描き出す CCN2 の新たな機能
久保田 聡、前田 彩、西田 崇、滝川 正春（岡大 院医歯薬 口
腔生化）

MS2-4：転写ネットワークによる内軟骨性骨形成の制御機構
西村 理行（阪大 院歯 生化）

MS2-5：ゲノムワイド関連解析(GWAS)による正常眼圧緑内障特異的ゲノムマーカー
同定とその意義
田代 啓（京府医大 院医 ゲノム医科）

3. 口腔領域の疼痛：臨床家の視点を交えて

日時：9月22日 9：00～11：10

会場：F 会場（レセプションホール）

座長：杉本 朋貞（岡大 院医歯薬 口腔機能解剖）

松香 芳三（徳大 院 HBS 咬合管理）

MS3-1：口腔顔面領域における異所性痛覚異常の中枢機構
岩田 幸一（日大 歯 生理）

MS3-2：口腔顔面の侵害受容機構と痛覚異常
寺山 隆司、杉本 朋貞（岡大 院医歯薬 口腔機能解剖）

MS3-3：慢性の口腔顔面痛の管理において歯科医師には何が求められるか
今村 佳樹（日大 歯 口腔診断）

MS3-4：口腔顔面痛の疼痛伝達メカニズムと新規治療法の開発—知覚神経節細胞から
の神経伝達物質遊離—
松香 芳三（徳大 院 HBS 咬合管理）

■ サテライトシンポジウム

サテライトシンポジウム 1

「生体ネットワークによる調和を目指した再生医療」

日時：9月20日 13:00~15:00

会場：B会場（301会議室）

オーガナイザー 臼井 通彦（九歯大 歯周病制御再建）
佐藤 毅（埼玉医大 口腔外科）

SS1-1：骨格発生メカニズムの理解と骨・軟骨再生医療
大庭 伸介（東大 院工 バイオエンジニアリング）

SS1-2：自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建
岩田 隆紀（東女医大 先端生命医科研）

SS1-3：性ホルモンによる骨代謝調節機構の新知見と骨再生医療への展開
今井 祐記（愛媛大 プロテオサイエンスセ 病態生理解析）

SS1-4：神経系による骨代謝制御
竹田 秀（東医歯大 医 細胞生理）

サテライトシンポジウム 2

「多様化する骨形成・骨吸収細胞研究」

日時：9月20日 13:00~15:00

会場：C会場（302会議室）

オーガナイザー：羽地 達次（徳大 院 HBS 口腔組織）
後藤 哲哉（九歯大 頭頸部構造解析）

SS2-1：成熟骨芽細胞 MLO-A5 は Gap junction を介して未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 の分化を制御する
三上 剛和（日大 歯 解剖 I）

- SS2-2：骨・軟骨形成過程におけるギャップ結合分子パネキシン3の機能解析
岩本 勉（徳大 院HBS 小児歯）
- SS2-3：破骨細胞の分化を調節する免疫関連分子とその検出法
森本 景之（産医大 医 第2解剖）
- SS2-4：骨代謝の概日リズムと時計遺伝子
近藤 久貴（愛院大 歯 薬理）
- SS2-5：転写因子 NF- κ B による骨形成調節機構について
大澤 賢次（九歯大 歯 分子情報生化）

サテライトシンポジウム3

「若手の口腔生理学研究最前線」

日時：9月20日 13:00~15:00

会場：D会場（405会議室）

オーガナイザー 船橋 誠（北大 院歯 口腔生理）

山村 健介（新大 院医歯 口腔生理）

- SS3-1：唾液分泌における大脳皮質咀嚼野の役割
前田 直人¹ 松尾 龍二²（¹岡大 院医歯薬 咬合・有床義歯補綴、²岡大 院医歯薬 口腔生理）
- SS3-2：口腔咽頭領域への化学刺激がもたらす嚥下機能の変調効果
中村 由紀（新大 院医歯 摂食・嚥下リハ）
- SS3-3：歯牙交換の分子生理学的メカニズムと歯牙交換異常の病態生理学
福島 秀文（福歯大 細胞分子生物 細胞生理）
- SS3-4：顎顔面口腔領域における異所性痛覚過敏の末梢神経機構
篠田 雅路（日大 歯 生理）

サテライトシンポジウム 4

「CCN ファミリーをめぐるトランスレーショナル・デンタルリサーチ」

日時：9月20日 13:00~15:00

会場：E会場（407会議室）

オーガナイザー 滝川 正春（岡大 院医歯薬 口腔生化）

山本 照子（東北大 院歯 顎口腔矯正）

SS4-1：圧縮力による骨細胞のアポトーシスに対する CTGF/CCN2 の役割

山本 照子（東北大 院歯 顎口腔矯正）

SS4-2：ヒト象牙質・歯髄複合体におけるメタロプロテアーゼと CTGF/CCN2 発現

室町 幸一郎¹、神尾 直人¹、松島 潔^{1,2}（日大 松戸歯 歯内¹、日大 口
科研²）

SS4-3：歯肉上皮細胞に対する低出力超音波パルス照射の影響について

正木 千尋、向坊 太郎、近藤 祐介、中本 哲自、細川 隆司（九歯大
口腔再建リハ）

SS4-4：軟骨細胞における CCN2 発現及び産生量に与える低出力性超音波 (LIPUS) の
効果

西田 崇¹、久保田 聡¹、青山絵理子²、山中 信康³、滝川 正春¹（¹岡大
院医歯薬 口腔生化、²岡大 歯 機能系共同利用、³伊藤超短波(株)）

SS4-5：CCN4/WISP-1 の骨形成における役割

大野 充昭¹、前田あずさ^{1,2}、正木明日香¹、吉岡 裕也¹、園山 亘¹、窪木
拓男¹、Marian F. Young²（¹岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、
²NIDCR/NIH）

サテライトシンポジウム 5

「『口腔組織幹細胞の未来志向』—ヒト歯髄細胞は臨床応用可能か?—」

日時：9月20日 13:00~15:00

会場：G会場（展示ホール）

オーガナイザー 本田 雅規（日大 歯 解剖Ⅱ）

山座 孝義（九大 院歯 分子口腔解剖）

SS5-1：歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生治療の実用化に向けて

中島美砂子（国立長寿医療研究セ 歯科口腔先進医療開発セ）

SS5-2：再生医療資源としての歯髄細胞利用

手塚 建一（岐阜大 院医 組織形成）

SS5-3：ヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清を用いた難治性全身疾患に対する新しい再生療法の開発

山本 朗仁（名大 院医 頭頸部・感覚器外科・歯科口腔外科）

SS5-4：凍結ヒト歯髄組織の臨床応用の可能性

山座 孝義（九大 院歯 分子口腔解剖）

サテライトシンポジウム 6

「第27回唾液腺談話会」

日時：9月20日 15:00~19:00

会場：B会場（301会議室）

オーガナイザー 松尾 龍二（岡大 院医歯薬 口腔生理）

SS6-1：胎仔マウス顎下腺の組織間における microRNA 輸送

林 徹（朝日大 歯科薬理）

- SS6-2：プロトンポンプ（V-ATPase）は唾液分泌にどのように関わるのか
 佐原 資謹¹、堀江 沙和^{1,2}、大宮 麻美^{1,3}、梅木 悠人^{1,3}、後藤（松元）奈緒美³、中西（松井）真弓³（¹岩医大 病態生理、²岩医大 医歯薬総研 腫瘍生物、³岩医大 薬 機能生化）
- SS6-3：耳下腺における唾液タンパク質の分泌顆粒への輸送機構
 吉垣 純子、福島美和子、横山 愛、加藤 治（日大 松戸歯 生理）
- SS6-4：唾液中のエキソソームと病気診断—水チャネル・アクアポリン-5を中心にして—
 石川 康子、Pieczonka Tomasz、Bragiel Aneta（徳大 院 HBS 分子薬理）
- SS6-5：ウイルスベクターを使った唾液腺へ遺伝子導入とイメージング解析への応用
 谷村 明彦、根津 顕弘、森田 貴雄（北医大 歯 薬理）
- SS6-6：唾液腺における GABA 受容体機能の新しい展開
 川口 充（東歯大 薬理）

サテライトシンポジウム7

「頭頸部腫瘍の微小循環—化学療法との接点—」

日時：9月20日 15:00～17:00

会場：C会場（302会議室）

オーガナイザー 藤村 朗（岩医大 解剖 機能形態）

島田 和幸（鹿大 院医歯 神経病 人体構造解剖）

- SS7-1：2型糖尿病における口腔粘膜の微細血管構築
 上村 守、諏訪 文彦（大歯大 解剖）
- SS7-2：筋発育過程における微小血管形成因子発現状況の検討
 春原 正隆、佐藤 巖（日歯大 生命歯 解剖—）
- SS7-3：癌化学療法における Drug Delivery Route としてのリンパ管
 安藤 禎紀、藤村 朗（岩医大 解剖 機能形態）
- SS7-4：腫瘍微小循環系の制御による腫瘍増殖抑制の試み
 北原 秀治（東女医大 医 解剖・発生生物）

サテライトシンポジウム 8

「口腔マイクロバイオータ研究の最前線：若手研究者による挑戦レポート」

日時：9月20日 15：00～17：00

会場：D会場（405会議室）

オーガナイザー 大島 朋子（鶴見大 歯）
宮川 博史（北医大 歯）
浜田 信城（神歯大）
佐藤 拓一（東北大 院歯）

SS8-1：Anaerobic culture to detect periodontal and caries pathogens

Anne C. R. Tanner (Dept. of Microbiol., The Forsyth Inst.)

SS8-2：The interaction between *Fusobacterium nucleatum* and the erythrocyte：
Impacts on the host immune system

Saori Yoneda, Riyoko Tamai, J. Merritt, Yusuke Kiyoura (Dept. of Oral
Medical Sci., Ohu Univ., Sch. of Dent.)

SS8-3：Cell surface coaggregation receptor polysaccharide in *Streptococcus sanguinis*

Yasuo Yoshida¹, Jinhua Yang², Keiji Nagano¹, Yuki Abiko¹, Fuminobu
Yoshimura¹, John O. Cisar² (¹Dept. of Microbiol., Sch. of Dent., Aichi Gakuin
Univ., ²Oral Microbiol. and Immunol. Branch, NIDCR, NIH)

SS8-4：Microbiota profiling of bronchial fluids of elderly patients

Noriko Ishida¹, Takuichi Sato¹, Yasushi Hoshikawa³, Naoko Tanda²,
Takashi Kondo³, Nobuhiro Takahashi¹ (¹Div. of Oral Ecol. and Biochem.,
and ²Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.; ³Dept. of
Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging, and Cancer, Tohoku Univ.)

SS8-5 : Hydrogen sulfide, methyl mercaptan, and acetaldehyde in oral health care for perioperative patients with pulmonary carcinoma

Naoko Tanda¹, Naoko Ishida², Yasushi Hoshikawa³, Takuichi Sato², Nobuhiro Takahashi², Ryoichi Hosokawa⁴, Takeyoshi Koseki⁴ (¹Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Hospital, ²Div. of Oral Ecol. and Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging and Cancer, Tohoku Univ., ⁴Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)

SS8-6 : Ameriolating effects of a Kampo Medicine, Juzentaihoto on restraint stress and *P. gingivalis*-induced alveolar bone loss

Orie Takeda¹, Toshizo Toyama², Kiyoko Watanabe², Takenori Sato², Kenichi Sasaguri¹, Susumu Akimoto¹, Sadao Sato¹, Toshitsugu Kawata¹ and Nobushiro Hamada² (Div. Oral Sci., Dept. Ortho, Kanagawa Dent. Univ.¹, Dept. of Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.²)

SS8-7 : Basic helix-loop-helix transcription factors DEC1 and DEC2 in *P. gingivalis*-induced inflammation

Cintia Yuki Fukuoka¹, Ujjal K Bhawal¹, Ryoki Kobayashi¹, Toshizo Toyama², Takenori Sato², Hidefumi Kumada², Yoshimitsu Abiko¹, Nobushiro Hamada² (¹Dept. of Biochem. and Molecular Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo; ²Dept. of Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.)

サテライトシンポジウム 9

「CCN ファミリー研究のメルティングポット」

日時：9月20日 15:00~17:00

会場：E会場（407会議室）

オーガナイザー 久保田 聡（岡大 院医歯薬）

向山 政志（京大 院医）

勝部 憲一（東都医療大 ヒューマンケア）

SS9-1：骨芽細胞分化と骨再生における CCN3 の役割

山口 朗（東医歯大 院医歯 口腔病理）

SS9-2：軟骨特異的 CCN3 過剰発現による内軟骨性骨形成の修飾

服部 高子¹、大野 充昭²、星島 光博¹、角谷 宏一³、桑原 実穂³、三宅 佳子¹、窪木 拓男²、滝川 正春¹（¹岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 インプラント再生補綴、³岡大 歯）

SS9-3：ERK1/2 経路を介した CCN3 の初期軟骨分化における作用の検討

川木 晴美¹、久保田 聡²、尾上 一平^{1,3}、近藤 雄三^{1,3}、高橋 潤^{1,3}、神谷 真子¹、高山 英次¹、近藤 信夫¹、滝川 正春²（¹朝日大 歯 口腔生化、²岡大 院医歯薬 口腔生化、³朝日大 歯 インプラント）

SS9-4：牽引力は CTGF シグナルを介して頭蓋縫合における血管形成を促進する

竹下 信郎、長谷川正和、佐々木紀代、関 大輔、宮下 俊郎、高野 郁子、宮島 悠旗、山本 照子（東北大 院歯 顎口腔矯正）

SS9-5：CCN2 は軟骨細胞のエネルギー代謝に重要である

前田 彩^{1,2}、久保田 聡¹、川木 晴美¹、河田 かずみ¹、三宅 由晃³、服部 高子¹、西田 崇¹、森谷 徳文²、飯田 征二²、滝川 正春¹（¹岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 院医歯薬 顎口腔再建外科、³岡大 院医歯薬 整形外科）

SS9-6 : CTGF/CCN2 が未分化なヒト歯根膜細胞株の骨芽細胞様分化に及ぼす影響
祐田 明香¹、前田 英史²、藤井 慎介³、門野内 聡¹、山本 直秀¹、和田
尚久²、友清 淳⁴、郡 勝明²、濱野さゆり¹、赤峰 昭文^{1,2} (¹九大 院歯
歯科保存、²九大 病院 歯内治療、³阪大 院医 分子病態生化、⁴Colgate
Australian Clinical Dental Research Centre, Sch. of Dent., Univ. of
Adelaide)

SS9-7 : 全身性誘導性 CCN2 ノックアウトマウスにおける抗糸球体基底膜腎炎の糸球
体障害軽減機序の検討

横井 秀基¹、戸田 尚宏¹、笠原 正登¹、森 潔^{1,2}、榎原 孝成¹、今牧
博貴¹、石井 輝¹、古賀 健一¹、森 慶太¹、加藤有希子¹、大野 祥子¹、
菅原 照³、松阪 泰二⁴、中尾 一和^{1,2}、向山 政志¹ (¹京大 院医 内分泌
代謝内科、²京大 院医 メディカルイノベーションセ、³大阪赤十字病院
腎臓内科、⁴東海大 腎内分泌代謝内科)

サテライトシンポジウム 10

「歯周病原菌による歯周組織破壊メカニズム：現状と展望」

日時：9月20日 17：00～19：00

会場：C会場（302会議室）

オーガナイザー 古西 清司（日歯大 生命菌 微生物）

上條竜太郎（昭大 歯 口腔生化）

SS10-1 : *P. gingivalis* の歯周組織破壊戦略—変貌する歯周病因論—
天野 敦雄（阪大 院歯 口腔分子免疫制御 予防歯科）

SS10-2 : 細菌プロテアーゼ：多才な病原因子
今村 隆寿（熊大 院生命科学 分子病理）

SS10-3 : ジンジパインの分泌機構
才木桂太郎、古西 清司（日歯大 生命菌 微生物）

SS10-4 : ジンジパインによる骨破壊分子メカニズムの解明
宮本 洋一（昭大 歯 口腔生化）

SS10-5 : *Porphyromonas gingivalis* の Mfa1 線毛の構造・構築機序に関する最近の知見—*mfa1* 遺伝子の下流因子の役割—
長谷川義明、村上 幸孝 (朝日大 歯 口腔感染医療 口腔微生物)

サテライトシンポジウム 11

「口腔内の痛みを考える—基礎から臨床まで—」

日時：9月20日 17:00~19:00

会場：D 会場 (405 会議室)

オーガナイザー 岩田 幸一 (日大 歯 生理)

SS11-1 : 口腔粘膜における痛み感受性チャネルの局在と機能
城戸 瑞穂 (九大 院歯 分子口腔解剖)

SS11-2 : 口腔内疼痛の疾患別特徴
小見山 道 (日大 松戸歯 顎口腔機能治療)

SS11-3 : 舌痛症における Artemin の役割
篠田 雅路 (日大 歯 生理)

SS11-4 : 口腔内に痛みを引き起こす疾患と治療の実際
野間 昇 (日大 歯 口腔診断)

SS11-5 : 口内炎による疼痛発症メカニズム
人見 涼露 (九歯大 生理)

サテライトシンポジウム 12

「骨細胞のバイオロジー」

日時：9月20日 17:00~19:00

会場：E会場（407会議室）

オーガナイザー 網塚 憲生（北大 院歯 硬組織発生生物）

中島 友紀（東医歯大 院医歯 分子情報伝達）

SS12-1：オーバービュー：骨の司令塔—骨細胞—

網塚 憲生、宮本 幸奈、本郷 裕美、佐々木宗輝、長谷川智香（北大 院歯 硬組織発生生物）

SS12-2：骨細胞ネットワークによるメカニカルストレス応答

小守 壽文（長大 院医歯薬 細胞生物）

SS12-3：骨細胞性の骨溶解

松尾 光一（慶大 医 細胞組織）

SS12-4：骨細胞による骨吸収制御機構

中島 友紀（東医歯大 院医歯 分子情報伝達）

■ ランチョンセミナー

ランチョンセミナー 1

LS-1：骨修飾剤ビスフォスフォネートのポテンシャルとミステリー

米田 俊之（インディアナ大 医 血液腫瘍内科）

座長：佐々木 朗（岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科）

協賛：味の素製薬(株)、アステラス製薬(株)、エーザイ(株)、MSD(株)、小野薬品工業(株)、大正富山医薬品(株)、第一三共(株)、武田薬品工業(株)、中外製薬(株)、帝人ファーマ(株)、ノバルティスファーマ(株)

日時：9月21日 11:30~12:30

会場：F会場（レセプションホール）

ランチオンセミナー 2

LS-2: 歯科基礎医学研究におけるメカノバイオロジーの可能性

成瀬 恵治 (岡大 院医歯薬 システム生理)

座長: 松本 卓也 (岡大 院医歯薬 生体材料)

協賛: (株)メニコン

日時: 9月21日 11:30~12:30

会場: C会場 (302会議室)

ランチオンセミナー 3

LS-3: ウーロン茶ポリフェノールの齲蝕抑制効果とそのメカニズム

仲野 道代 (岡大 院医歯薬 小児歯)

座長: 野村 良太 (阪大 歯病院 小児歯)

協賛: サントリー食品インターナショナル(株)

日時: 9月21日 11:30~12:30

会場: D会場 (405会議室)

ランチオンセミナー 4

LS-4: エルゼビア社主催 若手研究者のための Author Workshop: 学術論文作成の基本と EES を用いた Journal of Oral Biosciences 誌への投稿方法について

大島 勇人 (新大 院医歯 硬組織形態、J. Oral Biosci. 誌編集長)

協賛: エルゼビア・ジャパン(株)

日時: 9月21日 11:30~12:30

会場: E会場 (407会議室)

■ 一般演題 (口演)

9月21日(土) 9:00~9:40 B会場 301会議室

骨代謝1: 骨芽細胞 座長: 小守 壽文 (長大 院医歯薬 細胞生物)

O-1	Smad8 は BMP シグナルを抑制的に調節する ○片桐 岳信 ¹ 、藤本 舞 ¹ 、宮本 阿礼 ¹ 、古株 彰一郎 ¹ 、自見 英治郎 ² 、大澤 賢次 ¹ (埼玉大 ゲノム 病態生理、 ² 九歯大 分子情報生化)
O-2	卵巣摘出レプチン受容体遺伝子変異 (db/db) マウスの骨組織における組織化学的検索 ○田中 祐介 ^{1,2} 、長谷川 智香 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、織田 公光 ³ 、鄭 漢忠 ² 、網塚 憲生 ¹ (北大 歯 硬組織発生物、 ² 北大 歯 口外、 ³ 新大 院医歯 生化)
O-3	コリプレッサー TLE3 は HDAC を介して骨芽細胞分化を抑制する ○古株 彰一郎 ^{1,2} 、佐藤 毅 ¹ 、榎木 祐一郎 ¹ 、大久保 正彦 ¹ 、片桐 岳信 ³ 、依田 哲也 ¹ (埼玉大 医 口腔外科、 ² ハーバード大 歯 発生物、 ³ 埼玉大 ゲノム医学 病態生理)
O-4	PP2A Cα は Osterix を介して骨芽細胞分化を調節する。 ○岡村 裕彦 ¹ 、羽地 達次 ¹ (徳大 院 HBS 口腔組織)

9月21日(土) 9:40~10:20 B会場 301会議室

骨代謝2: 破骨細胞 1 座長: 高橋 直之 (松歯大 総歯研)

O-5	骨細胞は interferon-β (IFN-β) を産生し破骨細胞形成を負に制御する ○林田 千代美 ¹ 、伊東 順太 ¹ 、中谷地 舞 ² 、岡安 麻里 ² 、大山 洋子 ³ 、羽毛田 慈之 ¹ 、佐藤 卓也 ¹ (明海大 歯 形機成 口腔解剖、 ² 明海大 歯 形機成 歯科矯正、 ³ 明海大 歯 病診治 口腔顎顔面外科 1)
O-6	疑似微小重力に対するキンギョ再生ウロコにおける破骨細胞の応答と RANKL 発現変化 ○池亀 美華 ¹ 、服部 淳彦 ² 、山本 敏男 ¹ 、鈴木 信雄 ³ (岡大 院医歯薬 口腔形態、 ² 東医歯大 教養 生物、 ³ 金沢大 環日本海域環境研究セ)
O-7	マウス骨端板の septoclast における E-FABP の免疫電顕的局在と食餌ビタミン A・レチノイン酸の影響 ○坂東 康彦 ¹ 、瀧澤 将太 ¹ 、崎山 浩司 ¹ 、天野 修 ¹ (明海大 歯 解剖)
O-8	Curdlan-dectin-1 を介した新たな破骨細胞分化の制御機構 ○山崎 徹 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、細川 隆司 ² 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染分子、 ² 九歯大 口腔再建リハ)

9月21日(土) 10:20~11:00 B会場 301会議室

骨代謝3: 破骨細胞 2 座長: 上條 竜太郎 (昭大 歯 口腔生化)

O-9	破骨細胞分化におけるアセチルコリンエステラーゼの関与 ○佐藤 毅 ¹ 、榎木 祐一郎 ¹ 、古株 彰一郎 ¹ 、大久保 正彦 ¹ 、臼井 通彦 ² 、依田 哲也 ¹ (埼玉大 医 口外、 ² 九歯大 歯 歯周病)
O-10	周期的圧縮刺激は PGE ₂ の産生を介して破骨細胞分化を誘導する ○荒木 大介 ¹ 、原 哲也 ¹ 、伊志嶺 知沙 ¹ 、皆木 省吾 ¹ (岡大 院医歯薬 咬合・有床義歯補綴)
O-11	RANKL 遺伝子欠損マウスにおける破骨細胞様細胞の微細構造学的解析 ○宮本 幸奈 ^{1,2} 、長谷川 智香 ² 、佐々木 宗輝 ² 、織田 公光 ³ 、宇田川 信之 ⁴ 、山本 恒之 ² 、網塚 憲生 ² (北大 歯 6年、 ² 北大 院歯 硬組織発生物、 ³ 新大 歯 口腔生化、 ⁴ 松歯大 歯 口腔生化)
O-12	破骨細胞の骨吸収活性を制御する Wnt5a-Ror2 シグナルによる Rho 活性化 ○上原 俊介 ¹ 、宇田川 信之 ¹ 、高橋 直之 ² 、小林 泰浩 ² (松歯大 口腔生化、 ² 松歯大 総歯研)

9月21日(土) 9:00~9:30 C会場 302会議室

解剖1: 立体構築 座長: 阿部 伸一 (東歯大 解剖)

O-13	三次元立体構築画像を用いた切歯管の構造に関する解剖学的研究 ○福田 真之 ¹ 、野口 拓 ¹ 、大峰 悠矢 ¹ 、木下 英明 ¹ 、松永 智 ¹ 、井出 吉信 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 歯 解剖)
-------------	---

O-14	脈管構造の組織立体構築と Virtual Reality 観察 ○島津 徳人 ¹ 、田谷 雄二 ¹ 、添野 雄一 ¹ 、白子 要一 ¹ 、藤田 和也 ¹ 、佐藤 かおり ¹ 、青葉 孝昭 ¹ (1日歯大 生命歯 病理)
O-15	3次元 CT 画像を用いた口腔解剖学教育—副鼻腔容積と歯の関係— ○高橋 常男 ¹ 、前田 信吾 ¹ 、一條 幹史 ¹ 、高橋 雄輔 ¹ 、森山 浩志 ² 、熊坂 さつき ³ 、小林 繁 ⁴ (1神歯大 院 3次元 画像解剖、 ² 昭大 医 解剖、 ³ 駒澤大 医療健康科学 診療放射線技術科学、 ⁴ 九歯大 歯 頭頸部構造解析)

9月21日(土) 9:30~10:00 C会場 302 会議室

解剖2: 変異 座長: 小林 繁 (九歯大 頭頸部構造解析)

O-16	軟骨石灰化不全ラット (CCI ラット) における頭蓋底軟骨結合の形態学的解析 ○竹内 綾、永山 元彦 ² 、葛島 康平 ¹ 、渡部 博之 ¹ 、江原 道子 ² 、天野 均 ³ 、田中 政巳 ⁴ 、渡辺 実 ⁵ 、田沼 順一 ² 、 北井 則行 ¹ (1朝日大 歯 歯科矯正、 ² 朝日大 歯 口腔病理、 ³ 昭大 歯 歯科薬理、 ⁴ 会津大 短大 食物栄養、 ⁵ 聖マ リアンナ医大 院 実験動物施設)
O-17	チンパンジーの棘孔の形態変異 ○近藤 信太郎、内藤 宗孝 ² 、松野 昌展 ¹ (1日大 松戸歯 解剖1、 ² 愛院大 歯 歯科放射線)
O-18	成長期におけるソフトフード摂取がラット顎関節に与える影響 ○加藤 剛士 ^{1,2,3} 、高橋 茂 ² 、上北 広樹 ¹ 、土門 卓文 ² (1北大 院歯 リハビリ補綴、 ² 北大 院歯 口腔機能解剖、 ³ 札 幌北楡病院)

9月21日(土) 10:00~10:30 C会場 302 会議室

生体材料1: インプラント 座長: 網塚 憲生 (北大 院歯 硬組織発生物)

O-19	マウス上顎骨チタンインプラント植立モデルを用いた即時埋入と遅延埋入における骨・インプラント界面の治癒の違い について ○渡辺 泰典 ¹ 、斎藤 浩太郎 ¹ 、大島 勇人 ¹ (1新大 院医歯 硬組織形態)
O-20	咬合負荷が抜歯即時埋入チタンインプラント周囲の骨組織に与える影響について ○池田 欣希 ¹ 、長谷川 智香 ² 、網塚 憲生 ² 、横山 敦郎 ¹ (1北大 院歯 口腔機能補綴、 ² 北大 院歯 硬組織発生物)
O-21	骨芽細胞の分化にジルコニアの表面性状が及ぼす影響 ○谷口 祐介 ^{1,2} 、城戸 寛史 ¹ 、山崎 純 ² (1福歯大 口腔インプラント、 ² 福歯大 細胞分子生物)

9月21日(土) 10:30~10:50 C会場 302 会議室

生体材料2: 骨補填剤 座長: 山崎 純 (福歯大 細胞分子生物)

O-22	絹フィブロインスポンジ体の初期骨誘導能について ○内田 僚一郎 ¹ 、木場 秀夫 ² 、Bhawal Ujjal ³ 、荒井 清司 ⁴ 、久保山 昇 ⁵ 、西山 典宏 ¹ (1日大 松戸歯 歯科生体材料、 ² 日大 松戸歯 口腔病理、 ³ 日大 松戸歯 生体・分子生物、 ⁴ 日大 松戸歯 小児歯、 ⁵ 日大 松戸歯)
O-23	ラット骨髄由来細胞の増殖・分化における炭酸含有アパタイトの焼結温度依存的影響 ○尾上 一平 ^{1,2} 、川木 晴美 ¹ 、近藤 雄三 ^{1,2} 、高橋 潤 ^{1,2} 、神谷 真子 ¹ 、高山 英次 ¹ 、永原 國央 ² 、近藤 信夫 ¹ (1朝日 大 歯 口腔生体、 ² 朝日大 歯 インプラント)

9月21日(土) 9:00~9:40 D会場 405 会議室

微生物1: バイオフィーム 座長: 泉福 英信 (感染研 細菌1)

O-24	<i>S. sanguinis</i> のバイオフィーム形成に対する <i>V. parvula</i> 培養上清の作用 ○眞島 いつみ ¹ 、鎌口 有秀 ¹ 、宮川 博史 ¹ 、藤田 真理 ¹ 、中澤 太 ¹ (1北医大 歯 微生物)
O-25	口腔アクチノバクテリアは硝酸依存的に <i>P. gingivalis</i> を殺す ○南部 隆之 ¹ 、真下 千穂 ¹ 、山根 一芳 ¹ 、山中 武志 ¹ 、福島 久典 ¹ (1大歯大 歯 細菌)
O-26	酪酸に依存した <i>Actinomyces naeslundii</i> のバイオフィーム形成を阻害する物質の検討 ○荒井 俊明 ^{1,2} 、落合 邦康 ³ 、毛利 彰太 ⁴ 、佐伯 洋二 ⁴ 、泉福 英信 ¹ (1感染研 細1部 第6室、 ² 日大松戸 院松戸 歯 顎外、 ³ 日大 歯 細菌、 ⁴ ロッテ中央研究所 口腔科学研究室)

O-27

歯周病関連細菌 *Treponema denticola* の主要膜タンパク質の機能解析
○安彦 友希¹、永野 恵司¹、吉田 康夫¹、吉村 文信¹ (愛院大 歯 微生物)

9月21日(土) 9:40~10:20 D会場 405 会議室

微生物2: 分子生物学 座長: 村上 幸孝 (朝日大 歯 口腔微生物)

O-28

Porphyromonas gingivalis において電気穿孔法で導入可能なプラスミドベクターの構築
○田川 淳平¹、井上 哲圭²、佐藤 啓子³、内藤 真理子³、中山 真彰²、中山 浩次³、山城 隆⁴、大原 直也² (岡大病院 矯正、²岡大 院医歯薬 口腔微生物、³長大 院医歯薬 口腔病原微生物、⁴阪大 院歯 矯正)

O-29

ランチビオティクス耐性に関与する *Streptococcus mutans* の新規二成分制御系因子 NsrRS と LcrRS の同定
○松尾 美樹¹、小松澤 均¹ (鹿大 院医歯 口腔微生物)

O-30

Red-complex 構成細菌間での異なる進化機構
○遠藤 亜希子¹、渡辺 孝康²、丸山 史人^{2,3}、和泉 雄一¹、中川 一路² (東医歯大 院医歯 歯周病、²東医歯大 院医歯 細菌感染制御、³東医歯大 院医歯 環境遺伝生態)

O-31

Porphyromonas gingivalis FimA 線毛の遺伝学および血清学的解析
○永野 恵司¹、安彦 友希¹、吉田 康夫¹、吉村 文信¹ (愛院大 歯 微生物)

9月21日(土) 10:20~11:00 D会場 405 会議室

腫瘍1: 分子機構 座長: 岡部 幸司 (福歯大 細胞生理)

O-32

Identification of integrin $\alpha 3$ as a molecular marker of cells undergoing epithelial mesenchymal transition and of cancer cells with aggressive phenotypes
○齋藤 正夫¹ (山梨大 院医工 生化)

O-33

頭頸部扁平上皮癌における Dkk-3 の免疫組織化学的検討
○藤井 昌江¹、伊藤 聡¹、于 湊¹、武部 祐一郎¹、河合 穂高¹、辻極 秀次¹、長塚 仁¹ (岡大 院医歯薬 口腔病理)

O-34

舌癌および癌周囲筋線維に発現する HMGB1 の役割
○瀧澤 将太¹、崎山 浩司¹、井上 勝元²、坂東 康彦¹、坂下 英明²、天野 修¹ (明海大 歯 形態機能成育 解剖、²明海大 歯 口腔顎顔面外科)

O-35

扁平上皮癌細胞における GULT1 を介した EGFR の発現制御
○吉本 尚平¹、長野 公喜¹、杉山 悟郎¹、森田 浩光²、中村 誠司³、平田 雅人¹ (九大 院歯 口腔細胞工、²九大 病院 全身管理歯科、³九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

9月21日(土) 9:00~9:40 E会場 407 会議室

歯牙1: 発生 座長: 吉子 裕二 (広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物)

O-36

マウス歯胚形成過程における integral membrane protein 2a (itm2a) の発現様式
○木原 慎子^{1,2}、清島 保¹、永田 健吾¹、和田 裕子¹、藤原 弘明¹、長谷川 佳那^{1,3}、染谷 祐孝^{1,4}、高橋 一郎²、坂井 英隆¹ (九大 歯 口腔病理、²九大 歯 歯科矯正、³九大 歯 歯科保存、⁴九大 歯 口腔機能修復)

O-37

無血清培地下でのヒト歯髓細胞スフェロイドの特徴: 幹細胞の分布および神経・石灰化分化能
○肖 黎¹、筒井 健機¹ (日歯大 生命歯 薬理)

O-38

歯の上下顎の違いの形成機構
○小澤 幸重¹ (日大)

O-39

マウス歯胚発生過程におけるエピジェネティクス制御機構の解明
○吉岡 広陽¹、南崎 朋子¹、吉子 裕二¹ (広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物)

9月21日(土) 9:40~10:20 E会場 407会議室

歯牙2: 象牙質・歯髄 座長: 中村 浩彰(松歯大 口腔解剖2)

O-40	不可逆性歯髄炎でのMMP-3の抗炎症、組織再生作用のメカニズム解析 ○中村 博幸 ¹ (¹ 金沢大 院医薬保 細胞浸潤)
O-41	マウス由来象牙芽細胞における細胞膜伸展受容TRPチャネルとNa ⁺ -Ca ²⁺ exchangerの機能連関 ○佐藤 正樹 ¹ 、津村 麻記 ¹ 、Sobhan Ubaidus ¹ 、児玉 紗耶香 ¹ 、鷗田 みゆき ² 、西山 明宏 ³ 、望月 浩幸 ¹ 、小倉 一宏 ¹ 、田崎 雅和 ¹ 、澁川 義幸 ¹ (¹ 東歯大 生理、 ² 東歯大 口健・小児歯、 ³ 東歯大 オーラル)
O-42	ヒトの乳歯における外套象牙質の組織構造と元素組成について ○高橋 正志 ¹ 、後藤 真一 ² (¹ 日歯大 新潟短大、 ² 日歯大 新潟生命歯理工)
O-43	象牙芽細胞における一次繊毛形成遺伝子IFT88の生理機能の解析 ○河田 かずみ ¹ 、竹田 扇 ¹ (¹ 山梨大 院医工 解剖細胞生物)

9月21日(土) 10:20~11:00 E会場 407会議室

歯牙3: エナメル質 座長: 池亀 美華(岡大 院医歯薬 口腔形態)

O-44	オフィスブリーチング法によるエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化促進効果 ○飯塚 純子 ¹ 、谷口 紀江 ² 、寺中 敏夫 ¹ 、高垣 裕子 ² 、向井 義晴 ¹ (¹ 神歯大 う蝕制御修復、 ² 神歯大 硬組織分子細胞生物)
O-45	マウスのエナメル芽細胞の極性維持に関するMsx2遺伝子の機能 ○中富 満城 ¹ 、依田 浩子 ¹ 、大島 勇人 ¹ (¹ 新大 院医歯 硬組織形態)
O-46	Rhoシグナリングのエナメル芽細胞分化における役割 ○大津 圭史 ¹ 、藤原 尚樹 ¹ 、原田 英光 ¹ (¹ 岩医大 解剖 発生・再生)
O-47	MMP20とKLK4の相互作用について ○山越 康雄 ¹ 、唐木田 丈夫 ¹ 、大井田 新一郎 ¹ (¹ 鶴見大 歯 分子生化)

9月22日(日) 9:00~9:40 B会場 301会議室

骨代謝4: 骨形成 座長: 片桐 岳信(埼玉大 ゲノム 病態生理)

O-48	副甲状腺ホルモン投与による骨細胞周囲の骨基質改変について ○本郷 裕美 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、宇田川 信之 ² 、網塚 憲生 ¹ (¹ 北大 院歯 硬組織発生生物、 ² 松歯大 生化)
O-49	副甲状腺ホルモン間歇投与の頻度が骨の細胞動態に及ぼす影響について ○山本 知真也 ¹ 、佐々木 宗輝 ¹ 、本郷 裕美 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、山本 恒之 ¹ 、網塚 憲生 ¹ (¹ 北大 院歯 硬組織発生生物)
O-50	FGF18とFGF2はマウス頭蓋冠骨形成過程に相反する効果を示す ○井関 祥子 ¹ 、奥原 滋 ¹ 、太田 正人 ¹ 、春日井 昇平 ² (¹ 東医歯大 院医歯 分子発生、 ² 東医歯大 院医歯 インプラント口腔再生医学)
O-51	遠赤外線エネルギーを放射する流紋岩セラミックスは骨形成を促進する ○Aldartsogt Dolgorsuren ¹ 、山下 菊治 ¹ 、角田 佳折 ¹ 、関 伸一郎 ¹ 、益井 孝文 ¹ 、北村 清一郎 ¹ (¹ 徳大 院HBS 口腔顎顔面形態)

9月22日(日) 9:40~10:20 B会場 301会議室

骨代謝5: 骨・軟骨・骨髄細胞 座長: 山本 敏男(岡大 院医歯薬 口腔形態)

O-52	Klf4は軟骨細胞でのプロテアーゼの発現を制御する ○藤川 順司 ^{1,2} 、阿部 真土 ¹ 、三浦 治朗 ³ 、脇坂 聡 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔解剖一、 ² 阪大 歯病 障害者歯科、 ³ 阪大 歯病 総診)
O-53	骨細胞の各分化ステージにおけるDMP1の発現・分布について ○大家 香織 ^{1,2} 、佐藤 淳 ¹ 、野田 百合 ¹ 、石田 健 ¹ 、宇佐美 悠 ³ 、岸野 万伸 ¹ 、小川 裕三 ¹ 、小守 壽文 ⁴ 、豊澤 悟 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔病理、 ² 阪大 院歯 口腔総合診療、 ³ 阪大 院歯 検査、 ⁴ 長大 院医歯薬 生命医科 細胞生物)

O-54	類骨における石灰化部位と骨細胞の超微構造学的解析 ○三浦 治郎 ¹ 、大家 香織 ^{1,2} 、佐藤 淳 ² 、豊澤 悟 ² (阪大 歯病 総診、 ² 阪大 院歯 口腔病理)
O-55	骨治癒過程における骨髄由来細胞の関与 ○河合 穂高 ¹ 、辻極 秀次 ¹ 、伊藤 聡 ¹ 、中野 敬介 ² 、于 湊 ¹ 、川上 敏行 ³ 、長塚 仁 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔病理、 ² 松歯大 口腔病理、 ³ 松歯大 硬組織疾患病態解析)

9月22日(日) 10:20~11:00 B会場 301 会議室

筋・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：増田 裕次(松歯大 院歯 顎口腔機能)

O-56	β_2 アドレナリン受容体作動薬がラット咬筋の生理機能および表現型に与える影響 ○大貫 芳樹 ¹ 、奥村 敏 ¹ (鶴見大 歯 生理)
O-57	マウス筋芽細胞においてCCN2はBMP2による骨芽細胞様変化を抑制する ○西田 崇 ¹ 、久保田 聡 ¹ 、滝川 正春 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生化)
O-58	遊離脂肪酸は気管平滑筋上の遊離脂肪酸受容体FFAR1を介して気管収縮を促進させる ○水田 健太郎 ^{1,2} 、工藤 忠明 ³ (東北大 院歯 歯科口腔麻酔、 ² コロンビア大 医 麻酔、 ³ 東北大 院歯 口腔生理)
O-59	生後マウスの咬筋と大腿の筋における甲状腺ホルモンレセプターと筋分化抑制因子との関係 ○佐藤 巖 ¹ 、三輪 容子 ¹ 、春原 正隆 ¹ (日歯大 生命歯 解剖1)

9月22日(日) 9:00~9:40 C会場 302 会議室

再生1：細胞材料・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：久木田 敏夫(九大 院歯 分子口腔解剖)

O-60	Expression of erythropoietin receptor on stem cells from exfoliated deciduous teeth ○馬 蘭 ^{1,2} 、山座 孝義 ² 、星野 慶弘 ¹ 、山座 治義 ¹ 、野中 和明 ¹ 、久木田 敏夫 ² (九大 院歯 小児口腔医学、 ² 九大 院歯 分子口腔解剖)
O-61	ヒト歯髄幹細胞のドーパミン神経細胞への分化誘導とパーキンソン病モデルへの移植による治療有用性 ○藤井 裕美 ¹ 、山本 朗仁 ¹ 、松原 弘記 ¹ 、上田 実 ¹ (名大 院医 顎顔面外科)
O-62	三次元培養による培養腱細胞(テノサイト)単離法の確立 ○島田 明美 ¹ 、和田 悟史 ² 、小松 浩一郎 ¹ 、中島 和久 ¹ 、二藤 彰 ¹ (鶴見大 歯 薬理、 ² 鶴見大 歯 矯正)
O-63	上皮・間葉ハイブリッド型細胞シート合成過程に発現する細胞骨格関連タンパク ○山根 茂樹 ¹ 、梅澤 貴志 ¹ 、井出 吉信 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 歯 解剖)

9月22日(日) 9:40~10:10 C会場 302 会議室

再生2：再生分子・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：大島 勇人(新大 院医歯 硬組織形態)

O-64	Simvastatinがマウス歯肉線維芽細胞由来iPS細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響 ○大川 博子 ¹ 、江草 宏 ¹ 、矢谷 博文 ¹ (阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴)
O-65	Effectiveness of Enzymatically Synthesized Glycogen (ESG) on the healing process following intentionally-delayed tooth replantation in mice ○Quispe-Salcedo Angela ¹ 、依田 浩子 ¹ 、大島 勇人 ¹ (新大 院医歯 硬組織形態)
O-66	軟骨細胞と変形性関節症モデルを用いたCCN2各モジュールの組織再生効果の評価 ○Abd El Kader Tarek ^{1,2} 、久保田 聡 ¹ 、西田 崇 ¹ 、服部 高子 ¹ 、青山 絵里子 ³ 、Janune Danilo ¹ 、窪木 拓男 ² 、滝川 正春 ^{1,3} (岡大 院医歯薬 生化、 ² 岡大 院医歯薬 インプラント再生、 ³ 岡大 機能共研施設)

9月22日(日) 10:10~10:40 C会場 302 会議室

唾液腺1：細胞生物学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：槻木 恵一(神歯大 病理)

O-67	灯心草および牡丹皮エキスは正常唾液腺房細胞をシスプラチンによるアポトーシスから保護する ○椋代 義樹 ¹ (昭大 歯 口腔外科)
-------------	--

O-68	<i>In vitro</i> におけるマウス顎下腺の時計遺伝子、時計制御遺伝子と機能分子 mRNA の概日リズム ○内田 仁司 ^{1,2,3} 、阪井 丘芳 ² 、中村 渉 ¹ (¹阪大 院歯 口腔時間生物、²阪大 院歯 顎治、³日本学術振興会)
O-69	唾液腺介在部導管細胞は CD117 と CD66a を指標にして分離できる ○竹山 旭 ¹ 、吉川 美弘 ² 、池尾 隆 ² 、森田 章介 ¹ 、檜枝 洋記 ³ (¹大歯大 院歯 口腔外科 1、²大歯大 院 生化、³大歯大 院 歯 生物)

9月22日(日) 10:40~11:10 C会場 302 会議室

唾液腺 2: 唾液成分 座長: 田隈 泰信 (北医大 歯 生化)

O-70	災害時拘束ストレスを唾液タンパク質の酸化により測定する試み ○谷口 紀江 ¹ 、飯塚 純子 ² 、向井 義晴 ² 、高垣 裕子 ¹ (¹神歯大 院 硬組織分子細胞生物、²神歯大 院 う蝕制御修復)
O-71	唾液 BDNF・エストロゲン・プロゲステロンの相関と性周期との関連 ○松木 千紗 ¹ 、近藤 裕介 ^{1,2} 、猿田 樹理 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、林 隆司 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、清水 智子 ¹ 、槻木 恵一 ¹ (¹神歯大 院 環境病理、²東海大 医 病理診断)
O-72	各種ルミノコイド摂取がラット顎下腺と唾液中 IgA 量に与える影響についての検討 ○山本 裕子 ¹ 、林 隆司 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、清水 智子 ¹ 、猿田 樹理 ¹ 、近藤 裕介 ^{1,2} 、槻木 恵一 ¹ (¹神歯大 院 環境病理、²東海大 医 病理診断)

9月22日(日) 9:00~9:40 D会場 405 会議室

腫瘍 2: 制御因子 座長: 長塚 仁 (岡大 院医歯薬 口腔病理)

O-73	Tumor associated macrophage におけるアシル基転移酵素群の役割 ○谷口 広祐 ^{1,3} 、引地 尚子 ² 、沖永 敏則 ³ 、西原 達次 ³ (¹九歯大 口腔顎顔面外科、²九歯大 口腔保健 口腔機能支援、³九歯大 健康増進 感染分子生物)
O-74	新規 NF-κB 選択的阻害剤は口腔癌による顎骨浸潤を抑制する ○多田 幸代 ^{1,2} 、福島 秀文 ² 、大澤 賢次 ³ 、自見 英治郎 ² (¹九歯大 歯 歯科侵襲制御、²九歯大 歯 分子情報生化、³埼玉大 病態生理)
O-75	乳癌骨転移巣における骨細胞産生因子の組織化学的解析 ○山田 珠希 ¹ 、坪井 香奈子 ¹ 、平賀 徹 ³ 、山本 知真也 ¹ 、田中 祐介 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、織田 公光 ² 、網塚 憲生 ¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物、²新大 院医歯 口腔生化、³松歯大 口腔解剖二)
O-76	正常ヒト上皮角化細胞における酸化ストレスに対する発がん防御機構としての細胞老化誘導作用 ○佐々木 三奈 ^{1,2} 、鍛冶屋 浩 ¹ 、長岡 良礼 ^{1,2} 、堤 貴司 ¹ 、府川 晃久 ^{1,2} 、岡本 富士雄 ¹ 、岡部 幸司 ¹ (¹福歯大 細胞生物、²福歯大 顎顔面外科)

9月22日(日) 9:40~10:10 D会場 405 会議室

生理活性物質 座長: 田村 正人 (北大 院歯 口腔分子生化)

O-77	CCN3 の抗線維化効果に伴う CCN ファミリー遺伝子発現プロファイルの変化 ○Janune Danilo ¹ 、Tarek Abd El Kader ^{1,2} 、久保田 聡 ¹ 、西田 崇 ¹ 、服部 高子 ¹ 、青山 絵里子 ³ 、窪木 拓男 ² 、滝川 正春 ^{1,3} (¹岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 院医歯薬 インプラント再生、³岡大 中央研究施設)
O-78	低カルボキシル化オステオカルシンはインクレチン分泌を介してインスリン分泌を促進する ○溝上 顕子 ¹ 、安武 雄 ¹ 、平田 雅人 ¹ (¹九大 院歯 口腔細胞工)
O-79	FGF23/klotho 軸の破綻は血管骨化を誘導する—klotho 遺伝子変異マウスを用いた組織学的検索— ○長谷川 智香 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、佐々木 宗輝 ¹ 、笹野 泰之 ² 、網塚 憲生 ¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物、²東北大 院歯 顎口腔形態創建)

9月22日(日) 10:10~10:40 D会場 405 会議室

発生 1: 硬組織 座長: 笹野 泰之 (東北大 院歯 顎口腔形態創建)

O-80	発生の骨格組織分化における H3K9 メチル化酵素群の発現局在 ○二藤 彰 ¹ 、島田 明美 ¹ 、中島 和久 ¹ (¹鶴見大 歯 薬理)
-------------	---

O-81	ラット頭蓋骨発生・成長過程における骨基質石灰化の成熟に関する検討 ○逸見 晶子 ¹ 、大方 広志 ² 、三上 靖人 ¹ 、鈴木 治 ³ 、笹野 泰之 ¹ (¹ 東北大 院歯 顎口腔形態創建、 ² 東北大 院歯 歯内歯周治療、 ³ 東北大 院歯 顎口腔機能創建)
O-82	SP6 positively regulates Rock1 promoter activity in dental epithelial cells ○Yanuaryska Ryna Dwi ¹ 、三好 圭子 ² 、堀口 大吾 ² 、谷村 綾子 ² 、Arya Adiningrat ¹ 、野間 隆文 ² (¹ 徳大 口腔科学教育 口腔科学、 ² 徳大 院 HBS 分子医化)

9月22日(日) 10:40~11:00 D会場 405 会議室

発生2: 軟組織 座長: 松口 徹也 (鹿大 院医歯 口腔生化)

O-83	CXCL3は脂肪細胞分化を正に制御する ○楠山 譲二 ^{1,2} 、坂東 健二郎 ¹ 、柿元 協子 ¹ 、大西 智和 ¹ 、松口 徹也 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 口腔生化、 ² 日本学術振興会)
O-84	マウス舌形態形成におけるリンパ管発生と分子制御 ○田谷 雄二 ¹ 、藤田 和也 ¹ 、添野 雄一 ¹ 、島津 徳人 ¹ 、佐藤 かおり ¹ 、青葉 孝昭 ¹ (¹ 日歯大 生命歯 病理)

9月22日(日) 9:00~9:40 E会場 407 会議室

炎症・免疫1: 自然免疫 座長: 寺尾 豊 (新大 院医歯 微生物感染症)

O-85	ケモカイン CXCL14/BRAK は多段階癌抑制分子である ○畑 隆一郎 ¹ 、居作 和人 ² 、加藤 靖正 ³ (¹ 神歯大 院 口腔難治、 ² 神歯大 院歯 口腔科学、 ³ 奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
O-86	糖尿病環境下の糸球体内皮細胞におけるTLR2とTLR4の発現 ○高田 俊輔 ¹ 、内山 貴誠 ¹ 、敦賀 英知 ² 、畠山 雄次 ² 、石川 博之 ¹ 、沢 禎彦 ² (¹ 福歯大 成長発達歯、 ² 福歯大 生体構造)
O-87	<i>Candida albicans</i> による歯肉癌上皮細胞Ca9-22のgalectin-3放出増加 ○玉井 利代子、清浦 有祐 (¹ 奥羽大 歯 口腔病態解析制御)
O-88	米由来CLペプチドの内毒素活性に対する抑制効果 ○加藤 哲男 ¹ 、国分 栄仁 ² 、谷口 正之 ³ 、齋藤 淳 ⁴ 、齋藤 英一 ⁵ 、石原 和幸 ² (¹ 東歯大 化学、 ² 東歯大 微生物、 ³ 新大 院 自然、 ⁴ 東歯大 歯周病、 ⁵ 新潟工大 環境)

9月22日(日) 9:40~10:10 E会場 407 会議室

炎症・免疫2: 細胞応答 座長: 松下 健二 (国立長寿医療研究セ 口腔疾患研究)

O-89	MAPキナーゼフォスファターゼ(DUSP)mRNAの不安定性による細胞ストレス反応の調節機構 ○松口 徹也 ¹ 、楠山 譲二 ¹ 、坂東 健二郎 ¹ 、柿元 協子 ¹ 、大西 智和 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 口腔生化)
O-90	ヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清を用いた難治性肝炎治療法の開発 ○松下 嘉泰 ¹ 、山本 朗仁 ¹ 、松原 弘記 ¹ 、上田 実 ¹ (¹ 名大 院医 頭頸部・感覚器外科 顎顔面外科)
O-91	歯周病細菌感染マクロファージにおけるインフラマソーム活性 ○沖永 敏則 ¹ 、有吉 渉 ¹ 、西原 達次 ¹ (¹ 九歯大 感染分子)

9月22日(日) 10:10~10:40 E会場 407 会議室

炎症・免疫3: アレルギー 座長: 東 みゆき (東医歯大 院医歯 分子免疫)

O-92	レニンにより誘導されるNK細胞の免疫応答 ○島田 栄理遣 ¹ 、遠藤 実里 ¹ 、小笠原 康悦 ¹ (¹ 東北大 院歯 難治・口腔免疫)
O-93	NK細胞の誘導性細胞死機構の発見 ○小笠原 康悦 ¹ 、島田 栄理遣 ¹ 、遠藤 実里 ¹ (¹ 東北大 院歯 難治・口腔免疫)

O-94

金属アレルギーにおける金属イオン可視化技術の開発
○遠藤 実里¹、島田 栄理¹、小笠原 康悦¹ (¹東北大 院歯 難治・口腔免疫)

9月22日(日) 10:40~11:10 E会場 407会議室

歯周1: 歯肉 座長: 三宅 洋一郎 (徳大 院HBS 口腔微生物)

O-95

イグサ抽出液によるう蝕および歯周病予防効果の検討
○村上 圭史¹、星野 由美²、弘田 克彦¹、三宅 洋一郎¹ (¹徳大 院HBS 口腔微生物、²徳大 院HBS 口腔保健衛生)

O-96

ヒト歯肉由来上皮細胞における分化および老化の転写機構
○Bhawal Ujjal¹、小林 良喜²、福岡 シンティア 由希¹、安孫子 宜光¹ (¹日大 松戸歯 生化学・分子生物、²日大 松戸歯 口腔免疫)

O-97

Nicotine 誘導性 CCN2/CTGF がヒト歯周組織由来培養細胞の線維化に与える影響
○五十嵐 寛子^{1,4}、久保田 聡²、立花 利公³、村樫 悦子¹、岡部 正隆⁴、滝川 正春²、沼部 幸博¹ (¹日歯大 歯周病、²岡大 院歯歯薬 口腔生化学、³慈恵大 共用施設、⁴慈恵大 解剖)

9月22日(日) 12:30~13:00 B会場 301会議室

神経1: 顎運動 座長: 吉田 篤 (阪大 院歯 口腔解剖2)

O-98

マウス咬筋活動に対する睡眠-覚醒の影響
○片山 慶祐^{1,2}、望月 文子¹、加藤 隆史³、池田 美菜子²、野川 泰葉^{1,2,4}、中村 史朗¹、中山 希世美¹、矢澤 格¹、馬場 一美²、井上 富雄¹ (¹昭大 歯 口腔生理、²昭大 歯 歯科補綴、³阪大 院歯 解剖2、⁴東医歯大 歯 部分床義歯補綴)

O-99

咬合高径の変化が噛みしめ運動の調節機構に及ぼす影響
○藤浪 陽三¹、田中 佑人¹、姜 英男¹ (¹阪大 院歯 口腔生理)

O-100

自然睡眠における顎運動リズム発生機構の実験的賦活
○加藤 隆史¹、山田 謙一²、東山 亮³、Akhter Fatema¹、Haque Tahsinul¹、古郷 幹彦²、吉田 篤¹ (¹阪大 院歯 口腔解剖2、²阪大 歯 口腔外科一、³阪大 歯 歯科補綴一)

9月22日(日) 13:00~13:30 B会場 301会議室

神経2: ミクログリア 座長: 中西 博 (九大 院歯 口腔機能分子)

O-101

ミクログリアにおけるカテプシンSの発現リズムによるシナプス強度の調節
○林 良憲¹、岡田 亮¹、武 洲¹、中西 博¹ (¹九大 院歯 口腔機能分子)

O-102

クロモグラニンA (CGA) によるミクログリアにおけるカテプシンBに依存した新規IL-1 β 産生経路の解明
○武 洲¹、中西 博¹ (¹九大 院歯 口腔機能分子)

O-103

神経損傷後、脊髄後角に遊走浸潤する活性化ミクログリアはP2Y12シグナル経路で髄神経軸索の貪食様作用を示す
○前田 光代¹、上村 守¹、戸田 伊紀¹、竹村 明道¹、諏訪 文彦¹ (¹大歯大 解剖)

9月22日(日) 13:30~14:00 B会場 301会議室

神経3: 高次機能 座長: 井上 富雄 (昭大 歯 口腔生理)

O-104

生体リズムを攪乱する「社会的時差ボケ」
○中村 渉¹、高須 奈々^{1,3} (¹阪大 院歯 口腔時間生物、²科学技術振興機構さきがけ、³日本学術振興会)

O-105

LSPS法による島皮質での興奮性入力空間分布特性の解析
○小林 真之¹、越川 憲明¹ (¹日大 歯 薬理)

O-106

Projections from the dorsal peduncular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus in rats
○Akhter Fatema¹、Haque Tahsinul¹、佐藤 文彦¹、加藤 隆史¹、吉田 篤¹ (¹阪大 院歯 口腔解剖2)

9月22日(日) 12:30~13:00 C会場 302会議室

歯周2: 歯根膜 座長: 天野 修 (明海大 歯 解剖)

O-107	ラット歯根膜由来骨格筋細胞はどこから生じたのか?~初代培養における幹細胞の検証~ ○富永 徳子 ¹ 、中原 貴 ^{1,2} 、石川 博 ^{1,2} (1日歯大 生命歯 発生・再生、2日歯大 生命科学)
O-108	矯正の歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構 ○村田 直久 ¹ 、五百井 秀樹 ¹ 、大内 雅博 ¹ 、合島 怜央奈 ² 、沖 雄二 ² 、山座 孝義 ² 、高橋 一郎 ¹ 、城戸 瑞穂 ² (九大 歯 歯科矯正、2九大 歯 分子口腔解剖)
O-109	歯根膜における骨髄由来細胞の局在と幹細胞マーカーの発現 ○加来 賢 ¹ 、北見 恩美 ¹ 、井田 貴子 ¹ 、秋葉 陽介 ^{1,2} 、魚島 勝美 ^{1,2} (新大 院歯 生体補綴、2新大 歯 歯学総合病院)

9月22日(日) 13:00~13:30 C会場 302会議室

ビスホスホネート1: 破骨細胞 座長: 自見 英治郎 (九歯大 分子情報生)

O-110	bisphosphonate 投与中止後の骨の細胞群における組織化学的検索 ○坪井 香奈子 ^{1,2} 、佐々木 宗輝 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、北川 善政 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2北大 院歯 口腔内科)
O-111	窒素含有ビスホスホネート製剤(NBP)による破骨細胞の細胞融合阻害作用 ○長岡 良礼 ^{1,2} 、鍛冶屋 浩 ¹ 、佐々木 三奈 ^{1,2} 、永沼 香織 ² 、堤 貴司 ¹ 、府川 晃久 ^{1,2} 、岡本 富士雄 ¹ 、岡部 幸司 ¹ (福歯大 細胞分子生物、2福歯大 顎顔面外)
O-112	ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布と破骨細胞に対する影響 ○佐々木 宗輝 ¹ 、本郷 裕美 ¹ 、小林 幸雄 ² 、坂本 尚義 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2北大 創成研)

9月22日(日) 13:30~14:00 C会場 302会議室

ビスホスホネート2: 新規作用 座長: 平田 雅人 (九大 院歯 口腔細胞工)

O-113	窒素非含有 bisphosphonates (non-N-BPs)の骨吸収抑制作用とは関連しない鎮痛効果: リン酸トランスポーター関与の可能性 ○島 和弘 ¹ 、山本 照子 ¹ 、菅原 俊二 ² 、遠藤 康男 ² (1東北大 院歯 顎口腔矯正、2東北大 院歯 口腔分子制御)
O-114	アレンドロネート直接作用による骨芽細胞分化の制御 ○小松 浩一郎 ¹ 、島田 明美 ¹ 、柴田 達也 ¹ 、中島 和久 ¹ 、網塚 憲生 ² 、二藤 彰 ³ (1鶴見大 歯 薬理、2北大 院歯 硬組織発生物、3放医研)
O-115	Zoledronateの軟組織細胞への取り込み: リン酸 transporter 関与の可能性 ○岡田 諭 ^{1,2} 、木山 朋美 ^{1,3} 、大泉 丈史 ² 、佐々木 啓一 ³ 、高橋 哲 ² 、菅原 俊二 ¹ 、遠藤 康男 ¹ (1東北大 院歯 口腔分子制御、2東北大 院歯 顎顔面・口腔外科、3東北大 院歯 口腔システム補綴)

9月22日(日) 12:30~13:00 D会場 405会議室

口腔粘膜 座長: 松尾 龍二 (岡大 院歯 歯 口腔生理)

O-116	Tbx1 は口腔粘膜上皮の病的癒着と口蓋発生に関与する ○船戸 紀子 ¹ (1東医歯大 歯 歯共同セ 疾患遺伝子)
O-117	温度感受性 TRP チャネルによる口腔粘膜の新しい創傷治癒機構 ○合島 怜央奈 ^{1,2,3} 、大崎 康吉 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、木附 智子 ¹ 、村田 直久 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ (九大 院歯 分子口腔解剖、2佐賀大 歯 歯科口腔外科、3佐賀大 歯 生体構造機能 組織神経解剖)
O-118	味蕾3型細胞分化における Mash1 による GAD67 発現調節 ○鬼頭 文恵 ^{1,2} 、瀬田 祐司 ¹ 、豊野 孝 ¹ 、片岡 真司 ³ 、柿木 保明 ² 、豊島 邦昭 ¹ (1九歯大 口腔組織、2九歯大 老年歯、3九歯大 頭頸部構造解析)

■ 一般演題 (ポスター)

9月21日(土) 1F イベントホール

学部学生ポスター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-1	ラット下顎骨発生における石灰化 ○林 利華 ¹ 、狐塚 雅弘 ¹ 、宍戸 駿一 ¹ 、柿内 裕輔 ¹ 、逸見 晶子 ¹ 、大方 広志 ² 、笹野 泰之 ¹ (1東北大 院歯 顎口腔形態創建、2東北大 院歯 歯内歯周治療)
P1-2	<i>Porphyromonas endodontalis</i> の発現するユニークなジペプチルペプチダーゼ(DPP)VおよびDPP7 ○柳瀬 絵見 ¹ 、根本 優子 ¹ 、下山 佑 ² 、木村 重信 ² 、馬場 友巳 ¹ 、根本 孝幸 ¹ (1長大 院医歯薬 口腔分子生化学、2岩医大 口腔微生物/免疫)
P1-3	リクイリチゲニンの破骨細胞形成への効果 ○内野 加穂 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、坂井 詠子 ¹ 、福間 裕 ¹ 、岩竹 真弓 ¹ 、西下 一久 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (1長大 院医歯薬 口腔病態薬理)
P1-4	三叉神経運動ニューロン樹状突起の能動的特性 ○中井 健人 ¹ 、中村 史朗 ² 、望月 文子 ² 、中山 希世美 ² 、矢澤 格 ² 、井上 富雄 ² (1昭大 歯、2昭大 歯 口生理)
P1-5	カルシウム系骨補填材による血管形成抑制 ○関 裕子 ¹ 、高橋 萌 ¹ 、清水 良央 ¹ 、及川 麻理子 ¹ 、熊本 裕行 ¹ (1東北大 歯)
P1-6	マウスメッケル軟骨後部部の消失様相 ○鎌口 真由美 ¹ 、井上 貴一郎 ² 、高橋 茂 ² 、加藤 剛士 ² 、上北 広樹 ² 、牛島 夏未 ³ 、土門 卓文 ² (1北大 歯、2北大 院歯 口腔機能解剖、3北大 院歯 学術支援)
P1-7	CCN3の軟骨特異的過剰発現は内軟骨性骨形成の遅延を誘発する ○角谷 宏一 ¹ 、服部 高子 ² 、桑原 実穂 ¹ 、大野 充昭 ³ 、星島 光博 ² 、窪木 拓男 ³ 、滝川 正春 ² (1岡大 歯、2岡大 院医歯薬 口腔生化学、3岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)
P1-8	CBCTを用いたサル下顎骨臼歯部の舌側小孔の解析 ○花谷 佳菜子 ¹ 、島田 和幸 ³ 、佐藤 巖 ² (1日歯大 生命歯 4学年、2日歯大 生命歯 解剖1、3鹿大 院医歯 神経病人体構造解剖)
P1-9	口腔内乾燥を訴える患者に認められた口唇粘膜上皮のバリア機構の破綻 ○宇都宮 怜子 ^{1,3} 、合島 怜央奈 ^{1,3} 、吉住 潤子 ² 、木附 智子 ² 、植上 敦 ³ 、山下 佳雄 ³ 、城戸 瑞穂 ¹ (1九大 院歯 分子口腔解剖、2九大 院歯 顔面口腔外科、3佐賀大 医 歯科口腔外科)

優秀ポスター発表賞・組織・発生学・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-10	Wnt5aに関してレチノイン酸がマウス舌筋の発育異常を誘導する研究 ○劉 波 ¹ 、劉 涵 ¹ 、肖 晶 ¹ (1大連医大 口腔医学院 口腔基礎)
P1-11	レチノイン酸がC2C12細胞系における筋分化を誘導する研究 ○劉 波 ¹ 、劉 涵 ¹ 、肖 晶 ¹ (1大連医大 口腔医学院 口腔基礎)
P1-12	マウスiPS細胞の骨芽細胞分化過程における神経ペプチドレセプターの発現について ○長尾 怜美 ¹ 、後藤 哲哉 ² 、江草 宏 ³ 、矢谷 博文 ³ 、小林 繁 ² 、牧 憲司 ¹ (1九歯大 口腔機能発達、2九歯大 解剖、3阪大 院歯 歯科補綴1)
P1-13	乳癌骨転移巣における骨細胞産生因子の組織化学的解析 ○山田 珠希 ¹ 、坪井 香奈子 ¹ 、平賀 徹 ³ 、山本 知真也 ¹ 、田中 祐介 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、織田 公光 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2新大 院医歯 口腔生化学、3松歯大 口腔解剖二)
P1-14	FGF23/klotho軸の破綻は血管骨化を誘導する—klotho遺伝子変異マウスを用いた組織学的検索— ○長谷川 智香 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、佐々木 宗輝 ¹ 、笹野 泰之 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2東北大 院歯 顎口腔形態創建)
P1-15	bisphosphonate投与中止後の骨の細胞群における組織化学的検索 ○坪井 香奈子 ^{1,2} 、佐々木 宗輝 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、北川 善政 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2北大 院歯 口腔内科)
P1-16	マウス舌乳頭における活性酸素合成酵素(Nox)の局在 ○柏原 祥顕 ¹ 、安部 仁晴 ² 、菊地 隆太 ³ 、中川 敏浩 ² 、渡邊 弘樹 ² (1奥羽大 院歯 口腔組織構造生物、2奥羽大 歯生体構造 口腔組織、3奥羽大 院歯 顎口腔外科)
P1-17	口蓋粘膜上皮におけるタイトジャンクションの細胞生物学的研究 ○塩津 範子 ^{1,2} 、川本 忠文 ³ 、河井 まりこ ¹ 、鳥井 康弘 ² 、山本 敏男 ¹ (1岡大 院医歯薬 口腔形態、2岡大 院医歯薬 総合歯科、3鶴見大 歯 RI研セ)
P1-18	副甲状腺ホルモン投与による骨細胞周囲の骨基質変化について ○本郷 裕美 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、宇田川 信之 ² 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2松歯大 生化学)

P1-19	卵巣摘出レプチン受容体遺伝子変異 (db/db) マウスの骨組織における組織化学的検索 ○田中 祐介 ^{1,2} 、長谷川 智香 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、織田 公光 ³ 、鄭 漢忠 ² 、網塚 憲生 ¹ (北大 院歯 硬組織発生物、 ² 北大 歯 口外、 ³ 新大 医歯学 生 化)
P1-20	炎症抑制因子ガレクチン9の膜表面受容体 Tim3 を介した破骨細胞形成制御 ○森山 加奈子 ^{1,2} 、久木田 明子 ³ 、上原 範久 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、高橋 一郎 ² 、久木田 敏夫 ¹ (九大 歯 分子口腔解剖、 ² 九大 歯 矯正、 ³ 佐賀大 医 微生物)
P1-21	オステオポンチン欠損が歯の損傷後の歯髄治癒過程に及ぼす影響について ○斎藤 浩太郎 ^{1,2} 、大島 勇人 ¹ (新大 院歯 硬組織形態、 ² 日本学術振興会)
P1-22	ラット象牙芽細胞での ATP の小胞分泌について ○岩鍋 恵理奈 ¹ 、後藤 哲哉 ² 、郡司掛 香織 ¹ 、片岡 真司 ² 、黒石 加代子 ¹ 、上田 雅恵 ¹ 、小林 繁 ² (九歯大 院歯 顎機能矯正、 ² 九歯大 頭頸解析)
P1-23	機械的圧迫力を付与したヒト歯根膜線維芽細胞における Asporin と Sclerostin の発現と放出について ○上田 雅恵 ¹ 、後藤 哲哉 ² 、黒石 加代子 ¹ 、郡司掛 香織 ¹ 、岩鍋 恵理奈 ¹ 、小林 繁 ² (九歯大 院歯 顎機能矯正、 ² 九歯大 頭頸解析)
P1-24	歯根膜におけるプライマリー・シリアの出現率と過剰咬合による変化 ○井田 貴子 ¹ 、加来 賢 ¹ 、北見 恩美 ^{1,2} 、魚島 勝美 ^{1,3} (新大 院歯 生体補綴、 ² 日本学術振興会、 ³ 新大 医歯学 総合病院)
P1-25	咬合負荷が抜歯即時埋入チタンインプラント周囲の骨組織に与える影響について ○池田 欣希 ¹ 、長谷川 智香 ² 、網塚 憲生 ² 、横山 敦郎 ¹ (北大 院歯 口腔機能補綴、 ² 北大 院歯 硬組織発生物)
P1-26	C2C12 培養筋芽細胞の増殖における miR-29 の役割について ○千見寺 亮吉 ¹ 、山根 明 ² 、安藤 準 ² 、五味 一博 ¹ (鶴見大 歯 歯周病、 ² 鶴見大 歯 物理)
P1-27	ラット頭蓋骨発生・成長過程における骨基質石灰化の成熟に関する検討 ○逸見 晶子 ¹ 、大方 広志 ² 、三上 靖人 ¹ 、鈴木 治 ³ 、笹野 泰之 ¹ (東北大 院歯 顎口腔形態創建、 ² 東北大 院歯 歯内歯周治療、 ³ 東北大 院歯 顎口腔機能創建)
P1-28	骨格筋芽細胞シートへの間葉系細胞の影響 ○梅澤 貴志 ¹ 、山根 茂樹 ¹ 、井出 吉信 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 歯 解剖)
P1-29	歯牙発生過程における Tie2/Ang1 の局在の検索 ○中島 和慶 ¹ 、柴田 恭明 ² 、澤瀬 隆 ¹ 、池田 通 ² (長大 院歯 口腔インプラント、 ² 長大 院歯 口腔病理)
P1-30	唾液腺介在部導管細胞は CD117 と CD66a を指標にして分離できる ○竹山 旭 ¹ 、吉川 美弘 ² 、池尾 隆 ² 、森田 章介 ¹ 、檜枝 洋記 ³ (大歯大 院歯 口腔外科1、 ² 大歯大 院 生 化、 ³ 大歯大 歯 生物)
P1-31	矯正の歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構 ○村田 直久 ¹ 、五百井 秀樹 ¹ 、大内 雅博 ¹ 、合島 怜央奈 ² 、沖 雄二 ² 、山座 孝義 ² 、高橋 一郎 ¹ 、城戸 瑞穂 ² (九大 歯 歯科矯正、 ² 九大 歯 分子口腔解剖)
P1-32	ジルコニア上で培養した C2C12 細胞の骨芽細胞分化能 ○斎藤 まり ¹ 、唐木田 丈夫 ² 、山本 竜司 ² 、長野 孝俊 ¹ 、五味 一博 ^{1,2} 、大井田 新一郎 ² (鶴見大 歯 歯周病、 ² 鶴見大 歯 分子生 化)
P1-33	Sp7 による骨芽細胞分化機構と自己プロモーター制御 ○小守 寿人 ¹ 、宮崎 敏博 ¹ 、森石 武史 ¹ (長大 院歯 歯 細胞生物)
P1-34	iPS 細胞を用いた歯胚組織再生 ○坂野 深香 ¹ 、大津 圭史 ¹ 、藤原 尚樹 ¹ 、原田 英光 ¹ (岩医大 解剖 発生物・再生医学)
P1-35	大脳皮質形成におけるステロイドホルモンの局在と役割 ○駒田 致和 ¹ 、池田 やよい ¹ (愛院大 歯 解剖)
P1-36	象牙芽細胞における一次繊毛形成遺伝子 IFT88 の生理機能の解析 ○河田 かずみ ¹ 、竹田 扇 ¹ (山梨大 院医工 解剖細胞生物)
P1-37	Runx/Cbfb シグナリングはアンドロゲン代謝を介した唾液腺の雌雄二形性発現を制御する ○伊藤 慎将 ¹ 、柳田 剛志 ² 、山城 隆 ³ (岡大 院歯 歯科矯正、 ² 岡大 病院 矯正歯、 ³ 阪大 院歯 顎顔面口腔矯正)

優秀ポスター発表賞・解剖学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-38	Simvastatin がマウス歯肉線維芽細胞由来 iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響 ○大川 博子 ¹ 、江草 宏 ¹ 、矢谷 博文 ¹ (阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴)
P1-39	ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布と破骨細胞に対する影響 ○佐々木 宗輝 ¹ 、本郷 裕美 ¹ 、小林 幸雄 ² 、玖本 尚義 ² 、網塚 憲生 ¹ (北大 院歯 硬組織発生物、 ² 北大 創成研)
P1-40	骨細胞は interferon- β (IFN- β) を産生し破骨細胞形成を真に制御する ○林田 千代美 ¹ 、伊東 順太 ¹ 、中谷地 舞 ² 、岡安 麻里 ² 、大山 洋子 ³ 、羽毛田 慈之 ¹ 、佐藤 卓也 ¹ (明海大 歯 形 機成 口腔解剖、 ² 明海大 歯 形機成 歯科矯正、 ³ 明海大 歯 病診治 口腔顎顔面外科1)

P1-41	レクチン様酸化 LDL 受容体-1 (LOX-1) の破骨細胞形成と炎症性骨破壊に対する役割の解明 ○伊東 順太 ¹ 、中谷地 舞 ^{1,2} 、林田 千代美 ¹ 、岡安 麻里 ^{1,3} 、大山 洋子 ^{1,4} 、佐藤 卓也 ¹ 、羽毛田 慈之 ¹ (明海大 歯 口腔解剖、 ² 明海大 歯 歯科矯正、 ³ 東大 医 口腔外科・歯科矯正歯科、 ⁴ 明海大 歯 口腔外科)
P1-42	粉末食を与えて飼育したマウスの下顎骨形態変化 ○柳田 剛志 ¹ 、久保田 聡 ² 、滝川 正春 ² 、山城 隆 ³ (岡大病院 矯正、 ² 岡大 院医歯薬 口腔生化、 ³ 阪大 院歯 顎 顔面口腔矯正)
P1-43	ラット三叉神経節における endomorphin-1 の分布; 免疫組織化学的手法による検討 ○矢島 健大 ¹ 、佐藤 匡 ² 、齋藤 正寛 ¹ 、市川 博之 ² (東北大 院歯 歯科保存、 ² 東北大 院歯 口腔器官構造)
P1-44	ヒト上顎骨における大口蓋管の観察 ○大峰 悠矢 ¹ 、福田 真之 ¹ 、野口 拓 ¹ 、木下 英明 ¹ 、松永 智 ¹ 、井出 吉信 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 歯 解剖)
P1-45	両側性非対称にみられた顎二腹筋前腹の破格の一例 ○山崎 洋介 ¹ 、磯川 桂太郎 ^{1,2} (日大 歯 解剖 2、 ² 日大 歯 総歯研 機能形態)
P1-46	一次求心ニューロンによる精製 A 型ボツリヌス毒素の取り込みと軸索輸送 ○丸濱 功太郎 ¹ 、松香 芳三 ² 、寺山 隆司 ¹ 、窪木 拓男 ³ 、杉本 朋貞 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔機能解剖、 ² 徳大 院 HBS 咬合管理、 ³ 岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)
P1-47	ヒト上顎骨臼歯部皮質骨における生体アパタイト結晶配向性解析 ○笠原 正彰 ¹ 、松永 智 ¹ 、井出 吉信 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 解剖)

優秀ポスター発表賞・生理学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-48	温度感受性 TRP チャネルによる口腔粘膜の新しい創傷治癒機構 ○合島 怜央奈 ^{1,2,3} 、大崎 康吉 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、木附 智子 ¹ 、村田 直久 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ (九大 院歯 分子口腔解剖、 ² 佐 賀大 医 歯科口腔外科、 ³ 佐賀大 医 生体構造機能 組織神経解剖)
P1-49	口内炎モデルラットを用いた口腔内疼痛の新規評価法と発症メカニズムの解明 ○人見 涼露 ¹ 、小野 堅太郎 ¹ 、稲永 清敏 ¹ (九歯大 歯 生理)
P1-50	タンニン酸の舌刺激に対するラット舌神経と鼓索神経の応答 ○美甘 真 ¹ 、兒玉 直紀 ² 、美藤 純弘 ¹ 、小橋 基 ¹ 、皆木 省吾 ² 、松尾 龍二 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生理、 ² 岡大 院 医歯薬 咬合・有床義歯補綴)
P1-51	口唇刺激による体性感覚誘発磁場第一成分の加齢変化に関する検討 ○日原 大貴 ¹ 、金高 弘恭 ² 、小枝 聡子 ³ 、後藤 哲 ⁴ 、高橋 哲 ⁴ 、齋藤 正寛 ¹ (東北大 院歯 歯科保存、 ² 東北大 院 歯 歯イノベリエゾンセ、 ³ 東医歯大 院医歯 顎口腔外科、 ⁴ 東北大 院歯 顎顔面口腔外科)
P1-52	ラット最後野ニューロンのシナプス前 CCK 受容体を介した興奮性調節 ○菅田 真吾 ¹ 、平井 喜幸 ¹ 、前澤 仁志 ¹ 、船橋 誠 ¹ (北大 院歯 口腔生理)
P1-53	ラット中枢 GLP-1 の反射性嚥下におよぼす作用 ○水谷 諭史 ¹ 、小橋 基 ¹ 、藤田 雅子 ¹ 、美藤 純弘 ¹ 、松尾 龍二 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生理)
P1-54	麻酔下ウサギにおける自律神経活動変化が及ぼす開口反射への影響 ○酒井 翔悟 ¹ 、辻 光順 ¹ 、真柄 仁 ¹ 、辻村 恭憲 ¹ 、井上 誠 ¹ (新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)
P1-55	上喉頭神経同時刺激による嚥下誘発の促進 ○高橋 功次朗 ^{1,2} 、北川 純一 ² 、山村 健介 ² 、齋藤 功 ¹ (新大 院医歯 矯正、 ² 新大 院医歯 口腔生理)
P1-56	マウス味蕾における甘味特異的な GLP-1 の分泌 ○高井 信吾 ¹ 、安松 啓子 ¹ 、吉田 竜介 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (九大 院歯 口腔機能解析)
P1-57	三叉神経節内への A-タイプ K チャネル拮抗薬の電気泳動的投与による顎関節由来 A δ -C-三叉神経節ニューロンの興 奮性増強効果について ○原 紀文 ¹ 、武田 守 ¹ 、高橋 誠之 ¹ 、松本 茂二 ¹ (日歯大 生命歯 生理)
P1-58	ラットの舌を支配する三叉神経節ニューロンにおける TRPV1 と ANO1 の発現 ○金澤 卓也 ¹ 、松本 茂二 ¹ (日歯大 生命歯 生理)
P1-59	L-ヒスチジン腹腔内投与による摂食抑制と脳幹部神経活動の連関 ○奥舎 有加 ^{1,2} 、平井 喜幸 ¹ 、船橋 誠 ¹ (北大 院歯 口腔生理、 ² 北大 院歯 高齢者)
P1-60	マウス顎下腺の時計遺伝子、時計制御遺伝子と機能分子 mRNA の概日リズム ○内田 仁司 ^{1,2,3} 、阪井 丘芳 ² 、中村 渉 ¹ (阪大 院歯 口腔時間生物、 ² 阪大 院歯 顎治、 ³ 日本学術振興会)
P1-61	新生仔ラットの呼吸と循環にデクスメトミジン腹腔内投与が及ぼす影響 ○田宮 旬子 ¹ 、佐伯 周子 ¹ 、井出 良治 ¹ 、松本 茂二 ¹ (日歯大 生命歯 生理)
P1-62	象牙芽細胞におけるアルカリ感受性の検討 ○津村 麻記 ¹ 、佐藤 正樹 ¹ 、Sobhan Ubaidus ¹ 、兒玉 紗耶香 ¹ 、陽田 みゆき ² 、西山 明宏 ³ 、田崎 雅和 ¹ 、澁川 義 幸 ¹ (東歯大 生理、 ² 東歯大 口健 小児歯、 ³ 東歯大 オーラル)

P1-63	三叉神経運動核咬筋領域内の γ 運動ニューロンの電気生理学および形態学的特性 ○西村 佳世 ^{1,2} 、磯貝 由佳子 ^{1,2} 、齋藤 充 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、山城 隆 ² 、姜 英男 ¹ (阪大 院歯 高次脳口腔機能、 ² 阪大 院歯 口腔分化発育情報)
P1-64	内因性レプチンとエンドカンナビノイドがマウスの甘味感受性に及ぼす影響 ○仁木 麻由 ¹ 、上瀧 将史 ¹ 、吉田 竜介 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (九大 院歯 口腔機能解析)
P1-65	胃酸分泌抑制剤ニザチジンの唾液分泌促進作用について ○植田 紘貴 ¹ 、菅 真有 ² 、八木 孝和 ¹ 、宮脇 正一 ² (鹿大 医・歯病院 発達系歯科セ 矯正歯科、 ² 鹿大 院歯 歯科矯正)
P1-66	エタノールおよびアセトアルデヒドの口渴中枢ニューロンに対する作用 ○氏原 泉 ^{1,2} 、人見 涼露 ² 、小野 堅太郎 ² 、柿木 保明 ¹ 、稲永 清敏 ² (九歯大 老年障歯、 ² 九歯大 生理)
P1-67	ラット唾液腺の血流動態に関連する副交感神経性血管拡張線維の局在性 ○佐藤 寿哉 ¹ 、石井 久淑 ¹ (北医大 歯 生理)
P1-68	Somatostatin _{2A} 受容体を介した GABA ニューロンの脱抑制による侵害受容性頸髄後角ニューロンの促進効果 ○高橋 誠之 ¹ 、武田 守 ¹ 、松本 茂二 ¹ (日歯大 生命歯 生理)
P1-69	ビジュアルフィードバックを用いた随意的口唇閉鎖力調節の特性 ○宮本 剛至 ¹ 、笹山 智加 ² 、加藤 隆史 ³ 、山田 一尋 ¹ 、増田 裕次 ² (松歯大 院歯 硬組織疾患、 ² 松歯大 院歯 顎口腔機能、 ³ 阪大 院歯 口腔解剖二)
P1-70	下歯槽神経損傷後に発症する顔面部異所性痛覚過敏に対する Connexin43 の関与 ○梶 佳織 ^{1,2} 、篠田 雅路 ² 、清水 典佳 ¹ 、岩田 幸一 ² (日大 歯 歯科矯正、 ² 日大 歯 生理)
P1-71	三叉神経運動核における α および γ 運動ニューロンのサイズの分布についての検討 ○磯貝 由佳子 ^{1,2} 、山城 隆 ² 、姜 英男 ¹ (阪大 院歯 高次脳口腔機能、 ² 阪大 院歯 口腔分化発育情報)

優秀ポスター発表賞・生化学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-72	Nicotine 誘導性 CCN2/CTGF がヒト歯周組織由来培養細胞の線維化に与える影響 ○五十嵐 寛子 ^{1,4} 、久保田 聡 ² 、立花 利公 ³ 、村樫 悦子 ¹ 、岡部 正隆 ⁴ 、滝川 正春 ² 、沼部 幸博 ¹ (日歯大 歯周病、 ² 岡大 院歯歯薬 口腔生化、 ³ 慈恵大 共用施設、 ⁴ 慈恵大 解剖)
P1-73	移植細胞の初期動態とストレスタンパク質 HSP27 導入による影響 ○北見 恩美 ^{1,3} 、加来 賢 ¹ 、井田 貴子 ¹ 、秋葉 陽介 ^{1,2} 、魚島 勝美 ^{1,2} (新大 院歯 生体歯科補綴、 ² 新大 医歯学総合病院、 ³ 日本学術振興会)
P1-74	未分化性維持に関与している miRNA-720 は歯髄細胞の細胞増殖・分化を制御する ○Hara Emilio ¹ 、大野 充昭 ¹ 、Pham Hai ¹ 、窪木 拓男 ¹ (岡大 院歯歯薬 インプラント再生補綴)
P1-75	脂肪細胞の分化と成熟におけるオステオカルシンの役割 ○大谷 崇仁 ¹ (九大 歯科研 口腔細胞工)
P1-76	CXCL3 は脂肪細胞分化を正に制御する ○楠山 譲二 ¹ 、坂東 健二郎 ¹ 、柿元 協子 ¹ 、大西 智和 ¹ 、松口 徹也 ¹ (鹿大 院歯 口腔生化、 ² 日本学術振興会)
P1-77	カテプシン D 欠損マウスの脳病変における脳ペリサイト消失と免疫細胞の脳内浸潤の関与 ○岡田 亮 ¹ 、武 洲 ¹ 、中西 博 ¹ (九大 院歯 口腔機能分子)
P1-78	アメロプラスチンは口腔上皮細胞の細胞増殖を抑制する ○西藤 法子 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、鷲尾 絢子 ² 、北村 知昭 ² 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染生物、 ² 九歯大 保存治療)
P1-79	RelB は NF- κ B2 のプロセッシングを誘導し、 <i>aly/aly</i> マウスの破骨細胞分化抑制を解除する ○谷口 礼 ^{1,2} 、福島 秀文 ² 、牧 憲司 ¹ 、自見 英治郎 ² (九歯大 歯 口腔機能発達、 ² 九歯大 歯 分子情報生化)
P1-80	MC3T3-E1 細胞におけるインクレチン受容体の発現変化 ○青山 絵美奈 ¹ 、渡 一平 ¹ 、井上 カタジナ アンナ ² 、柳下 正樹 ² 、小野 卓史 ¹ (東医歯大 院歯 咬合機能矯正、 ² 東医歯大 院歯 硬病生化)
P1-81	成長板軟骨細胞の肥大化に関する新規 RNA 分子の探索 ○原 規子 ¹ 、久保田 聡 ¹ 、青山 絵理子 ¹ 、滝川 正春 ¹ (岡大 院歯歯薬 口腔生化)
P1-82	LAMP2 is involved in the intracellular transport of RANKL ○Rajapakshe Anupama ¹ 、井上 カタジナアンナ ¹ 、柳下 正樹 ¹ 、横山 三紀 ¹ (東医歯大 院歯 硬生化)
P1-83	ブタ幼若エナメル質中の生理活性物質と低分子エナメルインについて ○木下 冴子 ¹ 、唐木田 丈夫 ² 、大井田 新一郎 ² 、朝田 芳信 ¹ 、山越 康雄 ² (鶴見大 歯 小児歯科、 ² 鶴見大 歯 分子生化)
P1-84	歯根膜線維芽細胞に高発現する CXCL12 の機能について ○八城 祐一 ¹ 、野村 義明 ² 、石川 美佐緒 ¹ 、新井 千博 ¹ 、野田 晃司 ¹ 、花田 信弘 ² 、中村 芳樹 ¹ (鶴見大 院歯 矯正、 ² 鶴見大 歯 探索歯)

P1-85	ヒト歯根膜細胞におけるギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションの検討 ○加藤 龍史 ¹ 、石原 嘉人 ² 、川邊 紀章 ² 、上岡 寛 ² 、山本 照子 ¹ 、山城 隆 ³ (東北大 院歯 顎口腔矯正、 ² 岡大 院 医歯薬 歯科矯正、 ³ 阪大 院歯 顎顔面矯正)
P1-86	メタボローム解析による口腔扁平上皮癌のエネルギー代謝特性の解明とバイオマーカーの探索 ○小川 珠生 ^{1,2} 、鷲尾 純平 ² 、高橋 哲 ¹ 、高橋 信博 ² (東北大 院歯 顎顔面口腔外科、 ² 東北大 院歯 口腔生化学)
P1-87	扁平上皮癌細胞における GULT1 を介した EGFR の発現制御 ○吉本 尚平 ^{1,2} 、長野 公喜 ¹ 、杉山 悟郎 ¹ 、森田 浩光 ² 、中村 誠司 ³ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工、 ² 九大 病院 全身管理歯科、 ³ 九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)
P1-88	ヒアルロン酸が破骨細胞に及ぼす影響 ○廣田 秀逸 ¹ 、川本 章代 ¹ 、吉川 美弘 ² 、高橋 一也 ¹ 、池尾 隆 ² 、小正 裕 ¹ (大歯大 院歯 高齢者歯、 ² 大歯大 生化学)
P1-89	Cdc42 は軟骨形成に必須の遺伝子である ○鈴木 航 ^{1,2} 、山田 篤 ¹ 、相澤 怜 ^{1,3} 、鈴木 大 ¹ 、中山 睦子 ^{1,4} 、山本 松男 ³ 、榎 宏太郎 ⁴ 、馬場 一美 ² 、上條 竜太郎 ¹ (昭大 歯 口腔生化学、 ² 昭大 歯 歯科補綴、 ³ 昭大 歯 歯周病、 ⁴ 昭大 歯 歯科矯正)
P1-90	破骨細胞の前駆細胞における接着シグナルは分化誘導受容体 (RANK) の発現を誘導する ○望月 文子 ¹ 、高見 正道 ² 、宮本 洋一 ² 、井上 富雄 ¹ 、上條 竜太郎 ² (昭大 歯 口腔生理、 ² 昭大 歯 口腔生化学)
P1-91	象牙質・幹細胞複合体の骨再生への応用 ○田中 雅士 ^{1,2} 、川木 晴美 ¹ 、小栗 健策 ^{1,2} 、森 春菜 ² 、神谷 真子 ¹ 、高山 英次 ¹ 、吉田 隆一 ² 、近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学、 ² 朝日大 歯 歯科保存)
P1-92	GLUT4 トランスロケーションにおける Akt による tomosyn のリン酸化の影響 ○長野 公喜 ¹ 、竹内 弘 ² 、杉山 悟郎 ¹ 、大谷 崇仁 ¹ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工、 ² 九歯大 口腔応用薬理)
P1-93	炎症・組織再生を制御する CCN1 の 3' 非翻訳領域を介した遺伝子発現調節 ○村瀬 友里香 ^{1,2} 、久保田 聡 ¹ 、前田 彩 ¹ 、原 規子 ¹ 、住吉 久美 ¹ 、西田 崇 ¹ 、佐々木 朗 ² 、滝川 正春 ¹ (岡大 院 医歯薬 口腔生化学、 ² 岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)
P1-94	歯周病関連菌の義歯用レジン (PMMA) 表面への付着性および唾液による影響 ○石黒 和子 ^{1,2} 、鷲尾 純平 ² 、佐久間 陽子 ¹ 、竹内 裕尚 ¹ 、福島 庄一 ³ 、佐々木 啓一 ¹ 、高橋 信博 ² (東北大 院歯 口腔システム補綴、 ² 口腔生化学、 ³ 次世代歯科材料工)
P1-95	破骨細胞の骨吸収活性を制御する Wnt5a-Ror2 シグナルによる Rho 活性化 ○上原 俊介 ¹ 、宇田川 信之 ¹ 、高橋 直之 ² 、小林 泰浩 ² (松歯大 口腔生化学、 ² 松歯大 総合歯科医学研)
P1-96	培養幹細胞を用いた象牙質顆粒の機能解析 ○小栗 健策 ^{1,2} 、川木 晴美 ¹ 、田中 雅士 ^{1,2} 、森 春菜 ² 、神谷 真子 ¹ 、高山 英次 ¹ 、吉田 隆一 ² 、近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学、 ² 朝日大 歯 歯科保存)
P1-97	炭酸含有アパタイトの骨髄由来間質細胞の接着・増殖促進効果の検討 ○高橋 潤 ^{1,2} 、川木 晴美 ¹ 、尾上 一平 ^{1,2} 、近藤 雄三 ^{1,2} 、神谷 真子 ¹ 、高山 英次 ¹ 、永原 國央 ² 、近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学、 ² 朝日大 歯 インプラント)
P1-98	炭酸含有アパタイトの骨芽細胞増殖分化促進効果の検討 ○近藤 雄三 ^{1,2} 、川木 晴美 ¹ 、尾上 一平 ^{1,2} 、高橋 潤 ^{1,2} 、神谷 真子 ¹ 、高山 英次 ¹ 、永原 國央 ² 、近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学、 ² 朝日大 歯 インプラント)
P1-99	デキサメタゾン培養骨芽細胞が形成する石灰化物のリン酸含有量と硬さを増強する ○宮本 尚 ^{1,2} 、宮本 洋一 ¹ 、榎 宏太郎 ² 、上條 竜太郎 ¹ (昭大 歯 口腔生化学、 ² 昭大 歯 歯科矯正)
P1-100	骨芽細胞のスフィンゴミエリン合成酵素 (SMS) 2 が破骨細胞分化に及ぼす影響 ○加山 智規 ¹ 、吉川 美弘 ² 、池尾 隆 ² 、岡崎 定司 ¹ (大歯大 欠損歯列補綴咬合、 ² 大歯大 生化学)
P1-101	マウス口腔扁平上皮癌による脾細胞インターフェロン γ 産生能の抑制効果 ○稲垣 俊弘 ¹ 、神谷 真子 ² 、東 康加 ³ 、川木 晴美 ² 、高山 英次 ² 、村松 泰徳 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 口腔外科、 ² 朝日大 歯 口腔生化学、 ³ 朝日大 歯 歯科麻酔)

優秀ポスター発表賞・病理学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-102	不正咬合と片頭痛との関連について ○猿田 樹理 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、林 隆司 ¹ 、清水 智子 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、松木 千紗 ¹ 、川嶋 理恵 ² 、近藤 裕介 ^{1,3} 、槻木 恵一 ¹ (神歯大 院 環境病理、 ² 自医大 院 歯科口腔外科、 ³ 東海大 医 病理診断)
P1-103	急性ストレス負荷時のラット副腎髄質における TrkB の役割 ○近藤 裕介 ^{1,2} 、東 雅啓 ² 、猿田 樹理 ² 、林 隆司 ² 、松木 千紗 ² 、山本 裕子 ² 、清水 智子 ² 、川嶋 理恵 ³ 、槻木 恵一 ² (東海大 医 基盤診療 病理診断、 ² 神歯大 院 環境病理、 ³ 自医大 院 歯科口腔外科)
P1-104	ヒト歯周炎歯肉における hBD-2 発現誘導の解析 ○東 雅啓 ¹ 、清水 智子 ¹ 、猿田 樹理 ¹ 、佐藤 武則 ² 、近藤 裕介 ^{1,3} 、林 隆司 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、松木 千紗 ¹ 、浜田 信城 ² 、槻木 恵一 ¹ (神歯大 院 環境病理、 ² 神歯大 院 微生物、 ³ 東海大 医 病理診断)
P1-105	マウス咬筋の持続的活動における IL-1 の役割 ○千葉 航 ¹ 、米田 博行 ² 、菅原 俊二 ³ 、遠藤 康男 ³ (東北大 院歯 加齢歯科、 ² 東北大 院歯 口腔システム補綴、 ³ 東北大 院歯 口腔分子制御)

P1-106	<i>in vivo</i> におけるヒト歯周炎歯肉モデルを用いた hBD-2 および IL-1 β 発現と臨床病態との関連についての検討 ○清水 智子 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、川嶋 理恵 ² 、林 隆司 ¹ 、猿田 樹理 ¹ 、佐藤 武則 ³ 、近藤 裕介 ⁴ 、山本 裕子 ¹ 、浜田 信城 ³ 、 槻木 恵一 ¹ (神歯大 院 環境病理、 ² 自医大 院 歯科口腔外科、 ³ 神歯大 院 微生物、 ⁴ 東海大 医 病理診断)
P1-107	CCN3 は骨再生における抑制因子である ○松下 祐樹 ^{1,2,3} 、坂本 啓 ¹ 、南里 篤太郎 ^{1,4} 、原田 清 ² 、山口 朗 ¹ (東医歯大 院 医歯 口腔病理、 ² 東医歯大 院 医 歯 顎顔面外科、 ³ 長大 院 医歯薬 口腔腫瘍治療、 ⁴ 長大 院 医歯薬 顎・口腔再生外)
P1-108	コラーゲンをを用いたラット唾液腺における創傷治癒関連細胞の解析 ○小林 史卓 ^{1,2} 、井上 孝 ^{1,2} (東歯大 口腔科学研究セ、 ² 東歯大 臨床検査病理)
P1-109	卵巣摘出ラットの抜歯窩新生骨形成におよぼすビスホスホネートの影響 ○山崎 貴希 ¹ 、蛭間 信彦 ¹ 、見明 康雄 ¹ 、森口 美津子 ¹ 、澤田 隆 ¹ 、山本 仁 ¹ 、柳澤 孝彰 ¹ (東歯大 超微構造)
P1-110	レジンモノマーはアジュバントとして歯科材料アレルギーによるマウスでのアレルギーを促進する ○坂東 加南 ^{1,2} 、田中 志典 ^{1,3} 、黒石 智誠 ¹ 、山本 照子 ² 、菅原 俊二 ¹ 、遠藤 康男 ¹ (東北大 院 歯 口腔分子制御、 ² 東北大 歯 顎口腔矯正、 ³ 東北大 歯 歯学イノベーションリエゾンセ)
P1-111	長期 LPS 刺激されたヒト歯根膜線維芽細胞における DNA メチル化の網羅的解析 ○高井 理衣 ¹ 、植原 治 ² 、中條 隆俊 ¹ 、佐藤 英樹 ¹ 、吉田 光希 ¹ 、佐藤 惇 ¹ 、西村 学子 ¹ 、荒川 俊哉 ³ 、田隈 泰信 ³ 、 安彦 善裕 ¹ (北医大 歯 臨床口腔病理、 ² 北医大 歯 保健衛生、 ³ 北医大 歯 口腔生化学)
P1-112	自己免疫疾患モデルを用いた腫瘍免疫システムの解析 ○近藤 智之 ¹ 、山田 安希子 ¹ 、新垣 理恵子 ¹ 、工藤 保誠 ¹ 、石丸 直澄 ¹ (徳大 院 HBS 口腔分子病態)
P1-113	核内長鎖 non-coding RNA—その唾液腺腫瘍における役割— ○外園 知恵 ¹ 、入江 太郎 ¹ 、安原 理佳 ¹ 、田中 準一 ¹ 、美島 健二 ¹ (昭大 歯 口腔病態診断科 口腔病理)
P1-114	ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染が口腔扁平苔癬 (OLP) の悪性化に関与する可能性についての検討 ○加藤 世太 ¹ 、河合 遼子 ¹ 、鳥居 亮太 ¹ 、本田 由馬 ¹ 、加藤 郁郎 ¹ 、吉田 和加 ^{1,2} 、杉田 好彦 ^{1,2} 、佐藤 恵美子 ^{1,2} 、 久保 勝俊 ^{1,2} 、前田 初彦 ^{1,2} (愛院大 歯 口腔病理、 ² 愛院大 未来口腔医療研究セ)
P1-115	転移能力違い舌扁平上皮癌細胞系における体外浸潤の比較 ○劉 涵 ¹ 、劉 波 ¹ 、肖 晶 ¹ (大連医大 口腔医学院 口腔基礎)
P1-116	エナメル上皮腫における CCN2 の発現と間質線維芽細胞への作用について ○武部 祐一郎 ¹ 、辻極 秀次 ¹ 、于 湊 ¹ 、藤井 昌江 ¹ 、河合 穂高 ¹ 、玉村 亮 ² 、佐々木 朗 ³ 、長塚 仁 ¹ (岡大 院 医 歯薬 口腔病理、 ² 岡大 院 医歯薬 口腔顎顔面外科、 ³ 日大 松戸歯 解剖 2)
P1-117	ラクトフェリンの舌下からの吸収による脳への移行と抗酸化能との関連についての検討 ○林 隆司 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、吉野 文彦 ² 、吉田 彩佳 ² 、猿田 樹理 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、近藤 裕介 ^{1,3} 、川嶋 理恵 ⁴ 、李 昌一 ² 、 槻木 恵一 ¹ (神歯大 院 環境病理、 ² 神歯大 院 口腔科学、 ³ 東海大 医 病理診断、 ⁴ 自医大 院 歯科口腔外科)
P1-118	F-spondin は歯周組織の硬組織破壊を抑制する ○岡 広子 ¹ 、北川 雅恵 ² 、高田 隆 ^{1,3} (広大 院 医歯薬保 国際歯科医学連携開発、 ² 広大病院 口腔検査セ、 ³ 広大 院 医歯薬保 口腔顎顔面病理病態)
P1-119	唾液腺腫瘍における PTEN 及び Smad4 の発現 ○劉 涵 ¹ 、劉 波 ¹ 、肖 晶 ¹ (大連医大 口腔医学院 口腔基礎)

優秀ポスター発表賞・微生物学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-120	LPS の破骨細胞形成に対する MDP の作用の検討 ○石田 匡彦 ¹ 、北浦 英樹 ¹ 、木村 桂介 ¹ 、高田 春比古 ² 、山本 照子 ¹ (東北大 院 歯 顎口腔矯正、 ² 東北大 院 歯 口腔微生物)
P1-121	Curdlan-dectin-1 を介した新たな破骨細胞分化の制御機構 ○山崎 徹 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、細川 隆司 ² 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染分子、 ² 九歯大 口腔再建リハ)
P1-122	<i>S. sanguinis</i> のバイオフィーム形成に対する <i>V. parvula</i> 培養上清の作用 ○眞島 いつみ ¹ 、鎌口 有秀 ¹ 、宮川 博史 ¹ 、藤田 真理 ¹ 、中澤 太 ¹ (北医大 歯 微生物)
P1-123	<i>Streptococcus mutans</i> と <i>Fusobacterium nucleatum</i> との共凝集におけるクオラムセンシングの関与について ○竜 佑宗 ¹ 、三上 正人 ² 、葛城 啓彰 ² 、下村-黒木 淳子 ¹ (日歯大 新潟生命歯 小児歯、 ² 日歯大 新潟生命歯 微生 物)
P1-124	<i>Porphyromonas gingivalis</i> において電気穿孔法で導入可能なプラスミドベクターの構築 ○田川 淳平 ¹ 、井上 哲圭 ² 、佐藤 啓子 ³ 、内藤 真理子 ³ 、中山 真彰 ² 、中山 浩次 ³ 、山城 隆 ⁴ 、大原 直也 ² (岡大 院 矯正、 ² 岡大 院 医歯薬 口腔微生物、 ³ 長大 院 医歯薬 口腔病原微生物、 ⁴ 阪大 院 歯 矯正)
P1-125	<i>Porphyromonas gingivalis</i> PGN_1796 は薬剤感受性に関与する ○田口 裕子 ¹ 、佐藤 啓子 ⁴ 、井上 哲圭 ² 、加野 小奈美 ³ 、中山 真彰 ² 、前田 博史 ¹ 、中山 浩次 ⁴ 、大原 直也 ² (岡 大 院 医歯薬 歯周病態、 ² 岡大 院 医歯薬 口腔微生物、 ³ 岡大 院 医歯薬 歯科矯正、 ⁴ 長大 院 医歯薬 口腔病原微生 物)
P1-126	新規植物抽出物による口腔微生物発育抑制効果 ○大屋 学 ¹ 、田村 宗明 ^{1,2} 、今井 健一 ^{1,2} 、落合 邦康 ^{1,2} (日大 歯 細菌、 ² 日大 総歯研 生体防御)

P1-127	次世代シーケンサーを用いた歯石細菌叢の解析 ○城 隆太郎 ¹ 、熊田 直子 ¹ 、石丸 英彦 ¹ 、森嶋 清二 ² 、近 亮 ¹ (ライオン株式会社 分析技術セ、 ² ライオン歯科衛生研)
P1-128	<i>Streptococcus sanguinis</i> の菌体表層スクレアーゼは自然免疫からの回避に寄与する ○住岡 龍一 ¹ 、森田 知里 ¹ 、中田 匡宣 ¹ 、岡橋 暢夫 ² 、住友 倫子 ¹ 、川端 重忠 ¹ (阪大 院歯 口腔細菌、 ² 阪大 院歯 口腔科学フロンティアセ)
P1-129	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の PGN ₁₂₀₂ (<i>rpoN</i>) は必須遺伝子である ○加野 小奈美 ¹ 、井上 哲圭 ² 、田口 裕子 ³ 、田川 淳平 ⁴ 、中山 真彰 ² 、山城 隆 ⁵ 、大原 直也 ² (岡大 院医歯薬 矯正歯科、 ² 岡大 院医歯薬 口腔微生物、 ³ 岡大 院医歯薬 歯周病態、 ⁴ 岡大 病院 矯正、 ⁵ 阪大 院歯 矯正)
P1-130	<i>Streptococcus sanguinis</i> によるインフラマゾームの活性化 ○佐伯 歩 ¹ 、杉山 正博 ¹ 、長谷部 晃 ¹ 、中澤 太 ² 、柴田 健一郎 ¹ (北大 院歯 口腔病態 口腔分子微生物、 ² 北医大 歯 微生物)
P1-131	歯周病関連細菌 <i>Treponema denticola</i> の主要膜タンパク質の性状解析 ○安彦 友希 ¹ 、永野 恵司 ¹ 、吉田 康夫 ¹ 、吉村 文信 ¹ (愛院大 歯 微生物)

優秀ポスター発表賞・薬理学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-132	神経障害性疼痛に対する GABA トランスポーター阻害薬の鎮痛効果 ○秦泉寺 紋子 ^{1,2} 、十川 千春 ² 、宮脇 卓也 ¹ 、森田 克也 ³ 、十川 紀夫 ² 、北山 滋雄 ² (岡大 院医歯薬 歯科麻酔、 ² 岡大 院医歯薬 歯科薬理、 ³ 広島文化大 看護 薬理)
P1-133	骨芽細胞における Na,K-ATPase の機能 ○山田 淳一 ¹ 、出山 義昭 ² 、吉村 善隆 ² 、鈴木 邦明 ² 、八若 保孝 ¹ (北大 院歯 小児・障害者歯科、 ² 北大 院歯 細胞分子薬理)
P1-134	PICK1 は CalcineurinB と結合し破骨細胞分化を促進する ○鎌野 優弥 ^{1,2} 、江草 宏 ¹ 、佐伯 万騎男 ² 、大川 博子 ¹ 、矢谷 博文 ¹ (阪大 院歯 口腔補綴、 ² 阪大 院歯 薬理)
P1-135	ヒト歯肉線維芽細胞内カルシウムイオン調節機構におけるフェニトンの関与 ○林 良宣 ¹ 、村田 佳織 ¹ 、倉重 圭史 ¹ 、齊藤 正人 ¹ 、谷村 明博 ² (北医大 歯 小児歯科、 ² 北医大 歯 薬理)
P1-136	還元型コエンザイム Q10 の歯周組織の加齢変化に対する効果について ○米田 俊樹 ¹ 、友藤 孝明 ¹ 、江國 大輔 ¹ 、東 哲司 ¹ 、遠藤 康正 ¹ 、粕山 健太 ¹ 、町田 達哉 ¹ 、森田 学 ¹ (岡大 院医歯薬 予防歯)
P1-137	下垂体腺腫における miRNA 発現解析 ○小野 信二 ¹ 、岩田 武男 ² 、水澤 典子 ² 、吉本 勝彦 ² (徳大 院 口腔教育 分子薬理、 ² 徳大 院 HBS 分子薬理)
P1-138	カテプシン S に依存した抗原提示は神経障害性疼痛の維持に必須である ○張 馨文 ¹ 、武 洲 ¹ 、林 良憲 ¹ 、中西 博 ¹ (九大 院歯 口腔機能分子科学)
P1-139	唾液腺の老性萎縮や老性遺伝子発現変化に及ぼすホエーの効果 ○Pieczonka Tomasz ¹ 、Bragiel Aneta ¹ 、石川 康子 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)
P1-140	窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) の炎症壊死作用：リン酸 transporter 阻害剤の効果 ○木山 朋美 ^{1,2} 、岡田 諭 ^{1,3} 、佐藤 衣莉 ¹ 、佐々木 啓一 ² 、菅原 俊二 ¹ 、遠藤 康男 ¹ (東北大 院歯 口腔分子制御、 ² 東北大 院歯 口腔システム補綴、 ³ 東北大 院歯 顎顔面外科)
P1-141	骨芽細胞様細胞におけるズリ応力による細胞内カルシウム濃度の上昇にグルタミン酸が関与する ○土屋 範果 ^{1,2} 、兒玉 大介 ¹ 、後藤 滋巳 ² 、戸辺 彰史 ¹ (愛院大 院歯 薬理、 ² 愛院大 院歯 矯正)
P1-142	RANKL 結合ペプチドの軟骨細胞分化促進と軟骨破壊抑制作用 ○菅森 泰隆 ¹ 、加藤 玄樹 ¹ 、田村 幸彦 ¹ 、大谷 啓一 ¹ 、青木 和広 ¹ (東医歯大 院医歯 硬組織薬理)
P1-143	放射線粘膜炎に対する DMX シートの効果 ○四宮 敬史 ¹ 、吉川 正信 ^{1,2} 、川口 充 ¹ 、奥村 重年 ³ 、大久保 みぎわ ¹ (東歯大 薬理、 ² 東海大 医 臨床薬理、 ³ ロート製薬 (株))
P1-144	Na,K-ATPase 活性及びそのリン酸化反応中間体量に対するフッ素の作用 ○沖野 雄一郎 ¹ 、出山 義昭 ² 、吉村 善隆 ² 、鈴木 邦明 ² (北大 院歯 予防歯、 ² 北大 院歯 細胞分子薬理)
P1-145	口腔癌で明らかになった keratin13 遺伝子のエピジェネティック変異 ○永沼 香織 ^{1,2} 、八田 光世 ² 、大久保 つや子 ² 、山崎 純 ² (福歯大 口腔顎顔面外科、 ² 福歯大 細胞分子生物)
P1-146	食塩感受性および非感受性高血圧診断用バイオマーカーとしての唾液中のイオンチャネル ○Bragiel Aneta ¹ 、Pieczonka Tomasz ¹ 、石川 康子 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)

神経

P1-147	顎顔面感覚入力にตอบสนองするウサギ視床ニューロン活動の電気生理学的検討 ○鈴木 崇弘 ¹ 、若森 実 ² 、田端 孝義 ¹ 、坪井 明人 ^{1,3} (¹ 東北大 院歯 加齢歯科、 ² 東北大 院歯 歯科薬理、 ³ 東北メ ディカル・メガバンク機構)
P1-148	Poxn 発現味覚ニューロンのショウジョウバエ摂食行動における機能 ○古山 昭 ¹ 、大須賀 謙二 ¹ 、宗形 芳英 ¹ (¹ 奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
P1-149	mGluR4 ノックアウトマウスの鼓索神経および舌咽神経におけるうま味受容体の機能解析 ○安松 啓子 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析)
P1-150	混合味溶液の味質強度とおいしさをヒトはどう判断するか？ ○片川 吉尚 ¹ 、安尾 敏明 ² 、諏訪部 武 ² 、玄 景華 ¹ 、碓 哲崇 ² (¹ 朝日大 歯 口腔病態医療 障害者歯科、 ² 朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)
P1-151	無顆粒島皮質における fast-spiking 細胞の軸索投射様式 ○福田 理美 ¹ 、小林 真之 ¹ 、越川 憲明 ¹ (¹ 日大 歯 薬理)
P1-152	CCK のマウス鼓索神経活動に及ぼす影響 ○八坂 美沙 ¹ 、安松 啓子 ¹ 、仁木 麻由 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析)
P1-153	閉口筋運動ニューロンに対する興奮性シナプス伝達のゲート機構に関する TASK3 電流の発現系における解析 ○田中 千恵 ^{1,2} 、齋藤 充 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、姜 英男 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔生理、 ² 阪大 院歯 第二補綴)
P1-154	ストレス負荷卵巣摘出マウスにおいて、KCC2 の発現減少による GABA 系の脱抑制が生じている可能性。そして、17 α - エストラジオールによる改善 ○塚原 飛央 ¹ 、増原 正明 ¹ 、菌村 貴弘 ² 、植村 正憲 ¹ 、佐藤 友昭 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 歯科薬理、 ² 鹿大 院医歯 歯科 機能形態)
P1-155	嗅覚訓練マウスを用いた Dimethyl Sulfide に対する 3,7-dimethyl terpene 類の嗅覚マスキング作用の確認 ○長田 和実 ¹ (¹ 北医大 歯 口腔生物 生理)
P1-156	脳血流動態における三叉一副交感神経性血管拡張反応の役割とそれらの GABA 入力による機能修飾機構 ○石井 久淑 ¹ 、佐藤 寿哉 ¹ (¹ 北医大 歯 生理)
P1-157	顎-顎協調運動が開口反応時間におよぼす影響 ○宗形 芳英 ¹ 、大須賀 謙二 ¹ 、古山 昭 ¹ (¹ 奥羽大 歯 口腔生理)
P1-158	咀嚼と食行動に及ぼす桂花の香り ○山本 隆 ¹ (¹ 畿央大 健康科学 健康栄養)
P1-159	味覚中継核刺激によって誘発される島皮質での興奮伝播に対する嗅球刺激の効果 ○溝口 尚子 ^{1,2} 、小林 真之 ² 、村本 和世 ¹ (¹ 明海大 歯 生理、 ² 日大 歯 薬理)
P1-160	カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔痛み感覚 ○吉住 潤子 ¹ 、宇都宮 怜子 ² 、合島 怜央奈 ^{2,3} 、木附 智子 ^{1,2} 、城戸 瑞穂 ² (¹ 九大 院歯 顔面口腔外科、 ² 九大 院歯 口腔解剖、 ³ 佐賀大 医 歯科口腔外科)
P1-161	GLP-1 受容体欠損マウスにおける選択的甘味抑制について ○岩田 周介 ¹ 、安松 啓子 ¹ 、高井 信吾 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析)
P1-162	下歯槽神経損傷後に孤核核内で認めたマイクログリアの応答 ○柿原 理奈 ¹ 、諏訪部 武 ³ 、西川 泰央 ² 、森田 章介 ¹ (¹ 大歯大 院 口腔外科一、 ² 大歯大 生理、 ³ 朝日大 歯 口腔 機能修復 口腔生理)
P1-163	覚醒サル一次体性感覚野ニューロンの熱刺激に対する応答特性 ○海野 俊平 ¹ 、岩田 幸一 ¹ (¹ 日大 歯 生理)
P1-164	二日酔いで口の渇感は一アセトアルデヒドが原因でおこる ○稲永 清敏 ¹ 、氏原 泉 ^{1,2} 、人見 涼露 ¹ 、小野 堅太郎 ¹ 、柿木 保明 ² (¹ 九歯大 歯 生理、 ² 九歯大 歯 老年障歯)
P1-165	ビタミン C 欠乏ラットの 5 基本味に対する鼓索神経応答 ○安尾 敏明 ¹ 、諏訪部 武 ¹ 、碓 哲崇 ¹ (¹ 朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)
P1-166	カプサイシンによって惹起される島皮質味覚野-自律機能関連領野間の θ リズム同期化現象 ○齋藤 充 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、姜 英男 ¹ (¹ 阪大 院歯 高次脳口腔機能)
P1-167	歯根膜侵襲刺激後の神経ペプチド pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) の発現について ○北浦 英樹 ¹ 、木村 桂介 ¹ 、石田 匡彦 ¹ 、山本 照子 ¹ (¹ 東北大 院歯 顎口腔矯正)
P1-168	絶食条件下での味蕾における味覚情報伝達系に関わる分子の発現調節 ○豊野 孝 ¹ 、瀬田 祐司 ¹ 、片岡 真司 ² 、鬼頭 文恵 ³ 、豊島 邦昭 ¹ (¹ 九歯大 歯 健康増進 口腔組織機能解析、 ² 九歯 大 歯 健康増進 頭頸部構造解析、 ³ 九歯大 歯 生体機能 老年障歯)

P1-169	PRIP 蛋白の発現抑制はバレル皮質錐体細胞において一過性 GABA 抑制を強化する ○豊田 博紀 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、兼松 隆 ² 、平田 雅人 ³ 、姜 英男 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔生理、 ² 広大院医歯薬 歯科薬理、 ³ 九大院歯 口腔細胞工)
P1-170	神経障害性疼痛モデルにおける酸化型ガレクチンの鎮痛効果について ○米原 典史 ¹ 、寺澤 理恵 ¹ (¹ 奥羽大 歯 歯科薬理)
P1-171	ラット顎下腺・舌下腺を支配する上唾液核ニューロンに対するオレキシンの興奮作用 ○美藤 純弘 ¹ 、佐藤 匡 ² 、藤田 雅子 ¹ 、小橋 基 ¹ 、市川 博之 ^{1,2} 、松尾 龍二 ¹ (¹ 岡大 院医歯薬 口腔生理、 ² 東北大 院歯 口腔器官構造)
P1-172	乾燥による上皮細胞の乾燥は、さらなる乾燥を誘発する ○八田 あずさ ^{1,2} 、黒瀬 雅之 ¹ 、藤井 規孝 ² 、山村 健介 ¹ (¹ 新大 院医歯 口腔生理、 ² 新大病院 総合診療)
P1-173	睡眠時の末梢刺激応答性変化に関わる神経機構の検討 ○日野 峻輔 ¹ 、加藤 崇雄 ¹ 、堀江 憲夫 ¹ 、下山 哲夫 ¹ 、坂上 宏 ² 、安達 一典 ² (¹ 埼玉大 総医セ 歯口外、 ² 明海大 歯 薬理)
P1-174	環境ホルモン曝露ラットにおけるニオイ関連行動の解析 ○藤本 哲也 ¹ 、西川 泰史 ¹ (¹ 大歯大 生理)
P1-175	味覚感受性に与える冷刺激の影響：性差 ○藤山 理恵 ¹ 、岡田 幸雄 ¹ 、戸田 一雄 ¹ (¹ 長大 院医歯薬 生体情報科学)
P1-176	上喉頭神経連続電気刺激は嚥下反射をどのように脱感作させるのか？ ○辻 光順 ¹ 、辻村 恭憲 ¹ 、井上 誠 ¹ (¹ 新大 院医歯 摂食・嚥下リハ)
P1-177	三叉神経上核プレモーターニューロンの形態学および生理学的特性 ○中村 史朗 ¹ 、中山 希世美 ¹ 、望月 文子 ¹ 、吉田 篤 ² 、井上 富雄 ¹ (¹ 昭大 歯 口生理、 ² 阪大 院歯 高次脳口腔機 能)
P1-178	体性感覚誘発脳磁場による口唇感覚異常の客観的評価 ○前澤 仁志 ^{1,2} 、吉田 和也 ³ 、美馬 達哉 ² 、平井 喜幸 ¹ 、船橋 誠 ¹ 、長峯 隆 ^{2,4} 、福山 秀直 ² (¹ 北大 歯 口腔生理、 ² 京大 医 脳機能セ、 ³ 京都医療セ 歯、 ⁴ 札医大 神経科学)
P1-179	大動脈減圧神経と三叉一舌神経刺激による孤束核吻側部ニューロン応答 ○石塚 健一 ¹ 、佐藤 義英 ¹ (¹ 日歯大 新潟生命歯 生理)
P1-180	海馬学習依存的な AMPA 受容体の CA1 シナプスへの移行は、両側の背側海馬にみられ、腹側海馬ではみられない ○水野 潤造 ¹ 、美津島 大 ^{1,2} (¹ 神歯大 院歯 口腔科学、 ² 山口大 院医 システム神経科学)
P1-181	赤核刺激による開口反射の変調における外側網様核の関与 ○佐藤 義英 ¹ 、石塚 健一 ¹ 、岩崎 信一 ¹ (¹ 日歯大 新潟生命歯 生理)
P1-182	ラット咽頭及びその周囲組織における TRPV1 と TRPV2 の分布 ○佐藤 匡 ¹ 、矢島 健大 ² 、狩野 充浩 ¹ 、鈴木 敏彦 ¹ 、市川 博之 ¹ (¹ 東北大 院歯 口腔器官構造、 ² 東北大 院歯 歯 科保存)
P1-183	光学的膜電位測定によって観察されたラットバレル野における周期的同期化 ○佐藤 元 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、姜 英男 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔生理)
P1-184	連続運動課題遂行時における大脳体性感覚皮質のニューロン活動 ○戸田 孝史 ¹ 、工藤 忠明 ¹ 、林 治秀 ¹ (¹ 東北大 院歯 口腔生理)
P1-185	レプチンは甘味応答味細胞の甘味応答を特異的に抑制する ○吉田 竜介 ¹ 、仁木 真由 ¹ 、上瀧 将史 ¹ 、高井 信吾 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析)

筋・・

P1-186	咬合挙上によるラット咬筋の筋肥大と筋線維タイプの遅筋化にラパマイシンによる mTOR 抑制が与える影響 ○梅木 大輔 ¹ 、大貫 芳樹 ² 、新井 千博 ¹ 、奥村 敏 ² 、中村 芳樹 ¹ (¹ 鶴見大 矯正、 ² 鶴見大 生理)
P1-187	マウス舌筋走行のマイクロ CT による可視化 ○岩崎 信一 ¹ 、青柳 秀一 ² (¹ 日歯大 新潟生命歯 生理、 ² 日歯大 新潟生命歯 先端研)

教育・・

P1-188	歯科基礎医学の講義に替わる TBL (チーム基盤学習) の実践に必要な 5P システムの改良 ○葛城 啓彰 ¹ (¹ 日歯大 新潟生命歯)
---------------	--

解剖

P2-1	多視点 3D 解剖システムを用いた口腔領域の人体解剖学教育 ○山合 友一朗 ¹ 、大野 充昭 ² 、伊原木 聡一郎 ³ 、窪木 拓男 ² (岡大 院医歯薬 口腔機能解剖、 ² 岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、 ³ 岡大 病院 口腔外科 病態)
P2-2	アクリル樹脂脈管注入鑄型法の改良 ○諏訪 文彦 ¹ 、上村 守 ¹ 、竹村 明道 ¹ 、戸田 伊紀 ¹ 、方 一如 ² (大歯大 解剖、 ² 大歯大 歯科東洋)
P2-3	下顎隆起発生の起源に関する仮説 ○崎山 浩司 ¹ 、坂東 康彦 ¹ 、瀧澤 将太 ^{1,2} 、天野 修 ¹ (明海大 歯 解剖、 ² 明海大 歯 口腔外科 2)

発生

P2-4	GDD1/TMEM16E/Anoctamin 5 遺伝子産物の機能解析 ○飛梅 圭 ¹ 、廣野 力 ¹ 、杉田 誠 ¹ (広大 院医歯薬保 基礎生命)
P2-5	イレッサ投与による TGFβ3 ノックアウトマウス胎児の口蓋裂表現型の薬理的改善 ○滝川 俊也 ¹ 、引頭 毅 ² 、高木 秀太 ¹ 、今井田 千恵 ¹ (朝日大 歯 口腔解剖、 ² 朝日大 歯 口腔微生物)
P2-6	歯の発生過程における重要な血管形成調節因子 ○春原 正隆 ¹ 、佐藤 巖 ¹ (日歯大 生命歯 解剖一)
P2-7	Fgfr1 conditional knock out mice derived ectopic chondrogenesis and osteogenesis in the cranial bone formation ○河井 まりこ ¹ 、山本 敏男 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態)
P2-8	マウス大腿骨における活性酸素除去酵素 (SOD) の発現 ○安部 仁晴 ¹ 、柏原 祥顕 ² 、菊地 隆太 ³ 、中川 敏浩 ¹ 、渡邊 弘樹 ¹ (奥羽大 歯 生体構造 口腔組織、 ² 奥羽大 院歯 口腔組織構造生物、 ³ 奥羽大 院歯 顎口腔外科)
P2-9	両生類 <i>Xenopus laevis</i> (アフリカツメガエル) における DMP1 遺伝子の同定および発現解析 ○米倉 智子 ¹ 、本間 宏実 ¹ 、桜井 敦朗 ¹ 、森口 美津子 ¹ 、見明 康雄 ² 、豊澤 悟 ³ 、新谷 誠康 ¹ (東歯大 小児歯、 ² 東歯大 超微、 ³ 阪大 歯 病理)
P2-10	歯髄細胞クローンの分化能の違いによる遺伝子発現の変動 ○小林 朋子 ¹ 、鳥居 大祐 ¹ 、筒井 健夫 ¹ 、筒井 健機 ¹ (日歯大 生命歯 薬理)
P2-11	筋発生関連因子における筋関連 microRNA 標的の進化 ○安藤 準 ¹ 、山根 明 ¹ (鶴見大 歯 物理)

再生

P2-12	Cytokines-induce matrix metalloproteinase (MMP)-3 regulated cell proliferation in odontoblast-like cell derived from mouse embryonic stem (ES) cells ○檜山 太希 ¹ 、尾関 伸明 ¹ 、山口 秀幸 ¹ 、中田 和彦 ¹ 、茂木 眞希雄 ² 、中村 洋 ¹ (愛院大 歯 歯内治療、 ² 愛院大 薬 生体機能化学)
P2-13	$\alpha 7$ integrin-positive human skeletal muscle stem cells differentiate into odontoblast-like cells with induction of altered adhesive and migratory phenotype ○尾関 伸明 ¹ 、茂木 眞希雄 ² 、山口 秀幸 ¹ 、檜山 太希 ¹ 、中田 和彦 ¹ 、中村 洋 ¹ (愛院大 歯 歯内治療、 ² 愛院大 薬 生体機能化学)
P2-14	Thymosin beta 4 遺伝子導入による歯原性上皮細胞の作製 ○藤原 弘明 ¹ 、清島 保 ¹ 、永田 健吾 ¹ 、和田 裕子 ¹ 、木原 槇子 ^{1,2} 、長谷川 佳那 ^{1,3} 、染矢 祐孝 ^{1,4} 、坂井 英隆 ¹ (九大 院歯 口腔病理、 ² 九大 院歯 歯科矯正、 ³ 九大 院歯 歯科保存、 ⁴ 九大 院歯 口腔機能修復)
P2-15	培養ヒト歯根膜細胞の特性と硬組織形成能の解析 ○鳥居 大祐 ¹ 、古西 清司 ² 、後藤 真一 ³ 、筒井 健機 ¹ (日歯大 生命歯 薬理、 ² 日歯大 生命歯 微生物、 ³ 日歯大 新潟生命歯 理工)
P2-16	マウス歯肉上皮由来角化細胞への Thymosin beta 4 遺伝子導入による歯原性上皮細胞誘導 ○染矢 祐孝 ^{1,2} 、清島 保 ¹ 、永田 健吾 ¹ 、和田 裕子 ¹ 、藤原 弘明 ¹ 、木原 槇子 ^{1,3} 、長谷川 佳那 ^{1,4} 、古谷野 潔 ² 、坂井 英隆 ¹ (九大 院歯 口腔病理、 ² 九大 院歯 インプラント・義歯補綴、 ³ 九大 院歯 歯科矯正、 ⁴ 九大 院歯 歯科保存)
P2-17	ヒト乳歯歯髄組織由来の不死化細胞は骨および脂肪細胞への分化能を持つ ○赤澤 友基 ¹ 、長谷川 智一 ¹ 、帖佐 直幸 ² 、吉村 善隆 ³ 、浅川 剛吉 ⁴ 、石崎 明 ² 、岩本 勉 ^{1,5} (徳大 病院 小児歯、 ² 岩医大 生化学細胞情報、 ³ 北大 院歯 口腔病態 細胞分子薬理、 ⁴ 昭大 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯科、 ⁵ 徳大 院 HBS 医療創生科学 社会環境衛生 小児歯)

P2-18	間葉系幹細胞が分泌する SCRG1 は骨分化を抑制する ○青松 恵美子 ¹ 、帖佐 直幸 ² 、衣斐 美歩 ² 、客本 齋子 ² 、加茂 政晴 ² 、長谷川 智一 ³ 、佐藤 和朗 ¹ 、三浦 廣行 ¹ 、石崎 明 ² (岩医大 歯 矯正、 ² 岩医大 生化 細胞情報、 ³ 徳大 院 HBS)
P2-19	両生類歯槽骨の再生過程における甲状腺ホルモンレセプターの発現について ○三輪 容子 ¹ 、春原 正隆 ¹ 、山口 泰平 ² 、佐藤 巖 ¹ (日歯大 生命歯 解剖 1、 ² 鹿大 院医歯 健康科学 発生発達 成育)
P2-20	抜歯創治癒に関与する骨髄由来細胞の動態について ○佐藤 泰生 ¹ (岩医大 病理 病態解析)
P2-21	HDACi 処理細胞移植による骨増成法の検討 ○江口 香里 ¹ 、秋葉 陽介 ^{1,2} 、秋葉 奈美 ^{1,2} 、北見 恩美 ^{1,3} 、加来 賢 ¹ 、魚島 勝美 ^{1,2} (新大 院医歯 生体歯科補綴、 ² 新大 医歯学総合病院、 ³ 日本学術振興会)
P2-22	複数サイトカインによる同時刺激は間葉系幹細胞の骨分化誘導能を促進する ○横田 潤 ¹ 、帖佐 直幸 ² 、高橋 典子 ² 、衣斐 美歩 ² 、客本 齋子 ² 、加茂 政晴 ² 、長谷川 智一 ³ 、近藤 尚知 ¹ 、石崎 明 ² (岩医大 歯 インプラント、 ² 岩医大 生化 細胞情報、 ³ 徳大 院 HBS)
P2-23	象牙芽細胞様細胞に対する多血小板血漿の作用 ○Yeom kyounghun ^{1,2} 、鷲尾 絢子 ¹ 、有吉 渉 ² 、北村 知昭 ¹ 、西原 達次 ² (九歯大 保存治療、 ² 九歯大 感染生物)

歯牙・・

P2-24	ラット臼歯矯正移動時における歯髄内 prostanoïd receptor の遺伝子発現と免疫組織学的局在解析 ○大倉 直人 ¹ 、大倉 麻里子 ² 、重谷 佳見 ¹ 、吉羽 永子 ¹ 、吉羽 邦彦 ¹ 、齋藤 功 ² 、興地 隆史 ¹ (新大 院医歯 う蝕、 ² 新大 院医歯 歯科矯正)
P2-25	ヒト歯髄幹細胞に対するビリルビンの影響 ○星野 慶弘 ¹ 、山座 孝義 ² 、馬 蘭 ¹ 、山座 治義 ¹ 、野中 和明 ¹ (九大 院歯 小児口腔医学、 ² 九大 院歯 分子口腔 解剖)
P2-26	歯胚初代上皮細胞における結合組織増殖因子 CCN2 の発現とその役割 ○志茂 剛 ¹ 、栗尾 奈愛 ¹ 、奥井 達雄 ¹ 、黒田 大雅 ¹ 、松本 憲一 ¹ 、堀切 優 ¹ 、伊原木 聡一郎 ¹ 、吉岡 徳枝 ¹ 、佐々木 朗 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)
P2-27	トガリネズミの上顎臼歯の咬頭形成順序 ○山中 淳之 ¹ 、岩井 治樹 ¹ (鹿大 院医歯 歯科機能形態)
P2-28	硬骨魚類条鰭類ガアの歯とガノイン鱗の比較 ○笹川 一郎 ¹ 、石山 巳喜夫 ² 、横須賀 宏之 ² 、三上 正人 ³ 、内田 隆 ⁴ (日歯大 新潟生命歯 先端研、 ² 日歯大 新潟 生命歯 解剖二、 ³ 日歯大 新潟生命歯 微生物、 ⁴ 広大 院医歯薬 口腔細胞生物)
P2-29	皮下移植歯の歯髄腔内に形成される骨様組織の由来 ○細矢 明宏 ¹ 、雪田 聡 ² 、吉羽 邦彦 ³ 、吉羽 永子 ³ 、笠原 悦男 ⁴ (松歯大 解剖 2、 ² 静大 教育 理科教育、 ³ 新大 院 医歯 う蝕、 ⁴ 松歯大 保存 2)
P2-30	小児における齲蝕と遺伝的要因についての検討 ○下村-黒木 淳子 ¹ 、竜 佑宗 ¹ 、梨田 智子 ² (日歯大 新潟生命歯 小児歯、 ² 日歯大 新潟生命歯 生化)
P2-31	AKT シグナルがグリコーゲン代謝を促進しエナメル芽細胞分化を誘導する ○依田 浩子 ¹ 、大島 勇人 ¹ 、原田 英光 ² (新大 院医歯 硬組織形態、 ² 岩医大 解剖 発生生物・再生医学)
P2-32	レーザー照射による齲蝕予防に関する研究—μCT 法による表層下脱灰と再石灰化の観察 ○東理 頼亮 ¹ 、岡田 康男 ¹ (日歯大 新潟生命歯 病理)
P2-33	合成ペプチドによる in vitro 石灰化阻害 ○藤沢 隆一 ¹ 、田村 正人 ¹ (北大 歯 口腔生化)
P2-34	Guaiacol は象牙芽細胞の TRPV3 チャネルに作用する ○陽田 みゆき ¹ 、津村 麻記 ² 、佐藤 正樹 ² 、Sobhan Ubaidus ² 、田崎 雅和 ² 、澁川 義幸 ² (東歯大 口腔健康臨床科学 小児歯科、 ² 東歯大 生理)
P2-35	ヒト乳歯歯髄細胞における SDF-1 の発現調節機構 ○長谷川 智一 ¹ 、赤澤 友基 ¹ 、帖佐 直幸 ² 、吉村 善隆 ³ 、浅川 剛吉 ⁴ 、石崎 明 ² 、岩本 勉 ^{1,5} (徳大 病院 小児歯、 ² 岩医大 生化 細胞情報科学、 ³ 北大 院歯 口腔病態 細胞分子薬理、 ⁴ 昭大 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯、 ⁵ 徳大 院 HBS 医療創生科学 社会環境衛生 小児歯)
P2-36	ラット切歯エナメル芽細胞における Prickle の局在 ○西川 純雄 ¹ 、川本 忠文 ² (鶴見大 歯 生物、 ² 鶴見大 歯 RI 研究セ)
P2-37	ヒト上顎第一大臼歯、第二乳臼歯におけるエナメル象牙境とエナメル質外表面の幾何学的形態解析 ○森田 航 ¹ (京大 理 自然人類)
P2-38	ラット歯胚の象牙芽細胞における LEF1 のユビキチン化 ○森口 美津子 ¹ 、見明 康雄 ¹ 、山口 康昭 ² 、藤関 元也 ¹ 、山本 仁 ¹ (東歯大 口腔超微構造、 ² 新潟医療福祉大 医療 技術 理学療法)

P2-39	ヒト歯髄組織から outgrowth する細胞による組織構築に関する研究 ○吉羽 永子 ¹ 、吉羽 邦彦 ¹ 、大倉 直人 ¹ 、細矢 明宏 ² 、中村 浩彰 ² 、興地 隆史 ¹ (新大 院医歯 う蝕、 ² 松歯大 解剖 2)
P2-40	Micro CT image versus transparent specimen findings of extracted Japanese mandibular incisors' root canal formation ○亀本 博雅 ¹ 、勝又 明敏 ¹ 、喜多 奏 ¹ (朝日大 歯 歯科放射線)
P2-41	肺魚歯板の高石灰化組織 petrodentine 形成過程の組織化学的解析と象牙芽細胞の cell cycle の一過程におけるグリコーゲンの蓄積 ○岡 俊哉 ¹ 、三上 正人 ² 、石山 巳喜夫 ³ (日歯大 新潟生命歯 生物、 ² 日歯大 微生物、 ³ 日歯大 解剖 2)

口腔粘膜

P2-42	ネコ糸状乳頭の上皮乳頭および微細血管構築の部位による形態差 ○竹村 明道 ¹ 、疋田 勝也 ¹ 、諏訪 文彦 ¹ (大歯大 解剖)
P2-43	味蕾におけるカドヘリンの発現 ○瀬田 祐司 ¹ 、鬼頭 文恵 ¹ 、豊野 孝 ¹ 、片岡 真司 ¹ 、豊島 邦昭 ¹ (九歯大 歯 口腔組織)
P2-44	ケラチノサイトのカルシウム分化誘導による細胞接着分子発現変化 ○宮崎 綾子 ^{1,2} 、大久保 つや子 ² 、八田 光世 ² 、石川 博之 ¹ 、山崎 純 ² (福歯大 成長発達歯、 ² 福歯大 細胞分子生物)
P2-45	口腔粘膜上皮の過形成病変におけるデスモゾーム関連遺伝子の発現 ○落合 隆永 ¹ 、中野 敬介 ¹ 、長谷川 博雅 ¹ (松歯大 口腔病理)

歯周組織

P2-46	セメント芽細胞が発現する F-spondin の抗炎症作用に関する検討 ○北川 雅恵 ¹ 、宮内 睦美 ² 、岡 広子 ³ 、外丸 祐介 ⁴ 、高田 隆 ^{2,3} (广大 病院 口腔検査セ、 ² 广大 院医歯薬保 口腔顎顔面病理病態、 ³ 广大 院医歯薬保 国際歯科医学連携開発、 ⁴ 广大 自然科学研究支援開発セ)
P2-47	ストレス関連物質による歯周細胞増殖因子への影響 ○定岡 直 ¹ 、川原 一郎 ¹ 、八上 公利 ² 、牧 茂 ² (松歯大 口腔衛生、 ² 松歯大 社会歯)
P2-48	歯周炎患者歯周韌帯由来幹細胞の免疫調節能に対するエリスロポイエチンの影響 ○増田 啓太郎 ¹ 、山座 孝義 ² 、馬 蘭 ³ 、星野 慶弘 ³ 、樋口 勝規 ¹ 、久木田 敏夫 ² (九大 病 口腔総合診療、 ² 九大 院歯 分子口腔解剖、 ³ 九大 院歯 小児歯)
P2-49	顎顔面部血管注入法による歯周組織微細血管観察法の検討 ○松尾 雅斗 ^{1,2} 、飯村 彰 ^{1,2} (神歯大 口腔科学、 ² 横須賀・湘南地区災害医療歯科学研究セ)
P2-50	セメント質初期形成における上皮鞘細胞と歯小囊細胞の動態について ○山本 恒之 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、山本 知真也 ¹ 、本郷 裕美 ¹ 、山田 珠希 ¹ 、織田 公光 ² 、網塚 憲生 ¹ (北大 院歯 硬組織発生物、 ² 新大 院医歯 口腔生化学)
P2-51	ラット歯肉由来間葉系幹細胞による硬組織形成について ○高橋 智美 ¹ 、牛島 夏未 ¹ 、滝田 裕子 ¹ 、飯塚 正 ¹ (北大 院歯 学術支援)
P2-52	光機能化処理インプラントにおける実験的炎症時の周囲組織変化について ○高橋 俊介 ¹ 、高橋 聡子 ¹ 、松尾 雅斗 ¹ (神歯大 口腔科学)
P2-53	矯正治療に伴う痛みの定量評価：動物モデルによる解析 ○安達 一典 ¹ 、佐々木 会 ² 、須田 直人 ² 、坂上 宏 ¹ (明海大 歯 薬理、 ² 明海大 歯 矯正)
P2-54	歯科矯正学的メカニカルストレスが惹起する HSP47 のマウス歯根膜細胞における局在変化 ○村岡 理奈 ¹ 、中野 敬介 ² 、山田 一尋 ¹ 、川上 敏行 ² (松歯大 歯科矯正、 ² 松歯大 院 硬組織疾患病態解析)
P2-55	実験的歯の移動による歯根周囲の破骨細胞の活性化は感覚神経-中枢-交感神経のループを介して惹起される ○近藤 久貴 ¹ 、近藤 真代 ^{1,2} 、宮澤 健 ² 、後藤 滋巳 ² 、戸苅 彰史 ¹ (愛院大 歯 薬理、 ² 愛院大 歯 矯正)
P2-56	ラット切歯の歯周組織におけるオキシタラン線維の発達—エナメル質側とセメント質側の比較 ○井上 孝二 ¹ 、原 矢委子 ² 、佐藤 哲二 ² (鶴見大 歯 電顕研究セ、 ² 鶴見大 歯 解剖・組織細胞)

唾液・唾液腺

P2-57	ラット耳下腺分泌顆粒に特異的な pH インジケーターの合成と応用 ○福島 美和子 ¹ 、加藤 治 ¹ 、横山 愛 ¹ 、吉垣 純子 ¹ (日大 松戸歯 生理)
--------------	--

P2-58	メタンフェタミン断薬ストレスはラット唾液腺において PACAP-DBI pathway を活性化し唾液分泌を抑制する ○大久保 みぎわ ¹ 、四宮 敬史 ¹ 、塚越 絵里 ¹ 、川口 充 ¹ (東歯大 薬理)
P2-59	NOD マウス耳下腺腺房細胞における抗菌性タンパク質の発現 ○梨田 智子 ¹ 、吉江 紀夫 ² 、佐藤 律子 ³ 、今井 あかね ¹ 、下村 浩巳 ¹ (日歯大 新潟生命歯 生化、 ² 日歯大 新潟生命歯 解剖 2、 ³ 日歯大 新潟短大)
P2-60	唾液中グリシンとプロリンは年齢と歯周病に非依存的に一定の比率を示す ○田中 庄二 ¹ 、秋田 紗世子 ¹ 、片山 直 ^{1,2} 、坂上 宏 ³ 、杉本 昌弘 ⁴ (明海大 歯 口腔診断、 ² 明海大 歯 保存修復、 ³ 明海大 歯 薬理、 ⁴ 慶大 先端生命科学研)
P2-61	ヒト唾液腺 HSG 細胞における構成的な AQP5 の取り込み ○長谷川 敬展 ¹ 、姚 陳娟 ¹ 、赤松 徹也 ¹ 、吉村 弘 ¹ (徳大 院 HBS 口腔分子生理)
P2-62	唾液腺再生におけるサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 PACE4 の関与 ○赤松 徹也 ¹ 、姚 陳娟 ¹ 、長谷川 敬展 ¹ 、吉村 弘 ¹ (徳大 院 HBS 口腔分子生理)
P2-63	ウイルスベクターを用いた発光および蛍光プローブの唾液腺細胞への導入と機能解析 ○森田 貴雄 ¹ 、根津 顕弘 ¹ 、東城 庸介 ² 、谷村 明彦 ¹ (北医大 歯 薬理、 ² 北医大 生物物理)
P2-64	唾液中ヒスタチン mRNA レベルと口腔環境衛生との相関性 ○佐藤 律子 ¹ 、梨田 智子 ² 、三上 正人 ³ 、今井 あかね ² (日歯大 新潟短大、 ² 日歯大 新潟生命歯 生化、 ³ 日歯大 新潟生命歯 微生物)
P2-65	唾液ヒスタチンによる熱ショック蛋白質の Toll 様受容体リガンド効果抑制機構 ○今村 泰弘 ^{1,2} 、王 宝禮 ³ (松歯大 薬理、 ² 松歯大 院 遺伝創薬、 ³ 大歯大 教育開発)
P2-66	赤色蛍光強発現 tg マウス唾液腺細胞の蛍光発現に関する研究 ○古川 真司 ¹ 、畠山 慧 ¹ 、堀 智樹 ¹ 、石崎 明 ² 、大塚 正人 ³ 、藤村 朗 ⁴ 、金野 吉晃 ¹ 、清野 幸男 ¹ 、三浦 廣行 ¹ (岩医大 歯 口腔保健育成 歯科矯正、 ² 岩医大 生化 細胞情報科学、 ³ 東海大 医 基礎医学系分子生命科学、 ⁴ 岩医大 解剖 機能形態)
P2-67	腺様嚢胞癌における ABCG2 および CD133 の免疫組織学的検索 ○玉村 亮 ¹ 、辻極 秀次 ² 、岡田 裕之 ¹ 、寒河江 登志朗 ¹ 、長塚 仁 ² (日大 松戸歯 解剖 2、 ² 岡大 院医歯薬 口腔病理)
P2-68	異なる咀嚼負荷飼育マウスの唾液腺に対する DNA チップ解析 ○河原 和子 ¹ 、森田 克也 ² 、清水 慶隆 ³ 、二川 浩樹 ¹ (広大 院医歯薬保 口腔生物工、 ² 広島化学園大 院看護 薬理、 ³ 広大 院医歯薬保 歯科麻酔)
P2-69	マウス唾液腺の発生過程における PACAP レセプター局在の解析 ○野中 直子 ¹ 、中村 雅典 ¹ (昭大 歯 口腔解剖)
P2-70	X 線照射されたマウスの胎仔期の顎下腺に対するアミノチオール系防護剤の効果 ○那須 優則 ¹ 、中原 貴 ² 、井出 吉昭 ² (日歯大 生命歯 共同研セ、 ² 日歯大 生命歯 発生・再生)
P2-71	糖尿病モデルラット大唾液腺に対するショウガ投与の影響について ○池田 利恵 ^{1,2} 、佐藤 住美江 ² 、菊池 憲一郎 ² (日歯大東京短大 歯科衛生、 ² 日歯大 生命歯 解剖 2)
P2-72	マウス顎下腺原基の分枝形態形成における Shh の影響 ○水越 堅詞 ¹ 、小山 典子 ¹ 、林 徹 ¹ 、村上 政隆 ² 、杉谷 博士 ³ 、松浦 幸子 ³ 、柏俣 正典 ¹ (朝日大 歯 歯科薬理、 ² 生理研 細胞器官、 ³ 日大 獣医 生化)
P2-73	胎生 12 日齢と胎生 13 日齢のマウス顎下腺原基の違いについて ○小山 典子 ¹ 、水越 堅詞 ¹ 、林 徹 ¹ 、柏俣 正典 ¹ (朝日大 歯 歯科薬理)

骨代謝・・

P2-74	進行性骨化性線維異形成症から同定された 2 種類の ALK2 変異体は II 型受容体に対する感受性が異なる ○藤本 舞 ^{1,2} 、大澤 賢次 ¹ 、古株 彰一郎 ¹ 、須田 直人 ² 、片桐 岳信 ¹ (埼医大 ゲノム 病態生理、 ² 明海大 歯 歯科矯正)
P2-75	Rab14 GTPase の CCN2/CTGF 結合因子としての同定、およびこれらの相互作用が軟骨細胞の小胞輸送に及ぼす役割 ○星島 光博 ^{1,2} 、服部 高子 ¹ 、青山 絵理子 ³ 、西田 崇 ¹ 、滝川 正春 ^{1,3} (岡大 院医歯薬 口腔生化、 ² 岡大 病院 矯正歯科、 ³ 岡大 歯 機能系共同)
P2-76	PKR は炎症性骨破壊において重要な役割を果たしている ○寺町 順平 ¹ 、森本 景之 ² 、羽地 達次 ¹ (徳大 院 HBS 口腔組織、 ² 産医大 医 解剖)
P2-77	臚細胞による骨芽細胞の制御 ○和田 悟史 ¹ 、島田 明美 ² 、中村 芳樹 ¹ 、中島 和久 ² 、二藤 彰 ² (鶴見大 歯 矯正、 ² 鶴見大 歯 薬理)
P2-78	エストロゲンの骨芽細胞様 MC3T3-E1 細胞の各種 ATPase に対する作用 ○孔 令群 ¹ 、鈴木 邦明 ² 、出山 義昭 ¹ 、工藤 智也 ¹ 、吉村 善隆 ¹ (日の出歯科診療所、 ² 北大 院歯 口腔病態 細胞分子薬理)

P2-79	流体剪断応力により重合したアクチンにより CCN2 の発現と骨芽細胞の分化は誘導される ○本城 正 ¹ 、久保田 聡 ² 、上岡 寛 ³ 、山城 隆 ⁴ 、滝川 正春 ² 、山本 照子 ⁵ (¹ 鳥大 医附属病院 口腔外、 ² 岡大 院医歯 口腔生化学、 ³ 岡大 院医歯歯 歯科矯正、 ⁴ 阪大 院歯 顎顔面矯正、 ⁵ 東北大 院歯 顎口腔矯正)
P2-80	メカニカルストレスに対する歯槽骨 SOS7mRNA の経時的発現変動 ○藤原 敦 ¹ 、渡邊 竜太 ² 、青木 啓太 ^{1,3} 、矢野 航 ² 、佐藤 和彦 ² 、小萱 康徳 ² 、北井 則行 ¹ 、江尻 貞一 ² (¹ 朝日大 院歯 歯科矯正、 ² 朝日大 歯 口腔解剖、 ³ 朝日大 歯 歯科放射線)
P2-81	メカニカルストレスによって歯槽骨に生じる応力分布と sclerostin 免疫局在の変化について ○渡邊 竜太 ¹ 、青木 啓太 ^{2,3} 、藤原 敦 ² 、矢野 航 ¹ 、佐藤 和彦 ¹ 、小萱 康徳 ¹ 、北井 則行 ² 、江尻 貞一 ¹ (¹ 朝日大 歯 口腔解剖、 ² 朝日大 歯 歯科矯正、 ³ 朝日大 歯 歯科放射線)
P2-82	W9 ペプチドの破骨細胞形成抑制作用と骨芽細胞分化促進作用 ○中村 美どり ^{1,2} 、宇田川 信之 ^{1,2} 、青木 和広 ³ 、大谷 啓一 ³ (¹ 松歯大 生化学、 ² 松歯大 総歯研、 ³ 東医歯大 院医歯歯 硬組織薬理)
P2-83	p130Cas の破骨細胞における骨吸収能発現のメカニズム ○大澤 賢次 ^{1,2} 、福島 秀文 ¹ 、田村 幸彦 ³ 、青木 和広 ³ 、大谷 啓一 ³ 、牧 憲司 ⁴ 、自見 英治郎 ¹ (¹ 九歯大 分子情報生化学、 ² 埼医大 ゲノム 病態生理、 ³ 東医歯大 硬組織薬理、 ⁴ 九歯大 口腔機能発達)
P2-84	骨折治癒過程におけるソニックヘッジホッグの役割 ○松本 憲一 ¹ 、堀切 優 ¹ 、志茂 剛 ¹ 、栗尾 奈愛 ¹ 、奥井 達雄 ¹ 、黒田 大雅 ¹ 、佐々木 朗 ¹ (¹ 岡大 院医歯歯 口腔顎顔面外科)
P2-85	骨シアロ蛋白質 (BSP) 遺伝子の Runx2 による転写調節機構の解明 ○山内 雅人 ¹ (¹ 神歯大 院歯 高度先進口腔医学)
P2-86	<i>Sanguisorba officinalis</i> 由来化学成分の破骨細胞分化に対する影響 ○坂井 詠子 ¹ 、岩竹 真弓 ¹ 、西下 一久 ¹ 、福岡 裕 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (¹ 長大 院医歯歯 口腔病態薬理)
P2-87	機械的刺激は DC-STAMP の発現抑制により RAW264.7 細胞の破骨細胞分化誘導を抑制する ○吉村 善隆 ¹ 、亀山 純香 ^{1,2} 、長谷川 智一 ³ 、出山 義昭 ¹ 、鈴木 邦明 ¹ 、飯田 順一郎 ² (¹ 北大 院歯 細胞分子薬理、 ² 北大 院歯 歯科矯正、 ³ 徳大 病院 小児歯)
P2-88	破骨細胞の分化抑制に関するザクロポリフェノールの作用メカニズムの解明 ○岩竹 真弓 ¹ 、坂井 詠子 ¹ 、西下 一久 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (¹ 長大 院医歯歯 口腔病態薬理)
P2-89	骨折治癒過程における TRPV4 チャネルの関与 ○沖 雄二 ¹ 、合島 怜央奈 ¹ 、畠山 純子 ¹ 、大崎 康吉 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、村田 直久 ¹ 、木附 智子 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ (¹ 九大 院歯 分子口腔解剖)
P2-90	Effect of VCAM-1 on the osteoclast differentiation in RAW264.7 cells ○林 寛 ¹ 、氏井 庸介 ¹ 、合田 征司 ² 、池尾 隆 ² 、松本 尚之 ¹ (¹ 大歯大 院歯 矯正、 ² 大歯大 院歯 生化学)
P2-91	ヒト骨肉腫由来 MG-63 細胞培養上清中の破骨細胞分化制御因子 ○唐木田 丈夫 ¹ 、山越 康雄 ¹ 、大井田 新一郎 ¹ (¹ 鶴見大 歯 分子生化学)
P2-92	破骨細胞分化の後期に産生される Wnt1 は破骨細胞機能を促進する ○天野 滋 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (¹ 明海大)
P2-93	膜ナノチューブを介する破骨前駆細胞間融合の走査電顕的解析 ○張 旌旗 ¹ 、高橋 良 ^{1,3} 、久木田 明子 ² 、成松 加奈子 ^{1,4} 、上原 範久 ¹ 、山座 孝義 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ 、久木田 敏夫 ¹ (¹ 九大 歯 分子口腔解剖、 ² 佐賀大 医 微生物、 ³ 九大 歯 咀嚼機能再建、 ⁴ 九大 歯 矯正)
P2-94	牽引力は CTGF シグナルを介して頭蓋縫合における血管形成を促進する ○竹下 信郎 ¹ 、長谷川 正和 ¹ 、関 大輔 ¹ 、宮下 俊郎 ¹ 、山本 照子 ¹ (¹ 東北大 院歯 顎口腔矯正)
P2-95	ケルセチンは膜型エストロゲン受容体 GPR30 を介して破骨細胞の分化を抑制する ○増原 正明 ¹ 、塚原 飛央 ¹ 、佐藤 友昭 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 歯科薬理)
P2-96	RANKL により Venus を発現誘導するマクロファージレポーター細胞株の作成と破骨細胞分化の解析 ○久木田 明子 ¹ 、久木田 敏夫 ² (¹ 佐賀大 医 微生物、 ² 九大 院歯 口腔分子細胞)
P2-97	RAW264.7 細胞の破骨細胞分化に及ぼす IL-17A の影響 ○井上 博 ¹ 、堂前 英資 ² 、合田 征司 ² 、内橋 賢二 ¹ 、西川 泰央 ¹ (¹ 大歯大 生理、 ² 大歯大 生化学)

生理活性物質

P2-98	ラップウニの大型叉棘に由来する新規レクチンの精製 ○中川 秀幸 ¹ 、篠原 光子 ² 、西五辻 理江 ² 、大浦 清 ² (¹ 徳大 院 環境共生、 ² 大歯大 薬理)
P2-99	骨芽様培養細胞 MC3T3-E1 のアルカリ性ホスファターゼ活性を増加する血清中因子について ○戸円 智幸 ¹ 、深田 哲也 ¹ 、橋本 修一 ¹ (¹ 日歯大 生命歯 共同研 アイソトープ研究施設)
P2-100	EGF による PDL 由来 EPC の増殖、分化制御 ○木村 仁迪 ^{1,2} 、大久保 直登 ¹ 、帖佐 直幸 ¹ 、衣斐 美歩 ¹ 、客本 斉子 ¹ 、加茂 政晴 ¹ 、金野 吉晃 ² 、三浦 廣行 ² 、石崎 明 ¹ (¹ 岩医大 生化学 細胞情報、 ² 岩医大 歯 矯正)

代謝・・

P2-101	D-dopachrome tautomerase のインスリン抵抗性改善機序に関連する分子の探索 ○岩田 武男 ¹ 、石本 恭子 ² 、水澤 典子 ¹ 、吉本 勝彦 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理、 ² 徳大 院 HBS 口腔顔面矯正)
P2-102	タイプ1型と2型糖尿病マウスにおける腎リンパ管新生 ○内山 貴誠 ¹ 、高田 俊輔 ¹ 、敦賀 英知 ² 、畠山 雄次 ² 、石川 博之 ¹ 、沢 禎彦 ² (福歯大 成長発達歯、 ² 福歯大 生体構造)
P2-103	豚島からのインスリン分泌におけるアデノシン受容体の役割 ○大谷 政博 ¹ 、大浦 清 ¹ (大歯大 薬理)
P2-104	Regulation of insulin secretion by phospholipase C-related catalytically inactive protein ○浅野 智志 ¹ 、兼松 隆 ¹ (広大 院医歯薬保 細胞分子薬理)
P2-105	発育期における塩分制限が顎骨・歯の形成に及ぼす影響 ○乾 千珠子 ¹ 、上田 甲寅 ¹ 、中塚 美智子 ¹ 、隈部 俊二 ¹ 、安 春英 ¹ 、松田 哲史 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖)
P2-106	一口量とBMIとの関係 ○塩澤 光一 ¹ 、奥村 敏 ¹ (鶴見大 歯 生理)
P2-107	Molecular characterization of PRIP as an adaptor protein of Akt ○杉山 悟郎 ¹ 、竹内 弘 ² 、長野 公喜 ¹ 、大谷 崇仁 ¹ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工、 ² 九歯大 院歯 口腔応用薬理)
P2-108	ホスホイノシチド代謝と連繋した TRPC3,C6,C7 チャンネルにおける自律的制御機構の解明 ○今井 裕子 ¹ 、吉本 尚平 ^{1,2} (九大 病院 全身管理歯、 ² 九大 院歯 口腔細胞工)

炎症・免疫・・

P2-109	マウス顔面皮膚の急性炎症疼痛発症に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロン AMPA 受容体サブユニット GluR2 および GluR3 trafficking の関与 ○坪井 美行 ¹ 、岩田 幸一 ¹ (日大 歯 生理)
P2-110	ミエロペルオキシダーゼ過酸化水素-クロライド系による隣エラスターゼの損傷 ○尾西 みほ子 ¹ 、小田島 武志 ² (北医大 歯 生化、 ² 札幌基礎医学教育学研究所)
P2-111	IL-4 による一酸化窒素合成酵素遺伝子 NOS2 の発現抑制機構 ○廣井 美紀 ¹ 、山口 花 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物)
P2-112	IL-1 β で刺激した歯肉線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞に対する立効散の抗炎症効果の検討 ○堀江 憲夫 ^{1,4} 、加藤 崇雄 ¹ 、日野 峻輔 ¹ 、長尾 隆英 ² 、安達 一典 ² 、金子 忠良 ^{3,4} 、下山 哲夫 ¹ 、草間 薫 ⁴ 、坂上 宏 ² (埼玉大 医セ 歯口外、 ² 明海大 歯 薬理、 ³ 日大 歯 口外、 ⁴ 明海大 歯 病理)
P2-113	抗原塗布後における舌下粘膜樹状細胞の特徴 ○張 晨陽 ¹ 、大野 建州 ¹ 、東 みゆき ¹ (東医歯大 院医歯 分子免疫)
P2-114	前癌病変における腫瘍関連マクロファージの局在とその分化誘導機構の解析 ○森 一将 ¹ 、廣井 美紀 ² 、嶋田 淳 ¹ 、大森 喜弘 ² (明海大 歯 病態診断治療 口腔顎顔面外科 1、 ² 明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物)
P2-115	カラゲニン誘発局所炎症反応に対するデクスメトミジンの抑制作用 ○助川 信太郎 ¹ 、長塚 仁 ² 、宮脇 卓也 ¹ (岡大 院医歯薬 歯科麻酔、 ² 岡大 院医歯薬 口腔病理)
P2-116	マウス扁平上皮癌細胞における IFN γ 耐性機構 ○山口 花 ¹ 、廣井 美紀 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (明海大 歯 微生物)
P2-117	ユージノールの口腔内細胞による炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響 ○高 泰浩 ¹ 、齊藤 嘉大 ² 、村上 幸生 ¹ 、片山 直 ^{1,3} 、坂上 宏 ¹ (明海大 歯 口腔診断、 ² 明海大 歯 薬理、 ³ 明海大 歯 保存修復)
P2-118	Kaede トランスジェニックマウスを利用した歯髄から所属リンパ節に遊走する樹状細胞の同定 ○Bhingare Arundhati ¹ 、大野 建州 ¹ 、張 晨陽 ¹ 、東 みゆき ¹ (東医歯大 院医歯 分子免疫)
P2-119	ストレス環境下における消化器粘膜での mouse β -defensin-3 の発現 ○川嶋 理恵 ¹ 、清水 智子 ² 、山本 裕子 ² 、松木 千紗 ² 、林 隆司 ² 、東 雅啓 ² 、近藤 裕介 ^{2,3} 、猿田 樹里 ² 、槻木 恵一 ² (自医大 院医 口外、 ² 神歯大 院 環境病理、 ³ 東海大 医 病理診断)
P2-120	ラット炎症惹起歯髄におけるプロスタグランジン E 産生酵素の発現にあたる酸化亜鉛ユージノール練和物の影響 ○深田 哲也 ¹ 、戸円 智幸 ¹ 、橋本 修一 ¹ (日歯大 生命歯 共同利用研究セ アイソトープ研究施設)
P2-121	Effects of Rac1 on the production of MMP-3 by TNF- α ○小正 玲子 ¹ 、合田 征司 ² 、吉川 一志 ¹ 、池尾 隆 ² 、山本 一世 ¹ (大歯大 保存、 ² 大歯大 生化)

P2-122	新規アディポカイン apelin による炎症応答に対する影響 ○小原 成将 ¹ 、秋房 住郎 ³ 、臼井 通彦 ¹ 、笠井 宏記 ¹ 、沖永 敏則 ² 、有吉 渉 ² 、西原 達次 ² (九歯大 歯 歯周、 ² 九歯大 歯 感染分子生物、 ³ 九歯大 口保 口腔保健管理)
P2-123	シグナル伝達分子 MyD88 は顎下腺における B-1 細胞浸潤の制御と唾液中の抗体産生の調節に関与する ○引頭 毅 ¹ 、滝川 俊也 ² 、柴田 健一郎 ³ (朝日大 歯 口腔感染医療 口腔微生物、 ² 朝日大 歯 口腔構造機能発育 口腔解剖、 ³ 北大 院歯 口腔病態 口腔分子微生物)

腫瘍・・

P2-124	エナメル上皮腫および角化嚢胞性歯原性腫瘍に関する研究 ○宮崎 裕司 ¹ 、井上 ハルミ ¹ 、菊池 建太郎 ¹ 、草間 薫 ¹ (明海大 歯 病理)
P2-125	口腔顎顔面領域の悪性リンパ腫における BAFF-R の発現についての免疫組織化学的研究 ○岡田 康男 ¹ (日歯大 新潟生命歯 病理)
P2-126	ヒト口腔がん細胞株の side population 細胞における遺伝子発現プロファイル ○野崎 中成 ¹ 、西五辻 理江 ² 、大浦 清 ¹ (大歯大 薬理、 ² 大歯大 院 薬理)
P2-127	Pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (HPIP) は口腔扁平上皮癌の浸潤を制御する ○入江 太郎 ¹ 、外園 知恵 ¹ 、安原 理佳 ¹ 、田中 準一 ¹ 、河野 葉子 ¹ 、山本 剛 ¹ 、美島 健二 ¹ (昭大 歯 口腔病態診断 口腔病理)
P2-128	マウス口腔扁平上皮癌(Sq1979)の進展が脾細胞 IFN- γ 産生能に及ぼす影響 ○東 康加 ¹ 、神谷 真子 ² 、稲垣 俊弘 ³ 、川木 晴美 ² 、高山 英次 ² 、櫻井 学 ¹ 、智原 栄一 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 歯科麻酔、 ² 朝日大 歯 口腔生化学、 ³ 朝日大 歯 口腔外科)
P2-129	エナメル上皮腫に発現する HSP27 の免疫組織化学的検討 ○中野 敬介 ¹ 、久保 勝俊 ² 、杉田 好彦 ² 、前田 初彦 ² 、長谷川 博雅 ¹ 、川上 敏行 ¹ (松歯大 院 硬組織疾患病態解析、 ² 愛院大 歯 口腔病理)
P2-130	WISP1/CCN4: 前立腺癌の増殖・骨転移に対する新規標的因子 ○大野 充昭 ^{1,2} 、窪木 拓男 ¹ 、Young Marian ² (岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、 ² アメリカ国立衛生研究所)
P2-131	エナメル上皮腫細胞の RANKL および細胞外 Ca ²⁺ による奇異な形態変化および形質転換 ○森田 浩光 ¹ 、吉本 尚平 ^{1,2} 、中村 誠司 ³ 、平田 雅人 ² (九大 病院 全身管理歯科、 ² 九大 院歯 口腔細胞工、 ³ 九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)
P2-132	口腔扁平上皮癌におけるソニックヘッジホッグの血管新生因子としての役割 ○黒田 大雅 ¹ 、栗尾 奈愛 ¹ 、志茂 剛 ¹ 、伊原木 聰一郎 ¹ 、奥井 達雄 ¹ 、堀切 優 ¹ 、松本 憲一 ¹ 、佐々木 朗 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)
P2-133	2型糖尿病治療薬メトホルミン塩酸塩の口腔扁平上皮癌に対する腫瘍増殖抑制効果 ○栗尾 奈愛 ¹ 、志茂 剛 ¹ 、黒田 大雅 ¹ 、松本 憲一 ¹ 、佐々木 朗 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)
P2-134	Significance of podoplanin expressing stromal fibroblasts in oral squamous cell carcinoma ○井上 ハルミ ¹ 、菊池 建太郎 ¹ 、宮崎 裕司 ¹ 、草間 薫 ¹ (明海大 歯 病理)

薬理作用・・

P2-135	ユージノール暴露後の口腔内細胞における代謝変動 ○齊藤 嘉大 ¹ 、高 泰浩 ² 、村上 幸生 ² 、田中 庄二 ² 、片山 直 ² 、坂上 宏 ¹ 、杉本 昌弘 ³ (明海大 歯 薬理、 ² 明海大 歯 口腔診断、 ³ 慶大 政策・メディア研究科)
P2-136	がん性疼痛緩和治療における血小板活性化因子(PAF)阻害薬の有用性 ○本山 直世 ¹ 、森田 克也 ² 、北山 友也 ³ 、兼松 隆 ³ 、栗原 英見 ⁴ 、土肥 敏博 ⁵ (広大 院医歯薬保 健康増進歯学、 ² 広島文化学園大 院看護 薬理、 ³ 広大 院医歯薬保 細胞分子薬理、 ⁴ 広大 院医歯薬保 歯周病態、 ⁵ 日薬大 薬物治療)
P2-137	Zoledronate の細胞障害におけるミトコンドリアの変化について ○田島 雅道 ¹ 、坂上 宏 ¹ (明海大 歯 病態診断治療 薬理)
P2-138	ヒト口腔癌細胞に傷害活性を有する新規イソキノリン誘導体類のデザイン (その3) ○石原 真理子 ¹ 、山内 雅司 ² (明海大 歯 口腔生物再生医工 基礎化学、 ² 明海大 歯 社会健康科学 医療情報)
P2-139	ホルマリン刺激に対するキトサンオリゴ糖の鎮痛作用 ○寺澤 理恵 ¹ 、小磯 和夫 ¹ 、米原 典史 ¹ (奥羽大 歯 歯科薬理)
P2-140	フッ化ナトリウム暴露後の口腔内細胞における代謝変動 ○坂上 宏 ¹ 、田中 庄二 ² 、片山 直 ^{2,3} 、Garcia Contreras Rene ^{1,4} 、杉本 昌弘 ⁵ (明海大 歯 薬理、 ² 明海大 歯 口腔診断、 ³ 明海大 歯 保存修復、 ⁴ メキシコ州立自治大、 ⁵ 慶大 先端生命科学研)
P2-141	ユージノールの TRPV1 チャネルに対する抑制機構解明 ○吉田 卓史 ¹ 、高橋 かつり ² 、若森 実 ¹ (東北大 院歯 歯科薬理、 ² 東北大 歯)

P2-142	漢方薬、漢方成分及びグリチルリチンの紫外線に対する細胞保護作用 ○加藤 崇雄 ¹ 、日野 峻輔 ¹ 、堀江 憲夫 ^{1,2} 、金子 忠良 ^{2,4} 、下山 哲夫 ¹ 、草間 薫 ² 、坂上 宏 ^{3,5} (1) 埼玉大 総セ 歯 口外、(2) 明海大 歯 病理、(3) 明海大 歯 MPL、(4) 日大 歯 口外、(5) 明海大 薬理)
P2-143	過酸化水素を担持した殺菌性歯科用レジンに対するメラノイジンの効果 ○井上 貴一郎 ¹ 、水野 守道 ² 、高橋 茂 ¹ 、牛島 夏未 ³ 、中島 利徳 ¹ 、松村 馨 ¹ 、土門 卓文 ¹ (1) 北大 院歯 口腔機能 解剖、(2) 北大 院歯 口腔分子生化学、(3) 北大 院歯 学術支援)

微生物

P2-144	密度勾配遠心法で精製された <i>Porphyromonas gingivalis</i> 外膜ヴェシクル~その構造と機能~ ○中尾 龍馬 ¹ 、泉福 英信 ¹ (1) 感染研 細菌 1)
P2-145	<i>P. gingivalis</i> ジンジパインによる PI3K/Akt 経路の抑制機構 ○中山 真彰 ¹ 、井上 哲圭 ¹ 、中山 浩次 ² 、大原 直也 ¹ (1) 岡大 院歯歯薬 口腔微生物、(2) 長大 院歯歯薬 口腔病原微 生物)
P2-146	A 群レンサ球菌は宿主カルパインの活性化を介して上皮バリアを突破する ○住友 倫子 ¹ 、中田 匡宣 ¹ 、寺尾 豊 ² 、川端 重忠 ¹ (1) 阪大 院歯 口腔細菌、(2) 新大 院歯歯 微生物)
P2-147	マルトオリゴ糖の分解に関与する <i>S. mutans</i> <i>malQ</i> 遺伝子の特徴付け ○佐藤 裕 ¹ 、柴山 和子 ² 、東 俊文 ^{1,3} (1) 東歯大 生化学、(2) 東歯大 微生物、(3) 東歯大 口科研セ)
P2-148	口腔における <i>Rothia aeria</i> の分布と薬剤耐性 ○續橋 治 ¹ 、内堀 聡史 ² 、福本 雅彦 ¹ (1) 日大 松戸歯 歯科臨床検査医学、(2) 日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)
P2-149	ゾウ口腔から分離した <i>Streptococcus salivarius</i> 様菌について ○齋藤 真規 ¹ 、高田 和子 ¹ 、平澤 正知 ¹ (1) 日大 松戸歯 口腔微生物)
P2-150	ヒト・プラークの糖アルコール代謝：メタボロミクスのアプローチ ○鷺尾 純平 ¹ 、高橋 信博 ¹ (1) 東北大 院歯 口腔生化学)
P2-151	環境ストレスに応答する <i>Porphyromonas gingivalis</i> non-coding RNA の検索 ○平塚 浩一 ¹ (1) 日大 松戸歯 生化学・分子生物)
P2-152	咽頭における <i>Rothia aeria</i> の分布および口腔分離株との遺伝子型の比較 ○内堀 聡史 ¹ 、續橋 治 ² (1) 日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴、(2) 日大 松戸歯 歯科臨床検査医学)
P2-153	<i>Candida albicans</i> による IL-1 β 産生誘導のメカニズム ○長谷部 晃 ¹ 、佐伯 歩 ¹ 、杉山 正博 ¹ 、柴田 健一郎 ¹ (1) 北大 院歯 口腔分子微生物)
P2-154	プロタミン派生ペプチドの抗真菌活性と応用に向けた機能改変 ○長 環 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ (1) 福歯大 機能生物 感染生物)
P2-155	口腔癌に対する BCG 生菌療法による抗腫瘍、延命効果の検討 ○村上 純 ¹ 、大原 直也 ² 、中山 真彰 ² 、辻極 秀次 ² 、長塚 仁 ³ 、此内 浩信 ¹ 、柳 文修 ¹ 、畦坪 輝寿 ⁴ 、浅海 淳一 ⁴ (1) 岡大 病院 歯放、(2) 岡大 院歯歯薬 口腔微生物、(3) 岡大 院歯歯薬 口腔病理、(4) 岡大 院歯歯薬 歯科放射線)
P2-156	<i>Porphyromonas gingivalis</i> HtrA タンパク質の性質 ○雪竹 英治 ¹ 、佐藤 啓子 ¹ 、中山 浩次 ¹ (1) 長大 院歯歯薬 口腔病原微生物)
P2-157	歯周病菌におけるタンパク質分泌装置関連分子 PorU の解析 ○成田 由香 ¹ 、佐藤 啓子 ¹ 、雪竹 英治 ¹ 、中山 浩次 ¹ (1) 長大 院歯歯薬 口腔病原微生物)
P2-158	口腔細菌のインフルエンザウイルス感染促進作用 ○神尾 宜昌 ¹ 、今井 健一 ¹ 、田村 宗明 ¹ 、Cueno Marni ¹ 、落合 邦康 ¹ (1) 日大 歯 細菌)
P2-159	カイコ感染モデルによる病原真菌 <i>Candida albicans</i> の形態と病原性の関連性の評価 ○松本 晴仁 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ 、長 環 ¹ (1) 福歯大 機能生物 感染生物)
P2-160	離乳前後および成熟マウスの口腔内プラーク常在菌叢の網羅的解析 ○松山 順子 ¹ 、佐藤 拓一 ² 、Quispe-Salcedo Angela ³ 、高橋 信博 ² 、大島 勇人 ³ (1) 新大 院歯歯 小児歯、(2) 東北大 院歯 口腔生化学、(3) 新大 院歯歯 硬組織形態)
P2-161	歯周病関連細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> に存在するリン酸化蛋白質の分離と修飾様式の検討 ○出水川 雅司 ¹ 、井貝 亮太 ¹ 、堀江 俊 ¹ 、長谷川 義明 ² 、川端 淳司 ¹ 、北井 則行 ¹ 、村上 幸孝 ² (1) 朝日大 歯 歯科 矯正、(2) 朝日大 歯 口腔微生物)
P2-162	<i>Candida albicans</i> の二形成変換に関与する細胞表面タンパク質コード遺伝子 ○柴山 和子 ¹ 、菊池 有一郎 ¹ 、国分 栄仁 ¹ 、佐藤 裕 ² 、石原 和幸 ¹ (1) 東歯大 歯 微生物、(2) 東歯大 歯 生化学)
P2-163	<i>Prevotella intermedia</i> の熱ショックタンパクとバイオフィルム形成 ○山中 武志 ¹ 、山根 一芳 ¹ 、南部 隆之 ¹ 、真下 千穂 ¹ 、福島 久典 ¹ (1) 大歯大 細菌)

P2-164	ジンジパインにおける Ig-like domain ○佐藤 啓子 ¹ 、雪竹 英治 ¹ 、成田 由香 ¹ 、中山 浩次 ¹ (長大 医歯薬 口腔病原微生物、 ² 学習院大 理 物理)
P2-165	口腔癌における <i>Streptococcus anginosus</i> 感染と AID 異所性発現 ○佐々木 実 ¹ 、古玉 芳豊 ¹ 、下山 佑 ¹ 、木村 重信 ¹ (岩医大 分子微生物)
P2-166	HIV 唾液検査の科学的検証と HIV 検査相談機会の拡大に関する取り組み ○今井 健一 ¹ 、落合 邦康 ¹ (日大 歯 細菌)
P2-167	レッサーパンダ口腔由来 <i>Streptococcus mutans</i> 様株のゲノム解析 ○桑原 紀子 ¹ 、内藤 真理子 ² 、岡本 公彰 ³ 、齋藤 真規 ¹ 、平澤 正知 ¹ 、高田 和子 ¹ (日大 松戸歯 口腔微生物、 ² 長大 院医歯薬 口腔微生物、 ³ 鶴見大 歯 口腔微生物)
P2-168	<i>Porphyromonas gingivalis</i> における遺伝的組換えと CRISPR による相反的な種内多様性制御 ○丸山 史人 ^{1,2} 、渡辺 孝康 ¹ 、野澤 孝志 ¹ 、中川 一路 ¹ (東医歯大 院医歯 細菌感染制御、 ² 東医歯大 院医歯 環境遺伝生態)
P2-169	<i>Streptococcus troglodytae</i> グルコシルトランスフェラーゼの系統学的解析 ○岡本 公彰 ¹ 、今井 奨 ² 、花田 信弘 ² (鶴見大 歯 口腔微生物、 ² 鶴見大 歯 探索歯)
P2-170	過酸化水素は口腔レンサ球菌の隠れた病原因子かもしれない ○岡橋 暢夫 ¹ 、沖永 敏則 ² 、桜井 敦朗 ³ 、寺尾 豊 ⁴ 、中田 匡宣 ⁵ 、川端 重忠 ⁵ 、西原 達次 ² (阪大 院歯 フロンティア、 ² 九歯大 感染、 ³ 東歯大 小児、 ⁴ 新大 院医歯 微生物、 ⁵ 阪大 院歯 細菌)
P2-171	<i>Candida albicans</i> の Hsp70 タンパク質 Msi3p はアゾール系抗真菌薬耐性を制御する ○永尾 潤一 ¹ 、長 環 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ (福歯大 機能生物 感染生物)
P2-172	<i>Porphyromonas gingivalis</i> Mfa1 線毛に付随する Mfa3 の局在化に関する研究 ○井貝 亮太 ¹ 、長谷川 義明 ² 、出水川 雅司 ¹ 、堀江 俊 ¹ 、川端 淳司 ¹ 、北井 則行 ¹ 、吉村 文信 ³ 、村上 幸孝 ² (朝日大 歯 歯科矯正、 ² 朝日大 歯 口腔微生物、 ³ 愛大院 歯 微生物)
P2-173	Cytotoxicity and antibacterial activity of roselle ethanol extract on oral bacteria in vitro ○Sulistiyani Herastuti ¹ 、Fujita Mari ¹ 、Mashima Izumi ¹ 、Miyakawa Hiroshi ¹ 、Kamaguchi Arihide ¹ 、Nakazawa Futoshi ¹ (Dept. of Oral Microbiol., Health Sci. Univ. of Hokkaido Sch. of Dent.)
P2-174	<i>Porphyromonas gingivalis</i> strains have varying sialic acid-binding positively-charged amino acid residues found in the sialidase domain ○Cueno Marni ¹ 、神尾 宜昌 ^{1,2} 、今井 健一 ^{1,2} 、田村 宗明 ^{1,2} 、落合 邦康 ^{1,2} (日大 歯 細菌、 ² 日大 総歯研 生体防御)
P2-175	侵襲性歯周炎原因菌のキノールペルオキシダーゼに対する阻害剤 ○河原井 武人 ¹ 、古西 清司 ¹ (日歯大 生命歯 微生物)
P2-176	<i>Streptococcus mutans</i> のバイオフィルムにおける精油由来 terpene alcohol の抑制効果 ○藤田 真理 ¹ 、宮川 博史 ¹ 、鎌口 有秀 ¹ 、中澤 太 ¹ (北医大 歯 微生物)
P2-177	口腔ケアジェルによる口腔内カンジダ症および消化管移行抑制効果 ○田村 宗明 ^{1,2} 、大屋 学 ¹ 、阿部 和正 ¹ 、落合 邦康 ^{1,2} (日大 歯 細菌、 ² 日大 総歯研 生体防御)
P2-178	<i>Streptococcus criceti</i> デキストラン結合レクチン B 遺伝子の <i>Streptococcus mutans</i> における解析 ○田村 晴希 ¹ 、山田 ありさ ¹ 、加藤 裕久 ¹ (岩医大 薬理 病態制御)
P2-179	<i>Candida dubliniensis</i> および <i>Candida albicans</i> に対する薬剤感受性試験結果の比較 ○仲村 健二郎 ¹ (日歯大 新潟生命歯 先端研究セ)
P2-180	口腔 <i>Actinomyces</i> の酸産生能および増殖能に対する窒素源の効果 ○則松 佑佳 ^{1,2} 、川嶋 順子 ^{2,3} 、山本 照子 ¹ 、高橋 信博 ² (東北大 院歯 顎口腔矯正、 ² 東北大 院歯 口腔生化、 ³ 東北大 院歯 歯内歯周治療)
P2-181	PRIP は <i>Staphylococcus aureus</i> を包含するオートファゴソームの成熟を制御する ○原田 佳枝 ¹ 、兼松 隆 ¹ (広大院 医歯薬保 細胞分子薬理)
P2-182	バイオフィルム形成における <i>Porphyromonas gingivalis</i> ECF シグマ因子の役割 ○菊池 有一郎 ^{1,2} 、柴山 和子 ² 、国分 栄仁 ^{1,2} 、大原 直也 ³ 、中山 浩次 ⁴ 、石原 和幸 ² (東歯大 口科研、 ² 東歯大 微生物、 ³ 岡大 口腔細菌、 ⁴ 長大 病原微生物)
P2-183	<i>Capnocytophaga ochracea</i> のバイオフィルム形成への Por 分泌機構の関与 ○喜田 大智 ¹ 、菊池 有一郎 ² 、国分 栄仁 ² 、柴山 和子 ² 、齋藤 淳 ¹ 、石原 和幸 ² (東歯大 歯 歯周病、 ² 東歯大 歯 微生物)
P2-184	口腔細菌間での contact dependent activation の可能性について ○鎌口 有秀 ¹ 、長田 和美 ² 、澁井 徹 ³ 、新潟 文治 ⁴ 、岡本 公彰 ⁵ 、高田 和子 ⁶ 、藤田 真理 ¹ 、石井 久淑 ² 、坂倉 康則 ³ 、中澤 太 ¹ (北医大 歯 微生物、 ² 北医大 歯 生理、 ³ 北医大 歯 解剖、 ⁴ 北医大 薬 教育開発、 ⁵ 鶴見大 歯 口腔細菌、 ⁶ 日大 松戸歯 口腔細菌)
P2-185	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の薬剤排出ポンプ様分子をコードする遺伝子 ○井上 哲圭 ¹ 、田口 裕子 ² 、加野 小奈美 ³ 、中山 真彰 ¹ 、大原 直也 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔微生物、 ² 岡大 院医歯薬 歯周病態、 ³ 岡大 院医歯薬 歯科矯正)

生体材料・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P2-186
P2-187

天然アパタイトの生体応用の可能性
○見明 康雄¹、三島 弘幸²、下田 信治³ (¹東歯大 超微構造、²高知学園短大 医療衛生 歯科衛生、³鶴見大 歯 口
腔解剖)
ウシ骨由来移植材の吸収過程の解析
○新井 宏¹、柳澤 伸彰¹、鈴木 治²、中村 雅典¹ (¹昭大 歯 口腔解剖、²東北大 院歯 顎口腔機能創建)

抄 録

特別講演 (PL-1～PL-2)

ライオン学術賞受賞講演 (L-1)

歯科基礎医学会賞受賞講演 (Y-1～Y-5)

ミニレクチャー (ML-1～ML-3)

男女共同参画セミナー (DS-1～DS-2)

日本学術会議シンポジウム (CS-1～CS-3)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS-1～KS-5)

メインシンポジウム (MS1～MS3)

サテライトシンポジウム (SS1～SS12)

ランチョンセミナー (LS-1～LS-4)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

Stem and progenitor cells for tooth renewal

Irma Thesleff

Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki

The capacity to generate new teeth has been reduced during evolution. Humans, like most other mammals can replace teeth once, while many fish and reptiles have the ability to replace teeth continuously. In addition, some mammals have teeth which grow continuously. This mode of tooth renewal compensates for tooth wear. We have examined the mechanisms of the renewal of the mouse incisor and focused our research on the epithelial stem cell niche located in the labial cervical loop. We have used mouse mutants and *ex vivo* cultures of cervical loops allowing the manipulation of signal pathways. These studies demonstrated that the maintenance and differentiation of the epithelial stem cells is regulated by a complex network of stimulatory and inhibitory molecules affecting Fgf, Tgfbeta, and Bmp signal pathways. We have discovered that stem cells in the cervical loop express the stem cell marker *Sox2* and that the *Sox2* positive cells contribute to all epithelial cell lineages of the incisor.

Replacement teeth develop in succession from the dental lamina associated with the enamel organ epithelium of the preceding tooth. Because mice do not replace their teeth, we have used the ferret as a model and studied the replacement of its deciduous canine and three deciduous premolars. We performed morphological and molecular analyses of tooth replacement and verified the initiation of replacement teeth from the successional dental lamina at the lingual aspect of the deciduous tooth germ during cap stage. We discovered that *Sox2* is a marker gene also for the successional lamina in the ferret. In addition *Sox2* was expressed in the successional dental lamina in human deciduous teeth as well as in several reptile species during continuous replacement tooth formation. Interestingly, *Sox2* expression was detected in ferret and mice also in the permanent tooth germs at the lingual aspect of their enamel organ indicating that there may exist capacity for continued tooth replacement in mammals. In addition, *Sox2* expression is associated also with the sequential formation of mouse molars from the posterior aspect of the preceding molar. This type of successional formation of teeth in fact resembles tooth replacement, and may be used as a model system for tooth replacement. We showed by lineage tracing that the mouse 2nd and 3rd molars developed from the *Sox2* positive cells of the 1st molar.

Vascular endothelial growth factor controls formation and homeostasis of bone

Bjorn R. Olsen
Harvard Sch. of Dent. Med.

Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) is a critical regulator of bone development, homeostasis and repair. During embryonic development it stimulates membranous bone formation¹⁾. During endochondral bone formation it is expressed at low levels in the cartilage models of the future bones where it serves as a survival factor for hypoxic chondrocytes²⁾. As the cartilage models grow hypertrophic chondrocytes in their centers express high levels of VEGF-A. In a paracrine fashion this VEGF-A stimulates migration of osteoclastic, osteoblastic and hematopoietic progenitor cells and sprouting endothelial cells from the perichondrium into the hypertrophic cartilage. During this process of endochondral ossification, VEGF-A is also expressed by the osteoblastic progenitor cells that migrate into the hypertrophic cartilage where they differentiate into the osteoblasts and osteocytes of the primary spongiosa^{3,4)}. This osteoblast-derived VEGF-A, as well as the VEGF-A that is produced by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in postnatal bones, is critical for regulating the proliferation and differentiation of osteoblasts. By targeting the early phases of osteoblastic differentiation in mice and eliminating VEGF-A expression in preosteoblastic mesenchymal stem cells, we have discovered that VEGF-A stimulates osteoblastic differentiation by an intracellular (intracrine) mechanism⁴⁾. At the same time it represses adipocyte differentiation. These effects of intracellular VEGF-A are mediated by the transcription factors Runx2 and PPAR γ . Low levels of VEGF-A in mesenchymal stem cells are associated with low levels of Runx2 protein and activity and increased levels of PPAR γ ⁴⁾. Mice with VEGF-A deficiency in Osterix-positive osteoblastic progenitor cells exhibit an osteoporosis-like phenotype with reduced bone density and increased bone marrow fat⁴⁾. Since decreased levels of the nuclear envelope protein lamin A/C are known to result in decreased bone formation and increased bone marrow fat^{5,6)}, we examined the possibility of an interaction between lamin A/C and intracellular VEGF-A. The data indicate that there is reciprocal functional interaction between VEGF-A and lamin A/C: lamin A/C stimulates VEGF-A levels, while VEGF-A represses levels of Lamin A/C⁴⁾. Interestingly, levels of lamin A/C in osteoblasts and bone marrow cells are lower in cells from old mice than in young mice⁷⁾, and levels of VEGF-A decrease with age in bone marrow-derived stem cells⁸⁾. Further studies of the molecular mechanisms underlying this intriguing connection between intracellular VEGF-A, lamin A/C and osteoblast/adipocyte differentiation are likely to result in the identification of novel targets of therapies to prevent and treat osteoporosis.

References:

- 1) Zelzer E, McLean W, Ng Y-S, Fukai N, Reginato AM, Lovejoy S, *et al.* Skeletal defects in VEGF120/120 mice reveal multiple roles for VEGF in skeletogenesis. *Development*. 2002; 129: 1893-904.
- 2) Zelzer E, Mamluk R, Ferrara N, Johnson RS, Schipani E, Olsen BR. VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development. *Development*. 2004; 131: 2161-71.
- 3) Maes C, Kobayashi T, Selig MK, Torrekens S, Roth SI, Mackem S, *et al.* Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels. *Dev Cell*. 2010; 19(2): 329-44. Epub 2010/08/17.
- 4) Liu Y, Berendsen AD, Jia S, Lotinun S, Baron R, Ferrara N, *et al.* Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation. *J Clin Invest*. 2012; 122(9): 3101-13. Epub 2012/08/14.
- 5) Li W, Yeo LS, Vidal C, McCorquodale T, Herrmann M, Fatkin D, *et al.* Decreased bone formation and osteopenia in lamin a/c-deficient mice. *PLoS One*. 2011; 6(4): e19313. Epub 2011/05/07.
- 6) Boguslavsky RL, Stewart CL, Worman HJ. Nuclear lamin A inhibits adipocyte differentiation: implications for Dunnigan-type familial partial lipodystrophy. *Hum Mol Genet*. 2006; 15(4): 653-63. Epub 2006/01/18.
- 7) Duque G, Rivas D. Age-related changes in lamin A/C expression in the osteoarticular system: laminopathies as a potential new aging mechanism. *Mech Ageing Dev*. 2006; 127(4): 378-83. Epub 2006/02/01.
- 8) Wilson A, Shehadeh LA, Yu H, Webster KA. Age-related molecular genetic changes of murine bone marrow mesenchymal stem cells. *BMC Genomics*. 2010; 11: 229. Epub 2010/04/09.

L-1

バイオイメーシングから展開する感染
制御研究

寺尾 豊

新大 院医歯 微生物感染症

Y-1

骨組織中でのライブイメーシングを用
いた自律性細胞内カルシウムオシレ
ーションの検討

石原 嘉人

岡大 院医歯薬 歯科矯正

抗生剤が実用化されて一世紀を迎えようとしている。その抗生剤の歴史には、絶えず耐性菌の出現が伴い、今や多剤耐性菌が高頻度に分離されている。そして、院内感染症の原因として大きな問題となっているが、抜本的な対策を講じることができていない。そこで、「脱抗生剤医療」を長期的な展望とした基礎研究を推進している。具体的には、(1) 抗生剤の補助療法を目指す万能型抗体の開発、(2) 新規免疫系を誘導し免疫療法へと展開する研究、そして、(3) DNA 素材のワクチンアジュバントの開発を遂行している。本講演では、これら研究課題の基礎的成果を概説し、討論の俎上に供したいと考えている。

最初に紹介する万能型抗体は、抗原特異性を担う抗体の領域を、広範な抗原認識能を有する自然免疫系レセプターと置換し、キメラ抗体を開発する研究である。抗体の食細胞のオプソニン化を促す領域に、Toll 様受容体の各種細胞外ドメインを結合した遺伝子配列を設計し、現在までに複数種の細菌に対して作動する構造体を得ることができている。

次に紹介する新規免疫系は、好中球の細胞死に伴う NETs である。はじめに、誤嚥性肺炎の起原菌である肺炎球菌に着目し、同感染症の病態をマウスモデルで検索した。その結果、感染肺組織に多量の好中球が浸潤し、NETs が展開されることが確認された。そこで、好中球の NETs 免疫作動因子について、肺炎球菌の分子群から同定を試みた。その結果、肺炎球菌の α -enolase が NETs 誘導能を有すること、およびオプソニン効果を亢進させることが明らかになった。

最後に発表予定の課題は、「DNA オリガミ」型ワクチンアジュバントの開発である。「DNA オリガミ」法は、一本鎖型 DNA に相補 DNA を編み込んで、DNA を任意の二次元構造に加工する技術である。この技術を用いて、免疫活性化作用のある CpG モチーフを機能的に配置するデザインを構築している。現在のところは、萌芽的な試みと予備的なデータを報告させていただき段階でしかないが、「DNA オリガミ」のアジュバント効果が証明されれば、実用化済みの様々なワクチンの量的減少にも繋がる可能性があり、ワクチンで問題とされる副反応の懸念も減弱できると推察している。

カルシウム (Ca^{2+}) は細胞内外における主要な情報伝達物質であり、様々な刺激に応じて周期的な Ca^{2+} 濃度の上昇を引き起こす。この現象は Ca^{2+} オシレーションと呼ばれ、その時空間的な特性は骨代謝調節を含む広範な生理機構に関与すると考えられている。しかし、三次元的な骨芽細胞-骨細胞ネットワークから成り立つ骨組織中でのリアルタイムな観察は、細胞周囲の骨基質が障壁となるため不明であった。本研究は、生きた骨組織を用いて Ca^{2+} イメーシングを行い、組織中に存在する骨芽細胞と骨細胞の自律性細胞内 Ca^{2+} オシレーションについて、その時空間的な特性の解析を行った。さらにそれらの現象に対する制御機構について、細胞内情報伝達系の一つである小胞体 Ca^{2+} ポンプと細胞間情報伝達の調節因子であるギャップ結合 (GJ) に着目して検討した。

解析は、ニワトリ胚頭蓋骨中の骨芽細胞および骨細胞に Ca^{2+} 蛍光指示薬を取り込ませた後、蛍光輝度の上昇を指標に行った。観察は共焦点レーザー顕微鏡を用い、3 秒間隔のタイムラプス解析を行った。小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害剤および GJ 阻害剤を前投与し、細胞応答の比較検討を行った。その結果、15.6% の骨芽細胞および 7.0% の骨細胞に自律性細胞内 Ca^{2+} オシレーションを認めた。小胞体カルシウムポンプを阻害した結果、骨芽細胞と骨細胞の細胞応答率と反応頻度は有意な減少を示した。GJ を阻害した結果、骨芽細胞の細胞応答に変化を認めなかったが、骨細胞はその反応率において有意に減少した。

以上の結果から、骨組織中の骨芽細胞と骨細胞には自律性細胞内 Ca^{2+} オシレーションが存在し、小胞体 Ca^{2+} ポンプおよび GJ を介した伝達系の一部が明らかとなった。本実験系は細胞間コミュニケーションなどの生体システムを維持しており、より生体を反映した結果であると考えられる。また、本講演では機械的刺激を与えた場合における応答変化についての知見を交えて紹介したい。

Y-2

SUMO 化修飾による BMP 応答能の制御

雪田 聡¹⁾、細矢 明宏²⁾、片桐 岳信³⁾、中村 浩彰²⁾¹⁾静大 教育、²⁾松歯大 解剖 2、³⁾埼玉医大 ゲノム 病態生理

SUMO (Small ubiquitin related modifier) 化修飾は、ユビキチン化に類似したタンパク質翻訳後修飾であり、SUMO 化修飾を受けた標的タンパク質はその安定性や活性、局在などが変化することが報告されているが、SUMO 化修飾が BMP 刺激による骨芽細胞分化の促進にどのような役割を担っているかは未だ報告がない。

そこで我々は、SUMO 化修飾による骨芽細胞分化調節機構を明らかにする目的で免疫化学的および分子生物学的な解析を行った。マウスを用いた SUMO-1 タンパク質の免疫染色の結果から、骨膜付近の線維芽細胞様細胞に陽性反応が認められる一方で、骨芽細胞では局在を示すシグナルが減弱する傾向を認めた。骨芽細胞分化における SUMO 化修飾の役割を明らかにするため、マウス筋芽細胞由来培養細胞株 C2C12 細胞を用いて、SUMO 化修飾に必須の酵素である UBC9 を siRNA によりノックダウンした。UBC9 のノックダウンにより、SUMO 化修飾を受けるタンパク質は減少し、BMP 添加時のアルカリホスファターゼ活性や骨芽細胞分化マーカー遺伝子発現が上昇した。さらに、DNA マイクロアレイによる網羅的な解析により、SUMO 化修飾の阻害は BMP 刺激による骨芽細胞分化の促進および筋細胞への分化の阻害の両方を増強していることが明らかになった。UBC9 のノックダウンは BMP シグナルの伝達を促進し、SUMO 化修飾を受けないようにアミノ酸を置換した変異型 Smad4 は、野生型と比べ BMP シグナルの伝達活性が強くなることを見出した。以上のことから、Smad4 の SUMO 化修飾は BMP 刺激による骨芽細胞分化を抑制的に調節していると考えられた。

本研究は、SUMO 化修飾が BMP シグナルの抑制を介して骨芽細胞分化を制御していることを明らかにした。Smad4 の SUMO 化制御機構や、他のタンパク質の SUMO 化修飾による制御が骨芽細胞分化に与える影響を検討することにより、今後、骨芽細胞分化のメカニズムがより詳細に明らかになることが期待される。

Y-3

E2f1 欠損型 NOD/SCID マウスは唾液腺の腺房/導管の構造変化と AQP5 の発現レベル低下により口腔乾燥症を呈する佐藤慶太郎
獨協医大 医 生理

口腔乾燥症は唾液分泌低下を主訴とする病態の一つであり、病態解析や治療法開発を目的とした病態モデルマウスが研究に用いられている。非肥満性糖尿病 (NOD) マウスはシェーグレン症候群に似た病態を呈し、唾液分泌低下を引き起こす。さらに、転写因子である *E2f1* をノックアウトした *E2f1* 欠損型 NOD マウスは NOD マウスより顕著に唾液分泌低下を示すが、糖尿病を併発するため唾液分泌低下の原因を特定するのが難しい。そこで、重度免疫不全 (SCID) 化により糖尿病を発症しない *E2f1* 欠損型 NOD/SCID マウスを作製し、口腔乾燥症の病態と唾液分泌低下のメカニズムを解析した。

ピロカルピンの腹腔内投与により口腔内へ分泌された唾液量を測定すると、*E2f1* 欠損型 NOD/SCID マウス (変異) 群は NOD/SCID マウス (対照) 群に比べ低下していた。絶食後の摂餌時の飲水行動をビデオ撮影し解析すると、固形飼料摂餌時の飲水回数は変異群のほうが対照群に比べ増加していた。一方、水分を多く含むペースト状の飼料摂餌時の飲水回数は差が認められなかった。以上より、変異群は乾燥固形飼料の摂取が困難になり、口腔乾燥症の病態を呈することが示唆された。唾液腺を組織学的に検討すると、変異群は対照群に比べ臓器における腺房細胞の占める割合が低下していた。水チャンネルであり、腺房細胞マーカータンパク質である AQP5 の唾液腺における発現を免疫プロット法により検討すると、変異群は対照群に比べて発現レベルが低下していた。AQP5 の唾液腺腺房細胞における局在を免疫組織化学的に検討すると、腺腔側膜に局在する対照群と異なり、変異群では腺腔側膜から細胞質へ拡散していた。さらに唾液腺においてユビキチン化した AQP5 を免疫沈降法と免疫プロット法により検出すると、変異群で AQP5 のユビキチン化が認められた。以上より、変異群の唾液腺において AQP5 の一部がユビキチン化し分解が促進され、発現レベルが低下することが示唆された。

これらの結果から、水分泌に重要な AQP5 の発現レベルの低下が、唾液腺に占める腺房細胞の割合の低下と相まって、*E2f1* 欠損型 NOD/SCID マウスの唾液分泌低下を引き起こすと考えられる。

Y-4

モノカルボン酸トランスポーター-1
はインターロイキン-1 β で刺激した軟
骨細胞様 ATDC5 細胞の後期 NF- κ B
活性化および食細胞型 NADPH オキ
シダーゼの発現によって誘導される細
胞死に必要である

吉村健太郎

昭大 歯 口腔生化

変形性関節症などの軟骨変性疾患において、炎症性サイトカインが活性酸素種 (ROS) の産生を誘導し、軟骨細胞死に関与することが指摘されている。しかし、軟骨細胞における ROS 産生メカニズムは未だ十分解明されていない。我々は、IL-1 β がマウス軟骨細胞で ROS 産生酵素のひとつである食細胞型 NADPH-oxidase (NOX-2) の発現を誘導し、NOX 阻害剤が IL-1 β による細胞死を抑制することを報告した。今回、軟骨細胞様 ATDC5 細胞に NOX-2 siRNA を導入したところ、IL-1 β による細胞死が抑制された。これは ROS 産生源としての NOX-2 の重要性を示唆する。また、IL-1 β 刺激した ATDC5 細胞で、NOX-2 発現に先立ち、乳酸産生と MTT 法におけるホルマザン生成の上昇が観察された。これは、乳酸がミトコンドリアのエネルギー代謝を上昇させた可能性を示唆する。そこでミトコンドリア内膜でこれらの酸の輸送を担う monocarboxylate transporter-1 (MCT-1) の siRNA を導入したところ、IL-1 β による NOX-2 発現誘導が消失した。また、NOX-2 発現が IKK 阻害剤で抑制されたことから、NF- κ B が NOX-2 発現に関わると考えられた。IL-1 β 刺激した ATDC5 細胞では、刺激直後の NF- κ B 活性化に加え、刺激後 36 時間以降に I- κ B α の消失、RelA の核内移行および NOX-2 発現が観察された。MCT-1 siRNA はこの後期 NF- κ B 活性化を抑制した。また、IL-1 β 刺激 16 時間以内に ROS 産生のわずかな上昇が認められたが、MCT-1 siRNA はこれも抑制した。以上より、IL-1 β で産生が亢進した乳酸が MCT-1 を介してミトコンドリアに取り込まれ、電子伝達系由来の ROS 産生を高めることで後期 NF- κ B 活性化を起こし、その結果、NOX-2 の発現とそれに依存した細胞死を誘導したと考えられる。今回の結果は、MCT-1 による遺伝子発現調節に関する初めての知見であるばかりでなく、MCT-1 が軟骨変性抑制の新たな標的となる可能性を示唆するものである。

Y-5

ヒト骨芽細胞における α_1 アドレナリン
受容体のシグナル経路と生理機能

兒玉 大介

愛院大 歯 薬理

近年の研究により、骨代謝制御に Ca 代謝調節ホルモンなどの液性因子に加えて、交感神経が直接的に関与していることが示されてきた。骨芽細胞・破骨細胞ともに α_1 -、 α_2 -、 β_2 -アドレナリン受容体 (AR) が発現しており、交感神経活性の亢進による骨量の減少や、 β 作動薬による骨吸収の亢進など、我々の研究室を含む多くの研究室が、 β -AR を介して骨量が負に制御されている可能性を示している。一方で、 α -AR の骨代謝制御における役割はあまり報告されていない。本研究ではヒト骨芽細胞における α_1 -AR のシグナル経路およびその生理機能を明らかにすることを目的とした。

ヒト骨膜由来正常骨芽細胞 SaM-1 を用いて、交感神経伝達物質である noradrenaline (NA) の作用を検討した。膜電流の変化をホールセルパッチクランプ法で、細胞内 Ca 濃度変化を Ca 感受性蛍光色素 CaL-520 による Ca イメージング法で記録した。

NA の適用によりホールセル電流の抑制がみられた。ホールセル電流抑制作用は α_{1B} -AR 選択的阻害薬および K チャネル阻害薬によって阻害された。またホスホリパーゼ C (PLC) 阻害薬で影響を受けず、Gi/o 共役型受容体阻害薬 pertussis toxin および G $\beta\gamma$ タンパク阻害薬によって阻害されたことから、Gi/o 共役型 α_{1B} -AR の G $\beta\gamma$ サブユニットを介した K チャネル抑制作用が示唆された。一方で、Ca イメージング法では NA による細胞内 Ca 濃度上昇作用もみられた。細胞内 Ca 濃度上昇は α_{1B} -AR 阻害薬および PLC 阻害薬によって抑制されたことから、K チャネル抑制作用とは独立した作用であり、Gq 共役型の α_{1B} -AR を介した作用であると考えられた。生理機能として細胞増殖活性に与える影響を BrdU 法、WST assay によって検討したところ、 α_1 -AR を介した細胞増殖活性の亢進がみられた。これは PLC 阻害薬の影響を受けず、K チャネル阻害薬や G $\beta\gamma$ タンパク阻害薬によって抑制された。以上の結果より、ヒト骨芽細胞において Gq 共役型・Gi/o 共役型の α_{1B} -AR がともに存在し、Gi/o 共役型 α_{1B} -AR を介した K チャネル抑制作用により、細胞増殖活性が上昇する可能性が示された。

ML-1

Research at the Faculty of Dentistry,
University of Toronto
Daniel Haas
Fac. of Dent., Univ. of Toronto

This presentation will provide a brief overview of research conducted at the Faculty of Dentistry, University of Toronto, with a focus on studies published by Professor Haas. The Faculty of Dentistry is very active in research and has established a Dental Research Institute (DRI). The DRI develops strategies for healing and repairing tissues, and advances our scientific knowledge of craniofacial health and its implications on systemic disease. Our research is conducted in an interdisciplinary setting through our strengths which can be categorized in several themes, namely: biomaterials; diagnostic and therapeutic technologies; education research; growth development and regeneration; health status and clinical outcomes; oral health and disease pathogenesis; and pain and neurosciences. The DRI has approximately 70 full time faculty and 100 students involved in its research activities. The DRI researchers received over \$8,000,000 (Canadian dollars) in grants in 2011-2012, and had well over 100 peer-reviewed publications. It is the leading school in Canada with respect to publications and citations in dentistry. Our school hosts an annual research day with 60 to 70 student poster presentations.

The research conducted by Professor Haas involves studies on analgesia, sedation and anesthesia in dentistry. Most specifically, his studies have focused on the potential for local anesthetic neurotoxicity. These have included a retrospective evaluation of the incidence of paresthesia from 1973 to 1993 in Ontario, Canada. The conclusion was that there was an overall incidence of one paresthesia out of every 785,000 injections. Compared with the other local anesthetics, a statistically significant higher incidence was noted when either articaine (χ^2 , $p < 0.002$) or prilocaine (χ^2 , $p < 0.025$) was used. These are both 4% solutions in Canada. The lingual nerve was involved in 64% of the cases, with the inferior alveolar nerve involved in the vast majority of the remainder. A follow-up study was done using the same methodology with the data from 1994 to 1998, with very similar conclusions in that prilocaine

and articaine were more commonly associated with paresthesia. The lingual nerve was involved in 70% of those cases. The same database was then used to assess nonsurgical paresthesia reports from 1999 to 2008 inclusive, to see if the findings were consistent with those from 1973 to 1998. Once again, the observed frequencies for the reporting of paresthesia were greater than expected for both articaine and prilocaine (χ^2 , $p < 0.01$), and the tongue was the most common structured affected, involving 79.1% of the reports. This was then followed by an assessment of the United States Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System computerized information database. Nonsurgical paresthesias reported following local anesthesia administration from 1997 to 2008 were evaluated. During the study period 248 cases of paresthesia following dental procedures were reported. The lingual nerve was affected in 89.0% of cases. Reports involving 4% prilocaine and 4% articaine were 7.4-times and 3.6-times, respectively, greater than expected (χ^2 , $p < 0.0001$) based on local anesthetic usage by U.S. dentists. This was then followed by a similar study of adverse events in the United Kingdom. This also found that the frequency of observed paresthesia associated with articaine was 5.9 times greater than expected (χ^2 , $p < 0.0001$). In the U.K. articaine is a 4% solution but prilocaine is primarily a 3% solution. In conclusion, the data from all of these studies suggest that post-injection paresthesia following a mandibular block is more likely if a 4% solution, namely either prilocaine or articaine, has been administered.

ML-2

The effect of CXCR4 over-expression on the cell proliferation and Invasion of oral squamous cell carcinoma cells
Jae il Lee
Dept. of Oral Pathol., Sch. of Dent.,
Seoul National Univ.

ML-3

Exploring functional tissue-organ from human embryonic stem cells
Tong Cao
National Univ. Health System and
National Univ. of Singapore

The oral squamous cell carcinoma (OSCC) accounts for approximately 90% of oral malignancies. Also, oral carcinogenesis is a multistep process and requires accumulation and interplay of a series of molecular events.

Chemokines, small (7~15 kDa) pro-inflammatory chemoattractant cytokines that bind to specific G-protein coupled seven-span transmembrane receptors (GPCRs) that present on the plasma membrane of target cells, are major attractants of different types of blood leukocytes to the sites of inflammation.

Among these chemokines and their receptors, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12)/CXCR4 axis has been demonstrated to be involved in the lymph node or distant metastasis of several types of cancer, including prostate cancer, kidney cancer, neuroblastoma, breast cancer, and melanoma. In addition, CXCR4 positive OSCC has significantly higher PCNA labeling index than CXCR4 negative OSCC.

According to our studies, CXCR4 expression was found to be significantly associated with lymph node metastasis, MMP-9 expression, and Ki-67 expression. We also had found that high expression of CXCR4 and MMP-9, along with size of tumor, clinical stage, and positive lymph node metastasis, were strongly associated with poorer survival. CXCR4 could be a valuable prognostic marker for OSCC. However, altered tumorigenicity by over-expressed CXCR4 in OSCC has been little known in *in vitro* and *in vivo* study. Down-regulation of CXCR4 by siRNA showed anti-proliferative and anti-invasive effects in OSCC cell lines *in vitro*. The over-expressed CXCR4 could effect on OSCC cell proliferation and their signaling cascade. CXCR4 might be a useful target molecule for the treatment of OSCC.

Government authorities, academies, research institutes and the industries of health, drug, food, cosmetics, chemicals and environment are presently hindered by a lack of functional, healthy and standardized human platforms of cells, tissues and organs, and predominantly use costly live animal models in addition to the cells of low clinical relevance. Existing models of live animals or on immortalized cell lines of either animal or human origin, often poorly reflect human physiology. Primary human cell cultures are difficult to procure in sufficient quantity and can be prone to much inter-batch variability, depending on the cell source. By contrast, self-renewable, genetically-healthy and single-sourced human embryonic stem cells (ESC) exhibit enhanced biological relevance and stable predictivity over its more expansive counterparts. As genuine pluripotent stem cells, human ESC serves as an unlimited source potential to develop into all cell types of human body. Hence, global pioneers and governments like EU and UK endeavour to develop a technically-simple, cost-effective and replicable system of human ESC derived live platforms in last decade. This fast development is revolutionizing health sciences from animal-based platforms to much more accurate human-based platforms. The revolution will bring a new burgeoning industry of ESC human platforms of live cells, tissues, organs and systems in next decades.

The US Congress and government have been encouraging 'promising human ESC R&D' through legislations, policies and guidelines since 2009. US initiated the clinical trials of human ESC therapies for eye diseases and spinal cord injury since 2011. Besides various human ESC progenies, functional tissues with multiple cell lineages, unique vascularisation and innervation by autologous human ESC progenies are currently being explored. The human ESC progenies, functional tissues and organs will offer ideal *in vitro* 'clinical' platforms of no-risk trials/tests for the basic, translational studies and

applications of all human health related sciences including fundamental study of health, ageing, disease, prevention, diagnosis, therapy and transplant; drug and med-tech R&D. Moreover, those standardized *in vitro* human live platforms of no-risk trials/tests will be widely adopted in much more areas beyond medicine and pharmaceuticals. The major other applications will be the human function and safety evaluation of food; cosmetic; daily and general chemicals; organisms; nuclear, IT, communication, electromagnetic, radiating device and technique; environment (air, water, soil, daily living and working environment); other human-contact substance, products and techniques. The platforms of human ESC progenies, functional tissues and organs will be ethically and gradually used at reasonable and practical pace, non-clinically, pre-clinically and clinically in all health related industries, academies and authorities.

DS-1

Towards gender equality in academia
Irma Thesleff
Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki

Scientific research and universities have historically been dominated by men, but during the last 100 years the opportunities of women to develop academic careers have improved significantly. This progress has varied dramatically between different countries, and has been largely linked with the political equality of genders. My home country, Finland, is an example of a society where men and women of all social classes have been politically equal for a long time. (In fact, Finland was the first country where women were granted the right to stand for parliamentary election –in 1906). Consequently, it has been common in Finland that women work outside home: already in the 1980's women made up 48% of the work force. However, they earned just two thirds of men's salaries. Women had lower positions, and for example men worked as supervisors or managers. Although women's salaries have proportionally increased since the 1980's, they still lag behind those of males. This holds true also in universities, where women commonly have lower positions.

Despite the long history of equal opportunities in Finland –and the fact that the first female professor was nominated already in 1927, and that more than 50% of university students have been female since early 1980's– less than 25% of the university full professors are presently women (though this is one of the highest figures in the world). A remarkable example is the gender of professors in dentistry: I was the first female professor in dentistry at the University of Helsinki, although 70% of dentists have been female since the first decades of the 20th century! The reasons for the underrepresentation of female scientists in the higher university positions is being actively discussed throughout the world, and innumerable committees have suggested measures whereby the careers of female scientists could be supported.

I will tell about my experiences as a woman scientist over several decades: for example the challenges in convincing male colleagues that a female scientist can be equally good as a male and that she should be taken seriously, and the struggle

in finding a balance between work and a family (including three children and a husband), and the acceptance of the fact that there is never enough time. Although being a woman in science has sometimes been challenging, it has also presented special opportunities during the last two decades when the gender equality has been raised as an important issue. I am happy to discuss gender equality with the audience after the talk and tell more about my own career development.

DS-2

日本の学術分野での男女共同参画の現状

山本 照子

東北大 院歯 顎口腔矯正

In 1999, The Basic Act for a Gender-Equal Society was established in Japan, which was set as “one of the most important theme of our country in the 21st century”. In the social and economic major break, such as the advent of Japan’s aging society and decline birthrate, the progress of the knowledge based society, globalization and intensity global competition, the progresses of the society vibrant with life made by men and women demonstrating their individuality and abilities are our most important theme. Until now, the comprehensive solution for these problems has been considered, however, their administrative and social system is far from being satisfactory.

It is even more pronounced in the field of science and technology, where the percentage of female scientist in Japan is lowest among developed countries. The Japanese government recognized the importance of increasing the participation of women in the science, technology, engineering and mathematics workforce. I will briefly talk about the present situation of gender equality in Academia of Japan and discuss this issue with the audience.

CS-1

インクレチン療法の期待と課題

清野 裕

関西電力病院

CS-2

歯周病と糖尿病の関連性からひもとく

Oral-Systemic Medicine の分子基盤

西村 英紀

九大 院歯 歯周病

WHO の推計によると、わが国を含むアジアでは今後 20 年間に、特に若年者を含めて 2 型糖尿病患者の爆発的な増加が予想されており、その対策が急がれている。アジア人は、欧米人とは明らかに異なり、インスリン初期分泌が弱いことから、少しの体重増加でも容易に糖尿病を発症する。このようなアジア人 2 型糖尿病の病態の特徴であるインスリン分泌不全に対応し、良好な血糖コントロールを維持するためには、現状の薬物治療では低血糖、体重増加、膵β細胞量の減少を抑止できない。

インクレチンは食事摂取に伴い消化管から分泌され、血糖上昇に応じて膵β細胞からのインスリン分泌を増強する。GLP-1 についてはα細胞からのグルカゴン分泌も抑制することで、血糖の恒常性を維持する。インクレチンシグナルは、食事摂取によって血糖値が上昇しようとする前に、消化管が炭水化物の摂取量をセンサーとして感知し必要なインクレチンを分泌し、グルコースによるインスリン分泌を増強することによって、血糖値を一定以上に上げない仕組みである。

2 型糖尿病ではグルコースによるインスリン分泌機構だけでなく、インクレチンのインスリン分泌増強効果も破綻する。その原因としては、インクレチン分泌は 2 型糖尿病でも変化が認められないことから、受容体レベルあるいは受容体以降のシグナル伝達に障害が存在する可能性が示唆されている。ただし 2 つのインクレチンの内、GLP-1 については比較的作用が保持されているため、2 型糖尿病治療への応用は GLP-1 の作用を増強する戦略をとることとなった。インクレチン効果の増強には薬剤のみならず食べる食品、食べる順番などが大きく影響するため、咀嚼に必要な歯の管理は極めて重要である。

米国ピマインディアンを対象として、歯周病治療で糖尿病の血糖コントロールが改善するとした報告 (1997 年) を端緒として、数々の追試験が行われてきた。この間、エビデンスの蓄積とともに日本歯周病学会のガイドライン (2008 年発行) で推奨度 (C1) (根拠は明確でないが、コンセンサスがある) であったものが、糖尿病学会のガイドライン (2010 年発行) では推奨度 (B) (歯周病治療を勧める) にまでグレードアップした。私どもは最近、日本人 2 型糖尿病患者を対象とした介入試験 (ヒロシマスタディ) で、炎症マーカー (高感度 CRP) の上昇した 2 型糖尿病患者に抗菌剤を併用した歯周治療を行うことで、ヘモグロビン A1c が未治療の場合に比べ有意に改善することを報告した。すなわち、この場合の Oral-systemic medicine の間を取り持つ基盤は軽微な炎症ということになる。

高感度 CRP の上昇に代表される軽微な炎症は、膵臓からのインスリン分泌能よりもむしろインスリン抵抗性と関連することが国内外で示されている。先のヒロシマスタディを詳細に解析したところ、同じ歯周病を有していても炎症マーカーが上昇している被験者は炎症マーカー低値の被験者に比べ、有意に体格指数が上昇していることが判明した。すなわち、重度の歯周病で炎症マーカーが上昇しやすい 2 型糖尿病患者は、そうでない患者に比べより内臓脂肪が成熟しているものと考えられた。一方、成熟内臓脂肪に多数の炎症性細胞浸潤が観察されること、免疫細胞と脂肪細胞の相互作用により脂肪細胞由来生理活性物質 (アディポカイン) の産生性が著しく亢進することが報告されたことを受け、内臓脂肪の成熟は一種の自然免疫の亢進状態であると考えられるようになった。

以上の背景からここでは、歯周病感染-免疫細胞の活性化-内臓脂肪での炎症反応の亢進-インスリン抵抗性を基軸とした Oral-systemic medicine に対するわれわれの仮説を紹介し、分子基盤解明の一助としたいと考えている。

CS-3

生命を支えている臓器としての骨組織
—歯周疾患と骨粗鬆症の関連—

宇田川信之

松歯大 口腔生化

KS-1

生体蛍光イメージング技術が拓く次世代骨研究戦略

今村 健志

愛媛大 院医 分子病態医学

時に生命の危機を惹起する血液中のカルシウム濃度の変動を調節している最も重要な器官は骨である。骨は、我々の体を支え運動機能を担当しているのみならず、生命を維持するための臓器として絶えず動的に活動している。

骨吸収と骨形成が絶え間なく繰り返されることにより、古い骨が新しい骨に置換されていく過程でカルシウム濃度は調節されている。この骨吸収と骨形成は、動的平衡の状態に保たれたカップリング現象を示す。しかし、様々な全身的要因により骨吸収が骨形成を凌駕すると、骨粗鬆症を発症することとなる。

高齢者における歯の喪失は、歯周疾患による歯槽骨吸収が大きな原因を占めるが、骨粗鬆症との関連は今まで詳しく語られてこなかった。歯の喪失は、発音機能や咀嚼機能の低下を招き、全身の栄養状態やQOLの低下につながることで、高齢化社会の到来と共に問題となっている。

骨芽細胞由来の破骨細胞分化因子であるRANKLの発見(1997年)から15年経過した。現在では、RANKL中和抗体が骨粗鬆症の治療薬として臨床応用されるに至った。一方、RANKLのデコイ受容体であるOPG遺伝子欠損マウスとRANKLの高発現マウスは、共に骨粗鬆症となる。これらの骨粗鬆症マウスを用いた実験結果から、骨細胞が産生するOPGが皮質骨や歯槽骨の維持に重要な役割を果たしていることが、OPGの新しい機能として注目されてきている。また、OPGの発現低下が歯周疾患の進行に影響を与えることを示す実験結果も集積してきた。

今回のシンポジウムにおいては、骨粗鬆症と歯周疾患との関連に焦点をあて、生命を支えている臓器としての骨組織の役割について、われわれの実験結果を中心に講演したい。

近年、科学の進歩、特にオミクス技術や遺伝子改変マウス技術の台頭により、骨研究分野においてもさまざまな分子の役割やその作用メカニズムが明らかにされつつある。しかし、骨組織が生体深部に存在する硬組織であるために、骨に存在する重要な細胞や分子が、生体の中でどのようにダイナミックに機能しているかを明らかにすることは難しい。それを克服するためには、動物が生きた状態で細胞や生体分子をリアルタイムに可視化できる生体蛍光イメージング技術の発展が必須である。近年、分子生物学の進歩による新しい蛍光タンパク質の発見と改良、蛍光有機小分子を用いた蛍光プローブ作製技術の進歩、さらにレーザーや蛍光検出器などの光学機器の性能の飛躍的向上などにより、細胞のシグナル伝達から細胞周期までライブでイメージングすることが可能になり、発生学、神経科学からがん研究に至る幅広い生命科学分野で光イメージング技術が活用されている。一方で、骨の光学的特性、特に散乱の問題などから、骨の生体蛍光イメージングの問題も浮き彫りになっている。

そこで、本発表では、骨組織の生体蛍光イメージングの現状と問題点を洗い出し、次世代の骨研究における生体蛍光イメージングの課題と可能性について議論したい。具体的には、さまざまな蛍光プローブを駆使した生体イメージングの実例を紹介し、蛍光イメージングの可能性を探る。一方で、骨組織の生体蛍光イメージングについて、さまざま蛍光イメージング法におけるデータを比較しながら、その問題点を洗い出す。最後に、その問題点解決の手段の一つとして、われわれが開発している新規補償光学型長波長2光子励起顕微鏡を紹介し、非線形光学を駆使した骨イメージングの可能性と将来像を考える。

KS-2

骨細胞のバイオイメーキングとナノモデル解析
上岡 寛
岡大 院医歯薬 歯科矯正

近年、骨細胞に対する様々なアプローチがなされ、骨細胞はメカニカルセンサーとして骨リモデリングの統括を担う細胞として注目されるようになってきた。しかしながら、どのような機械的刺激がこの細胞を活性化させるのかはいまだ明らかにされていない。その大きな壁として、骨細胞周囲の骨基質の存在がある。単離骨細胞を用いた *in vitro* の実験では、骨細胞に機械的刺激を介在すると考えられている周囲骨基質が不在の状態となり、機械的刺激を負荷する実験様式に絶えず疑問が残る。*In vivo* の実験では、厚い骨基質が骨細胞を取り囲むことにより生きた細胞の動態を解析することを妨げていた。そこで近年、生体工学的な試みにより、様々な骨細胞への機械的刺激様式が提案された。その一つに、骨細胞突起と骨細管に挟まれた空間に存在する体液の流れが骨細胞の機械的刺激への応答を引き起こす、すなわち、流体剪断応力がある。そこで、我々は3 MV 超高压電子顕微鏡(阪大超高压電子顕微鏡センター)ならびに電子トモグラフィ法から骨細胞突起と骨細管のナノレベル立体構築を行い、その中で流れのシミュレーション解析を試み、骨細胞にどのような刺激が与えられているのかを検討した。その結果、骨細胞突起および周囲骨基質の微細構造に応じた特徴的な流れが確認された。しかしながら、超高压電子顕微鏡での観察は、数 μm 厚の切片での観察であるために、細胞の一部の観察しかできなかった。そこで、最近開発された直交配置型 FIB-SEM(物質・材料研究機構)を用いて、アルゴンイオンビームで骨表面を50 nm ピッチで連続的に切削し、その表面(25 μm 平方)を SEM で観察した。この連続断面画像をもとに、骨細胞ならびに周囲骨基質を広範囲に、しかも高詳細に三次元構築できた。このナノレベルの解像度をもつ立体構築モデルをもとに今後、より詳細な骨組織中の力学シミュレーションの可能性が示唆された。

KS-3

イメージングを駆使した歯の発生の新たな理解への挑戦
原田 英光、大津 圭史、藤原 尚樹、
坂野 深香
岩医大 解剖 発生再生

歯の発生は、免疫組織化学を含めた形態学と、遺伝子改変マウスによる分子発生生物学を両輪とした研究手法の発展によって、形態形成に関わる数多くの分子とその機能が解明され、その成果は歯に異常を生じる先天性疾患の病因の究明や再生医療のツールとして応用されるまでになった。しかし、歯の形態や歯根形成を制御している分子が同定されても、それらの分子機能が咬頭形成を担う細胞動態にどのように関わってくるのか、歯根の発生時に観察される Herwig 上皮鞘は cervical loop 細胞のどのような変化で形成されるのか、エナメル質や象牙質の石灰化と血管網構築の関係など、形態形成の総合的理解においていまだ釈然としない点が数多くみられる。これらの事象を理解する上で課題となる問題点は、2D のイメージから 3D の形態を理解する困難さ、細胞培養と生体での現象のギャップを埋める研究、分子機能の異常とそれがもたらすフェノタイプとの間を関連づける細胞生物学的研究の欠如などが上げられる。最近、優れた蛍光、発光プローブの開発や顕微鏡の発達によって、細胞、組織、個体を様々な視点から観察するイメージング技術が開発されてきた。このような研究背景のもと、本講演では従来我々が行ってきた歯の発生研究をベースに、歯の発生のメカニズムをさらに詳細に理解できるように取り組んできた細胞、組織、器官レベルでのイメージング技術を紹介する。この技術によって、従来の結果と異なる点、従来の研究成果を再確認できた点、新しい発見につながった点などを整理しながら、エナメル上皮幹細胞の挙動、中間層細胞の発生のメカニズム、歯根発生におけるヘルトヴィッチ上皮鞘形成過程、エナメル質の横紋形成メカニズムに関する結果などを報告する。また、これらの技術を応用した将来的な研究と、今後の歯の発生研究で求められる研究とは何かについて議論したい。

KS-4

唾液分泌シグナル応答の intravital イメージングと分泌制御機構の解析

根津 顕弘、森田 貴雄、谷村 明彦
北医大 歯 薬理

唾液腺における水・電解質分泌は、受容体刺激を介した腺房細胞の Ca^{2+} 応答によって調節されている。これまでのライブイメージングを使った研究により、唾液腺細胞における Ca^{2+} ウェーブや Ca^{2+} オシレーションなどが明らかにされてきた。これらの Ca^{2+} 応答の時間・空間的変化と、唾液腺の水・電解質分泌やその他の機能との関係を解明する手段として、これまでの *in vitro* 系を使った解析には限界がある。実際の唾液分泌の調節では、腺房細胞の Ca^{2+} 応答に加え、唾液腺の血流量や神経系を介した調節などが関与する。このような生体で起こる臓器の応答や生理機構を明らかにする実験系として、生きた動物を使った intravital イメージングが注目されている。

最近、蛍光タンパク質遺伝子を使った様々なタイプの Ca^{2+} バイオセンサーが開発されてきた。われわれはラット顎下腺開口部から逆行性にアデノウイルスベクターを注入し、非侵襲的に腺房細胞に蛍光タンパク質を発現させる実験系を確立した。この方法を使って、顎下腺腺房細胞に G-GECO や YC-Nano50 といった Ca^{2+} センサーを発現させ、薬物刺激や神経刺激による Ca^{2+} 応答の intravital イメージング解析を行っている。特に現在は、唾液腺の Ca^{2+} 応答や血流動態と唾液分泌の関係を明らかにするために、マクロズーム蛍光顕微鏡を用いた顎下腺全体の Ca^{2+} 応答と同時に、二次元レーザー血流計を用いた血流イメージング解析、あるいは微小ファイバー圧力計を使った唾液分泌のリアルタイム解析を行っている。この解析ではアセチルコリンの静脈投与によって、投与速度に依存した顎下腺の Ca^{2+} 応答と同時に、一過性あるいは周期的な血流増加が観察されている。これらの血流変動における交感神経系の関与や、唾液分泌速度への影響を示唆する結果が得られている。さらに我々は、舌神経刺激によって反射性に副交感神経が活性化する反応を利用して、神経刺激による顎下腺の Ca^{2+} 応答を解析している。このような神経刺激は、薬物刺激とは異なるパターンの Ca^{2+} 応答を起す可能性が考えられる。これらの解析結果に加え、共焦点レーザー顕微鏡を使った細胞レベルでの intravital イメージングの結果を紹介し、生体で起こる唾液分泌制御機構について考察したい。

KS-5

蛍光から化学発光へ—バイオイメージングの新潮流—

永井 健治

阪大 産研 生体分子機能科学、JST
さきがけ

蛍光タンパク質は生物学研究に革命をもたらしたことは論を待たない。今や生物学研究のみならず、医学、薬学、さらには物理学分野でも用いられる日常的なツールになった。蛍光タンパク質を用いたバイオイメージングにより様々な現象が発見され生命の理解に大いに貢献している。近年では 100 nm 以下の空間分解能を達成する超解像にも不可欠になり、活躍の場に事欠かない。このように蛍光タンパク質は極めて有用で強力なツールではあるが、欠点が無い訳ではない。蛍光観察に必須の励起光照射が、時に細胞環境をかく乱し、あるいは組織深部の観察を困難にしてしまうからである。

そこで我々が目を付けたのが、励起光照射を必要としない化学発光である。しかしながら、化学発光のシグナルは非常に微弱なため、シグナルの検出は数分から数時間という長時間の露光が必要であるという問題点を有していた。この問題を解決するために、我々は改変型ウミシイタケ luciferase と Venus 蛍光タンパク質を高効率にフェルスター共鳴エネルギー移動が生じるように融合し、大幅に発光強度を増加させることに成功した。Nano-lantern と名付けられたこの化学発光タンパク質により、生きた細胞を蛍光と同程度のクオリティで観察することが可能になっただけでなく、自由に動き回る脱毛していないマウス体内の腫瘍組織を高感度に実時間観察することが可能になった。また、Nano-lantern を基に、 Ca^{2+} 、ATP、cAMP を検出可能なセンサーを開発し、蛍光センサーが使用できない環境下において、これらの生理活性物質の動態をイメージングすることに成功した。これら励起光を必要としない化学発光性のセンサーにより、オプトジェネティクスにより細胞機能を光操作しながらのバイオイメージングも可能になった。

本シンポジウムでは、我々の研究室で生み出されてきた蛍光タンパク質や化学発光タンパク質を紹介し、合わせて今後のバイオイメージングの展望を述べたい。

MS1-1

発生物学的アプローチによる口腔器官の再生
辻 孝
東理大 総合研究機構

MS1-2

ゲル材料を使った *in vitro* での腺組織形態形成制御
松本 卓也
岡大 院医歯薬 生体材料

口腔は歯や唾液腺、舌など複数の器官からなり、食物の摂取や発音、味覚などの多様な機能により健康や生活に大きな役割を果たしている。そのため疾患や傷害によるこれら器官機能の低下や喪失は生活の質を大きく低下させることから、材料工学や薬物などによる治療が長らく試みられてきた。最近になり、再生医療技術が開発され、「幹細胞移入療法」や「細胞シート工学技術」が様々な医療分野で応用され、歯科領域においても歯髄や歯周病など口腔器官の組織再生の研究が進められている。さらに次世代再生医療である「器官再生医療」の研究開発が進められている。その器官再生の戦略として、胎児期の上皮・間葉相互作用によって誘導される「器官原基」を再生する、発生物学的なアプローチによる器官再生が成果を上げつつある。

私たちは、単一化上皮性・間葉性幹細胞から器官原基を再生する「器官原基法」を開発し (*Nature Methods* 4, 227-230, 2007)、口腔に関連する歯や唾液腺の器官再生に取り組んできた。歯の再生では、再生歯胚を成体の歯の喪失部位へ移植することにより再生歯が萌出、咬合し、歯根膜や神経機能も再生することを明らかにした (*PNAS* 106, 13475-13480, 2009)。さらに歯と歯根膜、歯槽骨を有する再生歯ユニットを移植すると、骨性結合により生着し、即時機能型の歯の再生が可能であることを明らかにした (*PLoS ONE* 6, e21531, 2011)。一方、唾液腺の再生では、唾液腺全摘出マウスに再生唾液腺原基を導管接続し、再生唾液を口腔内へ分泌させ、唾液腺摘出に伴う口腔内の洗浄や嚥下障害を機能的に回復可能であることを明らかにした (投稿中, 2013)。また成体毛包に存在する幹細胞から機能的な毛包器官再生が実証されたことから (*Nature Commun.* 3, 784, 2012, *Sci. Rep.* 2, 424, 2012)、器官再生医療の実現可能性が高まったと考えられる。本講演では、幹細胞の精密操作による発生物学的アプローチによる器官再生の研究戦略と進展について紹介し、その現状と課題を考察したい。

近年の生体材料学、組織工学の発達により、細胞や生体組織に親和性の高い材料の開発が加速されている。これら材料に生命科学研究から得られる最新の知見を融合することで、これまでにない新しい細胞/組織操作技術の創製、さらには新しい組織再生方法や新しい生命科学研究技術の確立につながる。

我々はこれまで、ボトムアップアプローチによる *in vitro* での生体組織生成 (生体組織合成) を究極の目標に研究を進めている。この目標に向けたアプローチとして、生体材料を使用した細胞周囲環境の整備を提案している。最近の研究から、「堅さ」という物理的因子が細胞の分化や増殖など細胞機能に重要な影響を及ぼすことがわかってきた。そこで、生体組織の堅さを再現できるゲル材料を元に *in vitro* の培養系を構築し、E12に摘出したマウス顎下腺組織の器官培養を行った。その結果、興味深いことに唾液腺組織の成長は柔らかいほど進み、堅いほど抑えられることが明らかとなった。このような現象は唾液腺以外にも歯や骨などの組織においても生じることを確認している。唾液腺での現象に関してそのメカニズムを検討したところ、周囲堅さ環境に依存した唾液腺組織における FGF7/10 などの増殖因子発現変化や、神経組織の成長変化などが重要な役割を担うことが明らかとなった。また、物理的環境ではなく、化学的環境に着目した実験系では、細胞接着機能を有する機能性ペプチド固定化ゲルを作製している。このゲルを用いた培養系は唾液腺成長促進に有効であることも確認している。

人工材料は成形、加工が容易であり、その形状、物性制御により用途も多様である。このような工学的手法との融合により、*in vitro* での唾液腺組織生成、制御、新規治療に向けた新しい方法論の確立が期待される。

MS1-3

抗体アレイによる幹細胞集団のキャラクタリゼーション
加藤 功一
広大院医歯薬保 生体材料

MS1-4

iPS細胞を用いたスキヤフォールドフリー骨組織再生
江草 宏
阪大院歯 補綴1

幹細胞を利用した再生治療は、歯周組織をはじめとする様々な組織や臓器を再構築するための手段として期待されている。しかしながら、この新しい治療技術を一般医療として普及させるには、さらに多くの工学的技術が確立されなくてはならない。とくに、体外操作を経て作製される移植用細胞の品質を管理するための技術の確立は、現段階から取り組んでおくべき重要な課題である。そこで本講演では、我々が取り組んできた細胞品質管理技術の開発について紹介し、バイオデバイス研究の果たす役割について議論したい。

これまで、移植細胞の特性化を目的として、形態異常、核型の変化、細菌等のコンタミネーションの有無など、様々な検査項目が提案されてきた。しかし、細胞集団の均一性を評価する方法は十分に確立されているとはいえない。そこで我々は、細胞集団における表面マーカーの発現パターンに注目し、迅速なアッセイによって多種類の表面マーカーの発現度合いを一挙に分析するための抗体アレイの開発に取り組んできた。

抗体アレイの作製には微細加工技術を利用することができる。これによって、小さなガラス基板上に表面マーカーに対する多種類の抗体を配列固定した。この抗体アレイ上で細胞の結合アッセイを行うことによって、表面マーカーの発現パターンを一挙に調べることが可能であることを白血病細胞株や神経幹細胞を用いて示してきた。さらに、歯科領域において応用が期待されている間葉系幹細胞に本手法を適用した結果、体外で培養された細胞集団を定量的かつ迅速にタイピングすることが可能であった。

一方、抗体アレイ上に結合した細胞の定量的計測法は、分析の高速化にとって重要である。我々は、表面プラズモン共鳴イメージング法を利用して、抗体アレイ上の細胞密度を染色や洗浄の操作を経ることなく2次元情報として取得する方法を確立した。この方法を用いれば、細胞と複数の抗体との反応性を瞬時にパラレル計測することが可能である。

人工多能性幹細胞 (iPS細胞) は、体細胞に数個の遺伝子を導入することでその記憶を初期化した多能性幹細胞である。口腔粘膜の歯肉は歯科治療の過程で切除される機会の多い組織であり、一般的に切除歯肉は廃棄されている。我々は、歯肉を用いることで、癌遺伝子 c-Myc あるいはウイルスベクターを用いることなく、容易に iPS 細胞が樹立可能であることを明らかにしている。

iPS細胞は、その万能な分化能および無限の増殖能ゆえに、Bioengineering を駆使した3次元形状の細胞組織構造体の構築に好適な幹細胞源として期待されている。また、iPS細胞を用いた歯槽骨再生医療を実現するためには、iPS細胞を移植した先で腫瘍化させることなく骨組織の再生へと確実に導く技術の確立が重要である。我々はこれまでに、歯肉から樹立したマウス iPS 細胞を、ハイドロキシアパタイトの結晶構造を呈する成熟した骨芽細胞へ分化誘導する培養方法を確立してきた。また、任意の形状を有する温度応答性ハイドロゲルの鋳型(モールド)を利用することで、スキヤフォールドを用いることなく、任意の3次元形状で石灰化を誘導したマウス iPS 細胞の構造体を試験管内で作製する技術を確立している。さらに、この技術に骨芽細胞分化促進作用/腫瘍形成抑制作用を併せもつ小分子化合物を用いることで、移植先で iPS 細胞の構造体を腫瘍化させることなく、スキヤフォールドフリーで立体的な骨形成を促すことに成功している。この基本技術は、自己細胞由来材料、細胞の分化制御、腫瘍化抑制、再生骨の形状制御の観点から従来の骨移植材にない優れた特性を有する可能性を秘めている。

本発表では、この技術内容を中心に、歯肉を細胞源とする iPS 細胞技術が “Biodental Engineering” の発展に資する可能性を概説し、今後の課題と将来の展望について考察したい。

MS2-1

ゲノム解析からみえてきた歯周病細菌
の新たな側面
内藤真理子
長大 院医歯薬 口腔病原微生物

次世代シーケンサーの普及が後押しする形となり、全ゲノム解析プロジェクトは近年急速に増加している。病原細菌を含む原核細胞生物では進行中を含めて2万件を超えた。歯周病細菌では主菌種の全てでゲノム解析プロジェクトが行われており、これまでに6菌種の全ゲノム配列が決定、公開されている。ところで、次世代シーケンサーの技術開発のスピードは速く、より高性能で簡便な機種の実用化が期待されている。また解読されたゲノム配列の遺伝子予測と生物学的注釈付与の作業も Web サービスの利用により容易になった。このような状況により、近い将来、微生物の全ゲノム配列解析はより身近な汎用実験手法になると考えられている。本講演ではゲノム解析が歯周病細菌の解析にどのように生かされたかを、我々が実際に行った歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株の全ゲノム配列決定を例として、それから得られた知見も含めて紹介する。*P. gingivalis* の株間のゲノム比較から、本菌では大規模かつ多数のゲノム構造の再構成が生じ、本菌の菌株間の性状の多様性形成に寄与していることが示唆された。このゲノムの再構成の大半には転移性遺伝因子が寄与していた。また、この転移性遺伝因子を介して口腔内や腸管内の細菌間で遺伝情報の伝達が起きていた。さらに近縁の菌種と *P. gingivalis* の全遺伝子の比較から、本菌の病原因子の分泌に関わる新たな分泌機構である Por 分泌機構を見出した。この Por 分泌機構は近縁の歯周病細菌にも存在することから、歯周病の病態と深く関わることが予測された。さて、全ゲノム配列の決定により新たに多くの遺伝子の存在が明らかとなったが、約40%が今も機能未知である。このことを踏まえ、今後の歯周病細菌のゲノム解析の留意点、課題等についても触れる。

MS2-2

CRISPR による病原性細菌の生存と進化戦略
中川 一路
東医歯大 院医歯 細菌感染制御

細菌の進化において、ファージやプラスミドといった外来性遺伝子による遺伝子の伝播やゲノム再構成、種内の菌株間での組換えなどによる多様性制御が重要である。一方で、外来性遺伝子の細胞間移動抑制機構として近年 clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) が注目されている。多数の菌株の比較ゲノム解析が可能となった今、このような進化の痕跡をより詳細に検討することができる。本講演では、そのような観点から、現在の我々の研究を幾つかを紹介したい。

A 群レンサ球菌 (GAS) は多彩な病態を示し、多くの異なるファージの獲得によって病原性を変化させていると考えられている。一方で、ファージなどの外来性 DNA に対する防御機構である CRISPR が存在することから、プロファージが多く存在することには矛盾があると考えられる。そこで、GAS 70 株のゲノム情報を用い、多株ゲノム比較解析を行った。その結果、2種類ある CRISPR は、排除対象としている外来 DNA の種類が異なっていた。Pan-genome から、特定の遺伝子の有無によりクラスタリングしたところ、同じ CRISPR スペーサーを持つ株同士と CRISPR を有しない株同士が同じグループになっていること、そして株特有の遺伝子セットがファージに由来していることから、本菌の CRISPR にはファージを選択的に取込む働きがあると考えられ、CRISPR により取り込むファージを制御していることが示唆された。

また、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* では、ゲノム再構成と組換えを詳細に調べた。その結果、3株のドットプロットでゲノム再構成発生点に insertion sequence (IS) が高頻度に認められた。また、multilocus sequence typing 解析から60株のスプリット系統樹で網目構造が顕著であることから、本菌では菌体間での組換えも頻繁におきていることがわかった。さらに、60株で同定した全 CRISPR スペーサーのうち97%は、相同性検索で7種のデータベース内に相同配列は検出されなかった。一方、残り3%のうち6割以上は本菌のゲノム配列の一部と相同で、その多くが IS 上またはその近傍に位置していた。よって本菌の CRISPR は、菌体内 IS や他の *P. gingivalis* 菌体由来の DNA を標的として、IS 移動や外来 DNA 取込みを抑制していると考えられる。

MS2-3

メタボロミクスとインタラクトミクス
が描き出す CCN2 の新たな機能
久保田 聡、前田 彩、西田 崇、
滝川 正春
岡大 院医歯薬 口腔生化

CCN2 は、CCN ファミリーと呼ばれる一群のタンパク質の代表的メンバーであり、最近まで成長因子の 1 つと考えられていた。しかし近年の研究から、この分子が他の CCN ファミリーメンバー同様、成長因子のカテゴリーに収まり切らない特質を持つことが明らかになってきた。CCN2 は 4 つのモジュールが連結された構造を持ち、それぞれのモジュールを介し、実に様々な分子と相互作用を演ずる。例えばインテグリン、Trk A や FGFR などの細胞表面分子、BMP や FGF、VEGF などといった成長因子、そして FN、アグリカンやパルカンといった ECM 分子がこういった分子に含まれる。CCN2 は、これら分子を指揮することにより、微環境に応じて多様で、時として予想外な効果を発揮する。このタンパク質は、基本的に細胞外、特に ECM に分布するが、時として細胞核内に見出されるなど組織随所に現われ、そこでどのような分子に出会うかによって機能が大きく変わる。したがって共存分子群と CCN2 の相互作用を全体的に把握することが CCN2 の機能を理解する唯一の道である。

CCN2 は軟骨細胞において、分化と増殖をともに促進するが、これは細胞生物学的に考えれば受け入れ難い効果である。しかし最近我々は、代謝産物の網羅的定量を可能にしたメタボローム解析技術を応用することにより、これを可能にする意外な背景を明らかにしつつある。さらにそうして得た所見は、CCN2 が変形性関節症から関節軟骨を守る分子であることにも裏付けを与えることになった。隠された CCN2 の機能をさらに解明すべく、我々は CCN2 を核としたインタラクトーム、すなわち共存分子群との相互作用の全体像の描出を進めている。こちらはまだまだ発展途上だが、最近得られた所見につき紹介したい。

MS2-4

転写ネットワークによる内軟骨性骨形成の制御機構
西村 理行
阪大 院歯 生化

内軟骨性骨形成は、未分化間葉系細胞の凝集に始まり、軟骨細胞への分化・増殖、軟骨細胞の肥大化、軟骨基質の石灰化、軟骨組織への血管侵入、軟骨細胞のアポトーシスを経て、軟骨組織の骨組織への置換にて完結する、非常に複雑な生命現象である。この多段階に及ぶ内軟骨性骨形成過程は、連続的かつ緻密に制御されている。この調和した制御には、Sox9 ファミリー、Runx2 ファミリーならびに Osterix などの転写因子によるチューニングが深く関与していることが明らかにされている。

私たちは、完全長 cDNA を用いた発現クローニング法、Microarray 解析、超高速シークエンサー解析などを駆使して、内軟骨性骨形成過程における転写ネットワークシステムの役割を明らかにしてきた。また最近、Sox9 による軟骨形成過程におけるエピゲノム制御機構も明らかにしつつある。さらに私たちは、*in vivo* サンプルを用いた発現解析システムを開発し、内軟骨性骨形成に関与する転写因子群の同定と機能解析を展開している。

本シンポジウムでは、内軟骨性骨形成の制御に関わる転写ネットワークシステムと、その解明に効果的な遺伝子クローニング法について概説したい。また、その転写ネットワークシステムの破綻による疾患の発症についても紹介したい。

MS2-5

ゲノムワイド関連解析(GWAS)による正常眼圧緑内障特異的ゲノムマーカー同定とその意義

田代 啓

京府医大 院医 ゲノム医科

MS3-1

口腔顔面領域における異所性痛覚異常の中枢機構

岩田 幸一

日大 歯 生理

緑内障は現在日本の中途失明原因の第一位となっている疾患で、40歳以上の有病率約5%の大変頻度の高い疾患である。早期は自覚症状に乏しく、眼科の健診を受けるか、たまたま眼科受診で見つけてもらう以外には発見されないので89%の緑内障患者が気づいておらず未治療である。しかし、緑内障マーカーが同定されるならば、健康診断のついでに血液検査で、緑内障になりやすい体質かどうかを判明し、そこから眼科受診の動機ができ、緑内障の早期発見早期治療の道が開ける。我々の緑内障ゲノムワイド関連解析GWAS研究はそのような緑内障の早期発見、早期治療に貢献する研究である。

米国NCIのウインクラー博士らのAIDS進行制御SNP解析プロジェクトに参画して、演者が発見・命名したサイトカイン*SDF1* (Tashiro *et al. Science* 261 (5121):600-603, 1993.) 遺伝子上のSNP同定に至った共同研究 (Winkler *et al. Science* 279 (5349): 389-393, 1998.)の際、ウインクラー博士が20年間に亘って2800例のエイズ患者の細胞株樹立によってゲノムDNAを確保した上でSNP解析をしている姿を見て、責任をとりきる研究態度を学習した。同じ態度で京都府立医大眼科木下茂教授らと9年間努力をして、緑内障症例と陰性診断したコントロール例の合計で5100例あまりを細胞株化して前向き追跡しながら解析中である。新世代の1000Kチップを用いた緑内障GWAS解析結果論文発表 (Nakano *et al. PLoS ONE* 7(3): e33389, 2012) では、有病率3.5%の正常眼圧緑内障について、世界に先駆けて正しい結果を発表することができた。今回は、欧米から正しく評価されているわれわれの大有病率の多因子疾患のGWAS研究例について歯科基礎医学会の先生方にご説明させていただいて、ご評価・ご指導を願いたい。

三叉神経損傷や口腔顔面領域に炎症が起こると、損傷神経や炎症部位の支配領域を超えた広い領域に異所性の痛覚異常が引き起こされることがある。このような異所性痛覚異常は誤診や誤った治療の原因となることから、臨床的に大きな問題となっているが、その詳細なメカニズムに関しては不明な点が多く残されている。そこで、我々は口腔顔面領域における異所性痛覚異常の発症機構を明らかにするため、様々な動物モデルを作製して研究を進めてきた。

末梢神経損傷や末梢組織の炎症によって、一次求心神経に強い持続的な興奮が誘導される。このような過興奮が長期間にわたって持続すると、末梢神経系だけでなく中枢神経系のニューロンも感作され、ニューロンの興奮性はさらに亢進する。中枢神経系の過興奮は損傷神経の周辺部に存在するニューロンの活動性にも影響を及ぼし、損傷を受けていないニューロンや炎症部位を支配していないニューロンに対しても興奮性の増強を誘導する。ニューロンとニューロンの機能連絡はニューロンの興奮異常の拡大を引き起こすだけでなく、グリア細胞にも作用して広い領域に分布するニューロンの興奮性亢進をもたらす。最近我々は、下歯槽神経を切断すると三叉神経第2枝支配領域である口ひげ部に機械アロディニアが発症することを見出した。さらに、この異所性痛覚異常には、三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) に存在する astroglia の強い活性化が関与することを報告した。また、三叉神経損傷後の早期には microglia も強く活性化され、顔面領域の広い領域に痛覚異常が発症することを見出した。このような結果から、口腔顔面領域に発症する異所性痛覚異常に対して astroglia や microglia の活性化が重要な働きを有する可能性が明らかになった。

本シンポジウムでは我々がこれまでに行ってきた研究結果を紹介し、口腔顔面領域の炎症および神経損傷に起因した異所性疼痛異常の発症機構について考察する。

MS3-2

口腔顔面の侵害受容機構と痛覚異常
寺山 隆司、杉本 朋貞
岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

口腔顔面の感覚情報は、三叉神経の各分枝によって脳幹の三叉神経知覚核群に伝達される。三叉神経知覚核群は主知覚核と脊髄路核から構成され、脊髄路核はさらに吻側亜核、中位亜核、尾側亜核に区分される。このうち、最も尾側に位置する尾側亜核は三叉神経系における脊髄後角の相同部位で、三叉神経系の侵害情報は専ら尾側亜核において中継されると考えられてきた。しかし、三叉神経知覚核群のより吻側部も、口腔顔面の侵害受容伝達に関与する可能性を示す報告がなされている。一方、末梢神経の損傷によって損傷を受けた神経の中核投射部位で種々の変化が起こり、これらの変化が神経損傷後の痛覚異常に関与することが知られている。三叉神経系においては尾側亜核での変化と痛覚異常との関連を示唆する報告がなされているが、さらにこのような変化が尾側亜核に限らず知覚核群の吻側部でも起こっていることが示されている。われわれの最近の研究でも末梢神経の損傷によって尾側亜核だけでなく、主知覚核と吻側亜核でグリア細胞の活性化等の変化が認められるとともに、神経損傷後に尾側亜核と吻側亜核においてそれぞれ異なる興奮性の変化が起こることが明らかとなった。また、尾側亜核では神経損傷によって損傷を受けていない周囲の神経からの収斂投射が起こることが明らかとなり、このような変化が神経損傷後の痛覚異常に関与する可能性が示唆された。今回は、侵害受容伝達における三叉神経知覚核群の機能および末梢神経損傷によって起こる痛覚異常における三叉神経知覚核群の関与、特に尾側亜核と吻側亜核の関与について報告する。

MS3-3

慢性の口腔顔面痛の管理において歯科医師には何が求められるか
今村 佳樹
日大 歯 口腔診断

慢性痛では、しばしば明確な身体的他覚所見を伴っていないかたり他覚所見に比して痛みの訴えが説明できないほど強かったりする。このことから、慢性痛の病態は社会心理的な面から説明されることが多く、対応も主にこれに基づいて模索されてきた。一方で、慢性痛の病態を解明すべく基礎研究者の努力によって各種病態モデルが考案され、基礎研究が重ねられてきた。これらの研究を通し、痛みの慢性化には中枢・末梢神経の感作と可塑性が重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。臨床的にも1990年代から機能画像解析が活発に用いられるようになったことで、慢性痛における脳活動が研究されてきた。慢性の特発性口腔痛患者では、感覚野、運動野を含めた高次中枢における痛みの調整機構に変調が生じている可能性が示されている。すなわち、慢性の特発性口腔痛においては、末梢のみでなく、高次中枢を含めた治療の検討が重要であることを物語っている。また、心理ストレスが発症のトリガーとなることが指摘されているが、特発性口腔痛患者においては、血漿中のストレス関連ホルモンの濃度は、患者の受容しているストレスの程度とは相関がみられるものの、特発性口腔痛の有無とは相関がみられず、このことは、心理ストレスの強さは病態の維持に影響しないことを示唆している。一方で、痛みの遷延は、破滅的思考を有する患者において高率にみられることが知られており、破滅的思考を示す患者には特定の遺伝的傾向がみられることが明らかにされている。これらの事実からは、慢性痛に陥りやすい体質とトリガーとなる身体的精神的環境の変化(心理ストレスの強弱や感染等の免疫異常など)が相まって中枢神経系の変調をもたらすと考えられ、歯科医師はこれらの総合的な変化に対応することが求められる。

MS3-4

口腔顔面痛の疼痛伝達メカニズムと新規治療法の開発—知覚神経節細胞からの神経伝達物質遊離—

松香 芳三
徳大 院 HBS 咬合管理

激的な疼痛を訴える神経障害性疼痛治療には、抗てんかん薬や抗うつ薬などを処方することが多いが、効果がみられなかったり、めまいなどの中枢性副作用のために継続服用不可能であったりすることも少なくない。そのため、神経障害性疼痛のメカニズム解明と副作用の少ない治療法の開発が望まれている。慢性疼痛モデルにおいて末梢知覚神経節では神経興奮と神経伝達物質の遊離が増加しており、シナプスは存在しないが、知覚ニューロン間での伝達物質を介した疼痛情報の伝達が報告されている。このように、神経障害性疼痛のメカニズムの一部が知覚神経節の興奮と異所性の神経伝達物質遊離の亢進であるならば、末梢知覚神経節における神経伝達物質の遊離を抑制することにより、中枢性副作用の少ない治療法につながる可能性がある。

実際にこれまで我々は、神経障害性疼痛モデルでは知覚神経節における神経伝達物質遊離が増加し、その遊離は神経節細胞から生じていることを報告してきた。また、最近の研究では末梢に投与した精製A型ボツリヌス毒素(BoNT/A)が三叉神経節における神経伝達物質遊離を抑制するとともに、神経障害性疼痛行動反応を抑制することが明らかになった。さらに、蛍光標識したBoNT/A重鎖を利用した実験では、BoNT/A重鎖がsynaptic vesicle protein 2(SV2)受容体を介してラット培養三叉神経節細胞内に取り込まれること、ラット頬髭部中央に皮内投与したBoNT/A重鎖が三叉神経節細胞内に取り込まれること、この末梢皮内投与したBoNT/A重鎖の三叉神経節への輸送に逆行性軸索輸送が関与する可能性が明らかになった。

これまでの研究成果を踏まえて、我々はボツリヌス毒素製剤による慢性疼痛患者への臨床応用に関する研究も現在展開中である。今回のシンポジウムでは以上のようなことを紹介したいと考えている。

SS1-1

骨格発生メカニズムの理解と骨・軟骨再生医療

大庭 伸介
東大 院工 バイオエンジニアリング

骨と軟骨をつくる骨芽細胞と軟骨細胞は共通の前駆細胞から発生し、各系統への運命決定と分化カスケードにより形成される。この一連の過程を制御するマスター因子群がこれまでに明らかにされてきている。転写因子Sox9陽性の骨格系前駆細胞は、ヘッジホッグ(Hedgehog-Hh)シグナルの入力により転写因子Runx2陽性の骨芽細胞前駆細胞へと分化する。一方、Hh刺激を受けない細胞は軟骨細胞への運命を選択すると考えられる。骨芽細胞分化の中期から後期においては、転写因子Runx2、転写因子Osterix、Wnt/ β -catenin経路が必須の因子であり、軟骨細胞においては転写因子Sox9のほかRunx2がマスター制御因子としてはたらく。

演者らの研究グループは、骨軟骨運命決定機構に注目して、Hhシグナルが骨芽細胞分化を制御するメカニズムに関して報告してきた。現在は、転写ネットワークとエピジェネティクスの観点から幹細胞および骨芽細胞・軟骨細胞の理解を深めるべく、クロマチン免疫沈降シーケンス法と遺伝子発現プロファイリングを活用することで、幹細胞の多能性と初期分化、および骨格系細胞への分化にかかわる転写因子群とヒストン修飾因子のゲノムワイドな位置情報と機能(遺伝子転写)に対する統合的な解析に取り組んでいる。また、骨発生や軟骨発生を制御するメカニズムに関する知見に基づいて、骨・軟骨形成性シグナルを活性化する低分子化合物に着目し、これらをリン酸カルシウムなどの生体材料や多能性幹細胞と組み合わせることで、低分子化合物による骨・軟骨再生法に関して研究を進めている。これらの研究成果を紹介しながら、基礎的知見の再生医療への応用について議論させていただければと考えている。

SS1-2

自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建

岩田 隆紀

東女医大 先端生命医科研

近年、幹細胞生物学と組織工学を背景とした細胞治療の研究が歯周領域においても大学を中心に進められている。歯周病を歯周組織幹細胞疲弊症としてとらえ、生体に存在する幹細胞をバイオマテリアルとコンビネーションで移植する細胞治療である。我々は細胞ソースとしては患者自身の歯根膜幹細胞を想定し、研究を進めてきた。また、組織を再構築するためのアプローチとして「細胞シート工学」をコア技術として取り入れている。「細胞シート」は、温度変化によって培養皿表面の性質が親水性/疎水性に変化するインテリジェント培養皿「温度応答性培養皿」を用いて作製される。

東京女子医科大学では、小動物・大動物を用いて「歯根膜細胞シート」の実験室レベルでの安全性・有効性を確認し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に合致した臨床研究として2011年1月に厚生労働大臣より臨床研究実施の承認を得た。具体的には患者自身の抜去歯から歯根膜幹細胞を抽出し、「細胞シート工学」を用いてシート状に回収された「自己培養歯根膜細胞シート」を歯周欠損の根面に移植する臨床研究を進めている。「細胞シート工学」を用いることで細胞を非破壊的に細胞外マトリックスとともに移植することが可能である。さらに細胞間相互作用を保持したまま移植することが可能であるため、移植した細胞が拡散することなく、歯根面に高次機能を保ったまま移植できるのが大きな利点であると考えられる。無菌的に細胞を培養出来る「細胞プロセッシングセンター」と呼ばれる特別な施設で作製された細胞シートは3層に重ね合わされ、郭清術の行われた歯周欠損の歯根面に設置される。さらに、骨欠損部にはβ-リン酸三カルシウム(オスフェリオン:オリンパス)を充填することで付着器官の再生を促す。現在までに6例の移植が終了し順調な経過を示しており、今後2年間で全10症例の臨床試験を完了する予定である。

SS1-3

性ホルモンによる骨代謝調節機構の新知見と骨再生医療への展開

今井 祐記

愛媛大 プロテオサイエンスセ 病態生理解析

超高齢化社会になりつつある本邦においては、健康長寿の獲得が必須であるといえる。中でも、骨粗鬆症による骨折は、寝たきり状態を惹起する要因の一つであることから、骨折予防を目的とした骨粗鬆症治療が重要といえる。骨粗鬆症の大多数は、閉経後女性に認められる閉経後骨粗鬆症であることから、女性ホルモン(エストロゲン)による骨量維持機構の解明が、閉経後骨粗鬆症病態の理解や治療応用に必須であるといえる。

エストロゲンは、核内受容体スーパーファミリーメンバーであるエストロゲン受容体(ER: Estrogen Receptor)と結合する。エストロゲンと結合したERは、標的遺伝子の転写を制御することで、エストロゲンの標的組織において、その作用を発揮する。エストロゲンの生体内作用を明らかにする目的で、ER遺伝子欠損マウスが作出されたが、全身的な内分泌機構の破綻を認めたため、骨組織におけるエストロゲン作用の解明は限定的であった。そこで、骨組織特異的ER遺伝子欠損マウスを作出したところ、破骨細胞特異的欠損マウスでは、破骨細胞の増加を伴う骨吸収の亢進による骨量減少を認めた。また、骨芽細胞特異的欠損マウスでは、限定的な骨量減少に留まる一方で、骨組織に存在する細胞の90%以上を占める骨細胞特異的ER欠損マウスでは、骨形成の低下に伴う骨量減少を認めた。

このように、女性ホルモンによる骨量制御機構は、複雑なネットワークを介してその恒常性維持に寄与していることが明らかになりつつある。継続的な吸収抑制性薬剤による骨粗鬆症治療においては、Atypical Femoral Fractureや顎骨壊死が有害事象として存在するが、性ホルモンによる骨代謝制御を応用することで、再生医療も含めた将来的な治療応用の可能性が期待される。

SS1-4

神経系による骨代謝制御
竹田 秀
東医歯大 医 細胞生理

従来、骨代謝調節の主役は、骨芽細胞や破骨細胞の分化や増殖を調節するサイトカイン、ホルモン等の液性因子であったが、その概念が今、大きく変革しつつある。心・腎関連などに代表されるように、臓器同士が互いの代謝の調節に関わり、さらにこの臓器間の関係（臓器間クロストーク）が個体全体での恒常性の維持においても重要であることが近年明らかになった。骨においても、骨と他の臓器との関連が注目されはじめた。

臨床的には古くから神経系と骨代謝の関連について、頭部外傷や脊髄損傷を合併する骨折例では骨折の治癒が早い場合があることなどが知られていた。近年、神経系や神経ペプチドの遺伝子改変マウスにおける骨代謝の解析を通じて、交感神経系をはじめとした神経系や食欲に関わる神経ペプチドの骨代謝における意義が分子レベルで解明されている。

さらに最近我々は、骨に投射する感覚神経系が骨の発生および再生に重要であることを見出した(Nature 2013)。我々は神経再生において注目されているセマフォリン 3A に注目し、研究を行った。まず、神経においてセマフォリン 3A を欠落したマウス（神経特異的セマフォリン 3A 欠損マウス）の骨組織を調べたところ、骨の細胞自体には異常がないにもかかわらず、骨密度が低下した骨粗鬆症様の病態を呈していた。さらなる解析により、正常のマウスでは骨に数多くの感覚神経が投射するが、神経特異的セマフォリン 3A 欠損マウスではその数が低下しており、そのために骨粗鬆症を発症したことが明らかとなった。さらに、神経特異的セマフォリン 3A 欠損マウスでは、骨の障害に対する再生能力が大きく低下していることが示された。

こうして、骨の発生、再生時に感覚神経系が骨に投射することが、健康な骨の発達や、怪我の後の骨の再生、治癒に重要であることが明らかになった。本講演では、我々の得た最近の知見を中心に、骨代謝における神経系の病態生理的意義について議論したい。

SS2-1

成熟骨芽細胞 MLO-A5 は Gap junction を介して未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 の分化を制御する
三上 剛和
日大 歯 解剖 I

【目的】 骨芽細胞は、骨基質タンパクを生産する細胞であり、骨形成において主要な役割を果たす。しかし、近年、骨形成以外にも、その近傍に存在する破骨細胞や造血系幹細胞の維持や分化を制御する、いわば司令塔としての役割を担うことが報告されている。一方、骨髄には、骨芽細胞をはじめ、脂肪細胞や軟骨細胞などに分化する間葉系幹細胞が存在している。この間葉系幹細胞と骨芽細胞は互いに隣接して存在することから、両細胞間には何らかの相互作用が存在することが予想される。しかし、その詳細については不明である。そこで、本研究は、骨芽細胞と間葉系幹細胞の共培養系を用いて、骨芽細胞の司令塔としての役割について検討した。

【方法】 マウス由来の培養細胞株である MLO-A5 と C3H10T1/2 は、それぞれ、成熟骨芽細胞と未分化間葉系幹細胞の特徴を持つ。そこで、GFP を恒常的に発現する C3H10T1/2 (10T-GFP) を樹立し、この細胞を MLO-A5 と共培養した。その後、FACS を用いて 10T-GFP を単離し、各種遺伝子の発現について解析した。また、MLO-A5 と 10T-GFP 間の接触様式について、パッチクランプ法を用いて電気生理学的な解析を行った。さらに、C3H10T1/2 は、BMP-2 を作用させると骨芽細胞と脂肪細胞のどちらにも分化することから、BMP-2 を添加した培地で、MLO-A5 と 10T-GFP を共培養し、骨芽細胞と脂肪細胞の分化パターンについて検討した。

【結果】 MLO-A5 と共培養した 10T-GFP では、単独で培養した 10T-GFP と比較して、骨芽細胞分化の指標とされる Bone Sialoprotein (BSP) と Alkaline Phosphatase (ALP) の発現が顕著に増加した。また、BMP-2 を用いた共培養では、Oil red O 陽性を示す脂肪細胞は観察されず、脂肪細胞分化関連遺伝子の発現が抑制されていた。パッチクランプ法による解析では、共培養した MLO-A5 と 10T-GFP の間において、gap junction が存在することが示された。さらに、gap junction の形成阻害剤によって、共培養による BSP および ALP の発現誘導の抑制が確認できた。

【結論】 骨芽細胞 (MLO-A5) は間葉系幹細胞 (C3H10T1/2) と gap junction を介して、直接連絡し合うことによって、脂肪細胞への分化を抑制し、骨芽細胞への分化を誘導すると考えられる。

SS2-2

骨・軟骨形成過程におけるギャップ結合分子パネキシン3の機能解析

岩本 勉

徳大 院 HBS 小児歯

SS2-3

破骨細胞の分化を調節する免疫関連分子とその検出法

森本 景之

産医大 医 第2解剖

細胞-細胞間、細胞-細胞外基質間の相互作用は組織発生過程において重要な役割を果たす。上皮組織においては、主に細胞-細胞間結合が重要で、かつ細胞-細胞外基質間での相互作用においては、基底膜がその役割を担う。一方、間葉組織においては、主として、細胞を取り囲む細胞外基質との相互作用が、重要な機能を担っている。それらの破綻は組織活動を傷害し、生命予後にも大きな影響を与える程重要な役割を司っている。

これまで骨や歯といった硬組織や軟骨に限局したギャップ結合分子は明らかにされてこなかった。我々はバイオインフォティカル解析手法を用いて、これらの組織に特異的に発現するギャップ結合分子として、Pannexin3 (Panx3) を同定した。Panx3はギャップ結合分子パネキシンファミリーに属し、4回膜貫通型の膜タンパク質である。Panx3は象牙芽細胞、骨芽細胞、軟骨細胞に強く発現し、これらの細胞の増殖と分化に深く関わっていることが示唆された。実際、これらの細胞株においてPanx3の発現を抑制するとその分化が抑制されることが示された。Panx3はこれらの細胞膜上に発現し、細胞内のATPを排出するヘミチャネルとして、機能していることが明らかとなった。その結果、増殖や分化に関わるシグナル伝達経路に影響を与えていることが明らかとなってきた。

このようにPanx3は歯、骨、軟骨の分化において重要な役割を担っており、かつ組織特異性の高い分子であることから、骨系統疾患の標的分子として有効でないかと考え、現在、我々は骨系統疾患に対し、本分子をターゲットとした応用の試みを行っており、そのことについても考察する予定である。

Double-stranded RNA dependent protein kinase (PKR) はウイルス感染やインターフェロン等に応答し、細胞の防御機構に関与する免疫関連分子である。我々は、このPKRが骨芽細胞や軟骨芽細胞の分化を調節することを *in vitro* において明らかとしてきた。また、*in vivo* においてマウス骨組織のTRAP陽性を示す破骨細胞にPKRの発現を認めた。マクロファージの機能や分化へPKRが関与することが報告されているが、破骨細胞におけるPKRの関与については未だ不明である。そこで、破骨細胞分化誘導へのPKRの影響および、RANKLシグナルを細胞内へ伝えるTRAF6とPKRの相互作用を解析した。

PKR変異遺伝子を細胞株RAW264.7に導入し、変異型PKR安定発現細胞をクローニングした。PKR変異細胞をRANKLで刺激すると単核のTRAP陽性細胞は認められたが、TRAP陽性を示す大型の多核細胞はほとんど認められなかった。また、前破骨細胞融合関連分子やNF κ Bの発現は低下し、STAT1の発現は増加していた。これらのことから、PKRの変異は、正常な破骨細胞の分化・成熟を阻害することが判った。そこで、分割蛍光BiFC法を用いて、RANKLシグナル伝達へのPKRの関与について、TRAF6との結合の観点より検討した。BiFC法は結合を調べたい2つの分子に2分割した蛍光タンパク質をそれぞれ付与し、両分子の結合に伴う蛍光タンパク質の再会合を利用し、タンパク質相互作用の有無を解析する方法である。BiFC法による解析の結果、PKRは細胞質でTRAF6と結合し、その結合にはPKRの特定ドメインが重要であることが明らかとなった。以上より、免疫関連分子であるPKRは、TRAF6との結合を通じて破骨細胞分化に関与する可能性が示唆された。本シンポジウムでは、骨組織の形態学的解析において我々の研究室で留意しているポイントについても、紹介させていただきたい。

SS2-4

骨代謝の概日リズムと時計遺伝子
近藤 久貴
愛院大 歯 薬理

生物には地球の自転周期と密接に関連した、約 24 時間周期の生体リズム（概日リズム）が備わっている。骨代謝にも概日リズムが認められるが、その分子機構は未だ解明されていない。哺乳類では概日リズムの中核は視交叉上核に存在し、24 時間周期で発現の増減を示す時計遺伝子により制御されると考えられている。興味深いことに時計遺伝子は中核のみならず、末梢組織にも発現しているが、その機能は十分には解明されていない。近年、我々は骨芽細胞にも時計遺伝子が発現しており、それが自律的に概日リズムを刻むこと、そして糖質コルチコイドや交感神経シグナルによって同期化されることを示した。破骨細胞についても同様の検討を行ったところ、交感神経系よりはむしろ、糖質コルチコイドが破骨細胞の時計遺伝子の同期化に重要であることを明らかにした。さらに、時計遺伝子のみならず、破骨細胞の機能や分化に関連する遺伝子にも概日リズムが存在することを明らかにした。そこで、概日リズム形成の分子メカニズムを解明するため、プロモーター解析と Chip アッセイを行ったところ、それぞれのプロモーター上に時計遺伝子が結合することを確認した。以上の結果は、破骨細胞に発現している時計遺伝子が、破骨細胞の機能や分化の概日リズムを形成していることを示唆している。次に、内因性の糖質コルチコイドの影響を調べるため、副腎摘出 (ADX) マウスの骨組織における遺伝子発現を解析したところ、正常マウスの骨組織で確認された一部の時計遺伝子と骨代謝関連遺伝子の概日リズムが ADX マウスでは消失していた。ADX マウスで消失した骨代謝関連遺伝子の概日リズムは、合成コルチコイドの投与により回復された。以上のことから、糖質コルチコイドが中核の時間情報を末梢骨芽細胞や破骨細胞へ伝達する因子としての役割を担い、さらに、これら末梢細胞の時計遺伝子が、骨代謝の概日リズムを形成していることを示した。

SS2-5

転写因子 NF- κ B による骨形成調節機構について
大澤 賢次
九歯大 歯 分子情報生化

転写因子である nuclear factor κ B (NF- κ B) は、炎症の発症や進行、免疫細胞の分化や機能、癌などさまざまな生命現象に深く関与する。NF- κ B の活性化機構には、Tumor Necrosis Factor α (TNF α) などの炎症性サイトカインにより活性化され、I κ B キナーゼ (IKK) β による I κ B α のリン酸化と分解を伴う古典的経路と、CD40 リガンドや Lymphotoxin (LT) β などのリンパ節形成に関わるサイトカインによって NF- κ B-inducing kinase (NIK) が活性化され、IKK α の活性化を介して NF- κ B2 の p100 から p52 へのプロセシングが起こる非古典的経路が存在する。

これまでに我々は、NF- κ B の古典的および非古典的活性化機構と BMP/Smad シグナルのクロストークを検討した。BMP は転写因子 Smad 依存性に骨形成促進などの生理活性を示すタンパクであるが、Smad シグナルの他に NF- κ B も活性化し、NF- κ B の古典的経路の重要な分子である p65 が Smad と相互作用することによって、Smad 依存性の BMP 活性を抑制することを明らかにした。また、NF- κ B の非古典的経路で重要な NF- κ B inducing kinase (NIK) 遺伝子に不活型変異をもつ aly/aly マウスでは、NF- κ B2 の p100 から p52 へのプロセシングが阻害され、破骨細胞形成の抑制と骨形成の亢進が認められる。aly/aly マウス由来の骨芽細胞などを解析した結果、NF- κ B2 のプロセシングで生じる p52 は BMP 受容体の量的減少を引き起こすことにより、BMP の効果を負に制御していることが明らかになった。これらの結果を基に、NF- κ B の活性化を制御することによって BMP による骨形成を増強できるのではないかと考え、NF- κ B の選択的阻害剤を BMP とともにマウスに移植したところ、BMP による骨形成が強力に促進された。以上より、BMP による骨再生における NF- κ B の阻害をターゲットにした創薬の可能性が示唆された。

SS3-1

唾液分泌における大脳皮質咀嚼野の役割

前田 直人¹⁾、松尾 龍二²⁾

¹⁾岡大 院医歯薬 咬合・有床義歯補綴、²⁾岡大 院医歯薬 口腔生理

連続電気刺激によってリズムカルな顎運動を誘発する大脳皮質領域は皮質咀嚼野と呼ばれ、さまざまな動物で確認されている。ラットでは、電気刺激によってパターンの異なる顎運動を誘発する2つの皮質咀嚼野が存在する。そのうち第一次運動野に位置するA-areaは、電気刺激によって速いリズムで単純な上下方向の顎運動が生じる。また、島皮質腹側部に位置するP-areaは、電気刺激によって側方および前後方向に複雑な顎運動が生じる。大脳皮質咀嚼野は単に顎や舌のリズムカルな運動だけでなく、唾液分泌にも関与するいわゆる「咀嚼」の中核であるという概念が提唱されている。しかし、唾液分泌における大脳皮質咀嚼野の役割については未だ不明な点が多い。

咀嚼時の唾液分泌については、2つの神経機序の関与が考えられる。ひとつは下位脳に存在する反射回路である。すなわち除脳動物でも、味覚や口腔粘膜などの感覚が唾液分泌を誘発する。今一つは大脳皮質咀嚼野から下行性に唾液核に至る経路である。

上記の点を考慮して、麻酔下におけるラットの異なる2つの大脳皮質咀嚼野(A-areaとP-area)を電気刺激したときに生じる顎運動と唾液分泌を同時に記録した。その結果、1)唾液分泌はP-areaの刺激のみで誘発され、A-areaの刺激では誘発されなかった。2)動物を非動化してP-areaを刺激すると、顎運動が停止していても唾液分泌が誘発された。3)本実験条件下では口腔内に食物が無い状態であったが、P-area誘発性の唾液分泌量は無麻酔下で固形飼料を摂取中の唾液分泌量の約7割に達していた。以上の結果から、大脳皮質咀嚼野(P-area)は、顎や舌の運動だけでなく唾液分泌の制御にも大きく関与することが判明した。

SS3-2

口腔咽頭領域への化学刺激がもたらす嚥下機能の変調効果

中村 由紀

新大 院医歯 摂食・嚥下リハ

嚥下は口腔内に取り込まれた食物や飲料水を、咽頭・食道を経て胃に送り込む半自働運動である。この運動は、食物の移送のみならず、分泌物や微粒子等から上気道を守る防御機能も併せもつ。嚥下の神経制御は複雑で、脳幹の嚥下中枢、多くの脳神経、筋群間・両側間の階層的な一連の神経筋活動から成り立っており、神経生理学的にも動作学的にも興味が集められ、基礎的な研究が精力的に行われてきた。意識的に起こす嚥下を随意性嚥下といい、大脳皮質および皮質下の種々の部位からの入力が必要な役割を担っている。一方、末梢の嚥下誘発領域への適刺激によって反射性に起きる嚥下を反射性嚥下といい、咽頭や喉頭粘膜の感覚受容器からの末梢性感覚入力が延髄の嚥下中枢の神経細胞に収束することによって引き起こされる。後者については、これまでも動物やヒトを対象として様々な知見が得られており、上喉頭神経や咽頭神経叢への電気刺激、またはその支配領域への機械刺激や化学刺激などが嚥下誘発に有効であることが報告されている。一方、口腔または三叉神経領域への刺激のみでは嚥下反射の誘発は難しいとされているが、感覚刺激が嚥下運動に変調をもたらすことも示唆されている。

我々は、ヒトの口腔もしくは咽頭領域へ経口的に挿入した極細のシリコンチューブを介して各種条件で溶液注入し、嚥下運動の記録解析を行った。本研究手法において用いた感覚刺激様式は、口腔や咽頭領域の限局部位に極微量の溶液を注入しているため、溶液内容に依存した化学刺激単独の効果をより明確に評価することが可能となった。その結果、咽頭への水(蒸留水)刺激が嚥下誘発促進に寄与していること、溶液別に比較すると嚥下誘発への効果に差があることが明らかとなった。また、刺激領域を比較しても、口腔と咽頭では変調効果の様式に違いを認めた。

今回は、嚥下を感覚と運動の統合機能とみなして、嚥下誘発領域への化学刺激の変調効果についてこれまでの知見を紹介するとともに、その臨床的意義についても考察する。

SS3-3

歯牙交換の分子生理学的メカニズムと
歯牙交換異常の病態生理学

福島 秀文

福歯大 細胞分子生物 細胞生理

Notch2 シグナル系が重要な役割をもち、その破綻が破歯細胞の誘導異常や歯牙交換異常をきたすことが明らかとなってきた。

乳歯の生理的歯根吸収は、成長に伴う乳歯列から永久歯列への交換過程において重要な役割を果たしており、その異常は永久歯列の異常につながる。乳歯の歯根吸収は破歯細胞によって引き起こされるが、その誘導制御機構の多くは未だ不明である。

これまで我々は、破歯細胞が破骨細胞とその特徴を多くの点で共有する細胞であることや、その分化誘導には破骨細胞の必須分化因子である RANKL (Receptor Activator NF- κ B Ligand) が破歯細胞に発現する RANK (RANKL 受容体) に作用することが重要であることを明らかにしてきた。一方で、この破歯細胞の誘導は乳歯の生理的歯根吸収期や乳歯歯根部に限局して起こることより、破骨細胞とは異なる特異的な制御メカニズムの存在が考えられる。そこで、乳歯の生理的歯根吸収が後続永久歯の萌出に伴い引き起こされることから、萌出中の永久歯胚から分泌され、歯胚萌出に必須の役割を果たす PTHrP (Parathyroid Hormone related protein) に着目し、乳歯根周囲の歯根膜に対する作用を検討した。その結果、PTHrP は歯根膜における RANKL 発現を上昇させ破歯細胞の誘導を促進した。さらに、乳歯の歯根膜細胞に PTHrP が作用する際に発現する遺伝子のプロファイルを検討した結果、Jagged1 の発現上昇が認められた。一方で、我々は破骨細胞の分化誘導において、この Jagged1 が Notch2 シグナルを活性化すると共に、RANKL シグナルと協調して破骨細胞分化を正に制御することを明らかにした。これらのことから、永久歯胚から分泌される PTHrP が、乳歯根膜細胞の Jagged1-Notch2 シグナル系を介して乳歯の生理的歯根吸収を制御する可能性が示唆される。

近年、この Notch2 の変異が Hajdu-Cheney 症候群 (HCS) の原因遺伝子であることが明らかとなり、HCS 患者では重度の骨粗鬆症と乳歯の早期脱落が報告されている。この病態には破歯細胞および破骨細胞の分化亢進が予想されることから、Notch2 の HCS 変異と破骨細胞分化との関係を検討した。その結果、Notch2 の HCS 変異は、ユビキチンライゲース複合体である SCF^{FBW7} による Notch2 タンパクの量的制御機構から免れることにより Notch2 タンパクの量的異常が生じ、破歯細胞および破骨細胞分化が亢進することが分かった。以上のように、乳歯の生理的歯根吸収には、歯根膜細胞における Jagged1-

SS3-4

顎顔面口腔領域における異所性痛覚過敏の末梢神経機構

篠田 雅路

日大 歯 生理

SS4-1

圧縮力による骨細胞のアポトーシスに対する CTGF/CCN2 の役割

山本 照子

東北大 院歯 顎口腔矯正

下顎歯の歯髄炎や歯周炎が原因で、健全な上顎歯の歯痛、頭痛あるいは舌痛を訴える症例に時折遭遇するが、このような疾患の原因部位から離れた部位に疼痛が発症する機構は不明な点が多い。一般に、このような顎顔面口腔領域における異所性疼痛は、各領域からの一次侵害受容ニューロンの延髄への投射部位における収束に起因する（収束説）と考えられている。しかし、三叉神経脊髄路核尾側亜核における三叉神経各枝からの投射は、収束が少なく顎顔面口腔領域における異所性疼痛の発症機構の説明にはならない。最近、顎顔面口腔領域の感覚神経の細胞体およびグリア細胞が存在する三叉神経節内で、さまざまな情報伝達が行われ、一次侵害受容ニューロンの興奮性調節に関与していることがわかってきた。我々は、三叉神経第Ⅲ枝領域の局所炎症により放出された Nerve growth factor (NGF) が三叉神経節へ軸索輸送され、パラクライン機構により三叉神経節内に分泌されること、分泌された NGF シグナルにより Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 陽性の三叉神経第Ⅱ枝領域投射ニューロン数が増加し熱痛覚過敏が発症することを明らかにした。また、歯髄炎が発症すると三叉神経節においてグリア細胞である Satellite cell が強く活性化し、その活性化が隣接する健全歯の歯髄に投射している一次侵害受容ニューロンにおける TRPV1 の発現を増加させることにより、健全歯に痛覚過敏が発症することを突き止めた。さらに、炎症を起こした歯髄において誘導された Heat shock protein 70 が三叉神経節へ軸索輸送され三叉神経節内に分泌され、近傍の一次侵害受容ニューロンの興奮性を調節していることもわかった。

本シンポジウムでは、三叉神経節内の情報伝達機構についてわれわれの研究結果を中心に最新の報告も交え、顎顔面口腔領域における異所性痛覚過敏の発症機構について考察したい。

機械的刺激は生体の生理的反応や恒常性の維持に必須な因子であり、生体内の様々な細胞が機械的刺激に応答してシグナル伝達が行われている。骨リモデリングは骨芽細胞と、破骨細胞により調節されているが、近年、骨細胞の働きが注目されてきた。骨細胞は細い突起を多数持ち、硬い骨組織のなかで細胞性ネットワークを形成しており、機械的刺激を感じし伝達するメカノセンサーとしての役割を果たすと考えられている。しかし、圧縮力に対する応答性については検討されて来なかった。

結合組織成長因子 (CTGF) とも称される CCN2 は、マトリセルラータンパク質の一つであり CCN ファミリーに属する。CCN2 は細胞増殖、走化性、接着、細胞外基質形成、分化、生存など細胞の種類により様々な機能が報告されている。

我々は、マウスの歯の移動時に、歯槽骨圧迫側の骨細胞で CCN2 遺伝子の発現が上昇し、その後、骨細胞のアポトーシスが増加することを見だし、骨細胞のアポトーシスには CTGF が関与することを示唆した。骨細胞のアポトーシスは骨リモデリングにおいて重要な働きをすることを考えられているが、そのメカニズムは不明な点が多い。そこで、ニワトリ胚頭蓋骨由来の培養骨細胞に対し圧縮力負荷を行い、骨細胞のアポトーシスのメカニズムについて CTGF の関与に着目し *in vitro* で検討した。その結果、圧縮力を負荷すると、骨細胞における CTGF の産生が亢進され、いくつかのアポトーシス経路が活性化された。さらに、圧縮力による骨細胞のアポトーシスには CTGF のシグナル経路である ERK のリン酸化を介することが明らかとなった。

骨吸収には種々のメカニズムが複合して関与しているが、骨への圧縮力によって骨吸収が生じる場合、骨細胞が速やかに応答して CTGF の産生を亢進することで、ERK のリン酸化を来し、骨細胞のアポトーシスが誘導され、それが破骨細胞による骨吸収を促進させると考えられる。

SS4-2

ヒト象牙質・歯髄複合体におけるメタロプロテアーゼと CTGF/CCN2 発現
室町 幸一郎¹⁾、神尾 直人¹⁾、松島 潔^{1,2)}
日大 松戸歯 歯内¹⁾、日大 口科研²⁾

象牙質と歯髄はともに歯乳頭に由来する細胞によって形作られるだけでなく、機能的な複合体を構築しており、う蝕などの外的刺激が象牙質に加わると歯髄にも病理的反応が伝播し、その応答として第三象牙質（反応性象牙質および修復象牙質）が既存の象牙質に添加されるように、両組織は一単位の組織として捉えることができ象牙質・歯髄複合体と呼ばれている。

私たちの研究グループは、ヒト象牙質・歯髄複合体の治癒過程におけるプロテアーゼの役割を研究する中で、dentin sialophosphoprotein (DSPP) を dentin phosphoprotein (DPP) と dentin sialoprotein (DSP)/dentin glycoprotein (DGP) 複合体に分解するプロテアーゼである bone morphogenetic protein-1 (BMP-1) がヒトう蝕歯の修復象牙質に発現することを明らかにした。BMP-1 は他の BMP ファミリーとは異なりプロテアーゼ活性を有し、astacin ファミリーに分類されるメタロプロテアーゼである。さらに検討を加えた結果、ヒト歯髄培養細胞において BMP-1 はプロテアーゼ活性に非依存的に connective tissue growth factor / CCN family 2 (CTGF/CCN2) の発現を促進することを見出した。

また、同じくメタロプロテアーゼであり、窩洞形成や断髄後の歯髄において発現が亢進する matrix metalloproteinases-3 (MMP-3) が、ヒト歯髄培養細胞において CTGF/CCN2 の発現および分泌を促進し、その際に MMP-3 のプロテアーゼ活性は必要なく、dynamamin 依存性のエンドサイトーシス経路を介する可能性があること、MMP-3 によるヒト歯髄培養細胞の遊走促進作用が CTGF/CCN2 を介することを過去に報告している。

以上の結果は、ヒト象牙質・歯髄複合体において BMP-1 および MMP-3 が基質となるタンパク質の分解だけでなく、プロテアーゼ活性非依存的にリガンドとして細胞に作用を及ぼす可能性があるものと示唆される。

SS4-3

歯肉上皮細胞に対する低出力超音波パルス照射の影響について
正木 千尋、向坊 太郎、近藤 祐介、
中本 哲自、細川 隆司
九歯大 口腔再建リハ

低出力超音波パルス (Low-intensity pulsed ultrasound stimulation: LIPUS) 照射は、*in vivo* においてインプラント体と周囲骨の早期のオッセオインテグレーションを可能とし、臨床においても治療の短縮や、骨欠損部への新生骨の獲得のために応用されているものの、周囲軟組織に及ぼす影響については明らかにされていない。そこで本研究では軟組織の治癒促進に対し、LIPUS の影響を明らかにするため、マウス由来株化正常歯肉細胞 (GE1 cell) を用いて組織修復や細胞増殖、血管新生に関わる重要なサイトカインである CCN2/CTGF の遺伝子発現およびタンパクレベルでの検討を行った。GE1 cell を 6 穴のプラスチックディッシュ上に SFM-101 培地中で培養した。培養開始後 1 日目から周波数 3 MHz、出力 240 mW の LIPUS を 15 分間照射した。照射直後、15 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後 RNA を回収し、リアルタイム PCR 法を用いて CCN2/CTGF の mRNA 発現量の検討を行った。また、Western blotting 法を用いてタンパク量の検討を行った。さらに、LIPUS 照射直後、15 分、30 分、45 分、60 分後に細胞を回収し、MAPK (ERK, p38) の活性化の検討を行った。その結果、照射直後、15 分後に CCN2/CTGF の mRNA 量の増加が認められ、LIPUS 照射 60 分後にタンパク量の増加が認められた。一方、LIPUS 照射 30 分後に ERK および p38 のリン酸化の亢進がみられた。以上の結果から、LIPUS 照射により、CCN2/CTGF の mRNA 量およびタンパク量の増加が認められ、臨床における軟組織治癒促進効果との関連が示唆された。

SS4-4

軟骨細胞における CCN2 発現及び産生量に与える低出力性超音波 (LIPUS) の効果

西田 崇¹⁾、久保田 聡¹⁾、青山絵理子²⁾、山中 信康³⁾、滝川 正春¹⁾
¹⁾岡大 院医歯薬 口腔生化、²⁾岡大 歯 機能系共同利用、³⁾伊藤超短波 (株)

【目的】我々は CCN family member 2/結合組織成長因子 (CCN2/CTGF) が軟骨細胞の増殖・分化を促進すること、実験的変形性関節症 (OA) モデルにおいて軟骨修復作用を示すことを報告した。それ故、我々は CCN2 が OA 治療に有効な分子になると考えているが、その投与方法を模索していた。ところで、低出力性超音波療法 (Low-intensity pulsed ultrasound: LIPUS) は簡便に低侵襲性に細胞に刺激を与え得る方法であるため、今回、LIPUS 刺激した軟骨細胞で CCN2 の発現・産生が亢進するかを解析し、LIPUS による CCN2 の新しい投与方法の可能性について検討した。

【方法】ヒト軟骨細胞様細胞株 HCS-2/8、ラット軟骨細胞様細胞株 RCS、ラット初代関節軟骨細胞 RAC を超音波治療器 (ST-SONIC: 伊藤超短波社製 3.0 MHz, 30-60 mW/cm²) で 20 分間刺激した。刺激終了後 30 分で total RNA を、5 時間でタンパク質を採取し、定量 RT-PCR 及び Western blot 法で CCN2 の発現及び産生量を解析した。また、F-actin は Phalloidin を用いた蛍光染色で検出した。

【結果】HCS-2/8、RCS、RAC 細胞共に LIPUS 刺激 (3.0 MHz, 60 mW/cm², 20 分) によって CCN2 の遺伝子発現量及びタンパク質産生量は増加した。また、LIPUS 刺激後時間経過と共に HCS-2/8 細胞周囲に F-actin の集積がみられた。さらに、actin 重合に関わる Rho A 経路の阻害剤処理によって LIPUS で誘導された CCN2 の遺伝子発現レベルは減少した。

【考察】これらの結果は LIPUS 刺激による Rho A 経路の活性化を介して、軟骨細胞に F-actin の重合促進と CCN2 の産生亢進が引き起こされたことを示唆している。今回の結果から LIPUS は軟骨細胞に低侵襲性に CCN2 を投与できる新しい方法であると考えられた。

SS4-5

CCN4/WISP-1 の骨形成における役割
 大野 充昭¹⁾、前田あずさ^{1,2)}、正木明日香¹⁾、吉岡 裕也¹⁾、園山 亘¹⁾、窪木 拓男¹⁾、Marian F. Young

¹⁾岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、²⁾NIDCR/NIH

CCN4/Wnt-Induced Secreted Protein-1 (WISP-1) は、骨折の治療過程や骨分化過程において高発現することが報告されているが、CCN4 が骨形成に与える影響は未だ明らかでない。本研究では *in vivo* での CCN4 の機能、および骨の形成や再生、組織の形態維持に重要な役割を担っている BMP-2 との関係性を明らかにしたので報告する。Col 1a1 プロモーターを用いた CCN4 過剰発現 (Tg) マウス、ならびに CCN4 欠損 (KO) マウスを作製し、CCN4 の骨形成に与える影響を micro-CT を用いて検討した。その結果、Tg マウスでは大腿骨の骨密度 (BMD) ・海綿骨骨量 (BV/TV) の増加、KO マウスでは大腿骨の BMD ・BV/TV の減少を認めた。さらにこれら Tg マウス、および KO マウスから骨髄由来間葉系間質細胞 (mBMSCs) を単離し、それぞれの BMSCs の骨芽細胞分化能を検討した。その結果、野生型マウス由来 BMSCs と比べ、Tg マウス由来 BMSCs は骨芽細胞分化能が高く、KO マウス由来 BMSCs は低かった。

次に、CCN4 と BMP-2 の関係を明らかにするため、固相化結合実験および免疫沈降実験を行い、CCN4 と BMP-2 が直接結合することを確認した。また、ヒト骨髄由来間葉系間質細胞 (hBMSCs) に CCN4 および BMP-2 を強制発現させ、hBMSCs の骨芽細胞分化能を検討した。その結果、CCN4 は BMP-2 によって誘導される Smad シグナルのリン酸化および骨芽細胞分化を増強させた。さらに、shRNA にて CCN4 の発現を抑制することで、BMP-2 によって誘導される Smad シグナルのリン酸化および骨芽細胞分化は抑制された。また、これら CCN4 の BMP-2 に対する機能は integrin α 5 β 1 によって制御されていることが、抗体を用いた阻害実験により示された。

以上の結果から、CCN4 は BMP-2 による BMSCs の骨芽細胞分化を正に制御することで骨形成を促進することが明らかとなった。

SS5-1

歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生治療の実用化に向けて
中島美砂子
国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター

超高齢社会を迎え、歯髄を保存することは、歯の延命化による全身の健康維持、医療・福祉経済の安定化につながる重要なことである。私どもは、抜髄・感染根管治療に対して、「歯髄幹細胞および遊走因子 G-CSF を用いた新規の歯髄・象牙質再生治療法」の開発を行ってきた。まず、歯髄幹細胞を臨床応用するために、従来のフローサイトメトリーや磁気ビーズ法にかわる安全で安価、高効率の幹細胞膜分取法を新規に開発した。ついで、GMP 準拠細胞加工施設内で標準作業手順書 (SOP) に基づきヒト歯髄幹細胞を分取・培養、凍結保存し、安全性と品質を確認した。また、イヌ非臨床研究での抜髄後自家歯髄幹細胞移植による歯髄・象牙質再生の安全性および有効性を確認し、その再生メカニズムも明らかにした。これらの結果により厚生労働省から臨床研究実施を認可され、現在、臨床研究を行っている。さらに、同一個体由来のブタあるいはイヌ歯髄幹細胞を骨髄・脂肪と比較したところ、歯髄幹細胞は増殖、遊走能が高く、血管新生・神経栄養因子を高発現していた。また、血管新生・神経再生能および歯髄再生能に優れていた。ただし、脂肪・骨髄幹細胞を用いても歯髄・象牙質再生は可能であり、歯髄を供給する歯がない場合は脂肪・骨髄幹細胞が歯髄再生のための細胞源となりうる。さらに、高齢においても若齢と同様の形質と再生能を有する歯髄幹細胞を分取できたが、イヌ抜髄モデルに自家移植した場合の歯髄再生量はやや劣っていた。またイヌ感染根管モデルにおいても、抜髄モデルと同様に歯髄は再生された。以上のことから、幹細胞形質および再生能に優れた歯髄幹細胞を抜髄・感染根管治療後の歯髄・象牙質再生治療に臨床応用する可能性が示唆された。

SS5-2

再生医療資源としての歯髄細胞利用
手塚 建一
岐阜大 院医 組織形成

Human dental pulp cells (DPCs) are present in the cell population isolated from dental pulp tissues (Gronthos *et al.*, PNAS 2000, JDR 2002; Takeda *et al.*, JDR 2008; Iida *et al.* Arch. Oral Biol. 2010). We reported that viral introduction of four transcription factors (*OCT3/4*, *SOX2*, *KLF4*, and *c-MYC*) can reprogram DPCs into induced pluripotent stem (iPS) cells, which closely resemble embryonic stem cells (Tamaoki *et al.*, JDR 2010, Okita *et al.* Nature Methods 2011). However, establishing quality-controlled iPS cell lines from a large number of individual patients is not easy and validation of them requires considerable time and cost.

Human leukocyte antigen (HLA) plays an important role in immune rejection of tissues and cells transplanted from allogenic donors. In recent days, tissue transplantation is conducted without complete matching of HLA because of shortage of the donors. Instead of matching HLA types, immunosuppressants are frequently used to prevent immune reaction both host to graft and graft to host directions; however, when the immune system function is suppressed, there is an increased susceptibility to infectious diseases and cancers.

To solve this problem, usage of HLA haplotype-homo donors has been considered in tissue regenerative treatment. HLA haplotype-homo donors have a couple of identical HLA gene sets, resulting in presentation of HLA molecules half in the variation. Therefore, iPS cells derived from HLA haplotype-homo donors are expected to be successfully transplanted to many patients with less possibility of rejection. Potential risk of GVHD will be omitted by strictly avoiding the contamination of hematopoietic cells. We screened approximately 180 DPC lines to find three patients having only one genotype in each of three HLA loci, A, B, DRB1. If iPS cells will be established from these three patients, they are expected to show complete match with more than 20% of the Japanese population.

We believe that DPCs are one of the somatic cell sources for future iPS cell banking and regenerative medicine.

SS5-3

ヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清を用いた難治性全身疾患に対する新しい再生療法の開発

山本 朗仁

名大 院医 頭頸部・感覚器外科・歯科口腔外科

幹細胞移植による再生医療は、様々な難治性疾患に高い治療効果を発揮することが期待されている。しかしながら、移植細胞の生着率は低く、治療効果の多くは幹細胞が分泌する様々な組織再生因子によるものであることが明らかになってきた。本研究では、ヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清 (CM) の組織再生能力を、ラット脊髄損傷および劇症性肝炎モデルを用いて検証した。ヒト歯髄幹細胞 CM を損傷したラット脊髄にも膜下腔に持続投与すると下肢運動機能が劇的に改善することを見出した。一方、ラット劇症肝炎発症後に歯髄幹細胞 CM を 1 回静脈内投与し、著しい生存率の向上と病態改善を確認した。両モデルシステムにおいて、骨髄間葉系幹細胞 CM、脂肪幹細胞 CM、線維芽細胞 CM の投与では十分な治療効果が得られなかった。詳細な解析によって、歯髄幹細胞 CM はミクログリア、マクロファージ、クッパー細胞などの自然免疫担当細胞を抗炎症・組織修復タイプへと形質転換し、損傷後の組織破壊的な炎症環境を修復・再生環境へと導き治癒を促進することが明らかとなった。これらの研究成果は、歯髄幹細胞が他の幹細胞に無い特異な組織再生効果を発揮する成体幹細胞であることを示している。本シンポジウムではこれらの研究成果を踏まえた臨床応用への道筋について議論する。

SS5-4

凍結ヒト歯髄組織の臨床応用の可能性

山座 孝義

九大 院歯 分子口腔解剖

現在、疾患の再生医療に対する幹細胞の応用が非常に期待されている。造血幹細胞は半世紀以上に渡り様々な疾患治療 (白血病や再生不良性貧血、自己免疫疾患など) に用いられ、優れた治療成果を上げており、唯一広く臨床応用されている組織幹細胞 (成体幹細胞) である。組織幹細胞の一種である間葉系幹細胞は様々な成体組織 (骨髄、脂肪組織、歯など) から単離・同定される一方、間葉系幹細胞を用いた疾患治療も精力的に報告されている。しかし、間葉系幹細胞を用いた臨床応用を考える場合、細胞の品質や安全性の担保、保存法など様々な問題点を克服する必要が残されている。

歯髄幹細胞は永久歯や乳歯の歯髄より単離される間葉系幹細胞である。現在までに歯髄幹細胞は象牙質/歯髄複合体の再生のみならず、骨欠損や自己免疫疾患、脊髄損傷などへの疾患治療効果が報告されており、将来歯髄幹細胞を用いた再生治療への応用が大いに期待されている。一方で、歯髄からの幹細胞単離は複雑で時間を有する作業である。従って歯髄組織そのものを凍結保存することが可能となれば歯髄幹細胞の供給源として非常に有用である。

本シンポジウムでは、我々が2年以上に渡り凍結保存していたヒト歯髄組織を用いて、長期凍結歯髄組織より単離した幹細胞の幹細胞学的機能解析ならびにその幹細胞を用いた疾患治療効果について議論を進める予定である。

SS6-1

胎仔マウス顎下腺の組織間における
microRNA 輸送

林 徹

朝日大 歯科薬理

近年、生体内で多彩な non-coding RNA が発現していることが分かり、これまで知られていなかった RNA の振る舞いが明らかになってきた。とりわけ小分子 RNA の一種、microRNA (miRNA) については比較的解明が進んでいる。miRNA は 20 塩基前後の RNA で、タンパク質と複合体を形成し標的とする遺伝子の発現および翻訳を調節することで、様々な高次生命現象に関与している。興味深いことに、様々な細胞が miRNA を分泌し別の細胞によって取り込まれていることが明らかになった。取り込まれた miRNA は「受け手」の細胞の遺伝子発現を調節していたため、miRNA はホルモンなどと同じく mobile signal として細胞と細胞間のコミュニケーションを仲介していることが示唆されている。しかしながら細胞間だけでなく組織間や器官間など、より高次の生体構造における miRNA コミュニケーションの報告例はなく、今後の進展が期待される分野である。

胎生期のマウス顎下腺は主に上皮と間葉から構成される器官であり、それら組織間の相互作用を研究するうえで良いモデル器官として知られてきた。これまでに様々な成長因子やその受容体、細胞外マトリックスなどが相互作用に関与することがわかっているが、miRNA については明らかになっていない。そこで演者は miRNA が mobile signal として上皮間葉相互作用に関与しているのではないかと仮説を立てた。いくつかの実験の結果、胎仔マウス顎下腺の上皮間葉間で miRNA が移動していることが示唆された。本発表では得られた知見を紹介し御批判を頂戴しながら、組織間 miRNA 輸送という仮説、その生物学的意義や今後の展望について議論出来たらと考えている。

SS6-2

プロトンポンプ (V-ATPase) は唾液
分泌にどのように関わるのか佐原 資謹¹⁾、堀江 沙和^{1,2)}、大宮
麻美^{1,3)}、梅木 悠人^{1,3)}、後藤 (松元)
奈緒美³⁾、中西 (松井) 真弓³⁾¹⁾岩医大 病態生理、²⁾岩医大 医歯薬
総研 腫瘍生物、³⁾岩医大 薬 機能
生化

V 型プロトンポンプ (V-ATPase) には、リソソーム、エンドソーム、シナプス小胞などの細胞内膜に存在してオルガネラの酸性化に関与するタイプと、腎臓や精巣、膵臓の β 細胞などの内分泌腺、破骨細胞などの細胞膜に存在し細胞外環境の酸性化に関与する 2 つのタイプがある。細胞質側にあり ATP 結合部位をもつ V_1 ドメイン (A~H サブユニット) と、膜内にあり H^+ 輸送路をつくる V_0 ドメイン (a, c, c', c'', d サブユニット) とが合体して、V-ATPase 機能を発揮することが知られている。各々サブユニットにはアイソフォームが存在し、組織・細胞により発現が異なる。唾液腺では、V-ATPase の局在、機能ともに未だ明らかでない点が多い。そこで、大唾液腺における V-ATPase の存在を RT-PCR 法で検索したところ、a3, d1, B2, C1, E2 サブユニット・アイソフォームの発現が認められた。B2 サブユニット・アイソフォームの局在を免疫組織化学法で検索した結果、大唾液腺導管部に局在して強い免疫蛍光が見られた。耳下腺では、導管上皮細胞の頂部および細胞質に、舌下腺では導管上皮細胞の細胞質に、顎下腺では導管上皮細胞の細胞質に加えて顆粒性導管上皮の基底部に免疫蛍光が見られた。さらに、a3 サブユニット・アイソフォームのノックアウトマウス (a3-KO マウス) を解析したところ、唾液の分泌量が a3-KO マウスでは明らかに減少し、唾液の pH はコントロールマウスに比べて酸性化した。大唾液腺重量の減少はみられるものの、組織構造に大きな変化はみられなかった。唾液腺導管部上皮では、腺房から分泌された原唾液の $NaCl$ 吸収と、 K^+ と HCO_3^- の分泌が起こることを考え合わせると、唾液腺導管部の V-ATPase は唾液の pH 調整に関与する可能性が示唆される。

SS6-3

耳下腺における唾液タンパク質の分泌
顆粒への輸送機構

吉垣 純子、福島美和子、横山 愛、
加藤 治
日大 松戸歯 生理

SS6-4

唾液中のエキソソームと病気診断—水
チャンネル・アクアポリン-5 を中心にし
て—

石川 康子、Pieczonka Tomasz、
Bragiel Aneta
徳大 院 HBS 分子薬理

唾液分泌能が低下すると、唾液中の抗菌・保護物質が失われ、口腔内疾患のリスクが高まる。唾液腺は口腔内から導管を通して逆行的に遺伝子導入を行うことができるため、唾液腺に有用物質を強制発現・分泌させる治療法が提案されている。一方、口腔内や消化管に必要な抗菌・保護タンパク質だけでなく、血液を介して全身へ供給されるタンパク質を唾液腺に発現させることも可能であると考えられており、全身疾患の治療への応用が期待されている。

しかし、有用タンパク質を発現させても、必要な場所へ供給できなければ効果は期待できない。唾液腺には外分泌的に口腔内・消化管内へ供給される経路と、内分泌的に血液に供給される経路が存在する。唾液タンパク質は分泌顆粒に貯留され、刺激依存的に管腔に分泌される（調節性分泌）。一方、合成された後、細胞内に貯留することなく直ちに分泌されるタンパク質も存在し、構成性分泌と呼ばれている。構成性に分泌されるタンパク質は、多くが基底膜側、つまり血中に放出されると考えられている。そこで、唾液腺内で合成されたタンパク質が調節性分泌と構成性分泌へ振り分けられるメカニズムを知ることが重要になる。

我々は、分泌タンパク質の細胞内輸送を解析するために、耳下腺腺房細胞の初代培養細胞にリポータータンパク質である HaloTag を発現する系を開発した。分泌タンパク質と HaloTag の融合遺伝子を導入し、2つの経路への選別機構について検討を行った。その結果、唾液アミラーゼのシグナルペプチド配列のみを付加した HaloTag (ssHalo) が分泌顆粒へ輸送され、刺激依存的に分泌されることを見いだした。シグナルペプチド配列はタンパク質合成後、小胞体で切断されるため、ゴルジ装置で選別を受ける際には、ssHalo は単なる HaloTag になっている。したがって、調節性分泌への輸送には、特別なシグナルが必要ないことが示唆された。

エキソソーム(exosome)はエンドソームから形成された脂質二重膜小胞であり、多胞体エンドソーム(multivesicular body)内に含まれており、多胞体が細胞膜と融合するとエキソソームが細胞外に放出されることが知られている。血清、母乳、尿、唾液等にエキソソームの存在が認められている。そして、これらのエキソソーム中の蛋白質がプロテオーム解析され、病気診断に使われている。

Gonzalez-Begne らはヒト耳下腺唾液よりエキソソームを得、ショットガン法により解析して、ヒト耳下腺唾液エキソソームには 491 種の蛋白質が含まれており、そのうち 26% が膜蛋白質、43% が細胞質蛋白質である。Ogawa らはヒト全唾液を二次元電気泳動やショットガン法により直径の違いから二種類のエキソソームを得、どちらのエキソソームにも I 型、II 型、4~7 回膜貫通型膜蛋白質は含まれているが、アミラーゼやプロリン・リッチ蛋白質は含まれていないこと等を報告した。

両研究において唾液中エキソソームに存在が認められているアクアポリン-5(AQP5)は、昼間に濃度が高く、夜間に低い日内リズムを示しながら唾液へと放出されていた。この唾液中 AQP5 濃度は、ある一定時間(9AM~9PM)に測定すれば、成熟後は加齢とともに低下した。糖尿病やシェーグレン症候群の患者唾液中においても低下した。また、唾液中 AQP5 濃度は、唾液量とよい相関を示していることから、口腔乾燥症のバイオマーカーとして使い得る。さらに、唾液中の AQP5 量は塩酸ドネベジルを服用したアルツハイマー型痴呆患者の唾液で増加することから、ドネベジルの飲み忘れをチェックするマーカーに利用できる。

次に、唾液中エキソソームに存在が認められた Na チャネル(ENaC)と Cl チャネル(CLC-Ca)は高食塩水飲用 SHR ラットの唾液エキソソームで濃度低下が認められなかったことから、食塩感受性と非感受性高血圧を分けるマーカーとして使える可能性がある。

唾液のプロテオーム解析による病気診断法は、まだ知見が少なく、今後の開発が待たれる。(会員外共同研究者 大塚製薬株・岩田房子、大本安一、森豊樹)

SS6-5

ウイルスベクターを使った唾液腺へ遺伝子導入とイメージング解析への応用
谷村 明彦、根津 顕弘、森田 貴雄
北医大 歯 薬理

唾液腺の水・電解質分泌は、主にムスカリン受容体を介する Ca^{2+} 応答によって調節されている。ライブイメージング技術を使ったこれまでの研究で、唾液腺腺房細胞における Ca^{2+} ウェーブや Ca^{2+} オシレーション、唾液腺導管における自発的 Ca^{2+} オシレーションなどの知見が得られてきた。我々はアデノウイルスベクターをラット顎下腺開口部から逆行性に注入し、蛍光タンパクを腺房細胞に発現させる技術を確認した。この技術によって、蛍光分子センサーや機能調節に関与する分子を唾液腺細胞に発現させることが可能になった。これによって生きた動物を使った intravital イメージング解析が可能になった。さらに遺伝子導入による唾液腺腺房細胞の機能制御の可能性が期待される。

本サテライトシンポジウムでは、顎下腺細胞に発現させた G-GECO や YC-nano50 等の Genetically Encoded Calcium Indicators (GECI) の蛍光変化を、様々なイメージングシステムを使った intravital イメージング解析で調べた結果を紹介する。特にマクロズーム蛍光顕微鏡を使った実験では、顎下腺全体の Ca^{2+} 応答と同時に、レーザーベックル血流計を使った血流のイメージング解析が可能である。この実験系を使った解析結果から、アセチルコリンやピロカルピンの腹腔内投与や静脈内投与に加えて、舌神経を介する反射的副交感神経刺激による顎下腺の Ca^{2+} 応答や血流反応を比較する。これらに加えて、共焦点レーザー顕微鏡を使った高解像度イメージングやタッチスコープを使った低侵襲的 intravital イメージングの実例を示す。また分子センサーと遺伝子導入系の新しい試みとして、アデノ随伴ウイルスを使って蛍光センサーを安定発現させた実験系や、高輝度発光センサーを使った発光イメージング解析の結果を紹介する。さらに、これらの技術を応用した唾液腺の病態解析や、遺伝子を使った唾液腺の機能制御の可能性について考察する。

SS6-6

唾液腺における GABA 受容体機能の新しい展開
川口 充
東歯大 薬理

The past decade has significant advances in understanding xerostomia via GABA (A)-like receptors and central or peripheral type benzodiazepine receptors (CBR or PBR) existing in the salivary glands. The stress-induced xerostomia seems to be associated with an elevation of the plasma steroid hormone levels, which exert potent physiological effects by allosterically modulating not only synaptic but also extrasynaptic GABA (A) receptors. Recent our studies, however, have demonstrated that both the methamphetamine withdrawal stress and the benzodiazepine stimulation upregulate steroidogenesis in salivary glands through PBR which mediate to produce CYP11A1, an enzyme synthesizing pregnenolone from cholesterol. Interestingly, they simultaneously increased in mRNA expressions and peptide signals of a pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP), PACAP type 1 (PAC1) receptor, diazepam binding inhibitor (DBI), and PBR as sequential transduction factors for producing pregnenolone. Our results suggest that withdrawal stress and benzodiazepines locally produce pregnenolone to modulate the GABA (A)-like receptor functions for enhancing suppressive effect of saliva secretion.

SS7-1

2型糖尿病における口腔粘膜の微細血管構築

上村 守、諏訪 文彦
大歯大 解剖

SS7-2

筋発育過程における微小血管形成因子発現状況の検討

春原 正隆、佐藤 巖
日歯大 生命歯 解剖一

自然発症2型糖尿病モデルラット（GKラット）における口腔粘膜（舌背；糸状乳頭、上顎第一臼歯口蓋側歯肉、口蓋粘膜）の微細血管構築を正常ラットと比較し、考察を試みた。

実験動物は、生後8週齢Wistar系雄性ラット9匹（空腹時血糖値：135.3±14.8 mg/dL）を正常群とし、同週齢GK雄性ラット9匹（空腹時血糖値：213.4±22.6 mg/dL）を糖尿病群として、合計18匹を用いた。上行大動脈にカニューレを挿入し、生理食塩水にて脱血後、アクリル樹脂を注入し、微細血管鋳型標本を作製した。走査型電子顕微鏡で観察した後、画像撮影を行い、糸状乳頭、上顎第一臼歯口蓋側歯肉、口蓋粘膜の毛細血管の画像解析を行った。各画像解析値は両群間で危険率1%で統計処理を行った。

糸状乳頭：両群共に、結合組織乳頭内に存在する毛細血管ループが、咽頭側に傾斜しているのが観察された。細動脈から結合組織乳頭内へ立ち上がった上行脚はヘアピン状のループを作り、下行脚となり結合組織乳頭下の細静脈網に注いでいた。毛細血管ループの直径・高さの値を比較すると、糖尿病群が正常群より有意に小さかった。しかし、毛細血管ループの個数、間隔を比較すると、有意差は認められなかった。口蓋側歯肉：遊離歯肉内の毛細血管網は、正常群では長方形を、糖尿病群では楕円形を呈していた。歯肉頂直下の毛細血管の走行は、正常群では直線状を、糖尿病群では波状を呈していた。この毛細血管の直径の値は、糖尿病群が正常群より有意に小さかった。口蓋粘膜：両群共に、口蓋粘膜の微細血管構築は、亀甲型の網目を呈している毛細血管網であった。糖尿病群の網目よりも正常群の網目のほうが小さかった。毛細血管の直径の値は、糖尿病群が正常群より有意に小さかった。

以上から、上記部位の口腔粘膜の毛細血管は、高血糖によって糖尿病性細小血管症が引き起こされていた。

我々は、咀嚼筋発育過程において、吸啜から咀嚼へと機能が大きく変化する時期において各種筋線維タイプの局在および経時的発現状況の解析を行うとともに、頭頸部領域の脈管系におけるCD31およびLYVE-1のmRNAの発現状況と、筋の機能変化との関連性について報告してきた（Sato *et al.*, 2008）。

近年、骨格筋のリンパ管は運動レベルに応じて変化すること（Gehlert S, 2010）、さらに外側広筋では血管マーカーとリンパ管マーカーが共に発現していることが報告され（Kivelä R, 2007）、筋内部におけるリンパ管存在の可能性が示唆された。また、筋発育過程および筋損傷後の筋周囲組織には血管マーカーの発現が認められるとの報告、さらには筋の機能に応じて血管網が変化するとの報告もある（Pette and Staron, 2000；Egginton *et al.*, 2001）。

他方、我々はこれまでの研究により、頭頸部領域において血管形成に関与することが予想される遺伝子に関する基本的な情報を得ている（Biochem Biophys Res Commun. Sunohara M *et al.*, 2007; Calcif Tissue Int. Sunohara M *et al.*, 1996）。

本研究においては、咀嚼筋の1つである咬筋に着目し、頭頸部領域の筋発育過程における脈管系マーカーおよび血管新生抑制マーカー（tenomodulin）の経時的発現状況を解析するとともに、機能変化をふまえた筋発育過程における筋微小血管系の動態について検討し報告する。

SS7-3

癌化学療法における Drug Delivery
Route としてのリンパ管
安藤 禎紀、藤村 朗
岩医大 解剖 機能形態

我々は、抗癌剤を腫瘍周囲に注入することで原発巣およびその周囲のリンパ管経由で所属リンパ節の癌細胞をも叩けること、しかも、全身に対する投与量を減量できる可能性を報告した。この方法での問題は投与薬剤の濃度、投与時の刺入傷治癒遅延、投与のたびの痛み等であるが、薬剤をリポソーム化(徐放化)することで解決の可能がみいだせた。

【材料および方法】抗癌剤は日本化薬株式会社から供与された動物実験用シスプラチン粉剤をリポソーム化して用いた。A 群：直径 100 nm のリポソームと、B 群：直径 100 nm (75%) と 800 nm (25%) の混合リポソームを作製した。これらのリポソームをマウス舌辺縁部に 0.1 mg/ml の濃度で 10 μ l を注入した。24 時間後、左右顎下リンパ節と舌を摘出し、直ちに乾燥を施し、舌は硝酸灰化法により試料調整を行い、顎下リンパ節については無標準法により PIXE を用いて計測した。さらにリポソーム (150 nm) の表面を改良し、長時間の薬物保持を目的とした wrapped タイプ、より長時間の薬物保持を目的にリポソーム膜を固くした hard タイプを作製し、同様の手順で白金量を計測した。

【結果】舌には A、B 群ともに 20~30 μ g/g、顎下リンパ節には A 群が 20~30 μ g/g、B 群では約 200 μ g/g の白金が到達していた。さらに行ったリポソーム表面改良型のリポソームでもすべてのグループにおいて基準量以上の白金量を検出した。

【考察】ウサギによる静脈内注射による抗癌作用は白金量 2.6 μ g/g であり、投与局所(腫瘍原発部位を想定)および所属リンパ節においてすべてのリポソーム化シスプラチンは抗癌作用を発揮するに十分な濃度が保てた。今後は、リポソームのサイズによる所属リンパ節への到達率、さらに、注射による痛みを避けるため、粘膜経由可能なリポソームサイズを検索していきたいと考えている。

SS7-4

腫瘍微小循環系の制御による腫瘍増殖抑制の試み
北原 秀治
東女医大 医 解剖・発生生物

腫瘍は、その増殖のために、酸素や栄養分の供給が不可欠であり、様々な血管増殖因子群による複雑な分子経路を利用して血管新生を行っている。新生した腫瘍血管は、正常組織の血管とは形態や機能が大きく異なっており、そのメカニズムの解明が、頭頸部領域の腫瘍のみならず、臨床医学全体において非常に重要である。近年、腫瘍血管をターゲットにした分子標的治療薬の開発や、腫瘍血管を正常血管に近づける腫瘍血管正常化 (Normalization) といった治療法も注目を浴びているものの、その治療法も未だ確立されておらず、副作用などの問題も懸念される。そこで、さらなる腫瘍血管の特性の解析と、それに対応した新たな癌治療法の開発が望まれる。われわれは、大腸癌の原因遺伝子の一つである APC 遺伝子を変異させた *Apc*^{Min/+} マウスをモデルとして、局所における微小循環系の変化の過程を、正常から腺腫へ、そして徐々に腺癌へ移行していく自然発症消化管腫瘍の特徴 (多段階発癌) に着目して追跡している。これまでに、腸上皮の悪性化に伴い、微小循環系にも段階的な悪性化パターンが現れることがわかった。そこで本研究では、腫瘍血管の変化を抑えることができれば、腫瘍の悪性化を抑えることができるのではないか? という仮説を立て、血管新生因子である Vasohibin-2 (VASH2) に注目し、さらに研究を行った。*Apc*^{Min/+} マウスと、*VASH2* 遺伝子をノックアウトしたマウス (*Vash2*^{-/-}) を用いてダブルミュータントマウスを作製し、腫瘍発育や腫瘍血管の変化を解析したところ、腫瘍血管の減少と共に、腫瘍発症の減少がみられた。このように、腫瘍血管の悪性化を制御することができれば、手術が困難な頭頸部領域においても、既存の抗癌療法とも併用する新しい治療法の開発につながることを期待された。

SS8-1

Anaerobic culture to detect periodontal and caries pathogens

Anne C. R. Tanner

Dept. of Microbiol., The Forsyth Inst.

ated in advanced disease were also found in initial lesions suggesting a continuum of infection from early to late stages of these dental diseases.

Many periodontal and dental caries pathogens were detected and described using anaerobic culture studies from The Forsyth Institute. Species recognized from advanced periodontitis included *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* and *Tannerella forsythia*. Additional species detected in initial periodontitis included *E. saphenum*, *Filifactor alocis* and *Selenomonas noxia*. Molecular studies found an association of *P. gingivalis* and *T. forsythia* with initial periodontitis in young adults.

Anaerobic culture technique applied to severe (advanced) early childhood caries revealed new species, *Scardovia wiggisiae*, in addition to *Streptococcus mutans* as disease associated. *S. wiggisiae* is an anaerobic gram positive rod species in the *Bifidobacteriaceae* family of the *Actinobacteria* phylum. *Scardovia wiggisiae* is acidogenic and acid tolerant, cariogenic traits of *S. mutans*. Cultivation of samples at plaque low pH indicated that only a subset of over 200 species detected was acidogenic and acid-tolerant and thus likely involved in caries-progression. Other species including *Bacteroidetes*, *Selenomonas* and *Fusobacterium* species were not acid tolerant, suggesting that while these taxa can be detected in caries samples they are not likely involved in cavity formation. Cluster and discriminant analyses of the microbiota of severe childhood caries indicated that *S. wiggisiae* was important in the bacterial complex associated with childhood caries.

Initial stages of dental caries are recognized as white spot lesions. Some children with fixed orthodontic appliances develop white spot initial carious lesions in addition to gingivitis. Using the HOMIM microarray, a greater proportion of species assayed were associated with gingivitis compared with dental caries. Using quantitative PCR, *S. mutans* and *S. wiggisiae* were associated with white spot lesions, whereas bifidobacteria were associated more with gingivitis.

In both periodontitis and caries, species associ-

SS8-2

The interaction between *Fusobacterium nucleatum* and the erythrocyte: Impacts on the host immune system
Saori Yoneda, Riyoko Tamai, J. Merritt, Yusuke Kiyoura
Dept. of Oral Med. Sci., Ohu Univ., Sch. of Dent.

Fusobacterium nucleatum is an anaerobic and gram-negative, oral and systemic commensal bacterium. *F. nucleatum* is known for its ability to adhere to many kinds of both prokaryotic and eukaryotic cells. However, little is known on the cellular response of *F. nucleatum* to coaggregation with other cells. In the process of the preliminary examining coaggregation, we found *F. nucleatum* changed their morphology after they coaggregated with the erythrocyte, which is a sign of acute inflammation. Therefore, we hypothesized there are some adherence responses between *F. nucleatum* and the erythrocyte. The objective of this study was to characterize some regulations between *F. nucleatum* and the erythrocyte.

F. nucleatum ATCC strain 25586 was grown under anaerobic conditions in Artificial Saliva Solution (ASS) supplemented with hemin and menadione. The *F. nucleatum* cultures with or without the sheep erythrocyte were lysed and RNA was extracted to use for a microarray analysis and real-time qRT-PCR. To analyze the cell-surface alteration of *F. nucleatum*, we used the approaches to introducing aldehydes onto cell-surface for subsequent ligation with aminoxy-biotin. And, *F. nucleatum* cultures with or without the erythrocyte were injected to each three of *Galleria mellonell* for the killing assay.

We found 10 genes of *F. nucleatum* that were affected after about 5 h of aggregation with erythrocyte using the microarray analysis and only Sialic Acid binding protein (FN1472) gene of *F. nucleatum* culture with erythrocyte was expressed upper via real-time PCR to confirm the microarray results. Moreover, we found this FN1472 gene exhibited the increase in expression due to addition of Sialic Acid using real-time PCR. After the biotin labeling of the cell-surface, all *F. nucleatum* strains with erythrocyte in ASS were shown to sialylate on their surface. On the killing assay, there were no

killed *G. mellonella* among both control and the erythrocyte groups. All *G. mellonella* in the erythrocyte group, which were injected *F. nucleatum* with erythrocyte, had severe inflammation whereas no *G. mellonella* in the control group had even mild inflammation.

Our data suggests the interaction between *F. nucleatum* and the erythrocyte induced FN1472 gene regulation and cell-surface modulation of *F. nucleatum*. Further, it is possible this cell-surface regulation and decoration also impacted on host immune mechanism. Based on the role of FN1472 gene in some previous reports, we speculate that *F. nucleatum* may elude host immune system to modify their cell-surface and masquerade as 'self' for this sialylation.

SS8-3

Cell surface coaggregation receptor polysaccharide in *Streptococcus sanguinis*

Yasuo Yoshida¹⁾, Jinhua Yang²⁾, Keiji Nagano¹⁾, Yuki Abiko¹⁾, Fuminobu Yoshimura¹⁾, John O. Cisar²⁾

¹⁾ Dept. of Microbiol., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ., ²⁾ Oral Microbiol. and Immunol. Branch, NIDCR, NIH

to identifying these bacteria based on the arrangement of genes for synthesis of polysaccharide precursors.

Coaggregations of oral viridans group streptococci with other members of the biofilm community, including *Actinomyces* spp. and streptococci, depends on recognition specific host-like motifs within the hexa- and heptasaccharide repeats of different streptococcal receptor polysaccharides (RPS). Seven types of RPS (1Gn, 1G, 2Gn, 2G, 3Gn, 3G, 4Gn and 5Gn) have been identified by structural characterization of these polysaccharides from over 20 different streptococcal strains so far. The repeating unit of RPS invariably contain a disaccharide motif, either GalNAc β 1 \rightarrow 3Gal (Gn) or Gal β 1 \rightarrow 3GalNAc (G), both of which are recognized by type II fimbriae of *Actinomyces* spp. In contrast, the streptococcal strains which have Gn-containing polysaccharides also participate in GalNAc-sensitive coaggregations with strains of *Streptococcus gordonii* and *Streptococcus sanguinis*. Previous studies showed that the genetic loci for biosynthesis of 2Gn RPS in *S. gordonii* were different from those of the other RPS (1Gn, 2G, 3G, 4Gn and 5Gn) in *Streptococcus oralis*, but that those gene clusters in *S. oralis* were located on the same loci. Thus, the gene cluster for type 1Gn RPS in *S. sanguinis* was analyzed and compared with those for RPS synthesis in *S. gordonii* and *S. oralis* to examine whether the difference of the genetic loci for RPS synthesis is species-specific. The *rml* genes for synthesis of dTDP-L-Rha, which is one of RPS precursors, were in *rps* loci of *S. oralis* strains but at other loci in *S. gordonii* and *S. sanguinis*. Genetic loci of two distinct galactose epimerases were also different. The *galE2* gene for epimerization of both UDP-Glc/UDP-Gal and UDP-GlcNAc/UDP-GalNAc was at a different locus in those three streptococcal species. The findings provide insight into cell surface properties that distinguish different RPS-producing streptococci and open an approach

SS8-4

Microbiota profiling of bronchial fluids of elderly patients

Naoko Ishida¹, Takushi Sato¹, Yasushi Hoshikawa³, Naoko Tanda², Takashi Kondo³, Nobuhiro Takahashi¹

¹Div. of Oral Ecol. and Biochem., and ²Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging, and Cancer, Tohoku Univ.

This study aimed to perform both quantification and identification of bacteria existing in bronchial fluids (BF) of elderly patients, and to evaluate their relationships with impairment of cough and/or swallowing reflexes (CR/SR). Informed consent was obtained from all 10 subjects with pulmonary carcinoma (mean age \pm standard deviation, 73.8 ± 7.3 years). Before lung resection, the CR was assessed using nebulized citric acid delivered by an ultrasonic nebulizer, and the SR was assessed by bolus injection of distilled water into the pharynx through a nasal catheter. BF from subjects undergoing lung resections, were collected with intratracheal intubation and a micro-sampling probe, and cultured anaerobically on CDC blood agar plates. After seven days, colony-forming units (CFU) were counted, and the colonies were subcultured and identified by 16S rRNA gene sequencing. Six subjects (72.2 ± 5.8 years) showed impaired SR, while four subjects (74.3 ± 8.7 years) had normal SR. On the other hand, all subjects had normal CR. The amount of bacteria in the BF of subjects with impaired SR [$(1.7 \pm 1.7) \times 10^4$] was higher than in those with normal SR [$(1.2 \pm 1.1) \times 10^3$]. The bacterial load in each case, although highly diverse, predominantly consisted of *Actinomyces* (47%), *Gemella* (10%), *Streptococcus* (7%), *Rothia* (7%), *Mogibacterium* (5%) and *Campylobacter* (5%) in BF isolates from patients with impaired SR, while BF from those with normal SR mainly consisted of *Streptococcus* (48%) and *Lactobacillus* (45%). These results suggest that BF from elderly patients contains bacteria, most likely derived from the saliva microbiota, and that the phenomenon may likely occur in elderly patients with impairment of SR. This study was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (23592791, 24390511, 25462945, 25463237, 25670777, 25861785) from JSPS.

SS8-5

Hydrogen sulfide, methyl mercaptan, and acetaldehyde in oral health care for perioperative patients with pulmonary carcinoma

Naoko Tanda¹, Naoko Ishida², Yasushi Hoshikawa³, Takuichi Sato², Nobuhiro Takahashi², Ryoichi Hosokawa⁴, Takeyoshi Koseki⁴

¹Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Hosp., ²Div. of Oral Ecol. and Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging and Cancer, Tohoku Univ., ⁴Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.

Importance of oral health care (OHC) for hospitalized patients is widely known. One of the questions to be answered is how oral environment is influenced by the OHC. We analyzed the effect of OHC on gases and oral bacteria of perioperative patients with pulmonary carcinoma. Seven hospitalized patients with pulmonary carcinoma (4 men, 3 women, mean age 73.4 years) agreed with the research. Hydrogen sulfide, methyl mercaptan, and acetaldehyde in breath and in mouth air of the patients were measured by portable gas chromatographs before breakfast on T1 (before OHC), T2 (after OHC but before pulmonary surgery), and T3 (1 week after pulmonary surgery) in Tohoku University Hospital. Saliva was collected through chewing a paraffin pellet just after measuring gases. The collected saliva was analyzed for oral bacteria by selective Mitis Salivarius (MS) and non-selective CDC blood agar (CDC) under anaerobic and aerobic conditions. The ratio of colony-forming units on the MS to those on the CDC was calculated. Hydrogen sulfide, methyl mercaptan, and acetaldehyde were observed only in mouth air. Acetaldehyde was observed in 6 patients on T1 and disappeared in 5 patients on T2. Hydrogen sulfide was observed in 5 patients on T1 and decreased in 4 patients on T2. Methyl mercaptan was observed in 4 patients on T1 and disappeared on T2. The ratio of MS/CDC under anaerobic condition was highest on T2 in 6 patients. The OHC for perioperative patients with pulmonary carcinoma

decreased odorous gasses in mouth air and increased the ratio of salivary streptococci, usually known as healthy-associated bacteria. This study was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (23593083) from JSPS.

SS8-6

Ameriolating effects of a Kampo Medicine, Juzentaihoto on restraint stress and *P. gingivalis*-induced alveolar bone loss

Orie Takeda¹⁾, Toshizo Toyama²⁾, Kiyoko Watanabe²⁾, Takenori Sato²⁾, Kenichi Sasaguri¹⁾, Susumu Akimoto¹⁾, Sadao Sato¹⁾, Toshitsugu Kawata¹⁾ and Nobushiro Hamada²⁾

Div. Oral Science, Dept. Ortho, Kanagawa Dent. Univ.¹⁾, Dept of Microbiol, Kanagawa Dent. Univ.²⁾

Microbial dental biofilm is considered the main etiological agent for the initiation of the inflammation process and accompanied by inflammation of the gingiva and destruction of periodontal tissues, leading to alveolar bone loss. The progression and severity of disease may be associated with assorted conditions, especially when a patient is exposed to one or more risk factors known to influence the host response. With respect to possible factors influencing periodontal disease, evidence is emerging that chronic stress, depression and anxiety may negatively influence disease progression.

Juzentaihoto (JTX) is one of the Kampo medicines that consists of 10 herbs. Currently, JTX is widely prescribed for the treatment of anemia, rheumatoid arthritis, vulnerability to illness, fatigue, and inflammatory bowel diseases. The purpose of this study was to investigate the possibility of JTX as a preventive and therapeutic drug for periodontal bone resorption exacerbated by restraint stress.

A rat model of *P. gingivalis*-induced alveolar bone loss was used to assess the efficacy of JTX as a stress-reducing agent. In order to evaluate the effect of JTX against restraint stress and *P. gingivalis* infection, we have determined the differences in alveolar bone loss among the experimental groups. The concentrations of adrenocorticotrophic hormones were measured as stress markers, and weights of the thymus and spleen were evaluated. To clarify the mechanism of the inhibitory effects of JTX on alveolar bone resorption, JTX was added to cultured mouse bone marrow cells prone to differentiate into osteoclasts. Administration of 10 mg/ml JTX with *P. gingivalis* infection and restraint stress rats significantly reduced alveolar

bone loss compared to the combination of *P. gingivalis* infection and restraint stress rats. Our findings suggest that JTX has a potent inhibitory effect on stress and osteoclast genesis, and it may be used as a therapeutic drug in the treatment of periodontal disease.

SS8-7

Basic helix-loop-helix transcription factors DEC1 and DEC2 in *P. gingivalis*-induced inflammation

Cintia Yuki Fukuoka¹⁾, Ujjal K Bhawal¹⁾, Ryoki Kobayashi¹⁾, Toshizo Toyama²⁾, Takenori Sato²⁾, Hidefumi Kumada²⁾, Yoshimitsu Abiko¹⁾, Nobushiro Hamada²⁾

¹⁾ Dept. of Biochem. and Molecular Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ²⁾ Dept. of Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.

Inflammation is a process dependent on the coordinated regulation of numerous genes. Transcription factors play a key role in this process, representing often the most important contribution to cellular function regulation and response to inflammation. New evidences suggest that inflammatory stimuli can activate the hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 alpha) and its associated genes, DEC1 and DEC2. The differentiated embryonic chondrocyte gene 1 (DEC1) and its structurally related protein, DEC2 are basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factors, direct targets of HIF-1 alpha, regulators of circadian mammalian molecular clock. This study aimed to investigate the expression of DEC1, DEC2 in gingival inflammation.

Human gingival primary epithelial and fibroblasts cells were pre-treated with LY294002, a pharmacological inhibitor of PI-3K, followed by IL-1 beta (10 ng/ml) for 24 h. Total RNA was extracted, converted to cDNA and subjected to real-time RT-PCR to investigate the gene expression of DEC1 and DEC2. The cells were transfected with small interfering RNA (siRNA) targeting Akt and negative control. Western blotting was used to verify the expression changes on DEC1, DEC2 and HIF1-alpha in the cells lysate. A mouse model of experimental periodontitis was induced in wild type, DEC1KO and DEC2KO mice by *Porphyromonas gingivalis*, and they were sacrificed 1 month after infection. Micro CT analysis of alveolar bone was performed. Horizontal alveolar bone loss was measured by the distance between the cemento-enamel junction and the alveolar bone crest. Upper jaw specimens were stained with hematoxylin-eosin and immunohistochemistry analyzed for HIF-

1 alpha, DEC1, TNF-alpha and IL-1beta protein expression. The immune response in gingival tissues was also examined by flow cytometry.

Our findings showed that IL-1beta up-regulates DEC1 in human primary gingival cells. This regulation occurred though the inflammatory signaling pathway via Akt. Significant induction of CD11b + F4/80 + macrophage cells was detected in inflamed gingiva of DEC2KO mice. RANKL expressing CD4 + T cells were also predominantly present in these mice.

Taken together, these data suggested that DEC1 and DEC2 play an important role in *P. gingivalis*-induced inflammation.

SS9-1

骨芽細胞分化と骨再生における CCN3 の役割

山口 朗

東医歯大 院医歯 口腔病理

我々はマウス骨再生モデルにおける遺伝子発現の網羅的解析により、CCN3の発現が骨再生の初期で上昇することを見いだした。そのため、我々は骨芽細胞分化と骨再生におけるCCN3の役割を解析してきた。まず、骨芽細胞様培養細胞を用いた実験や移植実験で、CCN3はBMP-2結合してBMPのシグナルを抑制するとともに、Notchに結合してそのシグナルを促進することにより、最終的に骨芽細胞分化を抑制することを明らかにした(BBRC 354:567,2007, BBRC 368:808,2008)。つまり、CCN3は骨芽細胞の分化過程で、BMP-2のantagonistであるとともに、Notchの受容体としても作用すると考えられた。さらに、骨再生過程におけるCCN3の役割を明らかにするために、2.3 kb *Coll1a1* promoterを用いた *Ccn3* transgenic (*Ccn3* Tg) マウス及び *Ccn3* knockout (*Ccn3* KO)マウスを用いた実験を行った。その結果、*Ccn3* Tgマウスの骨格では、骨形態計測法で野生型マウスの骨格に比べ、骨量が減少していたが、*Ccn3* KOマウスの骨量は野生型と差がなかった。また、*Ccn3* Tgマウスの骨再生は野生型と変化がなかったが、*Ccn3* KOマウスの骨再生は野生型マウスより亢進していた。さらに、*Ccn3* KOマウスの骨再生過程では、野生型マウスに比べて骨芽細胞分化に関連する遺伝子の発現が骨再生初期で上昇していた。骨再生初期におけるSmad1/5のリン酸化、核移行は、*Ccn3* KOマウスの方が野生型マウスに比べて促進していた(JBC, in press)。これらの結果より、CCN3は骨芽細胞分化及び骨再生を抑制する因子であると考えられた。

SS9-2

軟骨特異的 CCN3 過剰発現による内軟骨性骨形成の修飾

服部 高子¹⁾、大野 充昭²⁾、星島 光博¹⁾、角谷 宏一³⁾、桑原 実穂³⁾、三宅 佳子¹⁾、窪木 拓男²⁾、滝川 正春¹⁾

¹⁾岡大 院医歯薬 口腔生化、²⁾岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、³⁾岡大 歯

CCN3 のドメインの一つを欠失した遺伝子改変マウスの解析から、骨格の正常な発育における CCN3 の重要性が示唆されるが、これまで明確な内軟骨性骨形成へ CCN3 の関与を示した報告は無い。そこで我々は、内軟骨性骨形成における CCN3 の役割を解明するために、軟骨組織特異的に CCN3 を過剰発現するマウスを作製し、表現型の解析を行った。Col2a1 promoter 下流に GFP 融合 mouse CCN3 遺伝子を接続したトランスジェニックマウスを作製し、軟骨組織特異的 CCN3 過剰発現を得た。胎生 15.5 および 18.5 日齢の CCN3^{Col2a1tg}マウスの長管骨は、骨化部分が太く短く、成体長管骨はマイクロ CT 解析から、骨体積、骨密度、骨梁数などの著しい低下が観察された。また、CCN3^{Col2a1tg}長管骨の *in situ* hybridization で、軟骨分化の遅延が観察され、骨芽細胞におけるマーカー遺伝子の発現も抑制されていた。軟骨内への血管侵入が抑制されていることが、抗 CD31 抗体を用いた蛍光免疫染色で観察された。胎生 18.5 日齢の CCN3^{Col2a1tg}長管骨切片で海綿骨の骨梁形成が抑制されており、海綿骨内 TRAP 陽性細胞の減少がみられたが、一方で軟骨-骨境界部における陽性細胞数は増加していた。さらに胎生 10.5 日齢の CCN3^{Col2a1tg}肢芽原基の未分化間葉系細胞を用いた高密度培養から、CCN3 の過剰発現は軟骨細胞への分化が促進されていることが明らかとなった。これらの結果より、軟骨組織における CCN3 の過剰発現は、軟骨への分化を促進する一方で、内軟骨性骨形成の最終段階である軟骨から骨への転化を遅延させ、血管侵入を阻害する結果、著しい骨梁形成の低下を誘発することが明らかとなった。

SS9-3

ERK1/2 経路を介した CCN3 の初期軟骨分化における作用の検討

川木 晴美¹⁾、久保田 聡²⁾、尾上 一平^{1,3)}、近藤 雄三^{1,3)}、高橋 潤^{1,3)}、神谷 真子¹⁾、高山 英次¹⁾、近藤 信夫¹⁾、滝川 正春²⁾

¹⁾朝日大 歯 口腔生化、²⁾岡山大 院医歯薬 口腔生化、³⁾朝日大 歯 インプラント

CCN ファミリーは共通構造をもつ多機能分泌タンパク質群であり、一部のメンバーが骨形成に重要な因子であると示唆されている。我々はマウス肋軟骨由来の軟骨細胞を用いた解析から、CCN3 が軟骨では細胞増殖と分化をメンバー中で唯一抑制する機能を示すことを報告してきた。一方で、CCN3 はメンバー中では四肢発生の最も早期に発現していることを見出し、内軟骨性骨化過程の調節に寄与する因子であることを報告してきた。そこで本研究では、四肢発生初期の軟骨形成期に他のメンバーに先駆けて発現する CCN3 の機能を解析した。胎生 11.5 日のマウス肢芽を酵素処理して得た細胞に、リコンビナント CCN3 あるいは CCN3 をターゲットとする siRNA を添加し増殖・分化について検討した。その結果、CCN3 は肋軟骨由来の軟骨細胞では増殖とプロテオグリカン合成、長期培養後の石灰化を抑制するのに対し、肢芽由来の細胞では増殖の促進、およびアグリカンの mRNA 発現促進、プロテオグリカン合成を促進した。さらにこれらを誘導する経路について、ERK1/2 の経路を阻害する U0126 および p38MAPK 経路を阻害する SB203580 を用いて検討した結果、CCN3 の肢芽由来細胞の増殖促進効果に ERK1/2 経路が関与していることを見出した。以上より、軟骨の初期分化過程では、CCN3 は細胞増殖・分化を促進し四肢発生に貢献していることが示唆された。(会員外共同研究者：Nouredine Lazar and Prof. Bernard Perbal)

SS9-4

牽引力は CTGF シグナルを介して頭蓋縫合における血管形成を促進する
竹下 信郎、長谷川正和、佐々木紀代、
関 大輔、宮下 俊郎、高野 郁子、
宮島 悠旗、山本 照子
東北大学 歯 顎口腔矯正

縫合は頭蓋顔面の骨と骨を結合する線維性組織で、頭蓋顔面骨格の成長中心として知られる。また縫合は、頭蓋顔面に負荷される機械的刺激を受容する役割を持ち、矯正歯科治療では顎整形力を縫合に作用させ、成長期患者の骨格性不調和の改善を図る。しかし、機械的刺激が縫合の細胞動態や遺伝子発現に及ぼす影響の全容は明らかではない。本研究では、牽引力に対する縫合の初期反応として、血管形成に着目して解析を行った。6週齢 ICR マウスの頭頂骨にスプリングを装着し、矢状縫合に 20 g の牽引力を 0、3、および 12 時間負荷した。その後、矢状縫合における STRO-1 陽性細胞および ERK と pERK の発現を免疫染色にて解析した。また、間葉系幹細胞および骨芽細胞マーカーと血管形成関連因子の mRNA 発現をリアルタイム PCR により解析した。矢状縫合において STRO-1 陽性細胞、CD44、および CD73 の発現が認められたが、牽引力負荷後 12 時間にそれらの発現は減少した。骨芽細胞マーカーである Runx2 および osteocalcin の発現は、牽引力負荷後 12 時間の間に経時的に減少した。VEGF および内皮細胞マーカーの発現は、3 時間で上昇した。CTGF 発現もまた 3 時間で上昇し、さらに CTGF 中和抗体は牽引力による VEGF 発現の上昇を抑制した。縫合の細胞における pERK の核内移行が 3 時間で認められ、また ERK および JNK の阻害剤は、牽引力による CTGF および VEGF 発現の上昇を、それぞれ部分的に抑制した。本研究により、牽引力に対する縫合の初期反応において、血管形成が誘導されることが示された。この血管形成は CTGF により制御され、また MAPK も部分的な制御に関与することが示唆された。さらに、縫合における間葉系幹細胞の存在が初めて示され、牽引力による内皮細胞発現の亢進に関与することが推察される。

SS9-5

CCN2 は軟骨細胞のエネルギー代謝に重要である
前田 彩^{1,2)}、久保田 聡¹⁾、川木 晴美¹⁾、河田かずみ¹⁾、三宅 由晃³⁾、服部高子¹⁾、西田 崇¹⁾、森谷 徳文²⁾、飯田 征二²⁾、滝川 正春¹⁾
¹⁾岡大 院医歯薬 口腔生化、²⁾岡大 院医歯薬 顎口腔再建外科、³⁾岡大 院医歯薬 整形外科

【目的】 CCN ファミリーの代表的メンバーである CCN2 は細胞外シグナルネットワークを指揮し、間葉系組織の発生や再生に重要となる分子である。この多彩な作用をもつ CCN2 の欠損したマウスの骨芽細胞・軟骨細胞では、細胞増殖能、細胞外基質産生能が著しく低下する。これらは、CCN2 が軟骨代謝の根幹に関与していることを示唆している。そこで我々は、CCN2 の代謝全般における役割を解明することを目的として解析をすすめた。

【方法】 野生型マウスと CCN2 欠損マウスの胎児成長板軟骨切片に対して軟骨基質染色を行った。次に、同マウス肋軟骨より軟骨細胞を採取し、メタボローム解析を行った。また、ATP bioluminescence assay を用い細胞内 ATP 量を計測した。さらに、同細胞から RNA を抽出し、DNA マイクロアレイにより mRNA 発現プロファイルを解析した。そしてそれにより同定されたエネルギー代謝関連遺伝子産物の発現をリアルタイム RT-PCR 法にて解析した。

【結果】 軟骨基質染色では、野生型と比較して CCN2 欠損マウスで基質蓄積量の低下が確認された。CCN2 欠損が基本代謝動態に与える影響の全容を解明すべく行ったメタボローム解析では、エネルギー合成に関わる ATP をはじめとした多くの代謝産物の定量値が、野生型と比較し、CCN2 欠損軟骨細胞で低値となった。そしてその原因を探るべく行った DNA マイクロアレイの結果では、ATP 産生に関わるいくつかの遺伝子に発現の低下がみられた。そのうち、解糖酵素のひとつをコードする enolase1 遺伝子の発現が、野生型マウスより CCN2 欠損マウスから分離した軟骨細胞において低下していることがリアルタイム PCR 法によって再現された。以上より、CCN2 は軟骨細胞のエネルギー代謝において重要な因子であることが示唆された。(本研究は UCLA の Karen M. Lyons 博士との共同研究である。)

SS9-6

CTGF/CCN2 が未分化なヒト歯根膜細胞株の骨芽細胞様分化に及ぼす影響
 祐田 明香¹⁾、前田 英史²⁾、藤井 慎
 介³⁾、門野内 聡¹⁾、山本 直秀¹⁾、和田
 尚久²⁾、友清 淳⁴⁾、郡 勝明²⁾、濱
 野さゆり¹⁾、赤峰 昭文^{1,2)}

¹⁾九大 院歯 歯科保存、²⁾九大 病院
 歯内治療、³⁾阪大 院医 分子病態生
 化、⁴⁾Colgate Australian Clinical Dent.
 Res. Centre, Sch. of Dent., Univ. of
 Adelaide

歯根膜細胞は恒常的に CTGF を発現し、さらにその発現は機械的刺激によって発現が調整されていることが示唆された。一方、CTGF 刺激は 1-11 細胞株の細胞増殖能、および遊走能を促進し、さらに骨芽細胞誘導培地への添加により骨関連遺伝子発現が上昇し、ALP 活性、ならびに Alizarin red 陽性反応が促進した。したがって CTGF は未分化な歯根膜細胞の増殖および遊走を亢進し、さらに骨芽細胞様分化を促進する可能性が示唆された。

[目的] Connective Tissue Growth Factor (CTGF/CCN2) は、増殖、運動、分化促進など多様な生物学的活性を持つタンパク質であることが知られている。近年、歯根膜細胞に関しては、機械的刺激によって CTGF の遺伝子発現が促進し (Saminathan *et al.*, 2012)、また骨髄間葉系幹細胞は、CTGF 刺激によって骨芽細胞分化が促進することが報告されている (Wang *et al.*, 2009)。しかしながら、CTGF が未分化な歯根膜細胞に及ぼす影響に関しては十分な解析はなされていない。そこで本研究では、歯根膜組織における CTGF の発現と CTGF が未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響について解析した。

[材料および方法] (1) 5 週齢雄性 SD ラットの上顎白歯の組織切片、および矯正治療のため抜歯を希望して本院を受診した患者 (25 歳女性及び 23 歳男性) より歯根膜組織を採取し、3-5 継代培養した細胞 (HPDLC) を用いて、抗 CTGF 抗体による免疫組織細胞学的染色を行った。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会規定の認可を得て患者の同意の上で行われた。(2) 細胞伸展器 (STB-140, STREX 社) を用いて伸展力を負荷した HPDLC における CTGF 遺伝子発現を、定量的 RT-PCR 法にて解析を行った。(3) 当研究室にて樹立した未分化なヒト歯根膜細胞株 (1-11 細胞株: Fujii *et al.*, 2008) に、CTGF を添加し培養後、細胞増殖能、および遊走能について解析を行った。(4) 1-11 細胞株を、CTGF を添加した骨芽細胞誘導培地にて培養後、定量的 RT-PCR 法にて骨関連遺伝子の発現解析、Alkaline phosphatase (ALP) 活性の解析、さらに Alizarin red 染色を行った。

[結果および考察] 免疫組織細胞学的染色を行った結果、ラットの歯根膜組織そして HPDLC において CTGF の陽性反応が認められた。また 8% の伸展率で伸展力を 1 時間負荷した HPDLC において、CTGF の遺伝子発現が上昇した。以上のことから、

SS9-7

全身性誘導性 CCN2 ノックアウトマウスにおける抗糸球体基底膜腎炎の糸球体障害軽減機序の検討

横井 秀基¹⁾、戸田 尚宏¹⁾、笠原 正登¹⁾、森 潔^{1,2)}、栗原 孝成¹⁾、今牧 博貴¹⁾、石井 輝¹⁾、古賀 健一¹⁾、森 慶太¹⁾、加藤有希子¹⁾、大野祥子¹⁾、菅原 照³⁾、松阪 泰二⁴⁾、中尾 一和^{1,2)}、向山 政志¹⁾

¹⁾京大 院医 内分泌代謝内科、²⁾京大院医 メディカルイノベーションセ、³⁾大阪赤十字病院 腎臓内科、⁴⁾東海大 腎内分泌代謝内科

【背景】CCN2 は他の増殖因子シグナルを制御し線維化を促す。CCN2 ノックアウトマウスは生後間もなく呼吸不全にて死亡するため、腎疾患における検討は十分になされていない。今回、我々は誘導性全身性 CCN2 ノックアウト (Rosa-CCN2 cKO) マウスを作製し、抗糸球体基底膜 (GBM) 腎炎における CCN2 抑制の意義を検討した。

【方法】CCN2 floxed (fl/fl) マウスと RosaCreER^{T2} マウスを交配させ、タモキシフェン誘導性に全身で CCN2 をノックアウトする Rosa-CCN2 cKO マウスを作製した。Rosa-CCN2 cKO マウスは 3 週齢で 4-hydroxytamoxifen (4-OHT) を投与した。抗糸球体基底膜 (抗 GBM) 腎炎をマウスに惹起し、28 日目での腎障害について検討を行った。また、糸球体障害に及ぼす機序を検討するために、ポドサイト特異的 CCN2 cKO マウス (pod-CCN2 cKO) も作製した。

【結果】Rosa-CCN2 cKO マウスの腎臓は正常な組織像を示し、尿中アルブミン排泄も増加を認めなかった。抗 GBM 腎炎を惹起すると、コントロールマウスでは多量の蛋白尿に加えメサンギウム基質増加や半月体形成などの糸球体障害をみとめた。Rosa-CCN2 cKO マウスでは 7 日目に尿蛋白半減を認め、組織変化も軽減していた。また、増加した糸球体内 MAC2 陽性細胞数も減少しており、糸球体での TGF- β 1, α SMA, Fibronectin, colla1, F4/80 の mRNA 発現の増加が Rosa-CTGF cKO マウスで軽減していた。一方 pod-CCN2 cKO マウスではこれらの改善はみられなかった。

【結論】抗 GBM 腎炎においてポドサイトではなく全身性に CCN2 を抑制することで尿蛋白や糸球体障害を軽減することができ、CCN2 は抗 GBM 腎炎において重要な役割を担うことが示唆された。

SS10-1

P. gingivalis の歯周組織破壊戦略—変貌する歯周病因論—

天野 敦雄

阪大 院歯 口腔分子免疫制御 予防歯科

2001 年、人類史を俯瞰するギネスブックに『全世界で最も蔓延している病気は歯周病である。地球上を見渡してもこの病気に冒されていない人間は数えるほどしかいない』と記載された。この強大な敵に挑み、人々を守っている我々は美しい存在ではないかと誇らしい気もする。しかし、歯周病の全体像は判っていない。病因論が確立していないのだから、歯周治療論も百家争鳴となって然るべしである。

1998 年にバイオフィルム細菌は秘密戦隊ゴレンジャーのように 5 つのグループに色分けされた。Yellow、Green、Orange、Purple そして Red である (後に Blue が加わり、ロクレンジャーになってしまった)。ゴレンジャーでは Red が主役である。歯周炎でも Red が主役だ。悪玉 3 バイ菌に Red complex の称号が与えられた。この中でも特に病原性が高い *Porphyromonas gingivalis* (Pg 菌) は、小中学校生の口腔内からは検出されない。しかし、思春期以降は 50% 以上の頻度で検出されるようになる。

プラークの病原性は、Red complex の中で最も病原性の強い Pg 菌の菌量、そして Pg 菌の遺伝子型で決まる。Pg 菌は強力な歯周毒性をもっているが、弱点は多い。血液中の鉄分 (ヘモグロビン) とタンパク質が増殖に必須、酸素や酸性環境は苦手だ。歯周局所環境の変化をきっかけに歯肉溝内面に潰瘍が形成され、毛細血管が歯肉縁下プラークに暴露された時、ふんだんに供給される血液を得て、Pg 菌は大いに増殖し、プラークの病原性は一気に高まる。これが歯周炎発症の瞬間だ。Pg 菌は上皮細胞に侵入し、ポケット内潰瘍面の修復を阻害し、血液供給が絶たれないように画策し、歯周炎を持続させる

Pg 菌は歯周細胞を自由に行き来し、歯周組織内で生息を続ける。この細菌を完全に駆逐するのは極めて困難である。感染源を除去できない感染症には、再発が付きものである。歯周炎との戦いに終わりは無い。

SS10-2

細菌プロテアーゼ：多才な病原因子
 今村 隆寿
 熊本大 院生命科学 分子病理

細菌は様々な病原因子を産生・放出するが、細菌プロテアーゼは組織破壊だけでなく宿主の種々のタンパク質に作用して病原性を発揮する多才な病原因子として近年認識されてきている。細菌プロテアーゼの病原因子としての機能は少なくとも炎症誘導と宿主防御機構の修飾の2つの方向性がみられる。前者として、まず炎症の初期現象で感染巣の浮腫・腫脹をおこす血漿漏出の誘導がある。これには、血漿カリクレイン・キニン系の活性化を介したキニン遊離や、補体 C5 からのアナフィラトキシン C5a 放出による肥満細胞からのヒスタミン遊離が関与する。続いて起こる白血球浸潤は C5a 放出や種々の細胞からのケモカイン分泌によって引き起される。このような機構によって細菌感染による炎症を増大させる。後者として、細菌プロテアーゼは C5a やケモカインを分解し、さらにその受容体をも破壊する。これにより白血球動員を抑制して宿主防御機構による攻撃からの細菌の逃避を助長し細菌の感染持続に貢献する。このようにして、細菌プロテアーゼは感染症を悪化させている。それゆえ、細菌プロテアーゼを抑制する特異的なインヒビターは感染症治療薬として有望である。細菌プロテアーゼに対する内因性インヒビターは唯一 α_2 -マクログロブリンであるが、我々は細菌プロテアーゼの α_2 -マクログロブリンによる抑制からの新たな回避作用を見出した。これにより、細菌プロテアーゼはより長く病原作用を発揮できる。本発表では2種類の黄色ブドウ球菌スタホパインによる協同的キニン遊離作用、エロモナス菌 ASP による C5a 放出および α_2 -マクログロブリン回避作用、ジンジバリス菌ジンジパインによる歯髄細胞からの神経ペプチド分泌誘導など細菌プロテアーゼの多才な機能を解説する。また、トピックとしてシトルリン化タンパク質産生による関節リウマチ発症へのジンジバリス菌の関与、細胞内感染による細胞初期化を紹介したい。

SS10-3

ジンジパインの分泌機構
 才木桂太郎、古西 清司
 日歯大 生命菌 微生物

慢性歯周炎の起原因菌である *Porphyromonas gingivalis* は、ヒト歯肉溝に定着するグラム陰性の偏性嫌気性細菌である。*P. gingivalis* は種々のプロテアーゼを分泌して、本菌が定着している歯肉溝に存在するタンパク質を分解する。糖をエネルギー源として利用できない非糖分解性の *P. gingivalis* は、分泌プロテアーゼによる消化ペプチド断片を菌体内に取り込んで代謝・増殖する。このタンパク質の分解反応はタンパク質の菌体外消化に相当する反応であり、エンドサイトーシス等のバルクの取り込み系が無い本菌には必須の過程と考えられる。この菌体外消化反応において最も重要であるプロテアーゼは、トリプシン様の活性を示すジンジパインである。一方、ジンジパインによるタンパク質の分解反応を組織タンパク質の破壊反応と見なすと、病原因子としてのジンジパインも理解できる。ジンジパインによる「菌体外消化」と「組織タンパクの破壊」は何れも、ジンジパインが菌体外に分泌されて初めて起こる反応であるので、ジンジパインの分泌機構の解明は重要な研究テーマである。この研究は膜タンパク質を扱うために実験系の構築が難しく、進展も決して早いとは言えない。しかし近年いくつかの重要な発見がなされ、このタンパク質分泌系の全体像がある程度明らかにされてきた。ジンジパイン等の分泌タンパク質の C 末端領域には保存性配列 CTD (C-terminal domain) が見出されており、CTD がシグナル配列として機能することで CTD 依存的にタンパク分泌装置 PorSS によっては外膜を透過するモデルが提唱された。一方で分泌タンパクのプロセシングや分泌過程に関与していると思われる翻訳後修飾反応も見いだされた。PG26 タンパクによる CTD の切断と、PG27 タンパクが関与する A-LPS (deacylated anionic LPS) による糖鎖修飾である。これらの翻訳後修飾過程について、演者が初めて同定報告した PG27 タンパクの研究成果を中心に考察する。

SS10-4

ジンジパインによる骨破壊分子メカニ
 ズムの解明
 宮本 洋一
 昭大 歯 口腔生化

歯周病は、歯槽骨に炎症性骨破壊が起こる代表的な口腔感染症である。*Porphyromonas gingivalis* をはじめとする歯周病原菌が歯周ポケットに感染することで歯周組織に慢性炎症が起こり、歯槽骨が破壊される。歯槽骨の吸収を担う破骨細胞の分化は、骨芽細胞膜上のRANKLと単球・マクロファージ系の破骨細胞前駆細胞膜上のRANKの会合により誘導される。一方、骨芽細胞が分泌するオステオプロテゲリン(OPG)は、RANKLのおとり受容体で、RANKLとRANKの会合を阻害し、破骨細胞分化を抑制する。生理的骨吸収因子や歯周病原菌の菌体成分や炎症性サイトカインなどの炎症性骨吸収因子は、RANKL/OPG発現比を上昇させることで、破骨細胞分化を促進する。

タンパク質分解酵素ジンジパインは、*P. gingivalis* が産生する主要な病原因子で、組織破壊などに深く関わっている。Okahashiらは、骨芽細胞における*P. gingivalis* 感染に伴うRANKLの発現にジンジパインが関与することを示唆した (Infect Immun 72: 1706-1714, 2004)。Pathiranaらは、ジンジパインをコードする*rgpA*、*rgpB*、*kgp*の3遺伝子の欠損株をマウス口腔内に感染させる歯周病モデルを用いて、KgpとRgpBが歯槽骨吸収に関与し、RgpAの関与は小さいと報告した (Infect Immun 75: 1436-1442, 2007)。

我々は、マウス骨芽細胞・骨髄細胞共存培養における破骨細胞分化に対する精製KgpおよびRgpBの影響を解析した。RgpBは、破骨細胞分化に影響を及ぼさなかったが、Kgpは、OPGを分解することで、活性型ビタミンDおよびLPSによる破骨細胞分化を促進した (Biochem J 419: 159-166, 2009)。また、Kgpは、TNF- α やIL-1 β による破骨細胞分化も促進したが、IL-17Aによるそれを抑制した。TNF- α およびIL-1 β はKgpによる分解に対して、OPGより安定なのに対し、IL-17Aは、OPG同様、Kgpによって効率よく分解されたことが、原因のひとつと考えられる。これらの結果は、KgpによるOPGの分解・不活性化が歯周病に伴う歯槽骨破壊の要因のひとつであることを示唆している。

SS10-5

Porphyromonas gingivalis の Mfa1 線毛の構造・構築機序に関する最近の知見—*mfa1* 遺伝子の下流因子の役割—
 長谷川義明、村上 幸孝
 朝日大 歯 口腔感染医療 口腔微生物

歯周病関連菌 *Porphyromonas gingivalis* は菌体表面に FimA 線毛と Mfa1 線毛の二種の線毛を菌体表面層に発現している。線毛は、本菌の病原性発現、特に歯肉上皮細胞への付着やバイオフィーム形成に重要な役割を演じていることが明らかになっている。FimA 線毛は、基礎研究で汎用される *P. gingivalis* ATCC 33277 株においては、1 μ m 以上におよぶ直鎖状のファイバーとして観察される。近年、*fimA* 遺伝子のすぐ下流に位置する *fimB* 遺伝子にナンセンス変異が見出され、*fimB* 回復株では 150 nm 程度の短い FimA 線毛が観察されることから、長さの制御に関わることが示された。また *fimB* 遺伝子の下流に位置する 3 つ遺伝子からの転写産物である FimC、FimD 及び FimE タンパク質が FimA 線毛の付随成分として同定された。一方、短線毛とも呼ばれる長さの平均が 100 nm 程度の Mfa1 線毛では、主要成分をコードする *mfa1* 遺伝子のすぐ下流に位置する *mfa2* 遺伝子が Mfa1 線毛の長さの制御と膜へのアンカーとして機能することが示された。さらに、*mfa2* 遺伝子の下流に位置する 3 つの遺伝子からの転写産物である PGN0289 (Mfa3)、PGN0290 及び PGN0291 タンパク質が、Mfa1 線毛の付随成分として同定された。このように線毛因子をコードする遺伝子の構造において、二種の線毛間での共通性が認められているが、付随成分の局在とそれらの構築機序は不明である。

近年、我々は *mfa2* 遺伝子の下流に位置する因子の解析をすすめ、Mfa3 が線毛の先端に局在していること、Mfa3 が PGN0290 及び PGN0291 タンパク質の線毛へのアセンブリに関与する可能性を見出した。そこで、本シンポジウムでは、私たちの最新の知見をもとに、今まで理解されていなかった Mfa1 線毛の構造と構築機序について紹介したい。

SS11-1

口腔粘膜における痛み感受性チャネルの局在と機能
城戸 瑞穂
九大 院歯 分子口腔解剖

口腔は鋭敏な部位として知られている。痛みを含むポリモーダルな受容の基盤となる末梢神経は口腔粘膜に密に分布しているが、その分布は一様ではなく、部位により異なっている。マウス・ラットを対象として末梢神経と上皮組織との関連を形態学的に観察してきた成果を供覧し、その化学的神経機能を考察する。

唐辛子の辛味成分であるカプサイシンは、侵害受容ニューロンを特異的に活性化させることが知られている。そのカプサイシンの受容体である陽イオンチャネル TRPV1 (transient receptor potential channel vanilloid subtype 1)は、カプサイシンのみならず酸や侵害熱により活性化すること、さらに TRPV1 遺伝子欠失マウスにて炎症性疼痛が抑制されたことから、TRPV1 は痛みの中心的な分子として、痛み緩和の創薬ターゲットとなっている。この TRPV1 陽性神経は歯肉・舌など口腔粘膜に密に分布していた。さらに、上皮細胞にもこの TRPV1 が発現しており、TRPV1 陽性の上皮領域には他の部位より密な神経支配が認められた。またカプサイシン刺激により、口腔粘膜および三叉神経節においてリン酸化 ERK (extracellular signal-regulated kinase) 陽性の神経が増加していた。こうしたことから、カプサイシン感受性の神経が口腔内に密に分布し痛みに関わっていることが示唆された。ヒトのカプサイシン感受性に関わる TRPV1 についての研究成果も紹介する予定であり、痛み緩和に向けた研究の参考になれば幸いである。

SS11-2

口腔内疼痛の疾患別特徴
小見山 道
日大 松戸歯 顎口腔機能治療

最も多くの人を経験している顔面領域の激しい痛みは、歯痛であり、歯科診療において一般的に取り扱う痛みのほとんどが歯原性歯痛である。その原因は、う蝕および根尖性歯周炎、歯周疾患（辺縁性歯周炎）、そして歯の破折といった外傷によるところが主となる。近年、歯痛に関して、旧来の歯科的対応では解決できず、原因不明のまま長期間の経過をたどる非歯原性歯痛の症例が多く報告されている。

頭頸部のすべての深部痛は、歯痛として感じられる関連痛を生じさせる可能性があるが、そのなかでも、咀嚼筋の筋・筋膜痛からの痛みが最も多い。特に咬筋の筋・筋膜痛からくる同側下顎臼歯部への関連痛と、側頭筋からくる同側上顎小臼歯、大臼歯への関連痛が高頻度に認められる。痛みは非拍動性で持続的であり、咀嚼筋の触診で痛みを再現する。さらに当該歯への麻酔診で反応しないが、当該筋への局所麻酔による歯の痛みの減弱で確定される。

反復発作性神経痛の一つである三叉神経痛は、顔面領域への触刺激で誘発されることが多いが、口腔内への刺激でも誘発される、あるいは歯へ放射される場合がある。いずれの場合でも、突発的で、鋭く、自発性の痛みとして特徴づけられる発作性神経痛の痛みである。しばしば歯への局所麻酔によって疼痛発作を緩解させうることから、歯髄疾患と誤診することがあり注意が必要である。

また、口腔粘膜の灼熱感、特に舌の灼熱感は、慢性鉄欠乏性貧血のような全身疾患によって生じる。これらは通常舌の糸状乳頭や乳頭萎縮性の変化を伴う。しかしながら、口腔内や舌に灼熱感を訴える50~70歳の女性患者において、多くの場合、口腔内に原因となる変化を認めない。これらは舌痛症と呼ばれ、その原因は多岐にわたる。

今回このような、口腔内の多様な疼痛性疾患に関して、症例を供覧しつつ問題点を提示することで、基礎と臨床をつなぐ有意義な議論となれば幸甚である。

SS11-3

舌痛症における Artemin の役割

篠田 雅路

日大 歯 生理

舌痛症は、舌に炎症や腫瘍などの器質的な変化、血液学のおよび神経学的異常が認められないにもかかわらず「ヒリヒリ」「ピリピリ」した痛みや灼熱感といった舌痛覚異常を生じる疾患である。女性に発症することが多く、痛む部位が移動する、食事中は痛みが緩和されるといった特徴があるが、原因は全くわかっていない。そのため、わが国においては約700万人の患者が存在すると考えられるが、適切な診断と治療がなされていないのが現状である。われわれは、2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)の舌背塗布により、炎症や腫瘍などの器質的な変化が認められないにもかかわらず、舌に痛覚過敏が生じる舌痛症モデルマウスの作成に成功した。本研究では、同モデルに生じる舌熱痛覚過敏に対する Artemin の役割について検討した。舌背への TNBS 塗布により熱痛覚過敏が生じたマウスの舌背粘膜上皮において Artemin 発現量が増加し、抗 Artemin 中和抗体または Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 特異的アンタゴニスト (SB366791) の舌粘膜投与により舌背に発症する熱痛覚過敏が抑制された。同時に、三叉神経節において Artemin 受容体である glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha 3 陽性かつ TRPV1 陽性の舌投射三叉神経節ニューロン数が増加した。また、Artemin 舌粘膜持続投与により舌背に熱痛覚過敏が生じ、SB366791 舌粘膜投与により熱痛覚過敏が抑制された。さらに、TNBS 投与後、舌投射三叉神経節ニューロンの capsaicin に対する反応性が増大することをパッチクランプ法にて明らかにした。以上の結果から、TNBS 塗布により生じる舌背の熱痛覚過敏は、Artemin シグナルによる TRPV1 増加に起因した舌投射三叉神経節ニューロンの興奮性増大が関与していると考えられる。今後、舌痛症治療の標的分子として Artemin が期待される。

SS11-4

口腔内に痛みを引き起こす疾患と治療の実際

野間 昇

日大 歯 口腔診断

口腔内の痛みは、口腔内諸器官に由来することが多い。歯髄、歯周組織、口腔粘膜および舌などの軟組織によくみられる。歯科臨床において頻度が多いものとして、歯髄炎、歯周炎、智歯周囲炎、舌炎、アフタ、外傷、手術後疼痛などが挙げられる。これらの痛みは侵害受容性疼痛と呼ばれ、末梢組織に炎症や侵害刺激などが加わると侵害受容情報が中枢へ伝わり脳で痛みとして感じられる。これらの口腔内の痛みは急性痛であるために、早期の段階で治療を行うことで疼痛は消失する。

一方、口腔領域における慢性痛の代表的なものには、顎関節症、神経障害性疼痛や特発性口腔痛などが挙げられる。顎関節症は、咀嚼筋筋膜痛症候群を含み、咀嚼筋にトリガーポイントを伴うことがあり歯や顎骨など口腔内の痛みとして感じられる。治療としては行動学療法、咀嚼筋の運動療法が主体となる。神経障害性疼痛は口腔外科治療や根管治療によって生じる外傷性神経腫や血管圧迫により生じる三叉神経痛などがあり、歯科領域における発症頻度はまれではない。

特発性口腔痛で代表される舌痛症や burning mouth syndrome (BMS) は、舌や口腔内諸器官に炎症などの器質的な変化がみられないにも関わらず、患者は舌や口腔全体に焼けるような痛みを訴える。特発性口腔痛という概念もまた、一つの病態を指すものではなく、原因不明の口腔痛を指す症候群として使用されている。治療は、三環系抗うつ薬、抗痙攣薬などが広く使用されており、このなかでもシステマティックレビューによって有効性が示されている治療法としてはクロナゼパム、認知行動療法となっている。本講演では口腔内の痛みの原因となる侵害受容性疼痛、神経障害性疼痛、神経血管性疼痛、特発性口腔痛について症例を提示し疼痛発症機構の一端に触れてみたい。

SS11-5

口内炎による疼痛発症メカニズム
人見 涼露
九歯大 生理

口内炎による痛みは誰もが経験したことがあるだろう。口内炎による痛みが臨床上最も問題となるのは、口腔がんに対する化学・放射線療法の副作用として発症した場合である。この場合の口内炎は広範囲に発症し、誘発される痛みは激烈で食事も難しくなる。この痛みにより治療を断念する場合もあり、がん治療において大きな問題となっている。しかしながら、口内炎誘発疼痛メカニズムは不明であり、有効な疼痛緩和方法もない。口腔粘膜は体表皮膚とは組織学的、生理学的にも大きく異なるため、口内炎の疼痛メカニズムは既知のものとは大きく異なる可能性もある。しかしながら、動物口腔内への疼痛刺激は困難であり、現在では麻酔下での疼痛評価法しか知られていない。我々はこの状況を打開するため、覚醒下での口腔内疼痛評価法を開発し、口内炎による痛みの評価を試みた。

覚醒下ラットで口腔内の疼痛評価を行うために、新たに2種類の評価法（滴下法と人見法）を開発した。「滴下法」はカプサイシンなどの疼痛誘発物質の溶液を口腔内に滴下して、その後の疼痛関連グルーミング様行動を測定する。「人見法」はあらかじめラット下口唇に磁性ピアスを装着し、トレーニングにより長時間口腔粘膜を露出させることにより覚醒下で安定して刺激を行う方法である。50%酢酸の粘膜処理により口内炎を惹起させたラットに対して、これらの評価法を行った。口内炎惹起によりカプサイシン溶液およびクエン酸溶液滴下による疼痛関連行動が有意に増加し、機械的逃避閾値は低下した。さらに、健常粘膜と比較して口内炎粘膜では、錯角化層の剥離により著しく物質透過性が増加しており、著明な炎症性細胞の浸潤とともに脱顆粒したマスト細胞の割合が増加していた。また、カプサイシンおよび酸受容体である TRPV1 と ASIC3 の下唇粘膜支配神経における発現は口内炎惹起によって変化していなかった。

以上の結果から、口内炎による化学刺激、機械刺激による疼痛感受性亢進は、粘膜上皮の剥離による物質浸透性の増加と炎症ならびにマスト細胞の脱顆粒が関与している可能性が示唆された。今回開発した覚醒動物における口腔内疼痛評価法は、今後の口腔内疼痛研究に広く貢献できると考えている。

SS12-1

オーバービュー： 骨の司令塔—骨細胞—
網塚 憲生、宮本 幸奈、本郷 裕美、
佐々木宗輝、長谷川智香
北大 院歯 硬組織発生生物

近年、骨細胞の役割が注目されるようになってきた。それは、周囲の骨基質ミネラルの維持・溶解（松尾・発表演題）、骨細胞ネットワークによるメカニカルストレス応答（小守・発表演題）、また、破骨細胞分化や骨改造に対する調節（中島・発表演題）などがクローズアップされてきたからである。

骨細胞は、骨芽細胞あるいは骨細胞自らが産生した骨基質中に埋め込まれた細胞であり、骨基質中の骨小腔に存在している。骨細胞は多数の細胞突起を伸ばすが、それら突起は骨細管を通して骨基質内に張り巡らされている。骨細胞の細胞突起は、骨細胞同士や骨表面に位置する骨芽細胞の突起と互いにギャップ結合で連絡することで、骨細胞ネットワーク（骨細胞・骨細管系）を形成している。このネットワークが力学的負荷を感受し、それを伝達するシステムとして機能すると考えられている。

骨細胞産生因子で注目を浴びているのが FGF23、sclerostin、RUNKL、DMP-1 であろう。FGF23 は近位尿管管の受容体（FGFR1c/klotho 複合体）に作用して NaPi IIa/IIc によるリン再吸収を抑制している。sclerostin は骨細胞から産生され、骨表面上の骨芽細胞機能を抑制することが報告されており、ミニモデリングにおける骨形成部位ではその産生が低下している。また、リモデリングを受ける部位において、骨細胞から産生される RANKL が破骨細胞を誘導する可能性が注目されており、今後の骨代謝研究のターニングポイントになり得る可能性を秘めている。骨基質ミネラルの維持・溶解については、1960 年代に提唱された骨細胞性骨溶解が再度、脚光を浴びており、現在、種々の X 線顕微鏡を用いた詳細な検討も特記すべきことと考えられる。

本シンポジウムでは、骨細胞におけるアップデートな研究を 4 名の先生方にご紹介戴く予定である。

SS12-2

骨細胞ネットワークによるメカニカル
ストレス応答
小守 壽文
長大 院医歯薬 細胞生物

骨量は運動によって増加し、長期の臥床、神経損傷による不動、宇宙での微小重力状態環境下では減少し、いわゆる廃用性骨粗鬆症を呈する。このような力学的負荷あるいは非荷重をいかに感知し、骨量が制御されるかが長年議論されてきた。骨細胞は、骨の中で骨細管中を通る骨細胞突起によって連結し、神経細胞のネットワークのように、骨全体に骨細胞ネットワークを形成している。また、骨表面の骨芽細胞にも骨細胞突起で連結している。このため、古くから骨細胞ネットワークが、力学的負荷を感受し、それを伝達するシステムとして考えられてきた。しかし、骨細胞は骨の中に埋まっているために、その機能を解析することが困難であり、生体内の骨細胞の表現型を培養系で再構築させることも難しく、その機能は多くの間接的な観察から推測されてきた。まず最初に、骨細胞は骨リモデリングに重要と考えられてきた。それは、骨細胞が死ぬと、その部位がリモデリングによって置き換えられるからである。しかし、これは、骨細胞が本来骨吸収を抑制していることを示している訳ではない。骨細胞は、アポトーシスを起こしても貪食されないために、最終的に細胞膜は破綻しネクローシスを起こす。このネクローシスによって、骨吸収が亢進しリモデリングが起こるのである。骨細胞ネットワークは、2つのネットワークから成り立っている。ギャップ結合を介した細胞間ネットワークと、骨細管を介した細胞外ネットワークである。骨細管を介した細胞外ネットワークが破綻しない限り、骨細胞死が起こると細胞内の免疫惹起分子が骨細管を通過して骨表面に放出され、骨吸収が惹起される。したがって、骨細胞機能を見るためには、この2つのネットワークが破綻したマウスが必要である。これらが破綻したマウスをもとに、骨細胞機能を議論したい。

SS12-3

骨細胞性の骨溶解
松尾 光一
慶大 医 細胞組織

骨細胞は、骨芽細胞が自分の産生する骨基質に埋まりながら分化した細胞である。骨小腔の中に存在し、多数の樹状突起を骨細管の中に伸ばして骨基質内に「骨小腔-骨細管ネットワーク」を形成する。マウス長管骨では、授乳期のようにカルシウムの需要が高まっている時期に、骨小腔のサイズが大きくなることから、骨小腔周囲の骨基質を溶解して血中にカルシウムイオンを供給していると考えられる。すなわち骨細胞は、RANKLを発現し破骨細胞を活性化したり、sclerostinを発現して骨芽細胞を抑制したりするだけでなく、直接骨を溶解することで骨リモデリングに寄与している可能性がある。骨細胞が骨を内部から溶かすとしたら、そのメカニズムや制御を理解することは重要であるし、病的な骨溶解が見出されれば、将来的には骨細胞が治療標的になるかも知れない。

われわれは、骨小腔や骨細管を3次元的に可視化する方法を検討し、放射光施設 (SPring-8、兵庫県) でX線位相差顕微鏡を、東北大学などとの共同研究で開発した (Biomed Opt Express, 2013)。これまで、授乳期・離乳期、あるいは副甲状腺ホルモン (PTH) 投与後の野生型マウス、さらに骨硬化症や骨粗鬆症などの遺伝子改変マウスで骨小腔や骨細管の画像を取得し解析してきた。このX線位相差顕微鏡による解析手法は、高い解像度と定量性が得られる一方、現状では、視野が限定されること (解像度と視野はトレードオフの関係にある)、摘出骨を対象にせざるを得ないことなどの制約がある。それでも骨小腔や、骨細管の解析を行うためには有効な手法の一つであり、さまざまな応用へ向かうことが期待される。本発表では、最新の知見を紹介しながら、骨細胞性の骨溶解について議論する。

SS12-4

骨細胞による骨吸収制御機構

中島 友紀

東医歯大 院医歯 分子情報伝達

骨は破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成の絶妙なバランスにより、その恒常性が保たれており、常に新しく生まれ変わっている。これまで、古くなった骨を破骨細胞が壊すことで、骨リモデリングが始まり、骨は新しく作り変えられると考えられているが、その詳細はいまだ不明な点が多い。RANKLは破骨細胞分化を司る決定因子であることから、近年、治療標的として注目を集めている。しかし、生体レベルの骨組織において、どのような細胞が破骨細胞の分化を支持しているかはこれまで不明であった。最近、我々は骨組織におけるRANKL発現の局在を解析し、骨髄ストローマ細胞、骨芽細胞、またT細胞などの細胞集団に比べ、骨に埋め込まれた骨細胞が、強くRANKLを発現していることを見出した。骨細胞だけが特異的に蛍光を発する遺伝子改変マウスを作出し、骨細胞の新規単離培養系を構築し解析した結果、骨細胞のRANKL発現は、これまでRANKLの供給細胞と想定されていた骨芽細胞や骨髄ストローマ細胞のそれをはるかに凌ぐ発現量があり、破骨細胞の分化支持能力も他の細胞に比べ優れていることが明らかになった。さらに骨細胞特異的なコンディショナルRANKL欠損マウスを作成し生体レベルで骨解析を実施した結果、破骨細胞の分化抑制による重篤な大理石骨病を呈することが見出された。興味深いことに、このマウスに観察される大理石骨病は、生後すぐには発症しておらず、成長に伴いその病状を発症し悪化していくことが見出された。このマウスでは骨細胞のRANKLだけが欠失されており、他の細胞のRANKL発現は維持されていることから、成体においては、骨細胞がRANKLを主に発現し、破骨細胞の分化を支持する中心的な役割を演じることで、骨リモデリングの開始を制御する司令細胞であると考えられる。

LS-1

骨修飾剤ビスフォスフォネートのポテンシャルとミステリー

米田 俊之

インディアナ大 医 血液腫瘍内科

骨粗鬆症治療薬のFirst lineとしての地位を確立しているビスフォスフォネート(BP)に関する最初の論文がScience誌に掲載されてから約45年が経過した。BPの有益性および安全性は、注射剤が主に高カルシウム血症、骨パジェット病、あるいはがん患者の骨転移に合併する骨関連事象(Skeletal-related Events, SRE)、そして経口剤は主に骨粗鬆症の治療に世界的に広く用いられていることにより証明されている。また今日の骨代謝研究の隆盛にBPが大きく貢献したことに異論の余地はない。近年、骨修飾剤(Bone-modifying agent, BMA)としてのBPの作用が注目されている。乳がん、前立腺がん、そして肺がんなど高率に骨に転移するがんは破骨細胞の骨吸収と密接な相互関連、いわゆる“Vicious Cycle”を保ちながら骨転移を成立、進展させる。したがって破骨細胞による骨吸収を選択的に抑制し、骨由来増殖因子の供給を制限することにより骨環境の肥沃性を低下させるBPはうってつけの薬剤として用いられている。また、着目すべきBMAの作用として、閉経前乳がん患者においてBPは抗がん作用を示し、生存期間を延長させることが報告されている。また骨粗鬆症の治療のためにBPを服用している場合、乳がんや直腸がんの発生率が有意に低下することや、長期の抗がん治療により誘発される骨粗鬆症(Cancer Treatment-induced Bone Loss, CTIBL)の予防に効果があることも示されている。しかしながら一方においてBPの長期使用は顎骨壊死(ONJ)、あるいは非定型的大腿骨幹部骨折の発生と関連するとの報告も見られる。BPに関連するONJの発生メカニズムは不明であるが、口腔にのみ発生する点が極めて特徴的であり、基礎歯学研究者が是非にも取り組まなければならないテーマである。今回の講演では、こういったBMAとしてのBPの有益作用と問題点についてオーバービューする。

LS-2

歯科基礎医学研究におけるメカノバイオロジーの可能性
成瀬 恵治
岡大 院医歯薬・システム生理

触覚、心拍など、私たちの体は常に機械的な刺激を受けている。細胞・組織への機械刺激は恒常性維持や細胞機能の活性化などに大いに役立っており、当分野の研究は「Mechanobiology」として発展を遂げてきた。昨今、細胞を取り巻く力学的な環境の違いが幹細胞の分化制御にかかわることや、血管前駆細胞にシェアストレスを加えると内皮細胞に、ストレッチの刺激を加えると平滑筋細胞に分化することなどが報告されている。このように細胞培養・組織再生の過程で力学的環境の制御や機械刺激は細胞の分化・増殖をコントロールするための欠かせない手法となりつつある。今回は、メカノバイオロジーの歯科基礎医学への応用、新たな可能性についてご紹介したい。

LS-3

ウーロン茶ポリフェノールの齶蝕抑制効果とそのメカニズム
仲野 道代
岡大 院医歯薬 小児歯

お茶のう蝕抑制効果は古くから知られており、その効果はフッ素によるものと考えられてきたが、最近ではお茶に含まれるポリフェノールが、その効果をもたらすことが明らかになっている。特に、ウーロン茶に含まれるポリフェノールが顕著なう蝕抑制効果を発揮していることを、私達のグループで明らかにした。今回は、この抑制効果のメカニズムについて分子生物学的手法によるう蝕抑制効果の検証について紹介したいと考えている。

ウーロン茶はお茶の新芽を摘み取り、発酵の途上に加熱して製造された半発酵茶で、緑茶は不発酵茶、紅茶が発酵茶に属する。緑茶のポリフェノールがほとんどカテキン類であるのに対して、ウーロン茶や紅茶には製造過程の発酵作用によってできたカテキン類の重合体が含まれ、このカテキン重合体が強いう蝕抑制作用を示すウーロン茶ポリフェノール(Oolong tea polyphenols; OTPP)である。OTPPは、う蝕の主要な病原細菌であるミュータンスレンサ球菌の産生するグルカン合成酵素(Glucosyltransferase: GTF)の活性抑制効果を示す。この効果は、緑茶や紅茶の抽出物と比較してもOTPPが最も強い。この抑制メカニズムの活性阻害様式を調べてみると、非拮抗阻害様式であることが明らかとなった。GTFは遺伝子配列から、スクロースが結合しグルコースとフルクトースに分解されるN末端側2/3の領域とグルコースが転移し、グルカンが合成されるC末端側1/3の繰り返し構造からなるグルカン結合領域が存在する。それぞれの領域の断片タンパクを作製し、グルカン合成に及ぼすOTPPの作用を調べると、グルカン結合領域へのグルコースの結合阻害が濃度依存的に認められた。また、OTPPのGTF活性阻害が非拮抗阻害であることから、OTPPはグルカン結合領域へのグルコースの結合を阻害することによることが明らかとなった。今後はこれらの知見をヒトでの応用につなげていけると考えている。

LS-4

エルゼビア社主催 若手研究者のための Author Workshop : 学術論文作成の基本と EES を用いた Journal of Oral Biosciences 誌への投稿方法について
大島 勇人
新大院医歯 硬組織形態、J. Oral Biosci.誌編集長

研究はその成果としての論文や本の出版を伴う。言い換えれば、研究者は論文や本の出版を通して社会に研究成果を還元する義務を負っているのである。したがって、論文執筆作業は研究者にとって極めて重要な社会的な活動であるといえる。しかしながら、研究開始から論文出版までの道のりは長く険しく、論文執筆作業は研究者にとってはハードルの高いタスクである。論文を出版するためには、論文を雑誌に投稿し審査を受け、受理されなければならない。論文審査はピア・レビューなので、研究者は論文を審査される側と審査する側の双方の経験を経ることになるが、論文審査では読みやすい（理解しやすく、論文の主題が伝わる）論文と、冗長で難解な（論文の主題が読み取れない）論文に遭遇する。これは論文の構成・骨組み（organization、structure）に起因する問題である。論文の優劣を決めるのは、適切な研究目的の設定と効果的な研究方略の立案、そして実験結果であるが、論文の構成が論文の価値を大きく左右する。論文執筆にあたり、各セクション（Introduction、Materials & Methods、Results、Discussion）間で内容の重複を避け、各セクション相互を有機的に関連づけることが、科学的な重要性をつかみやすい論文を作成するコツである。また、研究目的には理論的根拠（rationale）が重要で、未解決の問題点の明示とその問題を解決する研究方略の立案が鍵を握る。良い論文を書くためには、論文を強く意識して研究を進めることが必要になる。

本講演では、若手研究者を対象に学術論文作成の基本を概説すると共に、科学的な重要性をつかみやすい論文を効率的に作成するコツを伝えたい。さらに、エルゼビア社の論文投稿システム（EES）を使って Journal of Oral Biosciences へ論文を投稿する方法についても説明する。

O-1

Smad8はBMPシグナルを抑制的に調節する
 ○片桐 岳信¹、藤本 舞¹、宮本 阿礼¹、古株 彰一郎¹、自見 英治郎²、大澤 賢次¹ (埼玉大 ゲノム 病態生理、²九歯大 分子情報生化)

【目的】活性化されたBMP受容体は、相同性の高い転写因子Smad1、Smad5、Smad8をC末端のリン酸化によって活性化し標的遺伝子の発現を調節する。Smad1/5/8のリン酸化は、ネガティブ・フィードバックによって誘導される抑制型Smad (Smad6とSmad7)によって競合的に阻害される。構成的活性型Smad1/5/8を作製した結果、Smad8はSmad1/5に比べて転写活性が極度に低く、他の生理作用を有する可能性が示唆された。本研究は、Smad8がBMPシグナルの抑制因子として機能することを報告する。

【方法・結果】構成的活性型変異を導入したSmad1またはSmad5はC2C12細胞のALP活性を誘導したが、Smad8はほとんど誘導しなかった。構成的活性型BMP受容体と野生型Smad1を共発現させると強いALP活性を誘導した。一方、Smad8はBMP受容体を抑制し、構成的活性型Smad1の活性も抑制した。Smad6/7はBMP受容体を抑制したが、構成的活性型Smad1は抑制しなかった。C2C12細胞をBMPで刺激すると、Smad6/7に加えSmad8 mRNAが3時間以内に増加した。

【考察】Smad8はSmad1/5と相同性が高く、BMPシグナルを伝達すると考えられてきた。しかし、Smad8は転写活性が低く、Smad1/5によるBMPシグナルを抑制した。また、Smad8の発現は、抑制型Smad6/7と同様にBMPシグナルで誘導された。従って、BMPシグナルで誘導されるSmad8は、BMPシグナルを抑制的に調節する可能性がある。【会員外共同研究者】塚本翔

O-3

コリプレッサー TLE3はHDACを介して骨芽細胞分化を抑制する

○古株 彰一郎^{1,2}、佐藤 毅¹、榎木 祐一郎¹、大久保 正彦¹、片桐 岳信³、依田 哲也¹ (埼玉大 口腔外科、²ハーバード大 歯 発生生物、³埼玉大 ゲノム医学 病態生理)

骨髄の骨芽細胞と脂肪細胞は共通の前駆細胞である骨髄間質細胞から分化するが、その分化調節メカニズムには不明な点が多い。骨粗鬆症や加齢などでは、骨髄における脂肪細胞の分化が亢進し、骨芽細胞分化は抑制され骨量が減少する。最近、コリプレッサーであるTLE3が前脂肪細胞で脂肪細胞分化を促進することが報告された。そこで今回我々はTLE3の骨芽細胞分化に対する作用を検討し、TLE3が骨髄間質細胞の骨芽細胞分化を抑制することを見出したので報告する。免疫染色によりTLE3が骨髄間質細胞の核に強く発現することを確認した。次にTLE3を過剰発現させたところ、骨芽細胞分化が抑制され、脂肪細胞分化が促進された。また、RNA干渉により内在性TLE3をノックダウンした細胞では、骨芽細胞分化が促進され、脂肪細胞分化が抑制された。さらにRunx2の転写活性への影響についてOSE2-luc活性を指標に検討したところ、TLE3はRunx2の過剰発現で誘導したOSE2-luc活性を強力に抑制した。一方で、Histone Deacetylase (HDAC)阻害剤であるTSAの添加により、TLE3によるOSE2-lucの抑制が解除された。以上より、TLE3はHDACを介して骨髄間質細胞の骨芽細胞分化を抑制することが明らかとなった。

O-2

卵巣摘出レプチン受容体遺伝子変異 (db/db) マウスの骨組織における組織化学的検索

○田中 祐介^{1,2}、長谷川 智香¹、山田 珠希¹、織田 公光³、鄭 漢忠²、網塚 憲生¹ (北大 歯 硬組織発生生物、²北大 歯 口外、³新大 医歯学 生化)

【目的】レプチンは脂肪細胞で産生される食欲調節ホルモンであり、骨代謝にも影響を及ぼすとされている。我々は、レプチン非作用下のエストロゲン欠乏による骨組織異常を明らかにする目的で、レプチン受容体変異を有するdb/dbマウスに卵巣摘出(OVX)を行い、組織化学的に解析した。

【方法】12週齢の雌性db/dbマウスと野生型(WT)マウスをOVXし、20週齢で大腿骨・脛骨を通常法にてアルデヒド固定した。ALP、TRAPとleptin Rの局在を組織化学にて、また、leptinR、ERαとPPARγ2の発現をRT-PCRにて解析した。

【結果】db/db群では著しい骨梁の減少と脂肪細胞の増加を認めた。ALP陽性骨芽細胞領域はdb/db群で減少し、db/db-OVX群ではさらに減少したが、WT群のOVXによる減少幅より小さかった。leptinRとERαの発現は4群とも同様であり、leptinR陽性反応は骨芽細胞に認められた。PPARγ2の発現はdb/db群とdb/db-OVX群で上昇していた。

【考察】db/dbマウスではOVXを行わなくともALP陽性反応が著しく低下したことが、db/db-OVX群ではALP陽性領域が減少したが、WTマウスにおけるOVX群の減少幅に比べると低いことを考慮すると、レプチンの骨芽細胞に対する作用はエストロゲン欠乏に比べて大きい可能性が推測された。

O-4

PP2A CaはOsterixを介して骨芽細胞分化を調節する。

○岡村 裕彦¹、羽地 達次¹ (徳大院 HBS 口腔組織)

PP2Aは細胞の分化・増殖やアポトーシスに関与するセリン/スレオニンプロテインフォスファターゼである。PP2Aは触媒サブユニット(PP2A Ca)を中心に三量体を形成し、様々な蛋白質の脱リン酸化に関与する。今回我々は、骨芽細胞分化におけるPP2A Caの役割について検討した。【方法】1.分化誘導培地で培養したマウス骨芽細胞MC3T3-E1からサンプルを調整し、PP2A Caの発現と活性を調べた。2. shRNAによりPP2A Caの発現を抑制したMC3T3-E1 (shPP2A)を樹立し、分化・石灰化能を調べ、骨分化マーカーの発現をリアルタイムPCRとウエスタンブロットを用いて解析した。3. Osterixプロモーター活性をルシフェラーゼアッセイを用いて解析した。4. shPP2A細胞にOsterixのsiRNA導入を行い、分化・石灰化能を評価した。【結果と考察】骨芽細胞分化の初期段階でPP2A Caの発現と活性が低下した。shPP2A細胞は分化・石灰化能が亢進し、Osterix、Bone sialoprotein および Osteocalcin等の骨分化マーカーの発現が増加した。shPP2A細胞ではOsterixプロモーター活性が亢進していた。Osterix発現抑制によりshPP2A細胞の分化・石灰化能亢進が抑制された。以上の結果より、PP2A CaはOsterixを介して骨芽細胞の分化・石灰化能を調節する重要な因子であることが分かった。

O-5

骨細胞は interferon- β (IFN- β) を産生し破骨細胞形成を負に制御する

○林田 千代美¹、伊東 順太¹、中谷地 舞²、岡安 麻里²、大山 洋子³、羽毛田 慈之¹、佐藤 卓也¹ (¹明海大 歯 形機成 口腔解剖、²明海大 歯 形機成 歯科矯正、³明海大 歯 病診治 口腔顎顔面外科)

【目的】骨細胞による破骨細胞 (OC) 形成調節について、株化骨細胞 MLO-Y4 の培養上清 (MLO-Y4-CM) 及び骨細胞を高純度を含む骨片 (OEBF) の新規培養法を用いて検討した。【方法】OC 形成の評価は、骨髄細胞から M-CSF により OC 前駆細胞 (OCP) を誘導、さらに可溶性 RANKL を加え OC を誘導する系を用いた。OEBF は、5 週齢マウス大腿骨骨幹を 2 mm×3 mm の骨片にし、骨片表面の細胞をコラゲナーゼ/EDTA 処理で除去し調製、トランスウェルプレートインサートウェル上で器官培養法に準じ培養した。【結果と考察】OCP 形成期に MLO-Y4-CM 存在下で誘導した細胞では、*double-stranded RNA protein kinase (PKR)* mRNA の発現亢進、可溶性 RANKL が産生を促進する c-Fos の翻訳阻害及び OC への分化能の低下が見られた。これら MLO-Y4-CM の作用は抗 IFN- β 中和抗体の添加で一部解除された。インサートウェル上の OEBF と骨髄細胞を OCP 形成期のみ共存培養すると OC 形成は抑制され、この抑制は抗 IFN- β 中和抗体添加で一部回復した。実際、MLO-Y4 細胞及び OEBF は IFN- β mRNA を発現していた。また、OPG 欠損マウス由来の OEBF も OC 形成を抑制した。以上の結果から、骨細胞は IFN- β を産生し OC 形成を抑制することが示唆された。

O-7

マウス骨端板の septoclast における E-FABP の免疫電顕的局在と食餌ビタミン A・レチノイン酸の影響

○坂東 康彦¹、瀧澤 将太¹、崎山 浩司¹、天野 修¹ (¹明海大 歯 解剖)

【背景】我々はこれまで骨代謝に影響を与える n-3 系長鎖不飽和脂肪酸 (PUFA) やビタミン A およびその誘導体であるレチノイン酸と親和性の高い表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP) がマウス脛骨骨端板で septoclast に特異的に発現することを示した。今回、免疫電顕法により E-FABP 陽性細胞の超微細構造を明らかにし、さらにビタミン A、レチノイン酸摂取量が E-FABP 陽性細胞に与える影響を調べた。

【方法】実験 1: 4 週齢 (P4w) マウス脛骨頭組織に対し pre-embedding 法により抗 E-FABP 抗体を用いた免疫電顕的観察を行った。実験 2: 1) 抗 E-FABP 抗体と抗レチノイン酸受容体 (PPAR) 抗体の二重染色を行った。2) レチノイン酸を過剰摂取させた P4w、ビタミン A 欠乏食を離乳期より摂取させた P9w マウスに対し抗 E-FABP 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。

【結果】実験 1: E-FABP 陽性細胞は細胞質突起が骨端板横隔に伸び、さらに微絨毛が横隔の基質まで達していた。E-FABP は細胞質基質、ミトコンドリアおよび核に局在していた。実験 2: 1) E-FABP 陽性細胞に PPAR β/δ の局在が認められた。2) レチノイン酸過剰摂取マウス、ビタミン A 欠乏食摂取マウスともに E-FABP 陽性細胞の密度の減少と細胞質突起の欠失、形態不全が認められた。

【考察】septoclast に E-FABP を介する n-3 PUFA やレチノイン酸の代謝経路が存在し、ビタミン A はレチノイン酸を介して septoclast による軟骨内骨化の軟骨横隔吸収にも関与することが示唆された。

O-6

疑似微小重力に対するキンギョ再生ウロコにおける破骨細胞の応答と RANKL 発現変化

○池亀 美華¹、服部 淳彦²、山本 敏男¹、鈴木 信雄³ (¹岡大 院医歯薬 口腔形態、²東医歯大 教養 生物、³金沢大 環日本海域環境研究セ)

魚類のウロコには骨組織と類似した硬組織が存在し、骨組織同様にカルシウム代謝調節ホルモンや、機械的刺激に応答する。2011 年の本学会で、我々は宇宙空間の微小重力環境においてキンギョの再生ウロコの破骨細胞の多核化が亢進することを報告した。破骨細胞の形成、誘導、活性化には、骨芽細胞系細胞が発現する RANKL が重要であることが知られるが、魚類ウロコにおける RANKL 発現についてはほとんど知られていない。そこで、ウロコにおける破骨細胞活性化への RANKL の関与について明らかにするために、特異抗体を作製し、免疫組織化学によりキンギョ再生ウロコにおける RANKL の局在を検出するとともに、3D クリノスタットによる疑似微小重力下でウロコを培養し、RANKL の発現変化を検討した。その結果、RANKL の免疫活性は再生ウロコの溝条中、あるいはその辺縁に沿って局在する単核の紡錘形細胞に認められた。疑似微小重力群では、静置培養した対照群と比較して、破骨細胞の多核化が促進され、RANKL の免疫活性が増加する傾向が見られた。破骨細胞は主に溝条に沿って観察されることから、これらの溝条に沿って局在する RANKL 陽性単核細胞が、破骨細胞形成や活性化に関与していることが示唆された。(共同研究者: 金沢大 環日本海域環境研究セ 山本 樹、富山大 生命科学先端研究セ 遺伝子実験施設 田淵圭章、JAXA 矢野幸子)

O-8

Curdlan-dectin-1 を介した新たな破骨細胞分化の制御機構

○山崎 徹^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、細川 隆 司²、西原 達次¹ (¹九歯大 感染分子、²九歯大 口腔再建リハ)

【目的】Dectin-1 は主にマクロファージや樹状細胞に発現し、 β グルカンとの結合により、さまざまな細胞内反応を引き起こす。今回、 β グルカンの一つである curdlan が receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) 誘導下の破骨細胞形成に及ぼす影響について調べた。【方法】マウス単球系細胞 RAW264.7 の dectin-1 過剰発現細胞を用い、RANKL、curdlan を添加して培養した。また、マウス骨髄細胞を用い、macrophage-colony stimulating factor (M-CSF)、RANKL、curdlan 刺激下で培養を行った。Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、TRAP 陽性多核細胞数を計測した。Osteo Assay Stripwell Plate にて骨吸収活性を評価し、さらに、破骨細胞のアクチンリング形成を観察した。RT-PCR、Western blotting にて nuclear factor of activated T cell c1 (NFATc1)、および関連分子を解析した。【結果】Curdlan は RANKL 誘導下の成熟 TRAP 陽性多核細胞形成、さらに、吸収窩形成、アクチンリング形成を抑制した。また、NFATc1 とその関連分子、c-Fos の発現を抑制した。【考察】Curdlan は RANKL 誘導下のシグナル経路を阻害することで、破骨細胞形成を抑制する可能性があることが示唆された。

O-9

破骨細胞分化におけるアセチルコリンエステラーゼの関与

○佐藤 毅¹、榎木 祐一郎¹、古株 彰一郎¹、大久保 正彦¹、白井 通彦²、依田 哲也¹ (埼玉大 医 口外、²九歯大 歯 歯周病)

高齢化社会において増加している認知症のうちアルツハイマー病は、進行すると骨密度の低下を認める。治療薬のドネペジル (DPZ) などある種のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害剤 (AChEI) を服用していると、骨折のリスクが有意に低いことが報告された。最近の研究から AChE およびブチリルコリンエステラーゼ (BChE) を阻害する AChEI であるピリドスチグミンは、骨において ACh を蓄積させて破骨細胞にアポトーシスを起こすことが明らかとなった。しかしながら BChE を阻害しない DPZ については検討されていないため、今回 DPZ が骨関連細胞に与える影響を検討した。試薬として AChE および DPZ を、骨芽細胞として MC3T3-E1、破骨細胞としてマウス骨髄細胞を用いて増殖・分化について検討した。増殖抑制作用のない DPZ は骨芽細胞分化に影響を与えなかった。一方、DPZ は骨髄細胞に増殖促進作用・破骨細胞に分化抑制作用を示し、破骨細胞にアポトーシスは認められなかった。また、DPZ は破骨細胞において Id2 発現を上昇させ、laminin-1 beta の発現を低下させた。さらに破骨細胞分化過程において AChE および laminin-1 beta の発現が上昇しており、AChE を破骨細胞に作用させると分化が促進された。AChEI は骨組織において ACh の蓄積ではなく AChE の阻害により、破骨細胞分化を抑制することが示唆された。

O-11

RANKL 遺伝子欠損マウスにおける破骨細胞様細胞の微細構造学的解析

○宮本 幸奈^{1,2}、長谷川 智香²、佐々木 宗輝²、織田 公光³、宇田川 信之⁴、山本 恒之²、網塚 憲生² (¹北大 歯 6年、²北大 院歯 硬組織発生生物、³新大 歯 口腔生化、⁴松歯大 歯 口腔生化)

【目的】我々は RANKL^{-/-}マウスにマクロファージと破骨細胞の共通の性質を持ち、石灰化基質を取り込む大型細胞が存在すること、また、活性型骨芽細胞が多数存在することを報告してきた。そこで今回は、その微細構造を明らかにする目的で透過型電子顕微鏡にて破骨細胞様大型細胞を観察した。
【材料と方法】生後 10 週齢の RANKL^{-/-}マウスと野生型マウスの大腿骨・脛骨をアルデヒド固定し、パラフィンと epoxy 樹脂包埋した。H-E 染色と TRAP などの組織化学を行い、透過型電子顕微鏡にて微細構造観察を行った。
【結果および考察】RANKL^{-/-}マウスに存在する破骨細胞様大型細胞は TRAP 陽性示さず、骨組織内に散在して観察された。透過型電子顕微鏡観察では、これらの細胞は波状縁を持たず、細胞内小器官に乏しい明帯様の構造で主に軟骨基質を取り囲んでいた。取り込まれた軟骨基質はコラーゲン線維が露出し崩壊像を示していた。このような破骨細胞様大型細胞は、辺縁クロマチンの発達した核を持ち、細胞質には多数のミトコンドリアと大小の小胞が認められた。以上のことから、RANKL^{-/-}マウスに存在する破骨細胞様大型細胞は、軟骨基質を取り込む機能を有し、微細構造学的に破骨細胞に類似した形態を持つことが示唆された。

O-10

周期的圧縮刺激は PGE₂ の産生を介して破骨細胞分化を誘導する

○荒木 大介¹、原 哲也¹、伊志嶺 知沙¹、皆木 省吾¹ (¹岡大 院医歯薬 咬合・有床義歯補綴)

【目的】骨のリモデリングの調節には機械的刺激が重要であることが知られているが、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。近年、骨免疫学の見地から骨周囲の細胞からの産生因子の重要性が報告されている。本研究では、ラット歯肉線維芽細胞 (rGF) を用いて、機械的刺激による破骨細胞分化関連因子の産生変化とその産生因子による破骨細胞前駆細胞である RAW264.7 細胞の破骨細胞分化への影響を調査した。【方法】Wistar 系雄性ラットの口蓋粘膜から単離した rGF に、培養細胞伸展システム (STB-140, STREX) を用いて周期的圧縮刺激 (CCF) を負荷した。負荷後から様々な時間経過後に RNA と培養上清を回収し、real time PCR 法にて破骨細胞分化関連因子の遺伝子発現と ELISA 法にて培養上清中の PGE₂ 産生を解析した。また、可溶性 RANKL と CCF を負荷した rGF の培養上清を 10%あるいは 30% (vol/vol) 添加して RAW264.7 細胞を 6 日間培養した後、TRAP 陽性細胞を観察した。【結果】CCF によって rGF における COX-2 と IL-6 の遺伝子発現が刺激され、両遺伝子とも負荷後 1 時間以内に増加した。また、PGE₂ 産生も CCF によって約 10 倍増を示した。RAW264.7 細胞は、CCF を負荷した培養上清を添加することによって、TRAP 陽性細胞数が顕著に増加した。【考察】高濃度の PGE₂ は炎症初期の骨破壊に関与すると報告されており、CCF によって産生された PGE₂ が破骨細胞分化を促進する可能性が示唆された。

O-12

破骨細胞の骨吸収活性を制御する Wnt5a-Ror2 シグナルによる Rho 活性化

○上原 俊介¹、宇田川 信之¹、高橋 直之²、小林 泰浩² (松歯大 口腔生化、²松歯大 総歯研)

Wnt5a は Ror2 受容体を介し、破骨細胞分化誘導因子 RANKL の受容体である RANK の発現を亢進し、破骨細胞分化を促進する。今回我々は、破骨細胞の骨吸収機能における Wnt5a-Ror2 シグナルの役割を明らかにするため、破骨細胞特異的 Ror2 欠損マウス (Ror2 cKO) を解析した。Ror2 cKO は骨量増加を呈し、骨吸収マーカーである血清 CTX は低値を示した。しかし、骨形態計測では破骨細胞の減少を認めなかった。培養実験において Ror2 cKO 由来の破骨細胞は、アクチンリング形成および吸収窩形成不全を示した。すなわち Ror2 シグナルは、破骨細胞の骨吸収活性を調節することを示唆した。低分子量 G タンパク質である Rac 及び Rho は、骨吸収に関与する。そこで、Ror2 cKO 由来の破骨細胞において恒常的活性型 (CA)-RhoA あるいは CA-Rac1 を過剰発現した。CA-RhoA は低下した骨吸収活性を回復させた。Wnt シグナルにおける Rho 活性化因子である Daam2 の発現は、破骨細胞分化に伴い増加した。shRNA を用い Daam2 発現を抑制したところ、吸収窩形成が抑制された。また、Daam2 をノックダウンした破骨細胞において CA-RhoA を発現すると、低下した吸収窩形成は回復した。以上より、Ror2 シグナルは Daam2 を介して Rho を活性化し、破骨細胞の骨吸収活性を制御する。(会員外共同研究者：山下照仁 (松歯大)、南康博 (神戸大))

O-13

三次元立体構築画像を用いた切歯管の構造に関する解剖学的研究

○福田 真之¹、野口 拓¹、大峰 悠矢¹、木下 英明¹、松永 智¹、井出 吉信¹、阿部 伸一¹ (東歯大 歯 解剖)

【目的】上顎前歯部欠損の補綴治療では、インプラント補綴が選択肢としてあるが、切歯窩の拡張を伴う骨吸収により最適なインプラント埋入が困難になる場合がある。我々の講座ではマイクロCTで撮影したデータから三次元立体構築画像を作成し、上顎骨白歯部の三次元的な骨形態計測を行い報告してきたが、上顎前歯部特に切歯管周囲の解剖学的研究は少なく不明な点が残されている。そこで、本研究では上顎前歯部および切歯管周囲の骨内部構造の形態を把握するため骨形態計測を行い、インプラント埋入に必要と思われる基礎的データの取得を試みた。【試料と方法】試料は年齢および性別のわかる東京慈恵会医科大学解剖学講座所蔵の日本人頭蓋骨20体を用いた。これらをマイクロCTにて撮像を行った。得られたスライスデータから三次元立体構築ソフトを用いて、内部構造の観察および骨形態計測を行った。【結果と考察】切歯窩の形態を3つの型に分類しそれぞれの計測項目を設定した。すべての距離、厚径の計測項目に有意差は無く、形態分類ごとに大きな傾向はなかった。しかし、インプラント埋入時にその成否を大きく左右する埋入角度については最高71.110°、最小44.039°と個体差があることが明らかとなった。さらに上顎骨では歯牙の脱落により頬側からの吸収が起り、その形態が大きく変化するため、インプラント手術ではCTによる事前の診査、診断の重要性が示唆された。

O-14

脈管構造の組織立体構築と Virtual Reality 観察

○鳥津 徳人¹、田谷 雄二¹、添野 雄一¹、白子 要一¹、藤田 和也¹、佐藤 かおり¹、青葉 孝昭¹ (日歯大 生命歯 病理)

生体諸臓器・組織の立体観察に向けては、多種の画像解析法が開発されているが、細胞レベルでの空間分解能を保持した上で、臓器・組織の内部構造を自在に直視できることが望まれている。我々はこれまでに、連続薄切標本の多重免疫標識とバーチャルスライド(VS)を併用した組織立体構築法を確立してきた。今回の報告では、3D情報をインターラクティブに動的観察できる画像処理機能(NVS ExFact VR)を併用して、脈管性臓器例としてヒト腎小体と尿管構造およびマウス舌組織の血管・リンパ管網を供覧する。観察対象の組織実質と脈管間質を免疫組織化学(およびPAS染色)により標識し、組織画像はVS装置(空間分解能0.46μm/pix.)によりデジタル記録した。広領域・高画質のVS画像を用いた組織立体構築では、画素容量が飛躍的に増大するなかで、通常のviewerソフトによる3D観察では画像操作の遅れなど不便さを感じることも多い。今回の3D観察法(Virtual Reality)の特質として、高精細の微小脈管構造の画質を保持した上で、観察方位や拡大率を即時に変えられる。さらに、3D情報の高圧縮機能を活かしてWeb配信(QuickTime)も可能となっており(<http://www.ndu.ac.jp/~path-home/>)、研究・教育分野での有用性は高いと考えている。共同研究者：上杉憲子(筑波大学腎血管病理)

O-15

3次元CT画像を用いた口腔解剖学教育—副鼻腔容積と歯の関係—

○高橋 常男¹、前田 信吾¹、一條 幹史¹、高橋 雄輔¹、森山 浩志²、熊坂 さつき³、小林 繁⁴ (神歯大 院 3次元画像解剖、²昭大 医 解剖、³駒澤大 医療健康科学 診療放射線技術科学、⁴九歯大 歯 頭頸部構造解析)

【目的】平成21年度に神歯大解剖実習棟内に、4列マルチスライスCT装置を設置した。本CTによって得られる画像情報を解剖実習時は、献体者の最後の状態を学生に知らせる情報とし、研究時は3次元画像構築を行った物を用いる目的でデータを蓄積し、平成24年度の解剖実習から撮影した画像情報の運用を始めた。解剖体の画像は、固定液注入の前後に於ける画像変化が読影に及ぼす影響を副鼻腔の容積変化と無歯顎、残存歯の関係を検討したので報告する。【方法】最初に全身のCT撮影を1~5mmのスライス厚で行い、画像診断は放射線科医立会いのもとで行った後、副鼻腔の容積、残存歯の確認をDicom Viewer Osilixを用いて行った。【結果及び考察】CT画像の読影精度は、過去の報告より注入後の胸部及び腹部内臓の読影は困難であり、固定液注入後の変化だけでなく、死後の経過による変化も考えられ課題が多かった。固定液注入前後における副鼻腔の容積については、洞容積の減少や増大、個々の解剖体における残存歯の数、副鼻腔の大きさなどの相対的關係について研究における結果と考察を報告する。

O-16

軟骨石灰化不全ラット(CCIラット)における頭蓋底軟骨結合の形態学的解析

○竹内 綾¹、永山 元彦²、葛島 康平¹、渡部 博之¹、江原 道子²、天野 均³、田中 政巳⁴、渡辺 実⁵、田沼 順一²、北井 則行¹ (朝日大 歯 歯科矯正、²朝日大 歯 口腔病理、³昭大 歯 歯科薬理、⁴会津大 短大 食物栄養、⁵聖マリアンナ医大 院 実験動物施設)

【目的】我々は、これまでにSDラット由来の自然発症型軟骨石灰化不全(CCI)ラットが野生型と比較して、全身の低成長と軟骨内骨化不全を示すことを報告してきた。今回、軟骨成長の特微的な形態変化を示した頭蓋底軟骨結合に着目し、CCIラットとSDラットを形態的に比較した。【方法】生後4週齡のCCIラットとSDラット各6匹を4% paraformaldehydeで還流固定後、マイクロCT装置(35kV, 200mA)で頭部を撮影し、得られた画像から3次元解析ソフトで頭蓋底軟骨結合部のMineral Density(MD)値を算出した。マイクロCT撮影後、各頭部矢状断方向のパラフィン切片を作製し、Hematoxylin-Eosin染色、Safranin O/Fast Green染色およびAlcian Blue染色を行った。【結果と考察】マイクロCT画像では、CCIラットの頭蓋底軟骨結合部で著しい軟骨幅の拡大を示した。また、SDラットと比較してCCIラットでは著しく不均衡な軟骨成熟状態を示した。一方、組織学的には、SDラットと比較してCCIラットの蝶形骨間軟骨結合と蝶形後頭軟骨結合は前後幅が長く、軟骨成長板における軟骨細胞の配列の乱れや軟骨基質の分布異常がみられた。以上の所見から、CCIラットの頭蓋底では、他部位と同様に軟骨内骨化不全による低成長を示すと考えられた。

O-17

チンパンジーの棘孔の形態変異

○近藤 信太郎¹、内藤 宗孝²、松野 昌展¹ (1)大 松戸歯 解剖1、²愛院大 歯 歯科放射線)

【目的】棘孔は蝶形骨大翼の脳面で卵円孔の後外側に位置する小孔で、卵円孔と同様に中頭蓋窩と側頭下窩を連絡する。この孔は中硬膜動脈と下顎神経硬膜枝の通路となる。チンパンジー (*Pan troglodytes*) の卵円孔は他の霊長類よりもヒトと類似した形態を呈することを昨年の本学会学術大会で報告した。今回は棘孔の変異をチンパンジーとヒトと比較した。【材料と方法】頭蓋骨を肉眼およびCT画像により観察した。【結果と考察】チンパンジーでは棘孔が存在するもの、棘孔と卵円孔が癒合するもの、棘孔が欠如するものが認められた。ヒトでは卵円孔と棘孔が癒合するものは認められたが、棘孔が欠如するものは見られなかった。中硬膜動脈は棘孔から頭蓋腔に入り、内頭蓋底および頭蓋冠内面の動脈溝に沿って分布する。このため、頭蓋標本において動脈溝を辿っていくと棘孔に達することになる。チンパンジーの頭蓋骨ではヒトに比べて動脈溝の走行が明瞭ではなかったが、動脈溝が棘孔に至ることは確認できた。棘孔が欠如した個体では動脈溝は卵円孔に到達したことから、卵円孔が中硬膜動脈の通路と考えられた。チンパンジーの卵円孔と棘孔は外頭蓋底の方が内頭蓋底より近接していた。ヒトでは内・外頭蓋底いずれにおいてもチンパンジーより2つの孔は離れていた。以上の結果から、卵円孔と棘孔が近接していることがチンパンジーにおける棘孔の変異の要因と考えられる。

O-19

マウス上顎骨チタンインプラント植立モデルを用いた即時埋入と遅延埋入における骨・インプラント界面の治癒の違いについて

○渡辺 泰典¹、斎藤 浩太郎¹、大島 勇人¹ (1)新大 院医歯 硬組織形態)

【目的】今回我々は、マウスを用いた上顎骨チタンインプラント植立モデルを確立し、遅延埋入と即時埋入におけるインプラント周囲歯槽骨の骨吸収リスクと骨質を評価すると共にインプラント植立後のオッセオインテグレーション確立過程を検索した。【方法】生後4週齢マウス上顎右側第一臼歯 (M1) を抜去後、ドリルを用いて窩洞を形成し、インプラントを埋入した (即時埋入群)。また、2週齢マウス M1 を抜去後、4週間抜歯窩の治癒を待ち、同様に窩洞を形成し、インプラントを植立した (遅延埋入群)。0~28日後にアルデヒド系固定液で灌流固定し、抗オステオポンチン (Opn) 抗体および抗 Ki67 抗体を用いた免疫染色、TUNEL 染色、TRAP 酵素組織化学を施した。未脱灰標本については、EPMA を用いて定量解析と元素解析を行った。【結果および考察】即時埋入群・遅延埋入群共に術後28日までにオッセオインテグレーションが確立されたが、両群の間で骨・インプラント接触面積および歯頸側の骨吸収、並びに石灰化度に有意な相違はなかった。インプラント植立初期では、即時埋入群の方で肉芽形成および骨形成が進行していた。以上より、本実験はマウス顎骨におけるインプラント植立モデルの確立に成功し、経時的な、かつ細胞レベルの骨・インプラント界面の治癒過程が、即時埋入群で骨形成が早期に惹起されるものの、即時埋入群と遅延埋入群との間でおおきな差がないことが明らかになった。

O-18

成長期におけるソフトフード摂取がラット顎関節に与える影響

○加藤 剛士^{1,2,3}、高橋 茂²、上北 広樹¹、土門 卓文² (1)北大 院歯 リハビリ補綴、²北大 院歯 口腔機能解剖、³札幌北検病院)

【目的】本研究では、成長期ラットにソフトフードを継続的に摂取させた時、顎関節にどのような影響が及ぶのかを形態学的に明らかにすることを目的とした。【方法】Wistar 系雄性ラット24匹を用い、21日齢で離乳させた。離乳後、液状食 (実験群) あるいは固形食 (対照群) を与え、1~8週間飼育した。飼育期間が終了したラットを4%パラホルムアルデヒド溶液にて還流固定後、頭部を摘出し10% EDTA 溶液で脱灰した。以後通法に従って顎関節部を含む前頭断連続切片を作製した。切片には HE 染色を施し、組織学的に観察するとともに顎関節部の3次元組織計量を行った。また一部の切片には BrdU 免疫染色を施し、顎関節部の細胞増殖活性を測定した。【結果と考察】実験群4週目の顎関節部軟骨の肥大細胞層は対照群よりも薄く、特に下顎窩において顕著であった。また8週において、実験群の下顎頭の幅径や長径、下顎窩相当部の頬骨突起の幅径や高径は対照群に比べて小さかった。BrdU 免疫染色では実験群の下顎頭 (1, 4週) や下顎窩 (4週) の増殖層細胞の陽性率が対照群より低下した。以上の結果から成長期におけるソフトフード摂取はラット顎関節の成長を阻害することが明らかとなり、これには増殖層細胞の増殖活性低下が関連していると考えられた。

O-20

咬合負荷が抜歯即時埋入チタンインプラント周囲の骨組織に与える影響について

○池田 欣希¹、長谷川 智香²、網塚 憲生²、横山 敦郎¹ (1)北大 院歯 口腔機能補綴、²北大 院歯 硬組織発生物)

【目的】インプラント臨床では埋入後早期や即時の機能負荷が行われているが、その際のインプラント周囲骨組織の反応については不明な点が多い。そこで我々は、埋入後早期の咬合負荷がインプラント周囲骨組織に与える影響について組織化学的に検索した。【方法】生後4週齢の雄性 Wistar 系ラットの上顎左側第一臼歯を全身麻酔下で抜歯し、チタンスクリュー (以下インプラント体) を即時埋入した。実験群には、埋入1週または2週後にインプラント体上部に接着性レジンを追加して咬合負荷を与え、対照群には咬合負荷を与えなかった。咬合負荷1週後にアルデヒド固定し、パラフィン切片を作製後、ALP、TRAP、オステオカルシン (OCN)、オステオポンチン (OPN) の免疫組織化学を行った。【結果と考察】対照群及び実験群ともにスクリューのスレッド間には新生骨が形成されていたが、1週及び2週ともに実験群では、対照群と比較して、スレッド間における骨梁が太く骨梁間が減少する傾向がみられた。TRAP 陽性破骨細胞や ALP 陽性骨芽細胞の局在性は実験群と対照群の間で差異は認められなかったが、骨梁における OCN 陽性・OPN 陽性セメントラインは、対照群では太く複雑な鋸歯状を示すのに対し、実験群では細く滑らかな走行を示す傾向が認められた。以上から、埋入後早期の適度な咬合負荷は骨改造を緩やかにし、スレッド間の骨梁の太さを増加させる可能性が示唆された。

O-21

骨芽細胞の分化にジルコニアの表面性状が及ぼす影響

○谷口 祐介^{1,2}、城戸 寛史¹、山崎 純² (福歯大 口腔インプラント、²福歯大 細胞分子生物)

【目的】チタン製インプラントにおいて表面の粗面化が骨結合の強化をもたらすことが明らかとなっている。しかし、ジルコニアセラミクスを粗面化によって同様の効果を期待できるかは不明である。そこで本研究ではジルコニアの粗面形状が骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の形態、増殖、分化、石灰化に与える影響を明らかにすることを目的とした。【方法および結果】機械研磨(研磨 Zr) (Sa: 0.185 μm)あるいはファイバーレーザー処理した(粗面 Zr) (Sa: 1.75 μm) イットリア添加正方晶ジルコニアプレート(10 mm×10 mm)の上に MC3T3-E1 を播種し、10% FBS 添加 α-MEM を用いて培養した。走査型電子顕微鏡と光学顕微鏡による形態観察並びに WST アッセイによる細胞増殖の評価をした。その結果、播種後 6 時間後の粗面 Zr 上の細胞は研磨 Zr 上よりも伸展の程度が小さかった。7 日目以降で粗面 Zr 上の細胞増殖は滑面 Zr 上よりも有意に亢進していた。次に、MC3T3-E1 を分化誘導させる条件下で、分化関連遺伝子の mRNA 量とアルカリホスファターゼ(ALP)活性とアリザリレッド(AZ)染色を比較した。誘導 14 日目のオステオカルシン発現量と誘導 7 日目の ALP 活性は研磨 Zr よりも粗面 Zr の方が有意に増加していた。誘導 14 日後の AZ 染色によって、粗面 Zr では研磨 Zr よりも高い石灰化像が認められた。【結論】ジルコニアの粗面化が MC3T3-E1 の形態に影響を与え、増殖能、ALP 活性並びに石灰化を促進することが示唆された。

O-23

ラット骨髄由来細胞の増殖・分化における炭酸含有アパタイトの焼結温度依存的影響

○尾上 一平^{1,2}、川木 晴美¹、近藤 雄三^{1,2}、高橋 潤^{1,2}、神谷 真子¹、高山 英次¹、永原 國典²、近藤 信夫¹ (朝日大 歯 口腔生化学、²朝日大 歯 インプラント)

【目的】我々は新しい骨補填材として、物性が骨アパタイトに類似する炭酸含有アパタイト(CA)を開発した。そして CA が焼結水酸化アパタイト(HA)やβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)よりも破骨細胞性吸収が迅速であることを示してきた。しかしながら CA の細胞特性については詳細な解析を行っていなかった。そこで種々の焼結温度にて CA を仮焼あるいは焼結し、ラット骨髄由来細胞の応答特性を検討した。

【方法】ラット骨髄由来間質細胞(rBMSC)あるいは骨髄懸濁液を調整して実験に用いた。まず 3 種の異なる温度(400、550、700℃)で焼結した CA を用いて rBMSC を培養し(CA400、CA550、CA700 群)増殖と接着を検討した。また骨髄懸濁液を播種し活性型ビタミン D₃ を添加して混合培養を行い骨芽細胞、破骨細胞分化について検討した。同様に HA 群、β-TCP 群を作成し、無コーティングの培養器(NC 群)とともに比較対象とした。

【結果および考察】CA は HA、β-TCP に比べ細胞の初期接着を阻害せず細胞増殖を促進しその効果は CA400 群が最も高かった。骨芽細胞への分化ではアルカリホスファターゼ活性は HA 群に次いで CA700 群が高かったが石灰化および破骨細胞の出現率は CA400 群が優れていた。400℃仮焼 CA は強度の点で 700℃焼結 CA に劣るが、両者の混合材を用いてそれぞれの利点が発揮されるかどうかを今後の検討課題としたい。

O-22

絹フィブロインスポンジ体の初期骨誘導能について

○内田 僚一郎¹、木場 秀夫²、Bhawal Ujjal³、荒井 清司⁴、久保山 昇⁵、西山 典宏¹ (日大 松戸歯 歯科生体材料、²日大 松戸歯 口腔病理、³日大 松戸歯 生化学・分子生物、⁴日大 松戸歯 小児歯、⁵日大 松戸歯)

【目的】先に我々は骨補填材料として水系絹フィブロインスポンジ体(水系)をウサギ大腿骨の骨欠損部に埋植した結果、埋植後 4 週で新生骨が形成され、溶媒系絹フィブロインスポンジ体(溶媒系)に比べ新生骨再生能が高いことを明らかにした。本研究では絹フィブロインスポンジ体の埋植初期における組織の骨形成量の測定及び免疫組織化学染色を行い、骨形成に関する遺伝子の発現の様相を検討した。【方法】ウサギの大腿骨上顆に骨欠損を作製し、絹フィブロインスポンジ体を埋植した。動物は 1 群 3 頭とし、第 1 群は穴だけの群(対照群)、第 2 群は水系、第 3 群は溶媒系をそれぞれ埋植した。埋植後 1 週と 2 週の大腿骨を摘出し μCT を用いて骨欠損埋植部の骨塩量と骨体積率の測定を行った。また、骨形成に関与する特異的なマーカーの発現を免疫組織化学染色法で検討した。【結果】μCT を用いて測定した骨塩量と骨体積率は水系の方が溶媒系よりも高い値を示し、同様に 1 週より 2 週目で高い値を示した。また、免疫組織化学染色では骨形成過程におけるマーカーの発現は溶媒系と比較して水系で多く観察され、1 週よりも 2 週目で顕著に観察された。【結論】水系絹フィブロインスポンジ体は初期の骨誘導形成へ関与することが示唆された。

O-24

S. sanguinis のバイオフィーム形成に対する *V. parvula* 培養上清の作用

○眞島 いづみ¹、鎌口 有秀¹、宮川 博史¹、藤田 真理¹、中澤 太¹ (北医大 歯 微生物)

【背景】口腔 *Veillonella* は、口腔バイオフィームの形成初期から存在し、それを構成する主たる早期定着菌として報告されている。現在、*V. atypica*、*V. denticariosi*、*V. dispar*、*V. parvula*、*V. rogosae*、*V. tobetsuensis* が知られている。しかし、口腔 *Veillonella* が、口腔バイオフィーム形成に及ぼす詳細なメカニズムや菌体間情報伝達機構等の解明は未だに進んでいない。

【目的】*V. parvula* 培養上清が、*Streptococcus sanguinis* 及び *V. parvula* のバイオフィーム形成に及ぼす影響を明らかにする。

【材料と方法】バイオフィームの形成にはワイヤー法を用いた。事前に *S. sanguinis* のバイオフィームを形成させたワイヤーを、*V. parvula* 培養上清入り試験管に挿入し、嫌気条件下で培養後、*S. sanguinis* によるバイオフィーム形成量を解析した。また、同培養上清と *V. parvula* 懸濁液の混合液に、同ワイヤーを挿入したバイオフィームの形成量も解析した。培養後、全 DNA を抽出し、定量的 real-time PCR により、ワイヤー上に形成されたバイオフィームの構成菌種を定量した。【結果と考察】*V. parvula* 培養上清は、*S. sanguinis* のバイオフィーム形成を抑制した。しかし、同培養上清と共に *V. parvula* 菌体が存在した場合は、その形成を促進した。これらの結果は、*V. parvula* 培養上清中におけるバイオフィーム形成抑制・促進因子、菌体間情報伝達物質の存在、また、これらの変化等を示唆するものと考えている。

O-25

口腔アクチノバクテリアは硝酸依存的に *P. gingivalis* を殺す

○南部 隆之¹、真下 千穂¹、山根 一芳¹、山中 武志¹、福島 久典¹ (大歯大 歯 細菌)

次世代シーケンズ技術の急速な発展により、歯周組織健康者および歯周病患者における歯肉縁下菌叢の膨大な情報が蓄積しつつある。我々は、これらのデータより口腔アクチノバクテリアである *Actinomyces* と *Rothia* が健康者の菌叢と強い相関があることに着目し、これらの細菌がもつ硝酸還元活性が歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の増殖に与える影響について検討した。*Actinomyces oris* MG-1 (*Ao*) と *Pg* ATCC33277 を共培養したところ、培養後の *Ao* の CFU は培地中の硝酸濃度に影響を受けなかったが、*Pg* の CFU は硝酸濃度依存的に著しく減少した。またその減少は *Ao* の硝酸還元酵素の欠損により消失した。一方、*Rothia mucilaginosa* DY-18 と *Pg* との共培養実験においても、上と同様に硝酸依存的に *Pg* の CFU 減少がみられた。また、培養系に一酸化窒素スカベンジャーを加えることでこの CFU の減少が抑圧されたことから、硝酸還元により生じた一酸化窒素が *Pg* の殺菌に関与していると結論した。

O-26

酪酸に依存した *Actinomyces naeslundii* のバイオフィーム形成を阻害する物質の検討

○荒井 俊明^{1,2}、落合 邦康³、毛利 彰太⁴、佐伯 洋二⁴、泉福 英信¹ (感染研 細1部 第6室、²日大松戸 院松戸歯 顎外、³日大 歯 細菌、⁴ロッテ中央研究所 口腔科学研究室)

【目的】う蝕や歯周病の病原であるバイオフィーム形成を抑制することは、口腔内の疾患を予防するうえで重要である。我々は、歯周病原性細菌の代謝産物である酪酸が *Actinomyces naeslundii* のバイオフィーム形成を促進することを明らかにしてきた。本研究では、酪酸に依存した *A. naeslundii* のバイオフィーム形成を抑制する物質を開発することを目的として、ミズナ冷水抽出物(以下、サンプル M)のバイオフィーム形成抑制効果について検討を行った。【方法】*A. naeslundii* X600 株に対し TSB 培地に 60 mM 酪酸、0.25% スクロース、1 mg/ml サンプル M を加え、フローセル法を行った。バイオフィームは LIVE/DEAD 染色した後共焦点レーザー顕微鏡にて観察し、サンプル M の効果を検討した。【結果と考察】酪酸を添加するとバイオフィーム形成が増加し、そのバイオフィームは生菌に加え死菌が同程度存在していた。生菌に対する死菌の比率は、酪酸を加えない場合よりも加えた場合で高かった。1 mg/ml のサンプル M の存在下で *A. naeslundii* のバイオフィーム形成を観察すると、その形成量が抑制された。またサンプル M は、死菌の付着を抑制することでバイオフィーム形成を抑制することが観察された。以上の結果からサンプル M は、酪酸に依存した *A. naeslundii* のバイオフィーム形成を抑制することが明らかとなった。

O-27

歯周病関連細菌 *Treponema denticola* の主要膜タンパク質の機能解析

○安彦 友希¹、永野 恵司¹、吉田 康夫¹、吉村 文信¹ (愛院大 歯 微生物)

【目的】*T. denticola* の主要な膜タンパク質を解析したところ、機能未知の TDE2508 (45 kDa) が検出された。そこで本研究では、TDE2508 の性状および機能解析を試みた。【方法】*T. denticola* ATCC 35405 株の菌体破砕物を超遠心後、可溶性、膜画分に分離し、さらに、膜画分を内膜および外膜に分画した。TDE2508 はウェスタンブロット法にて検出した。*T. denticola* の付着因子である Msp についても同様に行った。TDE2508 欠変異株は、標的遺伝子をエリスロマイシン耐性遺伝子 (*ermB*) に置換して作製した。付着性はポリスチレンプレートおよび歯肉上皮細胞 (Ca9-22) を用いて検討した。自己凝集性は菌懸濁液を静置し、濁度 (OD600) を経時的に測定した。菌体表面の疎水性は n-ヘキサソール分配法を用いた。【結果】TDE2508 は外膜に局在し、また複合体を形成している可能性が示された。欠変異株は、ポリスチレンプレートおよび歯肉上皮細胞への付着性が有意に上昇した。しかし、自己凝集性および疎水性には変化が見られなかった。また、Msp の発現にも変化はみられなかった。【結論】TDE2508 は付着制御に関与していることが推察された。しかし、TDE2508 の菌体表面への露出については不明であり、本タンパク質による付着制御機構については、直接的あるいは間接的かを含めてさらなる検討が必要である。

O-28

Porphyromonas gingivalis において電気穿孔法で導入可能なプラスミドベクターの構築

○田川 淳平¹、井上 哲圭²、佐藤 啓子³、内藤 真理子³、中山 真彰²、中山 浩次³、山城 隆⁴、大原 直也² (岡大 病院 矯正、²岡大 院歯 口腔微生物、³長大 院歯 口腔病原微生物、⁴阪大 院歯 矯正)

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* へのプラスミド導入には現在接合伝達法が用いられている。本研究では、操作が簡便な電気穿孔法で導入できる汎用性の高いプラスミドの作製を試みた。プラスミドの作製に当たり、接合伝達法で *P. gingivalis* に導入可能な大きさ 11.0 kb の *Bacteroides* 属-大腸菌シャトルベクター pVAL-1 を使用した。最初に pVAL-1 の全塩基配列を決定し、次に pVAL-1 の配列の中で、*Bacteroides* 属/*Porphyromonas* 属の菌体内で複製に必要な最小領域を決定した。そして決定した領域を大腸菌用プラスミド pBlueScript II にクローニングした。さらに抗生物質耐性遺伝子カセットをこのプラスミドに挿入することにより、大きさ約 4.5 kb のプラスミド pTIO-1 を構築した。pTIO-1 は電気穿孔法により、供試した *P. gingivalis* 6 株と *Bacteroides* 属 3 菌種すべてに導入された。pTIO-1 の *P. gingivalis* ATCC 33277 への導入効率は高く、また pVAL-1 と比較して安定性は増加していた。定量 PCR の結果、pTIO-1 と pVAL-1 のコピー数は共に 1 と算出された。以上のことから pTIO-1 は電気穿孔法で簡便に使用できる *P. gingivalis* 用のプラスミドであることが示された。

O-29

ランチビオティクス耐性に関与する *Streptococcus mutans* の新規二成分制御系因子 NsrRS と LcrRS の同定

○松尾 美樹¹、小松澤 均¹ (鹿大 院医歯 口腔微生物)

【目的】口腔内には 600 種以上の細菌が常在し、共存・拮抗しながら自らの生存領域を確保している。細菌の口腔内常在化に必要な因子の一つとして、他の細菌が産生するバクテリオシン耐性が考えられる。本研究では、口腔内常在菌であり、う蝕原性菌である *Streptococcus mutans* のバクテリオシン耐性機構の解明に当たり、細菌特有の情報伝達系である二成分制御系 (TCS) に着目した。【方法】*S. mutans* の持つ 15 組すべての TCS 欠損株を用いて、種々の細菌の産生するバクテリオシン感受性を網羅的に検証した。さらに、遺伝子発現解析による TCS の標的因子の検証とバクテリオシン産生菌との共培養試験を行った。【結果と考察】ランチビオティクスであるナイシンとヌカシンに各々耐性を担う 2 組の TCS (NsrRS, LcrRS と命名) が明らかになった。遺伝子発現解析から、ナイシン作用時、NsrRS 上流に位置する機能未知の *nsrX* 発現を誘導すること、ヌカシン作用時、LcrRS 上流に位置する ABC トランスポーター *lctFEG* 発現を誘導することが明らかになった。共培養試験の結果、各々の TCS は、ナイシン産生型乳酸菌、ヌカシン産生型ブドウ球菌との共存に重要な役割を果たすことが明らかになった。本研究から、*S. mutans* では、ランチビオティクスであり、構造が異なるナイシンとヌカシンに対し、2 組の TCS が耐性獲得に関与し、バクテリオシン産生細菌との共存に重要であることが示唆された。

O-31

Porphyromonas gingivalis FimA 線毛の遺伝学的および血清学的解析

○永野 恵司¹、安彦 友希¹、吉田 康夫¹、吉村 文信¹ (愛院大 歯 微生物)

【目的】*Porphyromonas gingivalis* の FimA 線毛は、バイオフィルム形成などに機能する。本線毛の主要構成タンパク質 FimA をコードする *fimA* 遺伝子には I~V および Ib の 6 つの遺伝子型が存在する。本研究では、84 株の *P. gingivalis* の *fimA* 遺伝子の全塩基配列を解析するとともに、FimA 線毛の血清学的解析を行った。さらに、バイオフィルム形成能を検討した。【結果】84 株はいずれか 1 つの遺伝子型に分類され、I、Ib、II、III、IV および V 型はそれぞれ、10、16、29、13、10 および 6 株で存在した。II 型 *fimA* 遺伝子の塩基配列は多様であり、いくつかの亜型に細分化されるようである。次に、I~V 型の代表菌株由来の FimA 線毛で作製した抗血清を用いて、線毛発現を検討した。I および Ib 型は抗 I 型血清に認識された。II 型は抗 II 型血清と強く反応したが、多くは抗 III 型血清とも交差反応した。また、II 型の塩基配列の多様性との関連性はみられなかった。III、IV および V 型は、それぞれ自身の抗血清と強く反応した。唾液コートプレートへのバイオフィルム形成性を検討したところ、I 型は他の型よりも高値を示した。また、いずれの遺伝子型においても、線毛発現量とバイオフィルム形成能との間に、正の相関が認められた。【考察】同じ遺伝子型内でも、遺伝子配列は多様である場合があったが、血清反応性は遺伝子型と一致した。バイオフィルム形成能は、遺伝子型よりも線毛発現量に依存すると考えられる。

O-30

Red-complex 構成細菌間での異なる進化機構

○遠藤 亜希子¹、渡辺 孝康²、丸山 史人^{2,3}、和泉 雄一¹、中川 一路² (¹東医歯大 院医歯 歯周病、²東医歯大 院医歯 細菌感染制御、³東医歯大 院医歯 環境遺伝生態)

歯周病は Polymicrobial disease という複数の微生物の混合感染により引き起こされる疾患の一つであり、*Porphyromonas gingivalis*、*Treponema denticola*、*Tannerella forsythia* の 3 菌は歯周病原部位から高頻度に検出されることから Red-complex と名付けられている。この 3 菌のゲノムレベルでの情報は限られており、*P. gingivalis* は 3 株、*T. denticola* は 6 株、*T. forsythia* に至っては 1 株の全ゲノム情報しか公開されていない。そこで、*T. forsythia* 臨床分離株 2 株の全ゲノム解析を新規に行い、3 種間でのゲノム構造を比較するとともに、共通・非共通遺伝子の同定と系統解析、一塩基多型 (SNP) 解析を行った。さらに、細菌の獲得免疫機構である Clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) に着目することで、外来性 DNA の侵入に対する本菌の防御機能を予測した。*T. denticola*、*T. forsythia* は *P. gingivalis* とは対照的にゲノム構造は安定しており、ゲノム再構成に関与すると考えられる可動性遺伝子の数も少なかった。また、SNP 解析と CRISPR 解析の結果、選択がかかる遺伝子の種類や排除対象となる外来因子が異なっていることがわかった。さらに、これらが歯周ポケットでどのように共生しているのかが見えてきたので、この知見について紹介したい。

O-32

Identification of integrin $\alpha 3$ as a molecular marker of cells undergoing epithelial mesenchymal transition and of cancer cells with aggressive phenotypes

○齋藤 正夫¹ (山梨大 院医工 生化)

The epithelial mesenchymal transition (EMT) is a crucial event in wound healing, tissue repair, and cancer progression in adult tissues. Transforming growth factor (TGF)- β induces EMT in mouse epithelial cells. Upon prolonged treatment, TGF- β successively induces myofibroblastic differentiation (EMyT) with increased expression of myofibroblast marker proteins, including smooth muscle α actin and calponin. We recently demonstrated that fibroblast growth factor (FGF)-2 prevented EMyT induced by TGF- β , and transdifferentiated the cells to those with much more aggressive characteristics (enhanced EMT). To identify the molecular markers specifically expressed in cells undergoing enhanced EMT induced by the combination of TGF- β and FGF-2, we performed a microarray-based analysis and found that integrin $\alpha 3$ (ITGA3) and Ret were upregulated. Intriguingly, ITGA3 was also overexpressed in cancer cells with aggressive phenotypes and its expression was downregulated by U0126, a MEK 1/2 inhibitor. Therefore ITGA3 is a potential marker protein for cells undergoing enhanced EMT and for cancer cells with aggressive phenotypes.

O-33

頭頸部扁平上皮癌における Dkk-3 の免疫組織化学的検討

○藤井 昌江¹、伊藤 聡¹、于 湊¹、武部 祐一郎¹、河合 穂高¹、辻極 秀次¹、長塚 仁¹ (1)岡大 院医歯薬 口腔病理)

【緒言】Dkk-3 は癌抑制遺伝子として機能するとされる。しかし、我々は頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) において、Dkk-3 はリンパ節転移を促進する可能性を示唆した。そこで本研究では、HNSCC および上皮異形成における、Dkk-3 の発現と局在を免疫組織化学的に観察し、その役割について検討した。

【方法】HNSCC 組織 90 症例 (高分化 53 例、中-低分化 37 例)、正常口腔粘膜上皮 20 例、軽度上皮異形成 19 例、中等度-高度上皮異形成 15 例を用い、Dkk-3 と関連分子の β -catenin の局在について評価した。

【結果】Dkk-3 は、正常上皮では傍基底細胞層から棘細胞層の細胞膜が陽性で、上皮異形成では、細胞膜陽性の領域が中間層にまで増加した。上皮内癌では細胞質が陽性であり、浸潤癌では、癌巣の基底細胞様細胞から棘細胞様細胞の細胞膜および細胞質が陽性であった。HNSCC における Dkk-3 陽性例は 84.4% (76/90 例)、陰性例は 15.6% (14/90 例) であった。 β -catenin は Dkk-3 と同様の局在を示した。

【考察・まとめ】Dkk-3 の局在変化は、正常粘膜上皮から上皮異形成および癌において連続的に認められた。正常粘膜上皮では細胞膜陽性であったが、上皮異形成や癌では細胞質陽性へと変化した。本研究の結果から Dkk-3 が発癌に関わる作用を有する可能性が考えられた。

O-35

扁平上皮癌細胞における GLUT1 を介した EGFR の発現制御

○吉本 尚平¹、長野 公喜¹、杉山 悟郎¹、森田 浩光²、中村 誠司³、平田 雅人¹ (1)九大 院歯 口腔細胞工、2)九大 病院 全身管理歯科、3)九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

がん細胞では、正常細胞に比し 5~8 倍程度グルコース取り込み能が上昇しているといわれ、経路については GLUT1 がその役割を担っていると考えられている。今回我々は GLUT1 を介したグルコース流入が EGFR の発現に影響を与えるという結果を得た。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-2、HSC-3)、ヒト皮膚扁平上皮癌細胞株 (A431) および対照としてヒト正常角化細胞株 (HaCaT) を用い、2 種類の異なる濃度のグルコース (低濃度: LG, 5.5 mM または高濃度: HG, 25 mM) を含む培地中 (10% 血清を含有) で培養した。上記全ての細胞において HG 培地では、ErbB 受容体蛋白である EGFR、HER2、HER3 および HER4 の全ての発現が認められることをウエスタンブロット法で確認した。一方 LG 培地で培養すると、HSC-2、HSC-3 及び A431 は ErbB 受容体全てにおいて発現量の減少を認めた。このような現象は HaCaT 細胞では認められなかった。この ErbB 蛋白の発現量の減少はグルコース流入量によるものと考え、グルコース輸送体である GLUT1~4 および SGLT1~3 の発現を RT-PCR にて確認した結果、GLUT1 のみが共通して発現していた。さらに、グルコース輸送体は通過するが解糖系による代謝は受けない 2-deoxy-D-グルコースを加えると高濃度添加に関わらず EGFR 発現の著明な低下を認めた。以上の結果より、扁平上皮癌細胞において EGFR の発現が GLUT1 を介したグルコース流入と引き続く代謝により調節されていることが示唆された。

O-34

舌癌および癌周囲筋線維に発現する HMGB1 の役割

○瀧澤 将太¹、崎山 浩司¹、井上 勝元²、坂東 康彦¹、坂下 英明²、天野 修¹ (1)明海大 歯 形態機能成育 解剖、2)明海大 歯 口腔顎顔面外科)

【目的】High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は、癌の浸潤・転移を促進することが示唆されている。しかし、口腔癌における癌およびその周囲組織に関する詳細な報告はない。そこで舌癌および周囲筋組織の HMGB1 とその受容体である Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) の局在について検索した。【方法】C3H/HeJ ノードマウスを用い、1 週間に 1 度のペースで計 4 回、舌尖に SCC7 癌細胞を注入した癌細胞注入群、コントロールとして DMEM 培養液を注入した培養液注入群、何も刺入しない無刺激群とそれぞれ設定した。観察部位は舌前方、中央の 2 部位とし抗 HMGB1 抗体、抗 RAGE 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。また、レーザーマイクロダイセクションにて各部位の試料を採取し、それぞれの mRNA 量を LightCycler を用いて測定した。【結果および考察】癌細胞注入群において、舌前方から中央部にかけて舌癌の定着を H-E 染色像にて確認した。HMGB1 および RAGE の免疫組織化学染色像では、舌癌部、癌の周囲の筋線維だけでなく離れた部位の筋線維にも強く発現した。また、mRNA の発現量においても免疫染色と同様の強い発現が確認された。今回の結果から、HMGB1 は RAGE を介して細胞密度の高い骨格筋組織に間隙を作り、癌の浸潤の促進に関与していることが示唆された。

O-36

マウス歯胚形成過程における integral membrane protein 2a (itm2a) の発現様式

○木原 慎子^{1,2}、清島 保¹、永田 健吾¹、和田 裕子¹、藤原 弘明¹、長谷川 佳那^{1,3}、染谷 祐孝^{1,4}、高橋 一郎²、坂井 英隆¹ (1)九大 歯 口腔病理、2)九大 歯 歯科矯正、3)九大 歯 歯科保存、4)九大 歯 口腔機能修復)

【目的】itm2a は胎生 10.5 日齢 (E10.5) と E12 の下顎で差別的に発現する因子として当教室では見出された。過去に筋肉、軟骨、骨や象牙芽細胞に発現を認めた報告がある。本発表では itm2a の歯胚形成過程における発現様式を検索した。【材料と方法】Balb/c マウス E10.5~生後 5 日齢 (P5) の下顎第一臼歯の itm2a mRNA 発現様式を *in situ* hybridization、蛋白発現様式を免疫染色にて観察した。また培養細胞における細胞内局在を観察した。【結果と考察】itm2a mRNA は E10.5-E12 下顎の外胚葉性間葉組織に発現を認めたが、歯胚形成相当部の口腔粘膜上皮やその直下の間葉細胞や蕾状期歯胚にシグナルはみられなかった。帽状期では内外エナメル上皮とエナメルノットに発現が認められた。鐘状期前期には内エナメル上皮とサービカルループ部に発現していた。鐘状期後期では、主に内エナメル上皮に発現が認められた。さらに内エナメル上皮が分化したエナメル芽細胞にも発現が認められた。また象牙芽細胞にも発現していた。歯胚以外では舌筋、頬筋などの筋肉、軟骨に発現がみられた。蛋白も mRNA 発現様式とほぼ同様であった。マウス歯原性上皮細胞を用いて細胞内局在を観察したところ、itm2a 蛋白は細胞質に顆粒状に確認された。これらの結果から、itm2a は歯胚形成過程における細胞の分化や基質形成への関与が示唆された。

O-37

無血清培地でのヒト歯髄細胞スフェロイドの特徴：
幹細胞の分布および神経・石灰化分化能
○肖 黎¹、筒井 健機¹（¹日歯大 生命歯 薬理）

スフェロイド培養は生体組織の分化、形態形成およびホメオスタシスを研究するために重要な培養法である。本研究では、Serum ReplacementTM(SR)を含有する無血清培地を用いて、ヒト歯髄細胞よりスフェロイドを形成し、そのスフェロイドの幹細胞動態、微小環境、細胞分布及び多分化能を調べた。細胞追跡法で細胞動態を検討したところ、スフェロイド中心部の細胞は長期間にわたって分裂しないことがわかった。スフェロイド中に低酸素状態が存在するにもかかわらず、大量の細胞死は観察されなかった。免疫染色法と qRT-PCR 法で解析したところ、STRO-1 と CD146 陽性の幹細胞がスフェロイドの中心部に存在し、幹細胞マーカーである NANOG, TP63 と CD44 の遺伝子発現は上昇した。スフェロイドを無血清培地中に 2 週間以上培養し続けると、HuC/D と P75 陽性の神経系細胞が出現し、神経細胞マーカーである CDH2, NFM, TUBB3 と CD24 の発現が上昇した。石灰化分化誘導開始 2 週間後、石灰化物がスフェロイド中、特に中心部の細胞に沈着した。また、スフェロイドの石灰化能が単層培養歯髄細胞より有意に高かったことが、アリザリンレッド染色定量法で分かった。無血清培地を用いて形成された歯髄細胞スフェロイドは神経や骨等の分化・発生の解析に有用なツールとして広く応用できる可能性がある。

O-39

マウス歯胚発生過程におけるエピジェネティクス制御機構の解明
○吉岡 広陽¹、南崎 朋子¹、吉子 裕二¹（¹広大院歯薬保 硬組織代謝生物）

個体発生や細胞分化におけるエピジェネティクス制御機構の重要性が多数報告されているが、歯胚形成過程におけるその役割は不明な点が多い。本研究では DNA メチル化について、マウス歯胚発生過程、とりわけ上皮由来のエナメル芽細胞の発生・分化に注目して解析した。まず、10 日齢のマウス下顎切歯脱灰切片を作成し、ゲノム全体のメチル化レベルの解析を目的として、抗 5-Methylcytosine 抗体による免疫染色を行った。その結果、メチル化レベルは分泌期以降のエナメル芽細胞で上昇すると共に、クロモソームを形成することが確認された。そこで、6 日齢のマウス下顎切歯の切端または根尖からエナメル上皮層のみを分離して RNA を抽出し、新規メチル化酵素 Dnmt3a, Dnmt3b、および維持メチル化酵素 Dnmt1 の遺伝子発現レベルを比較検討した。Dnmt3a, Dnmt3b は発現の差を認めなかったが、Dnmt1 は根尖に高い発現を示した。同様に Dnmt1 の免疫染色では、cervical loop 領域の内エナメル上皮が強染され、分化に伴い低下した。詳細は解析中であるが、DNA メチル化阻害剤を使って発現が変動する遺伝子も見つかっている。以上の結果から、Dnmt1 は内エナメル上皮細胞の未分化状態の維持に関与している可能性が示唆されたが、一方、エナメル芽細胞の分化に伴いメチル化レベルが上昇する機構については未だ不明である。

O-38

歯の上下顎の違いの形成機構
○小澤 幸重¹（¹日大）

背景：演者は歯の形態形成の基本要因は 1) 体制の分化と同様であり、2) 咬頭や歯根は歯のあらゆるところから起こる可能性があり、3) 起点から対称的に分化し、4) 顎の形態分化によって制御される、5) 歯は顎骨弓に放射対称に位置し、分化方向も対称的である、ことを明かにし、昨年の本学会では歯の浮彫像と顎の形態成長、形成空間の分化との関係を報告した。今回は、歯の形態形成の最後の課題である上下顎の歯列の違いの要因を検討する。結果：歯の形態と分化の原則は上下左右の各歯が対称であり、上下顎の歯の分節（咬頭や歯根）は同じ対称的方向に分化する。しかし上下顎の同歯種の歯は異なる形態で適合する。それは発生としては 1) 歯の分節は各歯によって顎との関係が多様になるが、2) 上下顎の対称性により上下顎の噛み合う歯の形態は対称の補完機構により対咬する咬合関係を生む、ということである。対称構造の補完機構は、左右の手の動き、多軸対称の腸の蠕動運動などの機能面の例がある。上下顎は対称であるが故に相互に補完機構を示すのである。歯は今のところ唯一の形態的補完性の例と言うことができ、これまでのあまたの学説はこの分析として評価検討されなければならない。

O-40

不可逆性歯髄炎での MMP-3 の抗炎症、組織再生作用のメカニズム解析
○中村 博幸¹（¹金沢大 院医薬保 細胞浸潤）

歯科の臨床でう蝕が歯髄の一部にでも及ぶと壊死が徐々に全体に広がる。現在これを阻止する有効な治療法がないため、他の部位の歯髄が正常であっても全部除去する以外に治療法はなく抜歯後は歯牙を失う確率が高まる。超高齢社会において、歯を長持ちさせることは全身の健康維持にもつながるため、歯髄組織の再生が検討されている。以前私達は、歯髄幹細胞が細胞外マトリックス分解酵素の MMP-3 を高発現していることを見出した。さらに、イヌを用いて一部性不可逆性歯髄炎モデルを作製し MMP-3 の効果を検討したところ、術後 14 日においても歯髄組織は壊死することなく組織再生が誘導され、血管、神経、細胞外マトリックスも正常に再生されていた。また、MMP-3 処理により術後 3 日からマクロファージの浸潤が抑制されることを見出したが、MMP-3 の詳細なメカニズムは不明であった。そこで、本研究ではまず炎症を誘導することが知られている SHAP-ヒアルロン酸-プロテオグリカン複合体の歯髄炎組織中での形成について検討した。歯髄炎においてこの複合体形成が観察されるのに対して、MMP-3 処理した歯髄炎組織では観察されなかった。また、in vitro でプロテオグリカンが MMP-3 で直接分解されたことから、MMP-3 によるプロテオグリカンの分解が複合体形成を阻害し消炎に関わると考えられた。以上の結果から、歯髄炎の抜歯症例であっても MMP-3 により歯髄を保存できる可能性が示唆され実用化が期待される。

O-41

マウス由来象牙芽細胞における細胞膜伸展受容TRPチャンネルと $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ exchangerの機能連関
○佐藤 正樹¹、津村 麻記¹、Sobhan Ubaidus¹、児玉 紗耶香¹、鷗田 みゆき²、西山 明宏³、望月 浩幸¹、小倉 一宏¹、田崎 雅和¹、澁川 義幸¹ (東歯大 生理、²東歯大 口健・小児歯、³東歯大 オーラル)

象牙芽細胞は象牙質を形成する一方、transient receptor potential (TRP) チャンネルを介して刺激を受容することが知られている。しかしTRPチャンネルと象牙質形成過程との関連については不明な点が多い。そこでTRPチャンネルと象牙質形成に関与する $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換体 (NCXs) の機能連関を検索した。実験には継代培養されたマウス象牙芽細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) を用いた。標準細胞外液のNaClをmannitolに置換して、等浸透圧溶液 (310 mOsm/L) と低浸透圧溶液 (150 - 300 mOsm/L) を作成した。OLCの応答はカルシウムイメージング、whole cell patch-clamp、リアルタイム RT-PCRを用いて評価した。OLCの細胞内 Ca^{2+} は低浸透圧溶液により増加し、この増加はTRPV1, TRPV2, TRPV4チャンネルの阻害薬によって抑制された。またこれらTRPチャンネルの作動薬によって増加した Ca^{2+} は速やかに細胞外へ排出されたが、NCXsの阻害薬は Ca^{2+} の排出を抑制した。OLCは低浸透圧溶液に対して内向き電流を生じたが、TRPチャンネルの阻害薬によって抑制された。低浸透圧培地はTRPV1, TRPV2, TRPV4チャンネルとNCXsのisoformであるNCX2とNCX3のmRNAの発現を増加した。象牙芽細胞による細胞膜伸展刺激受容が、反応性象牙質形成を駆動することが示唆された。

O-43

象牙芽細胞における一次繊毛形成遺伝子 IFT88の生理機能の解析
○河田 かずみ¹、竹田 扇¹ (山梨大 院医工解剖細胞生物)

一次繊毛は細胞外環境を感知するセンサーとして機能することが知られており、象牙芽細胞を含む、体を構成する殆どの細胞に存在する。一次繊毛の形成に関与するものとして、Intraflagellar transport protein (IFT) 88が知られているが、これは同時に細胞分裂にも関わっていることが近年報告されている。今回、我々は、象牙芽細胞においてIFT88の新たな生理機能の一端を示す知見を得たので報告する。

象牙芽細胞株 KN-3 細胞において *Ift88* をノックダウンし、一次繊毛欠損 KN-3 (sh-*Ift88* KN-3) 細胞を作製した。細胞播種後1日の sh-*Ift88* KN-3 細胞において、細胞接着・増殖速度はいずれも低下を示した。これは、KN-3 細胞にPI3K inhibitorの添加時と同様の結果であった。また、細胞播種後4日の sh-*Ift88* KN-3 細胞において、象牙芽細胞分化マーカー遺伝子の発現の増加、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の抑制が確認された。また、初代象牙芽細胞の分化の進行と共に一次繊毛を有する細胞数は一旦は上昇を見せるものの、次第に減少することが明らかとなった。

以上の結果から、象牙芽細胞において、IFT88は増殖期にはPI3Kシグナルを介して細胞接着・速度を制御し、分化初期には一次繊毛特異的シグナルの受容を介して象牙芽細胞の分化を制御する可能性が強く示唆された。

O-42

ヒトの乳歯における外套象牙質の組織構造と元素組成について
○高橋 正志¹、後藤 真一² (日歯大 新潟短大、²日歯大 新潟生命歯理工)

[目的] ヒトの乳歯における外套象牙質の組織構造と元素組成の部位による違いについて検討した。[材料と方法] 脱落后、ただちに10%中性ホルマリンで固定したヒトの乳歯の唇(頬)舌側方向の研磨標本を作製し、偏光顕微鏡で観察した。同一標本の研磨面を、0.05 N HClで3分間腐蝕、または10% NaOClで1時間脱有機し、定法により白金蒸着を施し、S-800型走査電顕(日立)で組織構造を観察した。無処理の同様な標本の咬頭部・歯頸部・根尖付近の、外套象牙質・中層象牙質・深層象牙質の元素の重量比率を、JXA-8900型EPMA(日本電子)で定量分析した。[結果] 乳歯の外套象牙質を偏光顕微鏡で観察すると、象牙細管は細く、多数に分岐していた。脱有機または酸腐蝕した外套象牙質を走査電顕で観察すると、象牙細管は約0.5 μm より細く、基質は中層象牙質より多孔質であった。Ca・Pの含有率は、外套象牙質と深層象牙質で低く、中層象牙質で高く、Cの含有率はその逆の傾向を示した。Naの含有率は、外套象牙質で最高で、深層象牙質で最低であった。Fの含有率には有意差が認められなかった。[考察] 外套象牙質形成時の象牙芽細胞は、多数の細い原形質突起を伸ばしていたと考えられる。外套象牙質は中層象牙質よりも石灰化度が低く、有機物の含有量が多いと考えられる。[結論] ヒトの乳歯の外套象牙質・中層象牙質・深層象牙質の間には、組織構造と元素組成において違いが認められた。

O-44

オフィスブリーチング法によるエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化促進効果
○飯塚 純子¹、谷口 紀江²、寺中 敏夫¹、高垣 裕子²、向井 義晴¹ (神歯大 う蝕制御修復、²神歯大 硬組織分子細胞生物)

[目的] エナメル質脱灰病巣表層にはサブミクロンレベルの孔や裂溝が存在し侵入したタンパク質等の有機質が着色の原因になるばかりでなく、再石灰化を妨げる可能性が報告されている。本研究では、オフィスブリーチング処理による侵入有機質の分解ならびに再石灰化誘導への可能性をTransversal Microradiography (TMR)にて検討した。[材料と方法] ウシエナメル質片に乳酸ゲルを用いて表層下脱灰病巣を作製後、安静時唾液に5日間浸漬した(lesion群)。その後35%過酸化水素を主成分とするオフィスブリーチング材で処理する群(bleach群)と非処理群(non-bleach群)に分け、再石灰化溶液に浸漬した。4週間後、薄片を切り出し、TMR撮影を行った。専用分析ソフトを用いてミネラルプロファイルを作製、ミネラル密度およびミネラル喪失量を測定した。統計分析は、one-way ANOVAならびにTukeyの検定を用いた。[結果と考察] bleach群は、non-bleach群に比較してミネラル密度の上昇したプロファイルが確認された。ミネラル喪失量は2群間に有意差はないもののbleach群はnon-bleach群に比べ減少する傾向が見られた。本結果からオフィスブリーチングが病巣に侵入している有機質を分解し効果的に再石灰化を誘導する可能性が示唆された。本方法は臨床的に適応拡大可能な方法であり、ブラウンスポット等の着色エナメル質面に適用した場合には審美性の回復も兼ねた再石灰化誘導手段となり得るものと考えられる。

O-45

マウスのエナメル芽細胞の極性維持に関する *Msx2* 遺伝子の機能
 ○中富 満城¹、依田 浩子¹、大島 勇人¹ (新大院医歯 硬組織形態)

【背景】 *Msx2* 遺伝子はホメオボックス型の転写因子をコードし、ヒトの *MSX2* 変異において歯の形成異常が生じる例が報告されている。*Msx2* はエナメル芽細胞と中間層細胞に発現し、*Msx2*^{-/-}マウス (以下変異型) はエナメル質形成不全を呈するが、その詳細な発症機序については不明な点が多い為今回解析を試みた。【材料と方法】 生後の野生型および変異型マウスの切歯と臼歯を用いて、*in situ* hybridization、免疫組織化学染色、透過電顕、RT-PCR、EPMA、マイクロCT等により解析を行った。【結果と考察】 変異型エナメル芽細胞の増殖期・分化期・形成期において細胞の極性化および分化マーカー (*Shh*・*Dspp*)、エナメルタンパク質 (*Amel* 等)、タンパク分解酵素 (*Mmp20*・*Klk4*) の遺伝子発現は比較的正常に認められた。一方移行期から成熟期にかけて中間層細胞は複層化および角化して Hsp25 および複数種の Hard keratin を異所性に発現し、エナメル器内の嚢胞形成とエナメル芽細胞の極性喪失が観察された。しかし切歯と臼歯の嚢胞壁にはエナメルタンパク質の免疫反応陽性細胞の存在と異所性の石灰化物形成が観察されたことから、極性を喪失したエナメル芽細胞は嚢胞壁に残存していると考えられる。以上の結果より *Msx2* はエナメル芽細胞の初期分化と生存には必須の因子ではなく、極性維持機構への関与を通して正常なエナメル質形成に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

O-46

Rho シグナリングのエナメル芽細胞分化における役割
 ○大津 圭史¹、藤原 尚樹¹、原田 英光¹ (岩工大 解剖 発生・再生)

歯の発生においてエナメル芽細胞は分化の開始と同時に細胞の極性と形態を変化させる。以前我々は Rho キナーゼ (ROCK) がエナメル芽細胞の極性、形態形成を制御していることを示した。この結果は、Rho シグナリングの活性化がエナメル芽細胞分化を開始させるための重要なファクターであることを示唆していた。そこで本研究では、遺伝子改変マウスや培養細胞を用い、RhoA の活性化状態とエナメル芽細胞分化との関連について検討を行った。マウス切歯において、活性化型 RhoA、ARHGEF は分化したエナメル芽細胞に強く認められる一方、apical bud で見られなかった。また、エナメル芽細胞で RhoA, ROCK dominant negative form が発現するマウスの切歯では、エナメル芽細胞分化が著しく抑制されており、E-cadherin, Occludin の局在も変化していた。また、培養エナメル上皮細胞において、Rho inhibitor 投与は、幹細胞関連遺伝子の発現を増加させ、Rho activator 投与はそれらを減少させた。さらに Rho の抑制で発現増加が認められる Slug を siRNA にてノックダウンさせると、これら未分化関連因子の遺伝子発現が抑制された。以上の結果から Rho-ROCK シグナルは、エナメル上皮幹細胞からエナメル芽細胞へ分化を開始させるスイッチ因子であることが示唆された。

O-47

MMP20 と KLK4 の相互作用について
 ○山越 康雄¹、唐木田 丈夫¹、大井田 新一郎¹ (鶴見大 歯 分子生化)

エナメル質形成において、エナメリシン (MMP20) 及びカリクレイン 4 (KLK4) は、エナメルタンパク質の分解に関わる主要プロテアーゼである。【目的】 今回我々は、(1) MMP20 の KLK4 及び (2) KLK4 の MMP20 に対する作用を明らかにすることを目的とした。【方法】 生後約 5 ヶ月のブタ永久第二大臼歯より幼若及び成熟エナメル質を採取し、MMP20 (pMMP20) と KLK4 (pKLK4) を分離精製した。(1) MMP20 の KLK4 に対する作用に関しては KLK4 の活性化実験を行った。リコンビナント proKLK4 を用いて、pMMP20 及びリコンビナント・ヒト MMP20 (rhMMP20) を作用させ、反応後の KLK4 の活性をサイモグラフィーにて調べた。さらにエドマン分解にて proKLK4 に対する pMMP20 及び rhMMP20 の作用部位を同定した。(2) KLK4 の MMP20 に対する作用に関しては MMP20 の不活化実験を行った。pMMP20 に対して pKLK4 を pH7.4 及び pH5.5 下で作用させ、時間ごとの活性の変化をサイモグラフィーにて調べた。さらに rhMMP20 に対して pKLK4 及びリコンビナント・ヒト KLK4 (rhKLK4) を作用させ、切断部位をエドマン分解にて同定した。【結果】 (1) proKLK4 は pMMP20 及び rhMMP20 によって Q²⁹-I³⁰ が切断されることにより活性化されることが判明した。(2) pMMP20 及び rhMMP20 は pH7.4 下で pKLK4 によって K¹¹⁸-K¹¹⁹ 及び D¹⁷⁸-S¹⁷⁹ が切断されることで不活化され、pH5.5 下では不活化されなかった。【結論】 MMP20 は KLK4 を活性化し、活性化された KLK4 は MMP20 を不活化する。

O-48

副甲状腺ホルモン投与による骨細胞周囲の骨基質
 変化について

○本郷 裕美¹、山田 珠希¹、宇田川 信之²、網
 塚 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物、²松歯
 大 生化)

【緒言】1960年代にBélangerにより、PTH投与による骨細胞
 性骨溶解が提唱されたが、その機序は依然明らかになってい
 ない。そこで我々は、マウスの外頸静脈にPTH投与し、数時
 間後の骨細胞・骨小腔の変化について組織化学的に検索した。

【材料と方法】生後11週齢の雄性ICRマウスにhuman PTH(1-
 34; 80 ug/kg)を外頸静脈投与し、数時間後における骨細胞・
 骨小腔を原子間力顕微鏡によるナノインデンテーション、透
 過型電子顕微鏡およびvon Kossa染色にて観察した。また破
 骨細胞が存在しないRANKL-/-マウスにカルセインを投与し蛍
 光顕微鏡観察した。

【結果と考察】PTH投与後6時間の皮質骨において、一部
 の骨小腔が僅かな形状変化を示したが、骨小腔周囲は著し
 い弾性率の低下を示した。9時間後には、骨小腔は拡大し、
 その周囲にはvon Kossa陰性の未石灰化骨基質が認められ
 た。そのような骨小腔壁は凹凸を示し、内部には断片的な
 石灰化基質とコラーゲン線維が観察された。一方で、
 RANKL-/-マウスの骨小腔周囲にはカルセイン標識を
 観察したことから、小腔壁への石灰化が示唆された。
 以上より、骨細胞はPTHなどに反応して、骨小腔周囲の
 骨基質を融解、あるいは、石灰化沈着を行う可能性が推
 察された。(本研究は阪大学・中野貴由教授との共同研
 究として行われた)。

O-49

副甲状腺ホルモン間歇投与の頻度が骨の細胞動態
 に及ぼす影響について

○山本 知真也¹、佐々木 宗輝¹、本郷 裕美¹、
 長谷川 智香¹、山田 珠希¹、山本 恒之¹、網塚
 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物)

【背景・目的】副甲状腺ホルモン(PTH)の間歇投与によ
 って骨形成優位となるが、間歇投与の頻度の違いがどの
 ように骨形成に影響するか明らかになっていない。そ
 こで、我々はマウスに合成型hPTH(1-34)を異なる頻
 度で投与した場合の骨の細胞群の変化について組織化
 学的に解析した。【材料と方法】生後6週齢雄性マ
 ウスにPTH(80 ug/kg)を4回/日、2回/日(以上、
 高頻度群)、1回/2日、1回/2日(以上、低頻度群)で
 2週間、腹腔内投与した。アルデヒド固定後、通法に
 てパラフィン包埋を行い、ALP、TRAP、OCN、OPN組
 織化学を行った。また、一部のサンプルをEpon樹脂
 包埋して透過型電子顕微鏡観察を行った。【結果と
 考察】PTH高頻度群では多数の不規則な骨梁が形成
 されており、鋸歯状の骨表面やOPN/OCN陽性セメン
 トラインを観察した。骨梁周囲にはALP強陽性前骨
 芽細胞の厚い細胞層と多数のTRAP陽性破骨細胞が局
 在したことから、活発なりモデリングが推測された。
 一方、PTH低頻度群では前骨芽細胞による細胞層は
 あまり発達せず、滑らかな骨表面とセメントラインが
 認められ、比較的太い骨梁が形成されていた。以上
 から、PTH高頻度投与ではりモデリングにより、ま
 た、低頻度投与ではミニモデリングにより骨形成が誘
 導される可能性が高いと考え、現在、検索を進めて
 いる。

O-50

FGF18とFGF2はマウス頭蓋冠骨形成過程に相
 反する効果を示す

○井関 祥子¹、奥原 滋¹、太田 正人¹、春日井
 昇平² (¹東医歯大 院歯 分子発生、²東医歯大
 院歯 インプラント口腔再生医学)

線維芽細胞増殖因子(FGF)の受容体、FGFRにおける活
 性型変異は、頭蓋骨縫合早期癒合症などの骨格系の先
 天異常を引き起こす。これらの変異はリガンドに対
 する親和性の増強、リガンド-受容体の特異性の喪失
 を引き起こす。FGFリガンドの中でFGF2とFGF18は、
 遺伝子欠失マウスが骨形成に異常を示す。そこで本
 研究ではFGF2とFGF18をマウス頭蓋冠骨にin vivo
 で作用させ、その影響について検討した。FGF18は適
 用領域の骨石灰化を促進し、FGF2は抑制した。FGF18
 は骨芽細胞分化マーカー、骨芽細胞における*Fgfr2*と
Fgfr3、および*Bmp2*の発現レベルを上昇させたが、この
 効果はNogginとの併用の適用によって中和された。
 一方、FGF2は、骨芽細胞分化マーカー、骨芽細胞に
 おける*Fgfr2*および*Fgfr3*の発現を抑制し、*Runx2*と
*Fgfr1*の発現領域を*Twist1*の発現を伴ってびまん性
 に拡大した。*Twist1*ヘテロ欠失マウス胎児にFGF2を
 作用させると野生型胎児に対するFGF2の骨石灰化の
 抑制効果が減少した。以上の結果より、FGF18は、
*Fgfr2*および*Fgfr3*、および*Bmp2*の発現レベルを上
 昇させることにより骨芽細胞の分化を促進すること、
 FGF2は*Fgfr2*および*Fgfr3*の発現レベルの減少と
 共に*Twist1*の発現を誘導して骨芽細胞分化を抑制
 することが示唆された。

O-51

遠赤外線エネルギーを放射する流紋岩セラミック
 スは骨形成を促進する

○Aldartsogt Dolgorsuren¹、山下 菊治¹、角田
 佳折¹、関 伸一郎¹、益井 孝文¹、北村 清一郎¹
 (¹徳大 院 HBS 口腔顎顔面形態)

[Objective] We aimed to make clear whether the Rhyolite
 ceramics radiating FIR energy affected or not on the new
 bone formation in vivo and in vitro. [Materials and
 methods] MC3T3-E1 cells were cultured in FIR CO2
 incubator radiating FIR energy by Rhyolite or normal
 incubator. The proliferation and the gene expression
 were analyzed by using the cell counts, RT-PCR and
 micro array analysis. The enzyme activity was
 analyzed by using Apizym kit. Still more, Rhyolite
 compounds were implanted in artificial bone fracture of
 femur by injection method and FIR energy was radiated
 by Rhyolite from outside of implant. The samples were
 observed by the light microscope. [Results and
 discussion] By FIR energy radiating Rhyolite, the
 MC3T3-E1 cell proliferation was inhibited, and bone
 nodules formation, gene expression of alkaline
 phosphatase and osteocalcin were activated. On the
 enzyme ALP, AP, Naphol-AS-BI-phosphohydase
 activity was increased. Still more, by irradiating FIR
 energy, extensive bone formation was actively induced.
 [Conclusion] The FIR energy radiation by the Rhyolite
 ceramics promoted the bone-forming activity.

O-52

Klf4 は軟骨細胞でのプロテアーゼの発現を制御する

○藤川 順司^{1,2}、阿部 真土¹、三浦 治朗³、脇坂 聡¹ (阪大 院歯 口腔解剖一、²阪大 歯病 障害者歯科、³阪大 歯病 総診)

Klf4 は体細胞を iPS 細胞に誘導する 4 因子の一つとして注目されているが、骨芽細胞に発現し骨格の正常発生に関わることを我々は以前報告した。骨芽細胞における Klf4 の発現は分化の進行に伴い減弱することが知られていたが、恒常的に Klf4 を過剰発現させることにより細胞外基質の発現が低下し、その分化は強く抑制された。

今回我々は Klf4 が軟骨細胞において軟骨基質の分解に関与する MMP や ADAMTS ファミリー因子の発現を促進することを見出した。Klf4 は検索したいずれの時期(生後 0 か月、2 か月、6 か月)においても関節軟骨表層の細胞 (superficial zone cells) にタンパクの局在が認められた。ただし、生後 6 か月齢においてはそれ以前の時期よりも発現は弱かった。マウス関節軟骨より採取した軟骨細胞に Klf4 を過剰発現させると、2 型コラーゲンやアグリカンの発現低下が認められると同時に MMP3、10、13、ADAMTS5 など多くの MMP、aggrecanase の発現上昇が見出された。我々は Klf4 が病的な軟骨破壊に関与する可能性を検討するため、リウマチ性関節炎を発症するモデルマウス (DICC マウス) の軟骨破壊部位での Klf4 の発現を検索した。その結果、軟骨破壊が起こっていない部位では Klf4 の局在は見られず、軟骨破壊が起こっている部位で軟骨細胞に Klf4 が局在していることが認められた。

これらの知見は Klf4 が少なくとも軟骨破壊を示す病的な状態において病状を進行させる作用があることを示唆している。

O-54

類骨における石灰化部位と骨細胞の超微構造学的解析

○三浦 治郎¹、大家 香織^{1,2}、佐藤 淳²、豊澤 悟² (阪大 歯病 総診、²阪大 院歯 口腔病理)

【目的】骨細胞 (OC) が特異的に産生する DMP1-KO マウスでは類骨が増加して骨細胞周囲に石灰化不全がみられ、くる病様の病態を示す事から、骨細胞の石灰化への関与が考えられる。本研究では、類骨における石灰化部位と DMP1 を発現する osteoid-, young-OC の位置関係を超微構造学的に検討した。【材料・方法】生後 4 週齢ラット (Wistar, ♂) の大腿骨を未脱灰でエポキシ包埋し、超薄およびトモグラフィ用切片を作製した。前記切片を透過型電子顕微鏡および超高圧電子線トモグラフィにて、包埋樹脂は反射電子観察し、石灰化部位の評価を行った。これらの超微構造解析結果を DMP1 分布と比較検討した。【結果・考察】類骨の透過電顕、電子線トモグラフィ解析や反射電子観察から、類骨内に分布する osteoid-OC を中心に石灰化が起こっている像は観察されず、石灰化前線は類骨幅を維持して骨芽細胞層に平行に認められた。osteoid-OC が石灰化前線に近接すると、細胞周囲にはプロテオグリカンに類似した細顆粒状物を有したスペースが出現し、石灰化骨内に分布する OC の骨小腔に相当すると考えられた。また、免疫染色から、DMP1 は osteoid-OC では細胞内のゴルジ野に分布し、石灰化骨内の young-OC に移行すると細胞外基質に分布することから、OC 細胞外に分泌された DMP1 は石灰化に関与すると考えられた。

O-53

骨細胞の各分化ステージにおける DMP1 の発現・分布について

○大家 香織^{1,2}、佐藤 淳¹、野田 百合¹、石田 健¹、宇佐美 悠³、岸野 万伸¹、小川 裕三¹、小守 壽文⁴、豊澤 悟¹ (阪大 院歯 口腔病理、²阪大 院歯 口腔総合診療、³阪大 院歯 検査、⁴長大 院医歯薬 生命医科 細胞生物)

【目的】骨細胞 (OC) は、電子顕微鏡観察に基づいて、形態学的に osteoblastic-, osteoid-, young-, old-OC に分類されている。この分類に基づき、骨細胞における DMP1 の発現・分布を検討した。【方法】4 週齢の Wistar rat (♂) の脛骨を通法で固定、脱灰、パラフィン包埋、薄切を行った。同切片において、in situ hybridization にて DMP1 mRNA 発現を、免疫染色にて DMP1 分布を検討した。【結果】皮質骨では、DMP1 mRNA は osteoblastic-, osteoid-OC で強発現していたが、young-OC では発現が弱く、mature-OC ではほとんど発現を認めなかった。DMP1 蛋白は、osteoblastic-, osteoid-, young-OC のゴルジ野と、young-, Old-OC やそれらの骨細管周囲の骨基質に分布していたが、類骨に分布は認めなかった。海綿骨では、骨内の骨細胞に加えて、骨表層の紡錘形細胞に DMP1 mRNA 発現が認められ、DMP1 蛋白はそのゴルジ野や周囲骨基質に認められた。【結論と考察】未熟 OC は、DMP1 を盛んに合成・分泌するが、成熟 OC では合成・分泌は低下していた。海綿骨では、骨表層に DMP1 を合成・分泌する OC 様細胞が分布しており、RANKL 供給源の OC として機能的に重要なかもしれない。

O-55

骨治癒過程における骨髄由来細胞の関与

○河合 穂高¹、辻極 秀次¹、伊藤 聡¹、中野 敬介²、于 崧¹、川上 敏行³、長塚 仁¹ (岡大 院医歯薬 口腔病理、²松歯大 口腔病理、³松歯大 硬組織疾患病態解析)

【目的】骨折治癒過程では、炎症性細胞の浸潤、血管の侵入、幹細胞の動員など様々な細胞が複雑に関与する。しかしこれら骨折治癒過程に関わる細胞の由来については不明点が多い。そこで本研究では GFP マウス骨髄細胞移植マウスを用いて骨治癒モデルを作製し、骨治癒過程における骨髄由来細胞の関与について組織学的に検討した。【材料と方法】8 週齢雌性 C57BL/6 野生型マウスに放射線照射後、同系 GFP マウスから採取した骨髄細胞を尾静脈から移植した。細胞移植 1 ヶ月後に、骨治癒モデルとして脛骨に直径 1 mm の骨欠損を形成した。試料は 3、7、14、28 日後に摘出、パラフィン切片を作製し、HE 染色、TRAP 染色および GFP、F4/80、CD34、Osteocalcin (OC) に対する免疫組織化学的染色を施し組織学的に観察した。【結果と考察】骨欠損作製 3 日では創傷部炎症巣において炎症性細胞と F4/80 陽性のマクロファージに GFP 陽性が認められ、7 日では CD34 陽性血管内皮細胞の一部に GFP 陽性が認められた。14 日では新生骨周囲で OC 陽性 GFP 陰性の骨芽細胞が認められ、28 日では吸収した骨組織周囲に、TRAP 染色陽性 GFP 陽性の破骨細胞を認めた。以上のことから骨髄由来細胞は創傷治癒の促進、血管形成制御、骨組織のリモデリング等、新生骨形成のための微小環境形成に重要な役割を担っていることが示唆された。

O-56

β_2 アドレナリン受容体作動薬がラット咬筋の生理機能および表現型に与える影響
○大貫 芳樹¹、奥村 敏¹ (鶴見大 歯 生理)

【目的】本研究では、脂溶性 β_2 アドレナリン受容体(β_2 -AR)作動薬クレンブテロール(CB)または水溶性 β_2 -AR作動薬サルブタモール(SB)の慢性投与がラット咬筋の筋活動量、筋線維サイズおよび筋線維タイプに与える影響を定量的に解析し、CBとSBの咬筋に対する作用を比較した。【方法】Wistar系ラットの右側咬筋に筋電図記録用電極を装着し、7、14日目(control)の筋活動をテレメトリーシステムにて24時間記録した。その後、CB投与を開始し、7、14日目の筋活動を同様に記録した。また、同様の手法を用いて、SB投与実験も行った。筋電図記録後、左側咬筋の筋線維直径を組織化学的手法にて、右側咬筋におけるミオシン重鎖アイソフォームの構成をSDS-PAGEにて定量的に解析した。【結果】CBおよびSBの慢性投与により、ラット咬筋の肥大と筋線維タイプの速筋化が観察された。また、CB投与により、咬筋のdaily duty time(1日あたりの活動時間)は、最大活動時の5および20%以上の活動レベルでは約2倍、50および80%以上の活動レベルでは約5倍増大した。しかしながら、SB投与は、咬筋のdaily duty timeには影響を与えなかった。【結論】以上の結果は、水溶性(SB)および脂溶性(CB)の β_2 -AR作動薬が末梢の咬筋 β_2 -AR刺激によりラット咬筋の肥大と筋線維タイプの速筋化を誘発するのに対し、脂溶性 β_2 -AR作動薬(CB)が中枢神経系の β_2 -AR刺激により筋活動量(daily duty time)の増大を誘発することを示唆する。

O-57

マウス筋芽細胞においてCCN2はBMP2による骨芽細胞様変化を抑制する
○西田 崇¹、久保田 聡¹、滝川 正春¹ (岡大 院医歯薬 口腔生化)

以前の本学会で、我々はマウス筋芽細胞株C2C12を用いたBMP2によるアルカリホスファターゼ(ALP)陽性細胞数の増加にCCNファミリーメンバー2/結合組織成長因子(CCN2/CTGF)が協調的に関与する可能性を報告した。今回、胎生18.5日胚*Ccn2*欠損マウスから分離した筋芽細胞を用いてBMP2による骨芽細胞様変化にCCN2がどのような影響を与えるかを解析した。同腹の野生型及び*Ccn2*欠損マウスから分離した筋芽細胞をサブコンフルエントに達するまで培養した後、BMP2を含む無血清培地に交換した。4日後にALP染色を行うと、*Ccn2*欠損筋芽細胞のALP染色のレベルは野生型筋芽細胞よりも亢進した。この結果はCCN2がBMP2による骨芽細胞様変化に抑制的に作用することを示唆しており、以前のC2C12細胞で得た結果とは一致しなかった。そこでC2C12細胞においてもCCN2がBMP2作用を抑制するかを確かめるためにBMP2とCCN2共存下でBMP2/4産生量の増減を解析した結果、BMP2単独刺激で増加したBMP2/4の産生量は、共存するCCN2の濃度を高めることで逆に減少した。この結果はC2C12細胞においてもCCN2がBMP2作用を抑制することを示しており、CCN2が筋芽細胞においてBMP2のアнтаゴニストとして機能する可能性が考えられた。会員外共同研究者：Janune D., Lyons KM.

O-58

遊離脂肪酸は気管平滑筋上の遊離脂肪酸受容体FFAR1を介して気管収縮を促進させる
○水田 健太郎^{1,2}、工藤 忠明³ (東北大 院歯 歯科口腔麻酔、²コロムビア大 医 麻酔、³東北大 院歯 口腔生理)

【目的】肥満者は気管支喘息の有病率が高い。肥満が気管支喘息を誘発する機序については諸説あるものの、確たる証左は得られていない。近年我々は、中長鎖遊離脂肪酸をリガンドとするG_q蛋白共役型遊離脂肪酸受容体FFAR1(GPR40)の、気管平滑筋上での発現を確認した。そこで、肥満者の血中に過剰に存在する遊離脂肪酸が、肥満と気管支喘息を繋ぐ鍵分子であるとの仮説を基に、FFAR1を介した気管平滑筋収縮作用について検討した。【方法】アセチルコリン誘発性のモルモット気管平滑筋収縮作用が、遊離脂肪酸(オレイン酸、リノレン酸)またはFFAR1作動薬(GW9508)の投与により増強されるかを、オーガンバス法で検討した。また、FFAR1を介したヒト気管平滑筋細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)上昇作用を、Ca²⁺蛍光試薬(Fluo-4AM)負荷細胞にて評価した。【結果】アセチルコリン誘発性の気管平滑筋収縮作用は、FFAR1リガンド投与により増強した。ヒト気管平滑筋細胞へのFFAR1リガンド投与により、[Ca²⁺]_iが一過性に上昇した。また、この反応は(1)siRNAによるFFAR1のノックダウン、(2)PLC阻害剤(U73122)、(3)IP₃受容体拮抗薬(Xestospongine C)により有意に抑制された。【考察】気管平滑筋に発現しているFFAR1は、気管収縮に関与することが示唆された。FFAR1は、肥満と気管支喘息を関連づける因子である可能性がある。

O-59

生後マウスの咬筋と大腿の筋における甲状腺ホルモンレセプターと筋分化抑制因子との関係
○佐藤 巖¹、三輪 容子¹、春原 正隆¹ (日歯大 生命歯 解剖1)

【目的】筋線維初期分化マーカーにはMRFsファミリーなどの因子があり(Sabourin and Rudnicki 2000)、これらの筋分化促進因子の抑制因子としてミオスタチンの存在が報告された(Manceau et al., 2008)。骨や筋の成長期をコントロールする因子として甲状腺ホルモンの関与があるが、その受容体である α 、 β の2種類とサブタイプの2つがあるが $\alpha 1$ は主に筋に発現し(White et al., 2001)、生後の筋線維タイプの構成に関係することが報告されている(Pircher et al., 2005)。しかし筋分化促進因子の抑制因子であるミオスタチンとの関係は十分検討されていない。【方法】本研究では生後から2週間のマウス咬筋と大腿の筋を比較してmRNAの発現レベルでの検討を行った。【結果】咬筋の $\alpha 1$ は6日齢まで増加し、大腿の筋では生後から急激に減少した。この傾向は大腿の筋と比べ咬筋のサイトクロームCの発現パターンと類似し、ミオスタチンの発現パターンとは異なることが示された。しかし、10週齢以降には筋関連因子(ミオシン重鎖、slow fiber, embryonic fiber)の増加し対してミオスタチンと $\alpha 1$ とは減少する傾向を示した。【考察】このことから咬筋では生後に両者を運動して制御する因子の可能性が示唆された。

O-60

Expression of erythropoietin receptor on stem cells from exfoliated deciduous teeth

○馬 蘭^{1,2}、山座 孝義²、星野 慶弘¹、山座 治義¹、野中 和明¹、久木田 敏夫² (¹九大 院歯小児口腔医学、²九大 院歯 分子口腔解剖)

[Purpose] Erythropoietin (EPO) is known as a hormone to control erythropoiesis. Recent discovery demonstrated that EPO affects a function on bone marrow mesenchymal stem cells through its receptor EPO-receptor (EPO-R). However the expression and function of EPO-R on dental pulp-derived stem cells have not been elucidated. Here, we demonstrate the expression of EPO-R on stem cells from exfoliated deciduous teeth (SHED) and show its functionality in SHED. [Method] SHED were isolated from dental pulp tissues of exfoliated deciduous teeth and cultured. The expression of EPO-R was analyzed by molecular biochemical, biochemical, and morphological analyses. [Results] Reverse transcription polymerase-chain reaction analysis showed the expression of EPO-R gene on SHED. Western blotting, flow cytometry and immunostaining demonstrated the localization of EPO-R on SHED. Furthermore, when SHED treated with EPO-R ligand EPO, SHED expressed an enhanced capacity of cell proliferation. [Conclusion] These findings indicated that EPO-R may play an important role of a stem cell function of SHED and suggested that EPO may be useful to regulate a function of SHED.

O-61

ヒト歯髄幹細胞のドーパミン神経細胞への分化誘導とパーキンソン病モデルへの移植による治療有用性

○藤井 裕美¹、山本 朗仁¹、松原 弘記¹、上田 実¹ (¹名大 院医 顎顔面外科)

パーキンソン病は、脳のドーパミン作動性ニューロンの変性により線条体のドーパミン放出量が減少することで起こる神経変性疾患である。特定の神経細胞の機能障害が原因であるため、ドーパミン産生能を持つ幹細胞移植治療が近年注目されている。ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞 (SHED) は高い細胞増殖率を示す神経堤由来の幹細胞である。5 継代目では、ほぼ全ての SHED が神経幹細胞および前駆細胞マーカーを共発現する。さらに神経幹細胞のようにニューロンやグリアへの分化能を示す。我々はこれまでの研究で SHED を約 70% の割合で効率的にドーパミン産生ニューロンに分化誘導する方法を見出した。分化誘導過程で生じる SHED の細胞死は低酸素培養にて著しく改善した。分化誘導した 1x10⁵ 個の SHED (d-SHED) は KCl 刺激に反応し培養液中に 46 ng/ml 時の効率でドーパミンを産生した。さらに d-SHED を 6-OHDA 片側注入によって誘導したパーキンソン病モデルラットへ移植した結果、パーキンソン病特有の回転運動が有意に抑制され、行動機能が改善した。組織学的解析によって移植後 6 週における d-SHED の生存率は 0.1% であった。以上の結果から、d-SHED はパーキンソン病治療に対する移植細胞として優れた細胞であることが示唆された。

O-62

三次元培養による培養腱細胞 (テノサイト) 単離法の確立

○島田 明美¹、和田 悟史²、小松 浩一郎¹、中島 和久¹、二藤 彰¹ (¹鶴見大 歯 薬理、²鶴見大 歯 矯正)

遺伝子改変マウス等の腱や靭帯の性質を解析する上で、腱および靭帯細胞の初代培養系は有用であるが、マウス腱および靭帯細胞の初代培養法は確立されていない。そこで今回、コラーゲン培養により安定的に腱細胞 (テノサイト) を培養する方法を確立し、得られた初代培養腱細胞の性質を調べた。成体マウスのアキレス腱ならびに尾腱を採取し、0.1% コラーゲンゲル (Cellmatrix type I-A、新田ゼラチン) 中で 10% ウシ胎児血清を含む α MEM で培養した。約 10 日後、ゲル中に出現した増殖細胞を、コラーゲンマーゼとトリプシン処理により分離し、通常のプラスチックシャーレで継代培養した。増殖速度を調べると共に、発現遺伝子をリアルタイム PCR 法により調べた。腱組織採取直後から二次元で培養した場合と比べて、三次元培養では細胞の出現時期が早かった。三次元培養後にプラスチックシャーレ上で継代した際の細胞増殖速度も約 1.3 倍速かった。また、対数増殖期の増殖回数や得られた総細胞数がかかるに多かった。テノサイトマーカーである Scleraxis や Tenomodulin の遺伝子発現が多く、筋細胞マーカーの myogenin や骨芽細胞マーカーの Osteocalcin 等を検出できなかったことから、大部分が腱細胞であると考えられた。本研究により、三次元培養を用いて純度の高い腱細胞を安定的に単離培養できることが示された。

O-63

上皮・間葉ハイブリッド型細胞シート合成過程に発現する細胞骨格関連タンパク

○山根 茂樹¹、梅澤 貴志¹、井出 吉信¹、阿部 伸一¹ (¹東歯大 歯 解剖)

【目的】咽頭癌などによる粘膜摘出後に自己細胞による口腔粘膜細胞シートの応用が試みられているが、筋層の再構築までは困難なことから治療後の咀嚼・嚥下機能障害という問題点が指摘されている。そこで上皮、結合組織、筋肉の細胞シートをハイブリッドさせた 3 層積層シートを開発し、これらの構造維持に重要な細胞骨格、接着タンパクの局在、継日的な変化を検討した。【方法】上皮シート作成のため、日本家兎口腔粘膜から細胞を採取した。同時に酵素処理により分離した結合組織由来の細胞をゲル状のコラーゲンと混和し、インサート上に播種した。この結合組織ゲル上に口腔粘膜上皮細胞を共培養した。筋シートは日本家兎の筋芽細胞を用いて作成し、両シートを積層後、継日的に凍結切片を作成し、免疫組織化学的染色を行った。さらにタンパクの定量化のため、Western blot 法を行った。また、間葉系細胞や筋芽細胞の性質を調べるために分化誘導を行った。【結果】上皮シートが結合組織ゲルを介して、筋肉シートと密接な状態であり、それぞれの細胞骨格関連タンパクなどが観察され、筋組織特有の構造タンパクであるデスミンが、積層後継日的に増加していた。また繊維芽細胞、筋芽細胞には、骨芽細胞、脂肪細胞に分化できる未分化な細胞が存在していた。以上のことから、今回作製を試みた積層シートは、移植後も増殖が期待出来る未分化な細胞を含んだ良好な積層シートである可能性が示唆された。

O-64

Simvastatin がマウス歯肉線維芽細胞由来 iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響
 ○大川 博子¹、江草 宏¹、矢谷 博文¹ (阪大院歯 クラウンブリッジ補綴)

【目的】本研究の目的は、simvastatin が iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響を検討することである。**【方法】**成体マウスから分離培養した歯肉線維芽細胞を用いて作製した iPS 細胞 (mGF-iPSCs) を、1 μM simvastatin 含有骨芽細胞分化誘導培地にて 28 日間培養し、RT-PCR 解析を用いて骨芽細胞分化特異的遺伝子 (osteocalcin, collagen 1, osterix) の発現を検討するとともに、Alizalin Red 染色により細胞外基質の石灰化を観察した。また、simvastatin の mGF-iPSCs に対する細胞毒性および増殖能に及ぼす影響を、WST-1 細胞増殖および細胞生存アッセイを用いて検討した。さらに、mGF-iPSCs の三次元細胞凝集体を作製し、1 μM simvastatin 含有骨芽細胞分化誘導培地にて 30 日間分化誘導後、SCID マウス皮下へ移植した。移植 28 日後に、移植細胞による異所性の骨形成を組織学的に評価した。**【結果】**simvastatin は、mGF-iPSCs の骨芽細胞分化特異的遺伝子の発現および細胞外基質の石灰化を著明に促進した。また、simvastatin は 0.01-1 μM の濃度範囲で mGF-iPSCs の増殖を濃度依存的に抑制した。さらに、simvastatin 存在下で骨芽細胞へ分化誘導した細胞移植体の内部には、非添加の場合と比較してより成熟した骨組織の形成を認めた。**【結論】**本研究の結果、simvastatin は mGF-iPSCs の骨芽細胞分化を促進し、mGF-iPSCs による異所性骨形成を促進することが明らかとなった。

O-66

軟骨細胞と変形性関節症モデルを用いた CCN2 各モジュールの組織再生効果の評価
 ○Abd El Kader Tarek^{1,2}、久保田 聡¹、西田 崇¹、服部 高子¹、青山 絵里子³、Janune Danilo¹、窪木 拓男²、滝川 正春^{1,3} (1岡大院歯歯薬 生化、2岡大院歯歯薬 インプラント再生、3岡大機能共研施設)

CCN2/CTGF promotes the regeneration of articular cartilage. This study aims to assess the effects of 4 modules comprising this protein independently or different combinations. The effects *in vitro* were evaluated using human chondrocytic HCS-2/8 cells. Cartilage regeneration *in vivo* was evaluated by using 2 rat OA models. Interaction of 2 modules was examined by an SPR methodology. Analysis with HCS-2/8 cells revealed an activity comparable to rCCN2 in one module, which was rather diminished by the combination with other modules. However interestingly, mixture of all of the 4 modules almost reconstructed the bioactivity of rCCN2. The result of cartilage regeneration experiments was also consistent with the findings obtained *in vitro*. SPR analysis uncovered significant interaction of 2 modules and full-length CCN2, indicating possible multimodular complex formation. These results indicate independent bioactivity of each module, also indicating the complexity of inter-modular interaction in regulating the bioactivity of CCN2.

O-65

Effectiveness of Enzymatically Synthesized Glycogen (ESG) on the healing process following intentionally-delayed tooth replantation in mice
 ○Quispe-Salcedo Angela¹、依田 浩子¹、大島 勇人¹ (1新大院歯歯 硬組織形態)

Objective: Enzymatically synthesized glycogen (ESG) has been found to improve the immune response by stimulating the macrophage activity. The present study aimed to clarify the effectiveness of ESG on the healing process following intentionally-delayed tooth replantation in mice.

Materials and methods: The upper right first molars of 3-weeks-old ICR mice were extracted and immersed in three ESG solutions of different molecular weight (20000, 5000, and 3000 kDa.) for 60 minutes, in addition to PBS alone (control). The progression of the pulpal healing was assessed by immunohistochemistry for nestin, PGP 9.5 and Ki-67, and TUNEL assay.

Results: An increased number of TUNEL + cells occupied the dental pulp of both groups one week after operation. In the PBS group, cell proliferation took place at Week 2, while in the ESG groups Ki-67 + cells significantly decreased in number due to the establishment of the dental pulp healing patterns.

Conclusion: ESG improved the healing process by stimulating the differentiation of hard-tissue forming cells in the dental pulp of intentionally-delayed replanted teeth without affecting the supporting tissues.

O-67

灯心草および牡丹皮エキスはシ正常唾液腺房細胞をシスプラチンによるアポトーシスから保護する
 ○椋代 義樹¹ (1昭大 歯 口腔外科)

【目的】シスプラチン (CDDP) は悪性腫瘍の化学療法剤として用いられるが、重篤な副作用がある。その一つである口腔乾燥症は唾液腺房細胞の細胞死によって引き起こされ、患者の Quality of Life を低下させる課題となっている。そこで本研究では、CDDP による唾液腺房へのアポトーシスを保護する生薬の検索を *in vitro* で試みた。

【方法】不死化ヒト正常唾液腺房細胞株である NS-SV-Ac 細胞を生薬エキと CDDP 存在下で培養し、細胞死 (アポトーシス) 抑制効果を検索した。さらに、アポトーシス抑制効果の詳細を検討した。また同様の実験を、ヒト腺様嚢胞癌細胞株である、Acc 2 および Acc M 細胞でも行った。

【結果】灯心草 (*Juncus effusus*) および牡丹皮 (*Paeonia suffruticosa*) の二種類のエキスは、NS-SV-Ac 細胞の CDDP による細胞死 (アポトーシス) を抑制した。この作用機序は PKB/Akt 1 のリン酸化によって、Bcl-2/Bax 経路でカスパーゼ 3/7 の活性を抑制していた。一方、これらの効果は Acc 2 および Acc M 細胞では見られなかった。**【考察】**本研究により、抗癌剤投与中の患者における口腔乾燥症を改善する生薬エキスを見出した。現在、*in vivo* 実験を行っている。

会員外演者：新谷悟、近藤誠二 (昭大歯学部顎口腔疾患制御外科学講座)、小山智之、矢澤一良 (東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科ヘルスフード科学講座)、Chunnan Li (Medical College, Jinggangshan University, P.R. China)

O-68

In vitro におけるマウス顎下腺の時計遺伝子、時計制御遺伝子と機能分子 mRNA の概日リズム
○内田 仁司^{1,2,3}、阪井 丘芳²、中村 渉¹ (大阪
院歯 口腔時間生物、²大阪 院歯 顎治、³日本
学術振興会)

唾液は摂食等の刺激により分泌量が増加する。一方、安静時唾液量は1日の時刻に応じて変化する。しかし、その日内変動の制御機構は明らかでない。本研究では、マウス顎下腺の遺伝子発現の時間変動を個体及び培養組織と比較検討し、唾液腺機能リズムの生じる機構を解明することを目的とした。概日リズムの測定は時計遺伝子 *Per2* 発光レポーターマウスから顎下腺を摘出して器官培養し、生物発光を連続的に記録した。マウス顎下腺 *PER2* 発現量は明瞭な概日リズムを示したが、1週間の測定期間中にリズム振幅が減衰した。次に、マウス顎下腺を培養し24時間で6時間毎にサンプリングし、時計遺伝子 *Per2*, *Bmal1*, 時計制御遺伝子 *Dbp*, 機能分子 *Aqp5*, *Amy* の mRNA 量を定量して *in vitro* における発現変動を検討した。時計遺伝子 mRNA の発現量は明瞭な概日変動を示した。*Aqp5* と *Amy* mRNA も概日変動を示し、それらの発現タイミングは *Dbp* と同期していた。更に、マウス個体から4時間毎に24時間、各点で顎下腺を採取し、*in vivo* における mRNA 発現を定量して *in vitro* の発現リズムと比較した。*In vivo* において顎下腺の時計遺伝子 mRNA 発現は概日リズムを示した。一方、*Aqp5* mRNA は概日リズムを示したが、発現量のピークはマウスの活動期である夜間に位置し、*Amy* mRNA は概日リズムを示さなかった。以上の結果から、顎下腺機能の概日リズムは顎下腺自体の概日リズムをベースにして、中枢性の制御を受けていると考えられた。

O-70

災害時拘束ストレスを唾液タンパク質の酸化により測定する試み

○谷口 紀江¹、飯塚 純子²、向井 義晴²、高垣 裕子¹ (神歯大 院 硬組織分子細胞生物、²神歯大 院 う蝕制御修復)

【目的】大規模災害などによる避難所生活は、避難者に様々なストレスを与える。その様な状況下特に大きなストレスを受けている人を識別する簡便な方法があれば、個別の対処が可能になる。既に報告した Raman 分光法による全唾液タンパク質の酸化定量法を応用し、唾液提供者のストレスを評価する検査法を提唱したい。【対象と方法】本学病院の女性教職員数名に、金曜日から日曜日まで周囲を段ボールで囲まれた一畳のスペースで過ごし、粗食をとり、寝袋で休む実験を依頼した。事前と1、2日目の3回、安静時と刺激時の唾液を採取し、唾液タンパク質の酸化防止のために N2 置換を行い、各種阻害剤を添加した。一週間冷蔵保管後唾液を遠心分離し、上清をエタノール沈殿により濃縮後圧延し、Raman 分光法によりタンパク質 Amidel に対する SS 基のピーク面積比から酸化状態を比較検討した。又別途平日に3日間連続で唾液を採取し、被験者のコントロール値とした。【結果と考察】顔見知りと連れ立って参加した被験者は、実験前と比較して模擬避難所生活1、2日目に、安静時、刺激時唾液共 SS 基/Amidel 比に減少が見られるか変化がなかった。一方単独で参加した被験者は、1、2日目共刺激時唾液のみに有意な面積比の増加がみられた。以上から、刺激時唾液の酸化力がストレスにより高まり、唾液タンパク質を強く酸化した可能性が推測された。更なる検討と、ボランティア集団の構成を吟味する必要がある。

O-69

唾液腺介在部導管細胞は CD117 と CD66a を指標にして分離できる

○竹山 旭¹、吉川 美弘²、池尾 隆²、森田 章介¹、檜枝 洋記³ (大歯大 院歯 口腔外科1、²大歯大 院 生化、³大歯大 院 生物)

【目的】唾液分泌障害の根本的治療法として幹細胞を利用した再生医療が期待されている。唾液腺上皮幹細胞は介在部や排出部導管に存在するが、唾液腺構成細胞を分離する方法が確立されていないため、詳しい性状はわかっていない。本研究では、細胞表面分子 CD117 と CD66a が唾液腺構成細胞を系統的に分離するための有用なマーカーであることを報告する。【材料・方法】成体マウス顎下腺の凍結組織切片および単一細胞標本を CD117、CD66a、腺房マーカー AQP5、導管マーカー CLDN4、基底・筋上皮マーカー CK5 に対する抗体および蛍光標識2次抗体で染色し、共焦点レーザー顕微鏡観察および FACS 解析を行った。動物実験は大歯大動物実験規定に従った。【結果】顎下腺の腺房、介在部導管、線条/排出部導管の各細胞、そして基底・筋上皮細胞では CD117 と CD66a の染色強度が異なっていた。介在部導管細胞は CD117 + CD66aHi、線条・排出部導管の一部の細胞は CD117 + CD66aLo であり、これらの細胞を FACS 分離できた。【結論】唾液腺上皮幹細胞の存在部位である介在部導管および線条・排出部導管の細胞を、生きたまま分離することに成功した。これらの細胞の分化能や唾液腺再生能、発現遺伝子を調べることによって、唾液腺幹細胞の性質を詳細に解析することが可能となり、唾液腺再生医療の確立に大きく貢献することが期待される。

O-71

唾液 BDNF・エストロゲン・プロゲステロンの相関と性周期との関連

○松木 千紗¹、近藤 裕介^{1,2}、猿田 樹理¹、東雅啓¹、林 隆司¹、山本 裕子¹、清水 智子¹、榎木 恵一¹ (神歯大 院 環境病理、²東海大 院 病理診断)

【目的】健康な女性には毎月一定の周期で月経がおこる。この月経周期に基づいた周期を性周期と呼びこれは2種類のホルモン、エストロゲンとプロゲステロンの変化によってもたらされる。過去の報告で唾液中のプロゲステロンとエストラジオールは、血漿プロゲステロン、血漿エストラジオールと相関することが報告されている。さらに血漿プロゲステロンと血漿エストロゲンは BDNF と相関することも報告されている。これらから唾液中において brain-derived neurotrophic factor (BDNF) は、プロゲステロンあるいはエストロゲンと相関するという仮説の基に検討を行った。【方法】52名の女性に事前に性周期などのアンケートによる調査を行い、また唾液回収にはサリベットを使用し、5分間安静時唾液を採取し遠心分離後にサンプルとして使用した。その後エストロゲン、プロゲステロン、BDNF の唾液中の濃度を ELISA により通法に従い測定し、相関関係を統計的に検討した。【結果と考察】52名の平均年齢は21.8歳、BMI19.3、体温35.6度、月経周期28.3日であった。また月経期であった者は10名、非月経期であった者は42名であった。ELISAの結果より、唾液 BDNF と唾液エストロゲンの濃度に強い相関があることがわかった。今後唾液 BDNF と唾液エストロゲンの月単位における個人レベルでの相関関係を解析し、唾液を用いて健康な状態はもちろん、婦人科系疾患の診断に活用できるよう研究を進めていきたい。

O-72

各種ルミナコイド摂取がラット顎下腺と唾液中 IgA 量に与える影響についての検討

○山本 裕子¹、林 隆司¹、東 雅啓¹、清水 智子¹、猿田 樹理¹、近藤 裕介^{1,2}、槻木 恵一¹ (神歯大 環境病理、²東海大 医 病理診断)

【目的】唾液中には炎症の無い状態でも多量の sIgA が分泌されており、上気道感染症の感染防止に大きく関与している可能性がある。ヒトでは特定の食物摂取で唾液中 sIgA 量が増えたとの報告はあるが、そのメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究では腸管からのシグナルが唾液中 sIgA 量に与える影響を研究するため、ラットにルミナコイド（食物繊維。難消化性糖質）を摂取させることで、盲腸内容物中だけでなく顎下腺および唾液中における IgA 量が変動するかどうかを検討した。【方法】AIN76 のコーンスターチ 15.0% とセルロース 5.0% をグラニュー糖に置き換えた無繊維飼料を対照飼料として、5.0% フラクトオリゴ糖添加飼料、2.5% ポリデキストロース 2.5% ラクトール添加飼料を調整した。Wistar 系ラット（オス、5 週令）を 3 群に分け、各飼料を自由摂取させ、3 週間後に顎下腺、盲腸内容物、血清を採取した。別の実験では同じ条件の下、ラット唾液を採取した。IgA 量は ELISA 法にて測定した【結果と考察】盲腸内容物と顎下腺組織の IgA 量は、ルミナコイド摂取群で、コントロール摂取群に比較して高い値が認められた。血清 IgA 量は 3 群間で差は認められなかった。また唾液中 IgA 量もルミナコイド摂取群において高い値が認められた。以上の結果から、各種ルミナコイド摂取がラット盲腸内容物、顎下腺および唾液中で IgA 量を増加させる可能性が示唆された。また顎下腺 IgA 量、唾液 IgA 量は血液中 IgA 量とは関連が薄いと考えられる。

O-74

新規 NF- κ B 選択的阻害剤は口腔癌による顎骨浸潤を抑制する

○多田 幸代^{1,2}、福島 秀文²、大澤 賢次³、自見 英治郎² (¹九歯大 歯 歯科侵襲制御、²九歯大 歯 分子情報生化学、³埼玉大 病態生理)

癌組織では恒常的に転写因子 NF- κ B が活性化することが報告されている。我々は以前本学会において、マウス口腔扁平上皮癌 (OSCC) 顎骨浸潤モデルに対し、NF- κ B の選択的阻害剤 (NBD ペプチド) を局所投与すると、顎骨浸潤が抑制されることを報告した。そこで本研究では新規 NF- κ B の選択的阻害剤を用いて OSCC による顎骨浸潤抑制の分子メカニズムを解明する目的で実験をおこなった。ヒトおよびマウスの OSCC 細胞株を TNF α で刺激すると、NF- κ B のメインサブユニットである p65 のリン酸化、核移行と I κ B α の分解が観察されたが、新規 NF- κ B 阻害剤 IMD-0560 で前処理した後に TNF α で刺激すると、p65 のリン酸化、核移行と I κ B α の分解は抑制された。また、IMD-0560 は TNF α 刺激によるマトリクスメタロプロテアーゼの基質分解活性と OSCC 細胞の浸潤能の活性化を抑制した。次にマウス OSCC 顎骨浸潤モデルにおいて、IMD-0560 (5 mg/kg) を週 3 回、3 週間癌細胞接種部位に局所投与すると、IMD-0560 は腫瘍の増殖と顎骨浸潤を著明に抑制した。以上の結果から、IMD-0560 は OSCC の NF- κ B の活性化を抑制し、OSCC 細胞の増殖と基質分解活性を抑制し、顎骨浸潤を抑制していると考えられる。【会員外共同研究者】医薬分子設計研究所：板井昭子、藤川知行

O-73

Tumor associated macrophage におけるアシル基転移酵素群の役割

○谷口 広祐^{1,3}、引地 尚子²、沖永 敏則³、西原 達次³ (¹九歯大 口腔顎顔面外科、²九歯大 口腔保健 口腔機能支援、³九歯大 健康増進 感染分子生物)

【目的】アシル基転移酵素群は近年発見された膜タンパクで、PGE2 をはじめとする炎症性脂質メディエーター産生および細胞膜構成の調節を司る酵素であることが解明されてきた。悪性腫瘍間質に浸潤する腫瘍関連マクロファージ (tumor-associated macrophage 以下 TAM) は LPS 刺激により腫瘍抑制を行う M1-like macrophage (以下 M1) と IL-4 刺激により腫瘍増殖・転移促進を行う M2-like macrophage (以下 M2) の 2 種に分化することが知られている。本研究では、TAM の分化過程におけるアシル基転移酵素群の mRNA 発現の変化について検討した。【方法】ヒト単球系細胞株 U937 細胞を PMA 処理した後 LPS あるいは IL-4 で刺激し、細胞の形態を観察した。その後細胞を回収し M1・M2 それぞれの分化マーカーおよびアシル基転移酵素群の遺伝子発現を qRT-PCR で確認した。【結果】PMA 処理を行うと、浮遊系の U937 細胞は培養皿に付着し著明な細胞増殖は認められなくなった。さらに M1、M2 は細胞全体が大きくなり明らかな形態的变化を認めた。次に、PMA 処置後 LPS 刺激で M1 マーカー、および IL-4 刺激で M2 マーカーの遺伝子発現が上昇した。また、一部のアシル基転移酵素群の遺伝子発現上昇を認めた。【考察】TAM の分化とアシル基転移酵素群の変化に関連性が見とれた。すなわち、TAM の分化により、細胞膜構成に変化が生じたり、炎症性脂質メディエーター産生量に変化が生じたりする可能性が示唆された。

O-75

乳癌骨転移巣における骨細胞産生因子の組織化学的解析

○山田 珠希¹、坪井 香奈子¹、平賀 徹³、山本 知真也¹、田中 祐介¹、長谷川 智香¹、織田 公光²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織発生生物、²新大 院医歯 口腔生化学、³松歯大 口腔解剖二)

【目的】骨細胞は基質ミネラルの維持、骨改造及び血中リン濃度の調節を行なっているが、癌の骨転移巣という特殊な環境は骨細胞の機能に影響を与えると考えられる。そこで我々は、乳癌骨転移モデルを用いて、骨転移巣における骨細胞産生因子について組織化学的に検索することを目的とした。【材料及び方法】生後 9 週齢の雌性 nu/nu マウスの左心室に乳癌細胞 (MDA-MB-231) 浮遊液を注入した。28 日後、軟エックス線にて骨破壊像を確認後、4% パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定し、通法にてパラフィン包埋を行った。大腿骨の組織切片を作製し、骨細胞産生因子である DMP-1、FGF23 と sclerostin 及び骨芽細胞と破骨細胞マーカーである ALP と TRAP について組織化学的に解析した。【結果と考察】乳癌細胞が転移した周囲の骨基質表面には、多数の ALP 陽性骨芽細胞及び TRAP 陽性破骨細胞が局在した。乳癌転移巣に隣接する皮質骨内の骨細胞は DMP-1 陽性であったが、FGF23 及び sclerostin ともに陰性を示した。一方、骨転移巣における乳癌細胞は FGF23 強陽性を示した。以上、乳癌細胞は FGF23 を過剰産生することで低リン環境という骨転移に最適な環境を形成する可能性、また、周囲の骨細胞の機能を抑制する可能性が示唆された。

O-76

正常ヒト上皮角化細胞における酸化ストレスに対する発がん防御機構としての細胞老化誘導作用
 ○佐々木 三奈^{1,2}、鍛治屋 浩¹、長岡 良礼^{1,2}、堤 貴司¹、府川 晃久^{1,2}、岡本 富士雄¹、岡部 幸司¹ (福歯大 細胞生物、²福歯大 顎顔面外科)

【目的】酸化ストレスは突然変異や発がんを誘発する要因であり、この防御機構としてテロメアの短縮化を伴わない正常細胞の細胞老化が知られている。しかし、口腔粘膜の酸化ストレスに対する細胞老化の誘導については不明である。そこで、活性酸素種(ROS)に対するヒト正常角化上皮細胞(NHEK)と口腔扁平上皮癌細胞(SCC)の細胞老化の誘導とその機序について検討した。【方法】過酸化水素水を用いたROS刺激をNHEK細胞及びSCC細胞に与えた。ROS刺激による標的分子の発現をDNAマイクロアレイ法、SA-β-gal染色、RT-PCR法、Western blotting法を用いて検討した。【結果】ROS刺激はNHEKにおいて老化マーカーであるSA-β-galの活性化と共にがん抑制遺伝子(p21, p16)の発現の上昇とサイクリン依存性キナーゼ4/6の発現が減少した。一方、SCC細胞の細胞老化に関連する遺伝子の発現変化はなかった。さらに、メチル化阻害剤の5-azacytidineを用いてNHEK細胞を刺激するとROS刺激と同様なp16の発現上昇とSA-β-gal活性化を認めた。【結論】酸化ストレスに対する発がん防御機構としてがん抑制遺伝子の発現を介した細胞老化の誘導が一因と考えられた。さらに、このROS刺激による細胞老化には正常細胞にのみ惹起されるがん抑制遺伝子のメチル化抑制が関与する可能性が示唆された。

O-77

CN3の抗線維化効果に伴うCCNファミリー遺伝子発現プロファイルの変化
 ○Janune Danilo¹、Tarek Abd El Kader^{1,2}、久保田 聡¹、西田 崇¹、服部 高子¹、青山 絵里子³、窪木 拓男²、滝川 正春^{1,3} (1岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 院医歯薬 インプラント再生、³岡大 中央研究施設)

CN2とCCN3は、高い構造類似性を示すCCNファミリーに属するタンパク質である。CCN2が様々な組織において線維形成を促進する因子であることは以前から知られている一方、CCN3は特定の組織において線維形成を防御することも報告されている。実際腎臓においてはCCN3がCCN2発現を抑えながら線維形成を防御する作用を果たすが、肝臓の細胞においては別のメカニズムを経由して線維化を抑制する。このようにCCN3が抗線維化効果を発揮するメカニズムには未だ不明な点が多い。そこで本研究ではin vitro線維化モデルを利用して、CCNタンパクファミリーの全メンバーおよび線維化のマーカー遺伝子に対するCCN3過剰発現の効果を評価した。その結果、CCN2遺伝子発現に一定の低下がみられ、I型コラーゲンとα平滑筋アクチン遺伝子発現の有意な抑制がみられた。注目すべきはCCN3過剰発現の遺伝子発現抑制効果は、線維化のマーカー遺伝子とCCN2遺伝子だけに限らずCCN4遺伝子にまで及んだ点である。本研究で得られた結果は、線維化という病的な組織リモデリング現象が、CCNファミリータンパク質が構成する複雑な分子ネットワークに制御されていることを示している。

O-78

低カルボキシル化オステオカルシンはインクレチン分泌を介してインスリン分泌を促進する
 ○溝上 顕子¹、安武 雄¹、平田 雅人¹ (1九大 院歯 口腔細胞工)

骨芽細胞が合成・分泌するオステオカルシン(OC)は、大部分は骨基質成分として骨に埋め込まれているが、一部は血中に放出される。血中OCには、グルタミン酸残基がγ-カルボキシル化されたもの(GlaOC)と低カルボキシル化状態のもの(ucOC)の2つの型がある。そのうちucOCがインスリン分泌を促すことが報告された。一方、インクレチン、GLP-1もインスリン分泌を促す。GLP-1は小腸上皮粘膜細胞から分泌されるが、血糖依存的にインスリン分泌を促すため低血糖発作を起こしにくいことが知られる。マウス小腸上皮細胞由来STC-1細胞及びマウス小腸上皮細胞はucOC受容体、Gprc6aが発現していた。STC-1をucOCで刺激するとGLP-1の分泌が惹起されたが、GlaOCは無効であった。マウスの腹腔内や静脈内にucOCを投与すると血中のGLP-1が上昇したが、GlaOCはここでも無効であった。経口投与するとucOCに加えて、GlaOCでも同様の効果が認められた。ucOC投与によるインスリン濃度の上昇は、GLP-1受容体のアンタゴニストexendin(9-39)の前投与で抑制された。以上の結果から、ucOCによるインスリン分泌作用は、膵臓への直接作用に加えてGLP-1を介したものであることが明らかになった。

O-79

FGF23/klotho軸の破綻は血管骨化を誘導する—klotho遺伝子変異マウスを用いた組織学的検索—
 ○長谷川 智香¹、山田 珠希¹、佐々木 宗輝¹、笹野 泰之²、網塚 憲生¹ (1北大 院歯 硬組織発生生物、²東北大 院歯 顎口腔形態創建)

メンケベルグ型動脈硬化は病態の進行に伴い動脈中膜に石灰化を生じる。そこで、我々は、中膜石灰化のモデル動物であるklotho遺伝子変異(kl/kl)マウスの大動脈を組織化学的に検索した。生後7週齢kl/klマウスでは、野生型マウスと比較して大動脈中膜に著しい石灰化を認めた。石灰化領域の血管平滑筋細胞はTNAP/ENPP1陽性を示す骨芽細胞様細胞へと変化しており、その周囲には多数のI型コラーゲン線維および基質小胞を認めた。石灰化が進行した領域では、オステオポンチン、オステオカルシン、基質グラ蛋白陽性を示す石灰化基質が形成されており、基質内部にはFGF23陽性骨細胞様細胞が、また、基質表層にはTRAP陽性破骨細胞様細胞が出現した。TEM-EDX法で元素分析を行うと、これらの石灰化基質は結晶構造を有するリン酸カルシウムであることが示された。現在の考え方では、血管石灰化は血中Pi濃度上昇に起因するとされているが、FGF23/klotho軸の主役であるaklothoを欠損したマウスではPi濃度が上昇しても著しい血管石灰化を示さない。従って、我々は全身的なFGF23/klotho軸の破綻以外に原因があると考え、現在、DNA arrayなどを用いた解析を進めている。以上、kl/klマウスでは、血管平滑筋細胞が骨芽細胞様細胞へ変化することにより血管石灰化および血管骨化を誘導する可能性が示唆された。

O-80

発生の骨格組織分化における H3K9 メチル化酵素群の発現局在

○二藤 彰¹、島田 明美¹、中島 和久¹ (鶴見大 歯 薬理)

ヒストン末端の翻訳後修飾が、他のタンパクとの相互作用を介しクロマチンの構造に影響を与え、結果として遺伝子発現を制御することが知られている。我々は、ヒストン H3 リジン K9 を修飾するメチル化酵素に焦点をあて硬組織の分化機構分化における機能を明らかにしたいと考えている。その目的で骨格形成過程における H3K9 メチル化酵素の発現局在を詳細に調べた。免疫組織化学によって H3K9 methyltransferases 群の G9a, G9b, Setdb1, PRDM2, SUV39H1, SUV39H2 どれもが E12.5 において、骨原基での局在がほとんど見られなかった。E14.5 には前肥大軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層にそれらのすべての発現局在が認められた。また mono-, di-, tri-メチル化したヒストン H3 リジン K9 残基の局在も同部位に強く認められた。E16.5 においては、肥大軟骨細胞層に加え骨芽細胞にも局在が認められた。これらの局在は スライスした組織から直接抽出した RNA を用いた real time PCR、ならびにウエスタンブロットによっても確認できた。さらに軟骨の初代培養においてもこれらを確認した。以上の結果から、ヒストン H3 リジン K9 メチル化酵素を介したヒストンリジン残基のメチル化が、骨格組織の軟骨分化過程に関わる可能性が強く示唆された。

O-82

SP6 positively regulates Rock1 promoter activity in dental epithelial cells

○Yanuaryska Ryna Dwi¹、三好 圭子²、堀口 大吾²、谷村 綾子²、Arya Adinigrat¹、野間 隆文² (徳大 口腔科学教育 口腔科学、²徳大 院 HBS 分子医化)

【Objectives】 *Sp6*, a transcription factor of the SP/KLF family, plays the important roles in tooth development. We identified *Rock1*, a serine threonine kinase, as one of SP6 target genes. However, the regulation of *Rock1* expression by SP6 remains unclear. 【Materials and Methods】 Potential SP6 binding sites were screened in 2.5 kb *Rock1* promoter by *in silico* analysis. ChIP-PCR was performed in SP6-high producer cells, C9. Luciferase reporter constructs were generated and their promoter activity were analyzed with cotransfection of either *Sp1* or *Sp6*. 【Results and Discussions】 We confirmed that SP6 can bind to *Rock1* promoter region -1006 to -471, we named A region. Transient SP6 overexpression elevated the promoter activity of A region. Deletion of region -206 to -150 resulted in a loss of enhancing activity by SP6. Interestingly, cotransfection of *Sp1*, another Sp-family member, showed the reduction of *Rock1* promoter activity. These results suggested that SP6 positively regulates *Rock1* promoter activity and functionally different from SP1. The underlying mechanisms are under investigation.

O-81

ラット頭蓋骨発生・成長過程における骨基質石灰化の成熟に関する検討

○逸見 晶子¹、大方 広志²、三上 靖人¹、鈴木 治³、笹野 泰之¹ (東北大 院歯 顎口腔形態創建、²東北大 院歯 歯内歯周治療、³東北大 院歯 顎口腔機能創建)

【目的】 骨発生における石灰化の成熟については知見が乏しい。本研究では、発生・成長期のラット頭蓋骨を構成する元素の分布と相対的濃度及び結晶構造の解析を行い、骨基質の石灰化を検討することを目的とした。【方法】 胎生 16、18、20 日齢、生後 1、6 週齢のラットを固定し、頭部を試料とした。その後、試料を非脱灰で凍結包埋して頭蓋骨前部まで前頭方向に切片を作製し、組織学的に検討した。切片を得た凍結包埋試料を凍結乾燥し、断面を対象に分析走査電子顕微鏡(SEM-EDX)を用いて構成元素(Ca, P, C)の分布と相対的な濃度を解析した。さらに、X 線回折(XRD)により、各発生・成長段階のラット頭蓋骨基質の石灰化物の結晶構造を解析した。【結果】 組織切片上で、胎生 16 日に頭蓋骨の形成が認められた。SEM-EDX による分析では、骨組織に一致して Ca と P の集積が見られ、その他の部位に C の集積が見られた。骨基質における元素濃度比 Ca/P は胎生 16 日で低く、発生・成長に伴い上昇する傾向が見られた。また、C/Ca、C/P は胎生 16 日で高く、胎生 18 日以降は低下した。さらに、XRD による解析では、胎生 16 日以降生後 6 週に至る過程で骨基質の石灰化物の結晶構造が成熟することが示された。【結論】 ラット頭蓋骨は発生・成長過程で、有機質の相対的な減少を伴いながら石灰化が進行し、非晶質リン酸カルシウムから低結晶性のアパタイトに成熟する。

O-83

CXCL3 は脂肪細胞分化を正に制御する

○楠山 譲二^{1,2}、坂東 健二郎¹、柿元 協子¹、大西 智和¹、松口 徹也¹ (鹿大 院医歯 口腔生 化、²日本学術振興会)

脂肪細胞はアディポカインと総称される生理活性物質を分泌することで、代謝や病態形成に関与することが知られている。脂肪細胞の産生するケモカインとしては CCL2 (MCP-1) が報告されているが、その他のケモカインの分泌や役割についてはよく分かっていない。我々は脂肪細胞分化に伴う種々のケモカインの発現を調べ、新規アディポカインとしての機能を検討した。マウス脂肪前駆細胞株 3T3-L1 細胞を分化誘導し、ケモカイン群の発現レベルを網羅的に解析したところ、CXCL3 (MIP-2β)、CXCL13 (BLC)、CCL24 (MPIF-2) の mRNA 発現レベルが著明に上昇した。またケモカイン受容体群については、CXCL3 受容体である CXCR2 の発現が高くなった。リコンビナント CXCL3 を培地に添加しながら、3T3-L1 細胞を分化させると、脂肪滴の形成や脂肪分化マーカー遺伝子の発現が促進した。一方、CXCL3 と同様に CXCR2 リガンドである CXCL2、CXCL13 を加えた場合は、脂肪細胞の分化に影響を与えなかった。さらに CXCL3 および CXCR2 の siRNA によるノックダウンを行うと、脂肪細胞分化は抑制された。3T3-L1 細胞への CXCL3 投与によって活性化されるシグナル分子を検討したところ、ERK、JNK がリン酸化され、その標的遺伝子として C/EBPδ を同定した。このように脂肪細胞によって産生される CXCL3 は、オートクライン/パラクラインの作用によって、分化を促進する新規アディポカインであることが示唆された。

O-84

マウス舌形態形成におけるリンパ管発生と分子制御

○田谷 雄二¹、藤田 和也¹、添野 雄一¹、島津 徳人¹、佐藤 かおり¹、青葉 孝昭¹ (日歯大 生命歯 病理)

【目的】マウス胎仔の初期リンパ管発生はE9.5以降で体幹部の主静脈内皮細胞からリンパ管内皮細胞への分化と遊走として観察される。顎顔面領域での血管・リンパ管・神経のネットワーク構築についての予備検討では、我々はE12.5以降にリンパ管内皮細胞の表現型を観察してきた。本研究では、顎顔面領域で最も早期にリンパ管発生を生じる舌組織を対象として、リンパ管の分化誘導因子の発現と発生機序について検討した。【方法】ICR マウス胎仔 (E9.5~14.5) の下顎突起正中部・舌組織でのリンパ管発生に関わる遺伝子発現プロファイルをDNAマイクロアレイ・IPA解析で調べるとともに、リンパ管内皮マーカー (Lyve1/VEGFR3) と分化誘導因子 (Prox1/CoupledTF2/VEGFC) の特異抗体の多重免疫染色によりリンパ管発生を形態学的に検討した。【結果と考察】胎仔舌領域では、リンパ管発生誘導に働く遺伝子発現はE9.5から検出されたが、*CoupledTF2* と *Prox1* はE11.5以降に発現上昇し、*Lyve1* はE14.5で高発現を示した。舌領域の組織観察では、E9.5~11.5においてリンパ管発生は観察されず、E12.5からProx1(+)/CoupledTF2(+)/Lyve1(+)⁺陽性細胞が出現し、E14.5前後では舌基部の静脈内皮細胞においてリンパ管内皮への分化傾向と出芽・遊走・管腔形成を認めた。以上の結果から、舌リンパ管の発生は主静脈から遊走したリンパ管内皮細胞とは別個に、舌組織独自にリンパ管内皮細胞の分化とリンパ管形成を遂げることが示唆された。

O-86

糖尿病環境下の糸球体内皮細胞におけるTLR2とTLR4の発現

○高田 俊輔¹、内山 貴誠¹、敦賀 英知²、畠山 雄次²、石川 博之¹、沢 禎彦² (福歯大 成長発達歯、²福歯大 生体構造)

糖尿病性腎症ではメサンギウム基質の増生と糸球体毛細血管壁の肥厚が認められ、高分子蛋白の高血糖による非酵素的な糖修飾と酸化によって形成される終末糖化産物とその原因物質とされる。終末糖化産物には免疫原性があり、血管内皮細胞は受容体で認識して白血球接着因子の発現を増強する。またメサンギウム細胞に細胞外基質の増生による糸球体硬化を亢進させる。当研究室は最近、streptozotocin誘発性の膝ランゲルハンス島破壊型1型糖尿病マウスとKK/Ta-Jclマウスを高カロリー餌で飼育した2型糖尿病マウスについて免疫分子発現の組織化学的検索を行った結果、高血糖環境にある腎糸球体では、PECAM-1とVE-cadherin陽性の糸球体毛細血管内皮細胞が、健康マウスでは発現の見られないtoll-like receptor (TLR)2と4を発現すること、糸球体外の血管や、糸球体上皮とメサンギウムでは発現が見られないことを見出した。これらの発現は腎皮質全体にわたって見られ、さらにTLR2の発現はTLR4とは異なり、糸球体血管のみならず遠位尿管上皮の管腔側にも見られた。糸球体では終末糖化産物蓄積など長期的酸化ストレス環境下で毛細血管にTLRの発現が起こり、体循環系に侵入した微生物成分がTLRを介して糸球体毛細血管内皮細胞に認識されることで、糸球体硬化による糖尿病性腎症が促進するかもしれない。

O-85

ケモカインCXCL14/BRAKは多段階癌抑制分子である

○畑 隆一郎¹、居作 和人²、加藤 靖正³ (神歯大 院口腔難治、²神歯大 院歯 口腔科学、³奥羽大 歯 口腔機能 分子生物)

【目的】我々は先にBRAKが種々の移植癌の増殖と転移を抑制することを示した。癌は多段階の過程で進展することが知られている。今回はBRAKがI.発癌段階を抑制するかどうか、およびII.癌細胞を尾静脈より注入した(実験的肺転移)マウスの寿命を延ばすかどうかについて調べた。【方法】I. BRAKを過剰発現するトランスジェニック(Tg)マウスと野生型(Wt)マウスにアゾキシメタンと3%のデキストラン硫酸ナトリウムを用いて実験的大腸癌を発生させた。II. TgマウスとWtマウスの尾静脈より3千-20万の悪性黒色腫細胞を注入し、肺への転移とマウスの生存率を調べた。【結果】アゾキシメタン注射56日後のマウスではBRAK Tgマウスの大腸癌の数はWtマウスの1/10であり有意に少なかった。また、黒色腫細胞を注入したすべての細胞数においてBRAK Tgマウスの方がWtマウスより肺への転移数が有意に少なく、かつ、注入腫瘍細胞数が減少するほど両者の生存率の差は大きくなり、注入細胞数3千ではWtマウスの生存率が50%に対してTgマウスでは100%であった。【結論】ケモカインCXCL14/BRAKは正常細胞で大量に合成されており、健康人のなかにTgマウスレベルのBRAKを発現している個体が存在するので、CXCL14/BRAKは副作用のない新しい癌の治療法開発のための有望な分子標的と考えられる。本研究は金沢大学癌進展制御研究所佐々木博士、向田博士との共同研究である。

O-87

*Candida albicans*による歯肉癌上皮細胞Ca9-22のgalectin-3放出増加

○玉井 利代子¹、清浦 有祐¹ (奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

【目的】Galectin-3は上皮細胞等に存在するC型レクチンレセプターの一つである。本研究では、歯肉癌上皮細胞Ca9-22のgalectin-3放出を検討した。【方法】Ca9-22細胞を*C. albicans* OH-1 (生菌 MOI 1、加熱死菌 MOI 100) と無血清MEM培地で共培養後、上清を回収、galectin-3放出をELISA法で定量した。抑制実験では、PI3Kまたはcalpain抑制剤(10 μM または50 μM)を使用した。同細胞のgalectin-3発現はフローサイトメトリーまたはWestern blotting法で調べた。NF-κBの活性化はELISA法で検討した。【結果と考察】1) Ca9-22細胞は膜上にgalectin-3を発現していた。2) *C. albicans* 無添加でもgalectin-3の放出は経時的に起きるが、*C. albicans* を加えた方が、生菌死菌に関わらず、より多くのgalectin-3が放出された。3) *C. albicans* によるCa9-22細胞のNF-κB活性化は無血清下ではみられなかった。Galectin-3は*C. albicans* の細胞壁に含まれる糖に結合して殺菌へ導くが、LPSにも結合するので、グラム陰性菌の上皮細胞への侵入に関与する可能性が考えられる。

O-88

米由来 CL ペプチドの内毒素活性に対する抑制効果

○加藤 哲男¹、国分 栄仁²、谷口 正之³、齋藤 淳⁴、齋藤 英一⁵、石原 和幸² (東歯大 化学、²東歯大 微生物、³新大院 自然、⁴東歯大 歯周病、⁵新潟工大 環境)

【目的】我々は、米由来のペプチドの抗菌作用を検討し、米 cyanate lyase (CL) 由来の 12 残基からなるペプチドが *Porphyromonas gingivalis* などに抗菌活性を示すことを明らかにしている。本研究では、代表的な病原性因子である内毒素 (LPS) をターゲットにして、米由来 CL (14-25) ペプチドの内毒素抑制作用についてヒト培養細胞あるいはマウスを用いて検討した。

【方法】内毒素として *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 LPS、*Escherichia coli* O55 LPS、*E. coli* J5 LPS、*E. coli* R515 由来の lipid A を用いた。培養液に LPS (lipid A) (100 ng/ml) とともに CL (0.035 mM~0.14 mM) を加え、ヒト正常大動脈内皮細胞 (HAEC) を培養し、17 時間後の培養上清中の IL-6 量を ELISA キットで測定した。また、LPS のマウス致死性に対する CL ペプチドの阻害効果について BALB/c マウスを用いて検討した。BALB/c マウスに *E. coli* O55 LPS 0.5 mg/mouse および CL ペプチド 1、0.5、0.1 mg/mouse を腹腔投与し、その後の致死率を調べた。【結果と考察】CL ペプチドは、共試したすべての LPS および lipid A の IL-6 産生誘導能に対して濃度依存的に抑制効果を示した。また LPS のマウス致死性に対する抑制効果を調べた結果、CL ペプチドは抑制効果を示し、内毒素活性抑制物質としての有用性が示唆された。CL ペプチドは、lipid A に結合し抗内毒素効果を発揮するものと思われる。(共同研究者：高山沙織 (東歯大 歯周病))

O-89

MAP キナーゼフォスファターゼ (DUSP) mRNA の不安定性による細胞ストレス反応の調節機構

○松口 徹也¹、楠山 譲二¹、坂東 健二郎¹、柿元 協子¹、大西 智和¹ (鹿大院医歯 口腔衛生化)

【目的】細胞内シグナルに関わる MAP キナーゼは、上流キナーゼによる TXY モチーフの同時リン酸化によって活性化され、同モチーフの脱リン酸化に関わるフォスファターゼファミリー (DUSPs: dual specificity phosphatases) の働きによって不活性化される。我々が以前報告した DUSP16 (aka MKP-M, MKP-7) は JNK を特異的に不活化する。今回 UV 等の細胞ストレス刺激に対する各種 DUSP の mRNA レベルの変化を検討した。

【方法】マウス表皮角化細胞由来 Pam212 株および骨芽細胞株 MC3T3-E1 に、UV (10~250 J/m²)、VP16、anisomycin を加えた後に、定量 RT-PCR 法にて、各種 DUSP の遺伝子発現レベルを解析した。また、マウス DUSP16 欠失型 cDNA を含む発現プラスミドを Pam212、MC3T3-E1 の両細胞株に導入し、UV 照射に対する外来型 DUSP16 mRNA レベルの変化を解析した。【結果と考察】Pam212、MC3T3-E1 両細胞株において UV 照射 2 時間以内に複数の DUSP (3,4,5,6,7,8,10,14,16) の mRNA レベルは 60% 以下に低下した。特に DUSP8 と 16 の mRNA レベルは UV 照射 30 分以内に 30% 程度にまで著明に低下した。さらに、欠失型 cDNA を用いた解析より、DUSP16 mRNA の高速な分解を誘導する調節 mRNA 領域を同定した。DUSP mRNA の高速な分解が UV 等の細胞ストレスによる MAP キナーゼ活性調節に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

O-90

ヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清を用いた難治性肝疾患治療法の開発

○松下 嘉泰¹、山本 朗仁¹、松原 弘記¹、上田 実¹ (名大院医 頭頸部・感覚器外科 顎顔面外科)

劇症肝炎は短期間で高頻度に死に至る原因不明の難治性疾患である。有効な治療法としては臓器移植が挙げられるが、ドナー不足等の問題があり、罹患者全てが受けられないのが現状である。近年、ラット劇症肝炎モデルに静脈内投与した骨髄間葉系幹細胞 (BMSC) の治療有用性が報告された。BMSC が分泌する免疫制御因子による効果が大きいと考えられるが、移植後に「幹細胞の分泌活性」や「細胞運命・腫瘍化」などを制御することは不可能であり、幹細胞由来分泌因子の実用化に向けた新たな戦略が求められている。今回、我々は「ヒト歯髄幹細胞由来の無血清培養上清 (SHED-CM)」を劇症肝炎モデルラットへ静脈内投与し、著明な生存率の向上、及び病態改善を確認した。BMSC-CM や脂肪幹細胞 (ADSC)-CM を投与しても生存率の向上、及び病態改善は得られなかった。詳細な解析で SHED-CM は、患部へ集積した活性化マクロファージを抗炎症系へと転化させ、組織破壊的環境を肝臓再生・修復環境に導くこと、肝臓細胞のアポトーシス抑制および肝幹細胞増殖促進効果によって肝再生を促進することを見いだした。歯髄幹細胞培養上清の劇症肝炎モデルラットへの静脈内投与は、細胞移植を必要としない臨床的に応用しうる有用な治療手段となると考えられた。

O-91

歯周病細菌感染マクロファージにおけるインフラマソーム活性

○沖永 敏則¹、有吉 渉¹、西原 達次¹ (九歯大 感染分子)

【目的】我々は、歯周病細菌感染マクロファージにおいて、細胞周期停止の誘導を分子生物学的解析により明らかにしてきた。今回、歯周病細菌感染マクロファージにおける炎症反応誘導時に、インフラマソームが活性化することを見出した。【方法】マウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 と歯周病細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 株を使用し、我々が確立した感染実験を行った。siRNA 導入により、ノックダウン細胞を作成した。タンパク発現はウェスタンブロットティング、遺伝子発現はリアルタイム RT-PCR で、サイトカイン産生は ELISA 法で解析した。フローサイトメーターを用いて、活性酸素ならびにファゴサイトーシス活性を測定した。【結果と考察】感染実験後の RAW264.7 細胞が、ファゴサイトーシスにより歯周病細菌を取り込んでいることを確認した。インフラマソーム関連因子である NLRP3 受容体の発現と IL-1 β の発現、ならびにアダプタータンパク質 ASC や caspase-1 の発現を確認した。NLRP3 ノックアウト細胞において、IL-1 β の発現抑制を確認した。また、歯周病細菌感染によるカテプシン B や活性酸素の発現が認められ、これらの発現阻害剤により IL-1 β 発現が抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、歯周病細菌感染マクロファージにおいて、NLRP3 の発現を伴うインフラマソーム活性化が誘導され、その誘導には、カテプシン B や活性酸素が関与していることが明らかとなった。

O-92

レニンにより誘導されるNK細胞の免疫応答

○鳥田 栄理遣¹、遠藤 実里¹、小笠原 康悦¹(¹東北大院歯 難治・口腔免疫)

【目的】糖尿病などの生活習慣病は、日本国内において2210万人にのぼるとされ、歯科治療においても生活習慣病への理解は重要である。糖尿病は合併症が重篤であり、糖尿病性腎症は腎疾患の中で最も多いとされている。糖尿病性腎症などの腎疾患においては、レニン-アンギオテンシン系が関与することが報告されており、レニン-アンギオテンシン系の作用としては、炎症反応の調節、血管収縮や拡張、血圧の調節などがある。しかしながら、レニン-アンギオテンシン系と免疫系との関与については良くわかっていない。今回我々は、生体防御の最前線で働いているNK細胞に着目し、NK細胞へのレニンの働きについて調べることを目的に研究を行った。【方法】マウスNK細胞を脾臓より単離し、IL-2にて培養したのち、レニンを培養液に加え、NK細胞の活性化について、フローサイトメトリーを用いて検討した。【結果と考察】マウス脾臓から単離したNK細胞は、95%以上の純度で培養することができた。IL-2で培養したNK細胞にレニンを加え刺激した場合、NK細胞のIFN- γ 産生が増強した。このことから、レニンはNK細胞の活性化にかかわっていることが判明し、腎症などの炎症においてもNK細胞がかかわっている可能性が考えられた。

O-93

NK細胞の誘導性細胞死機構の発見

○小笠原 康悦¹、鳥田 栄理遣¹、遠藤 実里¹(¹東北大院歯 難治・口腔免疫)

【目的】NK細胞は生体防御の最前線で働く免疫細胞であり、ウイルス感染細胞、腫瘍細胞の排除にかかわっている。その際、NK細胞は増殖、活性化して感染細胞を排除する。しかしその一方で、増殖し活性化したNK細胞は、どのようにして減少し、炎症が終息するかについての分子機構は不明である。特に、がん免疫療法において効果があがらない症例においては、急速なNK細胞死が観察されており、その原因究明が待ち望まれていた。そこで我々は、活性化NK細胞の細胞死の解明を目的とし研究を行った。【方法】マウスNK細胞を、腫瘍細胞と共培養後NK細胞の細胞表面をフローサイトメトリーおよび共焦点顕微鏡により解析した。また、腫瘍局所のNK細胞の状態を観察した。【結果と考察】活性化NK細胞は、腫瘍細胞から膜分子を奪うことを発見した。この現象は、我々が発見したドレス細胞と呼ばれる細胞に変化する機構と同じ現象であった。ドレス細胞とは、我々が命名した細胞集団であり、NK細胞が樹状細胞上の分子を奪い取って変化した細胞である。腫瘍局所で、活性化NK細胞がドレス細胞に変化することで、ドレス細胞が腫瘍と同じ膜分子をもつことになり、新たなNK細胞の標的となって排除されてしまうことを発見した。この結果は、増殖したNK細胞の細胞死の新たな分子機構と考えられた。

O-94

金属アレルギーにおける金属イオン可視化技術の開発

○遠藤 実里¹、鳥田 栄理遣¹、小笠原 康悦¹(¹東北大院歯 難治・口腔免疫)

【目的】金属アレルギーは、歯科領域では無視できない重要な疾患である。我々は厚生労働省研究班を組織し全国調査をおこなったところ、接触皮膚炎で来院した患者において、ニッケル、コバルト、クロムがアレルギーの3大原因金属であること、パッチテスト陽性率は近年増加傾向にあることを明らかにした。金属アレルギーの発症機序としては、1. 汗や唾液などによってイオン化した金属が体内に取り込まれる。2. 金属イオンが体内のタンパク質と結合し異物と認識されることにより抗原性を持つ。3. その抗原に対して病原性T細胞が活性化しアレルギーが発症する。とされているが、その詳細は未だ不明のままである。金属イオンの体内動態を明らかにすることができれば、金属アレルギーの発症機序を詳細に解明することが可能となる。その第一歩として、金属イオンの可視化が必須と考えられるため、今回、我々は金属イオンの可視化を目的に研究を行った。【方法】マウスマクロファージ系細胞を培養し、金属イオンを培養液中に添加した。その培養中に蛍光発光試薬を加え特殊処理を施すことにより、金属イオンをフローサイトメトリー、および蛍光顕微鏡で観察した。【結果と考察】金属イオンは特殊処理を施すことで蛍光発光試薬と結合することが判明し、金属イオンの可視化に成功した。金属イオンの可視化により、金属イオンの体内動態の解析も可能となったと考えられる。

O-95

イグサ抽出液によるう蝕および歯周病予防効果の検討

○村上 圭史¹、星野 由美²、弘田 克彦¹、三宅 洋一郎¹(¹徳大院 HBS 口腔微生物、²徳大院 HBS 口腔保健衛生)

【目的】イグサは古来より畳の原料として用いられているだけでなく、古くから民間療法として、消炎薬、鎮静薬等としても用いられてきた。本研究では、イグサ抽出液の、う蝕および歯周病予防への応用の可能性について検討した。【方法】イグサ粉末(イナダ有限会社)を水で加温抽出し、イグサ抽出液を作製した。微量液体希釈法により、口腔細菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。次に、*S. mutans*の唾液処理ヒドロキシアパタイト(HA)板への付着作用について検討した。さらに、歯肉上皮細胞に対する抗炎症効果を検討するため、イグサ抽出液で処理した歯肉上皮細胞に、*P. gingivalis* LPSを添加し、培養上清中のIL-8およびCCL20の濃度をELISAにより定量した。【結果および考察】イグサ抽出液の口腔細菌に対するMICは、*S. mutans*で12.5 mg/ml、*P. gingivalis*では1.6 ~ 3.1 mg/mlであった。*S. mutans*の唾液処理HA板への付着率を測定したところ、有意な減少が認められた。また、イグサ抽出液の処理により、LPSで刺激した歯肉上皮細胞からのIL-8、CCL-20の産生は有意に抑制されていた。以上の結果から、イグサ抽出液は、う蝕、歯周病予防として、歯科应用到に有効である可能性が示された。(会員外研究協力者：湯本浩通)

O-96

ヒト歯肉由来上皮細胞における分化および老化の転写機構

○Bhawal Ujjal¹、小林 良喜²、福岡 シンティア由希¹、安孫子 宜光¹ (¹日大 松戸歯 生化・分子生物、²日大 松戸歯 口腔免疫)

Human epithelial cells undergo morphological and molecular changes leading to terminal differentiation and replicative senescence during serial subculture. However, the target genes and their functional significance in the differentiation and senescence in normal human oral keratinocytes (NHOKs) have been poorly defined. Here, we demonstrated NHOKs transcriptional signature profiling to differentiation and senescence in vitro. Using microarray analysis, our findings indicated that the gene expression profiles induced by serial subculture are distinct classes of gene. The greatest number of these altered genes was identified as being related to biologic pathways of transport, cell proliferation, cell cycle, defense and immune response, cell death, transcription, apoptosis, and inflammatory response, suggesting that the serial subculture is able to induce a multitude of specific gene expression changes during differentiation and senescence. These results suggest that activation of several genes induces the differentiation and senescence of epithelial cells, and suggest a new approach to determine the biological events underlying the pathogenesis of oral keratinocyte aging.

O-98

マウス咬筋活動に対する睡眠-覚醒の影響

○片山 慶祐^{1,2}、望月 文子¹、加藤 隆史³、池田 美菜子²、野川 泰葉^{1,2,4}、中村 史朗¹、中山 希世美¹、矢澤 格¹、馬場 一美²、井上 富雄¹ (¹昭大 歯 口腔生理、²昭大 歯 歯科補綴、³阪大院歯 解剖 2、⁴東医歯大 歯 部分床義歯補綴)

咬筋は嚥下や顎反射、咀嚼運動などの顎運動機能にとって重要な役割を担っている。これまで、覚醒時の咬筋活動については様々な報告がなされているが、睡眠中の咬筋活動の詳細は不明である。そこで我々は、マウスの咬筋の筋活動を24時間計測し、覚醒時と睡眠時で筋活動にどのような変化があるのかを検討した。実験はC57BL/6マウス(10~12週齢)を用い、12時間の明暗サイクル(点灯[明期]:午前8時~午後8時、消灯[暗期]:午後8時~午前8時)の環境下で、脳波、眼電図、筋電図(頸筋と咬筋)を24時間記録し、覚醒時、睡眠時(ノンレム睡眠、レム睡眠)でのそれぞれの時間と咬筋活動量を4時間毎の合計値として解析した。過去の報告と同様に、暗期の覚醒時の時間は、明期と比較して有意に長く、暗期のノンレム睡眠・レム睡眠時の時間は、明期と比較して短かった。覚醒時の咬筋活動量は、明期や暗期に関わらず、ほぼ一定の値を維持していた。ところが、ノンレム睡眠およびレム睡眠時の咬筋活動量は、覚醒時と比較して有意に減少した。一方、ノンレム睡眠及びレム睡眠時においても、咬筋活動量は、明期と暗期で有意の差が認められなかった。以上の結果から、マウスの咬筋活動量は、サーカディアンリズムの制御機構よりむしろ、睡眠-覚醒の制御機構の影響を受けることが示唆された。

O-97

Nicotine 誘導性 CCN2/CTGF がヒト歯周組織由来培養細胞の線維化に与える影響

○五十嵐 寛子^{1,4}、久保田 聡²、立花 利公³、村樫 悦子¹、岡部 正隆⁴、滝川 正春²、沼部 幸博¹ (¹日歯大 歯周病、²岡大院歯歯薬 口腔生化学、³慈恵大 共用施設、⁴慈恵大 解剖)

喫煙者の歯肉に肥厚が見られるが、これらの関係を示した報告は少ない。そこで、線維化因子である結合組織成長因子(CCN2/CTGF)に着目し、ヒト歯肉線維芽細胞と歯根膜由来線維芽細胞における TGF- β 1 と CCN2/CTGF との関係、nicotine の CCN2/CTGF 産生に与える影響、I 型コラーゲン、MMP-1、TIMP-1 そして TGF- β 1 に対する nicotine の影響、さらに、nicotine 影響下における CCN2/CTGF と I 型コラーゲンとの関係について探索した。

その結果、両細胞において TGF- β 1 刺激により CCN2/CTGF の増加が認められ、両者に正の相関が示唆された(Takeuchi et al, J Periodontal Res. 2009)。また Nicotine 刺激により細胞数の減少および細胞に空胞変性が認められる一方、CCN2/CTGF の増加が認められた。興味深いことに Type I collagen にも増加が認められ、それは CCN2/CTGF 中和抗体によって打ち消された(Takeuchi et al. J Dental Res.2010)。さらに nicotine 刺激によって MMP-1 の分泌は起こらず、TIMP-1 および TGF- β 1 の増加が認められた。

以上から、nicotine の刺激により増加した CCN2/CTGF により I 型コラーゲンが誘導され、nicotine により I 型コラーゲンの恒常性の調節因子である MMP-1、TIMP-1 にアンバランスが生じることにより I 型コラーゲンが蓄積するという、歯周組織線維化の分子機構が明らかとなった。

O-99

咬合高径の変化が噛みしめ運動の調節機構に及ぼす影響

○藤浪 陽三¹、田中 佑人¹、姜 英男¹ (¹阪大院歯 口腔生理)

下顎安静位付近における噛みしめ運動時、ある咬合力を發揮しようとする場合、意図した筋活動が期待した咬合力を發揮したかを検証するため、意図した度合いの筋張力の情報を、実際に發揮された咬合力により引き起こされる歯根膜圧情報に対して比較校正する仕組みが存在する可能性が明らかにされた(Tsukiboshi et al J Neurophysiol 2012)。しかし、それが下顎安静位付近でのみ機能するのか、或は、咬合高径の如何に関わらず機能するのかは明らかでない。今回我々は、この校正機構が至適の下顎位でのみ成立するかについて検討した。被験者に、開口方向への単調増加負荷に対し最小限の力で抵抗し下顎位を維持するよう指示し、その時、發揮される咬筋筋活動(RMS)及び咬合圧を記録した。その結果、咬合挙上条件時、閉口筋が負荷に対して必要以上に速く、強い応答を示した。また、咬合挙上条件時及び低下条件時、過剰咬合圧が發揮されることが示された。以上のことから、歯根膜圧受容器と閉口筋筋紡錘の間に存在する校正機構は至適の下顎位においてのみ正確に機能することが示唆された。こうした校正機構により、咬合高径を機能的に決定することが可能であると考えられる。

O-100

自然睡眠における顎運動リズム発生機構の実験的賦活

○加藤 隆史¹、山田 謙²、東山 亮³、Akhter Fatema¹、Haque Tahsinul¹、古郷 幹彦²、吉田 篤¹ (¹阪大 院歯 口腔解剖 2、²阪大 歯 口腔外科一、³阪大 歯 歯科補綴一)

【目的】ヒトのノンレム睡眠ではしばしばリズム性顎運動が発生する。しかし、実験動物の自然睡眠において、実験的に顎運動リズム発生機構を駆動しうるかどうかが未だ不明である。本研究では、自然睡眠において、皮質下行路を連続電気刺激して顎運動リズムを誘発することを試み、その応答特性を調べた。【方法】雄性モルモットを用い、全身麻酔下にて脳波・眼電図・筋電図(両側咬筋・顎二腹筋・頸筋)・心電図の電極を装着した。手術約二週間後、全身麻酔下で皮質下行路に刺激電極を刺入し留置した。その後、自由行動下において、連続電気刺激(持続時間2秒、頻度:30 Hz、強度50-100 uA)を与え、リズム性顎運動の発生の有無を調べた。【結果と考察】皮質下行路への連続電気刺激によって、覚醒およびノンレム睡眠でリズム性顎運動を誘発できた。いずれの条件においても、リズム性顎運動の誘発率は刺激強度の上昇とともに増加したが、ノンレム睡眠では覚醒より有意に低かった(p<0.05)。また、誘発したリズム性顎運動は、一時的な睡眠深度の浅化と関係していた。したがって、ノンレム睡眠では、顎運動リズム発生機構の興奮性は覚醒よりも低い、皮質下行路の電気刺激によって駆動できることが示された。

O-101

ミクログリアにおけるカテプシンSの発現リズムによるシナプス強度の調節

○林 良憲¹、岡田 亮¹、武 洲¹、中西 博¹ (¹九大 院歯 口腔機能分子科学)

【目的】リソソーム酵素であるカテプシンS(CatS)は末梢では、抗原提示に深く関与する事が数多く報告されている。CatSは中枢神経系ではミクログリアに特異的に発現しているのだが、中枢におけるCatSの役割は未だ明らかではない。そこで本研究では中枢におけるCatSの役割を解明すると共に、ミクログリアの役割を解析した。【方法・結果】ミクログリアは時計遺伝子を有しておりCatSの発現リズムを調節している事が明らかとなった。CatS欠損マウスでは自発運動量の亢進あるいは睡眠レベルの減少が認められた。更に昼夜のシナプス強度変化あるいはスパインの密度変化はCatS欠損マウスにおいて消失していた。また、ミクログリアより分泌されるCatSがミクログリアの突起進展、更にはシナプス周囲の分解調節によりシナプス強度を制御する事が明らかとなった。【結論】以上の結果より、ミクログリアのカテプシンSがシナプス機能の調節に深く関与しており、複雑な脳機能の解明の一端を担うものである。(非会員共同研究者:小柳悟、楠瀬直樹、齊藤秀俊、井上和秀、大戸茂弘)

O-102

クロモグラニンA (CGA) によるミクログリアにおけるカテプシンBに依存した新規IL-1β産生経路の解明

○武 洲¹、中西 博¹ (¹九大 院歯 口腔機能分子)

【目的】IL-1βは炎症性疼痛ならびにアルツハイマー病(AD)など慢性炎症が原因となる脳疾患の発症・進展に関与することが知られている。最近、私たちはクロモグラニンA (CGA) がミクログリアにおいてカテプシンB (CatB) 依存的にIL-1βの産生分泌を誘導し、炎症性疼痛の原因分子となることを突き止めた(J Neurosci, 2012)。今回は、CGAならびに凝集型βアミロイド (fAβ42) のミクログリアにおけるIL-1β産生経路について検討を行った。【方法・結果】成熟型IL-1β産生にはNF-κB活性化(プロ型IL-1βの産生)ならびにカスパーゼ-1活性化(プロ型IL-1βの成熟型への変換)の2経路の活性化が必要である。CGAは培養ミクログリアにおいてNF-κBを活性化し、CatB依存的にカスパーゼ-1を活性化した。一方、fAβ42はCatBならびにNLRP3依存的にカスパーゼ-1を活性化したが、NF-κBの活性化はできなかった。さらに、ヒトAD脳においてAβ陽性老人斑と比較してCGA陽性老人斑周囲には有意に多数のCatBならびに成熟型IL-1β陽性のミクログリア集積が認められた。【結論】以上の結果より、CGAはミクログリアにおける成熟型IL-1βの強力な産生誘導因子として炎症性疼痛ならびにADなど慢性炎症が原因となる脳疾患の発症・進展に関与することが示唆された。

O-103

神経損傷後、脊髄後角に遊走浸潤する活性化ミクログリアはP2Y12シグナル経路で有髄神経軸索の貪食様作用を示す

○前田 光代¹、上村 守¹、戸田 伊紀¹、竹村 明道¹、諏訪 文彦¹ (¹大歯大 解剖)

【目的】神経因性疼痛モデル動物では傷害後7-14日に脊髄後角第2層に活性化ミクログリアが遊走浸潤する。この浸潤したミクログリアの動態について、免疫組織化学を用い微細形態学的に検索した。【方法】8週Wistar雄性ラットの第5腰椎後根神経節の脊髄神経末梢枝を結紮後切断し、術後7日、14日で灌流固定し、L5脊髄を摘出し、凍結および浮遊切片を作製し、iba-1, neuN, GFAP抗体を用いた免疫組織化学、免疫電顕で観察した。また軸索切除断端からビオチンデキストランを逆行性に取り込ませ、傷害軸索をマークし電顕標本とした。さらに末梢神経傷害後P2Y12Rインヒビターの脊髄腔内投与を実施し非傷害側と比較した。【結果】浸潤ミクログリアは高頻度に有髄軸索の髄鞘に接着しそれらを取り囲み、細胞内に取り込む貪食様作用を示した。これら活性化ミクログリアは傷害軸索、非傷害軸索ともに接着し貪食様作用を示すが、その頻度は傷害軸索の方が多かった。P2Y12Rインヒビターの脊髄腔内投与後、末梢神経傷害に続く活性化ミクログリアの浸潤は抑制されなかったが、軸索への接着貪食様作用は減少した。【考察】末梢神経傷害後の神経因性疼痛の発生には脊髄後角第2層に遊走浸潤してくる活性化ミクログリアの有髄神経髄鞘への接着貪食様作用が関与している可能性と共に、その反応はP2Y12シグナル経路の可能性が示唆された。

O-104

生体リズムを攪乱する「社会的時差ボケ」

○中村 渉¹、高須 奈々^{1,3} (大阪 院歯 口腔時間生物、²科学技術振興機構さきがけ、³日本学術振興会)

ヒトの生理機能は、一日周期で変動し環境変化に効率よく適応することで動的恒常性を維持している。哺乳類では視床下部視交叉上核に体内時計の中核が存在し、およそ24時間のサーカディアンリズム刻み、主に環境光の変化を網膜から入力することで正確な1日周期に調整している。一般生活を営む上で、社会的時刻と体内時計による生物学的時刻との乖離による「社会的時差ボケ」の健康リスクが提言されている。本研究では、体内時計の攪乱を生じる因子として「社会的時差ボケ」のメカニズムを検証した。マウスを12時間_12時間の規則正しい明暗環境条件下で飼育し輪回し行動を記録すると、毎日消灯時間後数分以内に活動を開始する極めて正確な日内リズムを示す。これらを5日間(平日)は6時~18時の明暗サイクルに置き、2日間(週末)を9時~21時の明暗サイクルにシフトするウィークリー社会的時差ボケをシミュレートした明暗環境に暴露した。結果、2日間の3時間時差から回復させた直後は、消灯後2.7時間後に活動を開始することが分かった。消灯時間を社会的起床時刻、実際の活動開始を生物学的起床時刻とすると、起床時間に乖離が生じたことになる。さらに、月曜日に生じた乖離は容易に解消されず、毎日活動開始時刻は消灯時間に近づくものの、完全に解消されるのは4サイクル後であった。1週間ごとに3時間の社会的時差ボケが生じることで、その影響は週全日に及ぶことが明らかになった。

O-106

Projections from the dorsal peduncular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus in rats

○Akhter Fatema¹、Haque Tahsinul¹、佐藤 文彦¹、加藤 隆史¹、吉田 篤¹ (大阪 院歯 口腔解剖2)

This study clarified projections from the medial prefrontal cortex (mPFC) involved in orofacial pain processing in rats. We examined the mPFC neurons projecting directly to the trigeminal caudal subnucleus (Vc) and oral subnucleus which are known to receive orofacial nociceptive inputs. Only after injections of a retrograde tracer in the rostradorsomedial part of superficial layer of Vc (rdm-supVc), many neurons were labeled with an ipsilateral predominance in the rostrocaudal middle level of the dorsal peduncular cortex (midDP). After injections of an anterograde tracer in the midDP, many axons were labeled with an ipsilateral predominance in the rdm-supVc, periaqueductal gray (PAG), parabrachial nucleus (Pb), Koelliker-Fuse nucleus (KF) and trigeminal mesencephalic nucleus, and bilaterally in the solitary tract nucleus. Many axons were also labeled ipsilaterally in the caudal level of the granular and dysgranular insular cortex (GI/DI). These results suggest that intraoral nociceptive processing of Vc neurons may be regulated by the DP directly or indirectly through brainstem nuclei such as PAG, Pb and KF, and this regulation may interact with the caudal GI/DI neurons.

O-105

LSPS法による島皮質での興奮性入力空間分布特性の解析

○小林 真之¹、越川 憲明¹ (日大 歯 薬理)

島皮質は、味覚嫌悪学習など神経可塑性の制御に重要な役割を担っている。我々は、抑制性回路の中心的役割を果たす parvalbumin 陽性細胞の分布が島皮質において著しく偏っていることを報告し(Chen et al., 2010)、島皮質独自の特殊な抑制性神経回路が存在することを明らかにしつつある。今回我々は、caged glutamate を用いた laser scanning photostimulation (LSPS)法によって、島皮質に存在する錐体細胞と parvalbumin 陽性細胞と考えられる fast-spiking (FS)細胞に対する興奮性入力の特徴について明らかにしたので報告する。ラット島皮質スライス標本上のV層錐体細胞もしくはFS細胞から whole-cell patch-clamp 記録を行った。caged glutamate の灌流投与で紫外線レーザー光(半値幅25 μm)によって照射周辺のニューロンに活動電位を発生させ、その結果生じる興奮性シナプス後電流(EPSC)を記録した。照射領域を格子状に移動させることにより、V層の記録細胞にEPSCを発生させる領域マップを作成した。錐体細胞では、照射領域が記録細胞から離れるにしたがって急激にEPSCの振幅が減衰することが明らかとなった。一方FS細胞は、錐体細胞と比較して広範な領域から興奮性入力を受けていることが明らかとなった。これらの結果は、FS細胞が錐体細胞と比較して広範な領域からの興奮性入力を受けることにより高い活動性を示すことを示唆している。

O-107

ラット歯根膜由来骨格筋細胞はどこから生じたのか? ~初代培養における幹細胞の検証~

○富永 徳子¹、中原 貴^{1,2}、石川 博^{1,2} (日歯大 生命歯 発生・再生、²日歯大 生命科学)

背景:我々はラット臼歯歯根膜の初代培養から、濾紙を用いて特定の細胞を分離する方法を確立し、セル・フィッシング法と名付けた(Tominaga N et al. Differentiation, 2013)。本手法により、ラット歯根膜の初代培養から骨格筋細胞の分離と同定に成功した。しかし、骨格筋細胞は生体内の歯根膜には存在しないため、初代培養を通じて歯根膜組織中の幹細胞から分化したと考えられる。本研究は、高い可塑性を有する幹細胞が初代培養中に存在すると仮定して検証を行った。方法:SDラット6週齢オス臼歯をシャーレに静置し、15% FBS含有DMEM/F12にて培養を行った。培養開始約1週間後、歯根周囲の歯根膜から細胞が遊走を始め、1.5ヶ月後にコンフルエントに達すると、複数の核を有する細胞集団が観察された。この多核細胞群をセル・フィッシング法にて分離し、継代培養を行った後、細胞を同定した結果、骨格筋細胞群であることが分かった。初代培養の細胞を用いて、免疫染色、RT-PCR、フローサイトメトリーにてNanog, Oct4, Sox2の発現を解析した。結果:初代培養におけるRT-PCRでは、Nanog, Oct4, Sox2の発現が確認された。また、免疫染色、フローサイトメトリーではOct4, Sox2陽性細胞が確認された。考察:ラット歯根膜の初代培養において、RT-PCR、免疫染色、フローサイトメトリーにて幹細胞マーカー遺伝子の発現を認めたことから、初代培養における幹細胞の存在が示唆された。

O-108

矯正歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構

○村田 直久¹、五百井 秀樹¹、大内 雅博¹、合島 怜央奈²、沖 雄二²、山座 孝義²、高橋 一郎¹、城戸 瑞穂² (¹九大 歯 歯科矯正、²九大 歯 分子口腔解剖)

【目的】矯正歯科治療における予期せぬ歯根吸収の機構は解明されていない。我々は、九大病院矯正歯科における疫学調査において、歯根吸収とアレルギー疾患との間に有意な関連があることを見出した。アレルギー誘導性歯根吸収の機構解明を目的として、アレルギー惹起歯根吸収モデルラットを作製し、破骨細胞の誘導との関連が知られている Th17 細胞関連サイトカインや脂質メディエーターの発現変化を検討した。【方法】6 週齢 BN ラットに OVA 感作を行い、アレルギー疾患モデルを作製した。14 日後、上顎切歯と第一臼歯間 (M1) に coil spring を装着して矯正力を負荷し、24 時間後に M1 周囲歯槽骨を採取し、脂質および RNA の抽出を行い、ELISA 法および定量 PCR を用いて解析した。【結果と考察】Coil spring を装着したアレルギー群では、OVA 非感作群、coil spring 非装着群および無処置群と比較して、IL-17 および IL-23 の発現上昇が認められた。さらに、ロイコトリエン B4 などの脂質メディエーターの発現量の上昇が認められた。これらの結果から、アレルギー惹起による歯周組織中の Th17 細胞関連サイトカインや脂質メディエーターなどのバランスの変化が、歯の移動による破骨細胞の分化誘導を伴う歯根吸収に影響していることが示唆された。

O-110

bisphosphonate 投与中止後の骨の細胞群における組織化学的検索

○坪井 香奈子^{1,2}、佐々木 宗輝¹、長谷川 智香¹、北川 善政²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物、²北大 院歯 口腔内科)

骨粗鬆症治療薬である bisphosphonate (BP) は、破骨細胞を抑制する。しかし、破骨細胞の抑制が骨芽細胞とのカップリングに影響が及ぶこと、一方、BP 投与を中止すると破骨細胞形成のリバウンドが生じる可能性も危惧されている。そこで、我々は生後 6 週齢 ICR マウスへ 10 日間の alendronate 皮下投与を行い、投与中止後の骨組織において ALP、TRAP、スクレロシンなどの組織化学を行った。BP 投与直後のマウス大腿骨・脛骨では、コントロール群に比べて多数の TRAP 陽性破骨細胞が骨組織に存在していた。BP 投与中止後には破骨細胞は活発に骨吸収を行うのではなく、その数を減少させてゆき破骨細胞のアポトーシス像も観察されたことから、リバウンドの可能性は低いと考えられた。一方、骨芽細胞のマーカーである ALP 陽性反応は速やかに回復せず、骨細胞はスクレロシンを多量に産生するとともに、自らは萎縮する傾向を示した。以上から、BP 投与中は破骨細胞の骨吸収抑制を補うために、何らかの機序で破骨細胞形成が亢進したと考えられた。一方、BP 中止により、破骨細胞数が速やかに回復したが、骨芽細胞・骨細胞系の回復には長期間を要すると推察された。よって、BP 投与後の骨組織の正常化には破骨細胞だけでなく、骨芽細胞・骨細胞の状態も考慮する必要があると考えられた。

O-109

歯根膜における骨髄由来細胞の局在と幹細胞マーカーの発現

○加来 賢¹、北見 恩美¹、井田 貴子¹、秋葉 陽介^{1,2}、魚島 勝美^{1,2} (¹新大 院医歯 生体補綴、²新大 医歯学総合病院)

歯根膜細胞の発生由来は神経堤を起源とする歯小囊であるため、発生初期の歯根膜を構成するほぼ全ての細胞は神経堤由来である。しかしながら加齢に伴い、歯根膜中の神経堤由来細胞の占める割合は減少することから、他の細胞源から細胞が供給されている可能性が示唆される。近年、代謝活性の高い間葉系組織において、骨髄に由来する Circulating-Mesenchymal Stem Cell (MSC) や、Pericyte が組織幹細胞として機能している可能性が示唆されている。本研究では、4 週齢の Green Fluorescent Protein (GFP) ラット SD-Tg(CAG-EGFP) の大腿骨より骨髄間質細胞を採取し、これを免疫不全ラット (F344/NJcl-rnu) の大腿骨骨髄腔に移植し、大腿骨骨髄から歯根膜への細胞供給の可能性について検討した。移植 4 週後の脱灰パラフィン包埋標本において、歯根膜中の歯槽骨側、血管近傍に GFP 陽性細胞が検出された。歯根膜中には間葉系幹細胞マーカー (CD29, SSEA4)、神経堤幹細胞マーカー (HNK1)、Pericyte マーカー (α SMA, PDGFR β) に陽性の細胞が検出されたが、GFP 陽性細胞中には CD29, SSEA4 陽性細胞のみが検出された。さらに GFP 陽性細胞は大腿骨骨髄腔内の海綿骨表面、小腸間質、腎臓皮質、皮膚の結合組織層においても検出され、Circulating-MSC の存在を示唆する結果を得た。以上の結果より、歯根膜の幹細胞には大腿骨骨髄の間葉系幹細胞が血行性に供給されるものが含まれる可能性が示唆された。

O-111

窒素含有ビスホスホネート製剤 (NBP) による破骨細胞の細胞融合阻害作用

○長岡 良礼^{1,2}、鍛冶屋 浩¹、佐々木 三奈^{1,2}、永沼 香織²、堤 貴司¹、府川 晃久^{1,2}、岡本 富士雄¹、岡部 幸司¹ (¹福歯大 細胞分子生物、²福歯大 顎顔面外)

【目的】NBP 関連顎骨壊死 (BRONJ) は長期 NBP 服用患者において、特に外科処置後に創傷治癒不全による顎骨の露出が継続し、骨壊死がみられる疾患である。しかし、発症機序に関しては未だ統一的な見解がない。近年、NBP は口腔角化上皮細胞、骨芽細胞及び線維芽細胞の分化・生存を抑制し、この原因には NBP によるプレニル化合物 (ゲラニルゲラニル酸 (GGOH) など) の減少が関与していることが示唆されている。従って、NBP による破骨細胞の分化・生存の抑制が骨リモデリングの障害を引き起こし、この結果 BRONJ 発症の一要因になるのではないかと推測した。そこで、本研究ではマウス破骨細胞分化過程に対する NBP とプレニル化合物促進物質の効果について検討した。【方法】マウス骨髄細胞より破骨細胞前駆細胞を誘導し、RANKL 存在下でゾレドロン酸及び GGOH を加え培養、解析を行った。【結果と考察】ゾレドロン酸は RANKL 誘導性の TRAP 陽性多核細胞への分化を阻害すると共に細胞融合分子の DC-STAMP や OC-STAMP の遺伝子発現を抑制した。しかし、GGOH 共存下では TRAP、DC-STAMP 及び OC-STAMP の発現の回復と共に TRAP 陽性破骨細胞の出現を認めた。以上より、NBP は破骨細胞の細胞融合及び多核化の抑制に関与していることが示唆され、プレニル化合物は NBP による破骨細胞分化・生存阻害を回復させると考えられ、この作用は BRONJ 発症の予防作用の一助となる可能性が示唆された。

O-112

ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布と破骨細胞に対する影響

○佐々木 宗輝¹、本郷 裕美¹、小林 幸雄²、塚本 尚義²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織発生物、²北大 創成研)

【緒言】近年、骨粗鬆症の治療にもちいられる月一回経口投与のビスフォスフォネート製剤が破骨細胞や骨芽細胞に与える影響を明らかにするため、我々は同位体顕微鏡でミノドロン酸の骨組織分布を観察すると共に破骨細胞の変化を組織化学的に検索した。【材料と方法】生後8週齢の雄性ICRマウスに安定同位体である¹⁵Nを標識したミノドロン酸を外頸静脈から投与し、3時間、24時間、1週間、1ヶ月後に灌流固定を行いパラフィンまたはエポキシ樹脂に包埋した。切片作成後、同位体顕微鏡によるミノドロン酸の骨組織分布の観察、ならびにALP/TRAP、TRAP/カテプシンKの二重染色を行った。【結果と考察】ミノドロン酸は骨幹端骨梁の形成面ならびに吸収面の両方の骨表面に認められた。投与直後から1週間後では成長板近くの一次骨梁表面に、1ヶ月後では二次骨梁の骨表層内部に局在する傾向を示した。ミノドロン酸投与24時間以内では、ALP/TRAPおよびTRAP/カテプシンKの局在性は大きく変化しなかった。しかし、1週間・1ヶ月後では、破骨細胞におけるTRAPとカテプシンKの局在が一致しなくなり、一部、アポトーシスを示した。ALP陽性骨芽細胞は、1週間後では扁平化した。1ヶ月後ではふよやかな形態を示すものが局所的に観察された。従って、ミノドロン酸は、骨質に広範囲に結合すること、骨吸収抑制があるが破骨細胞の障害性が低いことから、骨芽細胞とのカップリングを維持するものと推測された。

O-114

アレンドロネート直接作用による骨芽細胞分化の制御

○小松 浩一郎¹、島田 明美¹、柴田 達也¹、中島 和久¹、網塚 憲生²、二藤 彰³ (¹鶴見大 歯薬理、²北大 院歯 硬組織発生物、³放医研)

【目的】我々はビスホスホネートBP(アレンドロネート、ALN)が細胞内取込みを介し骨芽細胞分化を促進することをin vitro及びin vivoで示した。BPによる骨芽細胞分化促進のメカニズムとしてはERKのリン酸化あるいはsmall GTPaseの非プレニル化を介する経路が想定されている。今回、我々はBPの細胞内取込みとこれらの経路の関係を解析した。【方法】初代骨芽細胞における蛍光ラベルしたALN(F-ALN)の取込みならびにALNによる骨芽細胞の分化と石灰化を確認し、これらの効果に及ぼすエンドサイトーシス阻害剤ダンシルカダバリン(DC)、ならびにプレニル化回復剤ゲラニルゲラニオール(GO)の影響を調べた。更に、骨芽細胞様細胞におけるALNによるERKのリン酸化ならびにRap1Aの非プレニル化をウェスタンブロットによって解析した。【結果】ALNは骨芽細胞のオステオカルシン発現と石灰化を促進した。DCおよびGOはこれらの効果を抑制した。ALNはERKのリン酸化を促進したが、この作用のDCによる阻害は認められなかった。ALNはRap1Aの非プレニル化を起こした。この作用をDC及びGOは阻害した。【考察】本結果はBPが細胞内取込みを介し骨芽細胞の分化を促進することを示唆する。この効果はメバロン酸経路の抑制による可能性がある。

O-113

窒素非含有 bisphosphonates (non-N-BPs)の骨吸収抑制作用とは関連しない鎮痛効果：リン酸トランスporter関与の可能性

○島 和弘¹、山本 照子¹、菅原 俊二²、遠藤 康男² (¹東北大 院歯 顎口腔矯正、²東北大 院歯 口腔分子制御)

骨粗鬆症における苦痛は痛みである。N-BPsの骨吸収抑制作用はnon-N-BPsより遥かに強力だが、藤田らは骨粗鬆症や変形性関節炎患者で、non-N-BPのetidronateはN-BPsよりも強い鎮痛効果を示すと報告し、動物実験でも同様の報告がある。私達もマウスでの鎮痛効果はnon-N-BPs(etidronateとclodronate)>>N-BPsを確認し、non-N-BPsの神経への直接作用を示唆した(Kim et al. 2013)。機序として、BPsに関する私達のこれまでの研究から、リン酸トランスporter(Pi-Tp)の関与を想定した。発痛性神経伝達物質のGluやATPはPi-TpのSLC17を介して神経小胞内に取り込まれる。本研究ではマウスでの0.7%酢酸とcapsaicinに対する痛み反応を指標に、“SLC17のnon-N-BPsによる抑制”を検証した。【結果】(1)Pi-TpのSLC20/34を阻害するphosphonoformateは、non-N-BPsの鎮痛作用を消失させた。(2)Non-N-BPsは脊髄クモ膜下腔内投与で鎮痛作用を示し、この鎮痛作用はNMDAとの同時投与で解消された。(3)Pi-TpのSLC17を組み込んだliposomeでのATPの取り込みをnon-N-BPsは抑制した。【考察】上記結果は、“non-N-BPsはSLC20/34を介して神経に取り込まれ、小胞膜SLC17を阻害して小胞内Glu/ATPを減少させ、鎮痛効果を示す”との仮説を支持する。

O-115

Zoledronateの軟組織細胞への取り込み：リン酸 transporter 関与の可能性

○岡田 諭^{1,2}、木山 朋美^{1,3}、大泉 丈史²、佐々木 啓一³、高橋 哲²、菅原 俊二¹、遠藤 康男¹ (¹東北大 院歯 口腔分子制御、²東北大 院歯 顎顔面・口腔外科、³東北大 院歯 口腔システム補綴)

【背景】窒素を含むbisphosphonates(N-BPs)の骨吸収抑制作用は、窒素のないnon-N-BPsよりも遥かに強い。しかし、N-BPsには顎骨壊死の副作用がある。In vitroでN-BPsは種々の軟組織細胞に取り込まれ細胞毒性を示す。私達は、N-BPsはマウス軟組織で炎症壊死作用を示し、一方、non-N-BPsのetidronate(Eti)とclodronate(Clo)は、N-BPsの炎症壊死作用を抑制することを発見した。今回は、これらの機序解明を目的に、マウス耳介局所での炎症壊死作用を指標に、zoledronate(Zol、最強のN-BP)とBP関連物質の併用効果を調べた。【結果】Oxidronate(Oxi, non-N-BP)と高濃度ピロリン酸(PPi)も炎症壊死作用を示し、EtiとCloはこれらも抑制した。低濃度PPiはOxiの作用を抑制したが、Zolには無効だった。Phosphonoformate(PFA) [リン酸 transporter (Pi-Tp)のSLC34阻害剤。高濃度でSLC20も阻害]はOxiとPPiには無効だが、Zolの作用を強く抑制した。検討した種々のアミノ酸・カルボン酸にZolに対する有意な抑制効果はみられなかった。【考察】Pi-TpにはSLC-17, -20, -34の3つのfamilyがある。上記結果は以下を示唆する。(i) ZolはSLC34/20を介して細胞内に入る。(ii) OxiとPPiはSLC17を介して細胞内に入る。(iii) EtiとCloはこれら全てのPi-Tpを抑制する。

O-116

Tbx1 は口腔粘膜上皮の病的癒着と口蓋発生に関与する
 ○船戸 紀子¹ (東医歯大 医歯共同セ 疾患遺伝子)

【目的】 T-box 型転写因子をコードする *TBX1* は、22q11.2 欠失症候群の疾患遺伝子である。同症候群では顔貌所見として、両眼隔離、小顎症、低耳介、耳介変形、口蓋裂を認める。同症候群の口蓋裂の病因を解明するため、*Tbx1* 遺伝子改変マウスを用いて、口蓋の発生について検討した。【方法】 *Tbx1* 遺伝子改変マウス、各種トランスジェニックマウス、レポーターマウスを用いて、形態学的観察を行った。また、アデノウイルスを感染させた上皮細胞を用いて、フローサイトメーター解析を行った。【結果】 (1) *Tbx1* 遺伝子欠損マウスは、口蓋裂の他、粘膜下口蓋裂、不完全口蓋裂を示した。また、口蓋粘膜上皮と下顎との病的癒着を認めた。一方、同マウスでは間葉系細胞の増殖が抑制されていた。(2) 口蓋粘膜に *Tbx1* の発現を認めるため上皮特異的に *Tbx1* を欠損させたところ、口蓋前方部の口蓋裂を認めた。(3) *Tbx1* 遺伝子欠損マウスでは口蓋発生時に口腔上皮の増殖も亢進し、上皮細胞の分化に異常を認めた。(4) *Tbx1* が口蓋板における *Bmp4* や *Pax9* の発現に関与した。(5) *Tbx1* の強制発現により上皮細胞の増殖が抑えられ、*Tbx1* が細胞周期調節に関与することが分かった。【結論】 *Tbx1* は口蓋発生の過程で、口蓋粘膜増殖分化の制御に役割を果たし、口腔粘膜の病的癒着を防ぐことが示唆された。(非会員共同研究者：Hiromi Yanagisawa、中村正孝、Deepack Srivastava)

O-117

温度感受性 TRP チャネルによる口腔粘膜の新しい創傷治癒機構
 ○合島 怜央奈^{1,2,3}、大崎 康吉¹、張 旌旗¹、木附 智子¹、村田 直久¹、城戸 瑞穂¹ (九大 院歯 分子口腔解剖、²佐賀大 医 歯科口腔外科、³佐賀大 医 生体構造機能 組織神経解剖)

【目的】 TRPV3 チャネルは温度センサーとして知られ、32°C 以上の温かい温度で活性化される非選択的な陽イオンチャネルである。我々はこれまでに TRPV3 が口腔上皮細胞に高発現し、口腔内の温度環境を積極的に感知していることを明らかにしてきた。本研究では口腔粘膜に生じた傷の治りが速やかであることに着目し、この速やかな治癒に「口腔内の温度環境とそれを感じ受する TRPV3 チャネルが関与する」との仮説を立てた。【方法】 C57BL/6 の上顎第一臼歯を抜歯する創傷モデルを作製し、創部での TRPV3 の発現を調べた。粘膜治癒に重要な役割を担う上皮細胞の増殖と TRPV3 の関係を明らかにするため、野生型マウス (WT) と TRPV3 遺伝子欠失マウス (V3KO) より調整した培養口腔上皮細胞を用い、TRPV3 を活性化する刺激が増殖能へ与える影響を調べた。また WT と V3KO における抜歯後の粘膜治癒を比較した。【結果と考察】 創部粘膜では TRPV3 mRNA およびタンパクの発現が上昇していた。口腔上皮細胞を TRPV3 アゴニストで刺激すると細胞数が増加し、さらにアゴニストおよび温度刺激により細胞増殖マーカー陽性細胞数が増加した。また V3KO では WT と比較し口腔粘膜の増殖マーカー陽性細胞数が減少していた。さらに V3KO の粘膜治癒は WT より遅延していた。以上より、口腔粘膜には温度を感知する機能的な TRPV3 チャネルが発現し粘膜の創傷治癒に寄与している可能性が示唆された。

O-118

味蕾 3 型細胞分化における Mash1 による GAD67 発現調節
 ○鬼頭 文恵^{1,2}、瀬田 祐司¹、豊野 孝¹、片岡 真司³、柿木 保明²、豊島 邦昭¹ (九歯大 口腔組織、²九歯大 老年障害者歯科、³九歯大 頭頸部構造解析)

Mash1 は神経細胞分化初期に神経前駆細胞から神経細胞への運命決定に働く。その中で中枢神経系では Mash1 により *Dlx* 発現が誘導され、*Dlx* が GAD67 発現を誘導することが知られている。味蕾にも Mash1 と GAD67 の発現が認められ、中枢神経系と同様の調節機構が存在することが推測される。本研究では、味蕾細胞分化における Mash1 の GAD67 制御機構について検討した。Mash1 ノックアウト GAD67-GFP (Mash1KO GAD67-GFP) マウスを作製し、胎生期の有郭乳頭、軟口蓋味蕾における GAD67 発現の変化を比較した。さらに *Dlx5* 発現についても検索した。胎生 19 日齢の Mash1KO GAD67-GFP マウスの有郭乳頭、軟口蓋上皮の味蕾において GAD67 の発現が消失した。胎生 19 日の軟口蓋上皮には、Mash1KO、野生型マウスともに味蕾が観察された。味蕾の各細胞マーカーで Mash1KO マウスにおける味蕾細胞分化について検索すると、2 型細胞マーカーである *gustducin* 発現細胞の数は野生型マウスと差が認められなかったが、3 型細胞マーカーである AADC と GAD67 の味蕾における発現が消失した。また、胎生期の有郭乳頭において野生型マウスで *Dlx5* の発現が認められたが、Mash1KO マウスでは *Dlx5* の発現が認められなかった。本研究により Mash1 が味蕾 3 型細胞における GAD67 の発現に関与していることがわかった。また、中枢神経系と同様に味蕾細胞において Mash1 が *Dlx* 発現を誘導し、さらに *Dlx* が GAD67 の発現を誘導するカスケードが存在することが示唆された。

P1-1

ラット下顎骨発生における石灰化

○林 利華¹、狐塚 雅弘¹、宍戸 駿一¹、柿内 裕輔¹、逸見 晶子¹、大方 広志²、笹野 泰之¹ (1東北大院歯 顎口腔形態創建、²東北大院歯 歯内歯周治療)

【目的】下顎骨発生における石灰化について、詳細は不明である。本研究では、発生・成長過程のラットを用いて、組織像、マイクロX線CT画像、およびCa、P、Cの元素分布と濃度を解析し、下顎骨の石灰化過程を検討することを目的とした。【方法】胎生15、16、18、20日齢および生後1週齢のラットを浸漬した灌流固定し、頭部を試料とした。試料の一部はマイクロX線CTで撮影し、また、一部はalcian blue-alizarin redで染色しwhole mount 試料とした。さらに一部の試料を凍結包埋して下顎骨中央部に至るまで前頭断切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジンで染色した。切片を得た凍結包埋試料を凍結乾燥し、断面を対象に分析走査電子顕微鏡 (SEM-EDX) を用いてCa、P、Cの元素を解析した。【結果】組織切片とwhole mount 試料から、メッケル軟骨周囲に胎生15日で顎骨が、胎生16日で骨が見られた。SEM-EDXによる解析で、胎生16日の骨組織に一致してCaとPの分布が認められ、その分布は生後1週に至るまで拡大した。また元素濃度比Ca/Pは上昇し、C/PとC/Pは低下した。マイクロX線CTでは、胎生18日以降で骨の不透過像の増大が観察された。【結論】ラット下顎骨は胎生15日にメッケル軟骨周囲に発生し、胎生16日から生後1週に至るまで石灰化が徐々に進行することが示された。

P1-3

リクイリチゲニンの破骨細胞形成への効果

○内野 加穂¹、岡元 邦彰¹、坂井 詠子¹、福岡 裕¹、岩竹 真弓¹、西下 一久¹、筑波 隆幸¹ (1長大院歯 口腔病態薬理)

【目的】漢方薬として広く用いられている甘草には抗炎症作用や抗酸化作用を有することが知られている。その成分にはリクイリチゲニンなどのフラボノイド系の物質が含まれている。以前より我々は、ポリフェノールが破骨細胞分化・活性化を抑制することを報告してきた。今回、炎症性サイトカインや酸化ストレスは破骨細胞分化を促進することから、抗酸化作用を持つリクイリチゲニンによる破骨細胞形成への効果を調べた。(方法) マクロファージ系細胞株RAW-DをRANKL刺激により破骨細胞へ誘導する系と、マウス骨髄細胞をM-CSFとRANKLで刺激する系を用い、TRAP染色により多核破骨細胞の形成を、また細胞増殖能をCell Counting Kit-8を用い評価した。さらに、ウエスタンブロッティング法を用いて、破骨細胞のマーカータンパクの発現とRANKL刺激後のシグナルの活性化を比較した。(結果) RAW-D細胞とマウス骨髄細胞の破骨細胞形成はリクイリチゲニンの濃度依存的に抑制が認められた。また、リクイリチゲニンはRANKL刺激後のIκBαのリン酸化を阻害し、NFATc1、カテプシンK、Srcのタンパク発現も抑制した。(考察) リクイリチゲニンはIκBαのリン酸化を阻害していることから、IκBαの下流のNF-κBに制御されているタンパク質の発現を抑制し、破骨細胞形成を阻害したことが示唆された。

P1-2

Porphyromonas endodontalis の発現するユニークなジペプチジルペプチダーゼ(DPP)VおよびDPP7

○柳瀬 絵見¹、根本 優子¹、下山 佑²、木村 重信²、馬場 友巳¹、根本 孝幸¹ (1長大院歯 口腔分子生化学、²岩医大 口腔微生物/免疫)

Porphyromonas gingivalis および *P. endodontalis* は糖非発酵性グラム陰性桿菌で、それぞれ成人性歯周炎および感染根管の起炎菌である。*P. endodontalis* はジンジパイン様活性をもたず、一方でKA-MCAを強力に分解するDPP活性を有することを以前報告した。今回、両菌のKA-MCA分解活性について検討し、これまで細菌類では報告のないDPPVによって担われていることを示すと同時に、両菌のDPPVおよびDPP7の性質を比較検討した。【方法】*P. endodontalis* ATCC 35406ゲノムDNAより推定DPPV(MER236725)および推定DPP7(MER278904)遺伝子領域をそれぞれPCRクローニングにより分離し、大腸菌発現系で発現精製した。【結果】帰属未明とされていたMER278904はその基質特異性よりPeDPP7と同定された。ほとんどすべての細菌のDPP7が700-720残基長なのに対し、PeDPP7は818残基よりなりユニークであった。実際に予想される100 kDa分子の発現をイムノブロットにより確認した。両菌種由来の組換えタンパク質は、KA-, SY-, GF-, ML-MCAを分解した。PeDPPVはより高活性で、特にKA-MCAに対する k_{cat}/K_m はPgDPPVの18倍であった。【結論】これまで細菌では報告のないDPPV遺伝子を確認し、その基質特異性と酵素学的パラメーターを決定した。PeDPPVとDPP7は*P. gingivalis* 由来の相同分子とは性質が異なり、両菌体で見られるKA-MCA分解活性の差はDPPV活性の差に起因すると考えられた。

P1-4

三叉神経運動ニューロン樹状突起の能動的特性

○中井 健人¹、中村 史朗²、望月 文子²、中山 希世美²、矢澤 格²、井上 富雄² (1昭大 歯 口生理)

【目的】神経細胞の樹状突起には様々な電位依存性イオンチャネルが存在し、シナプス入力を増幅するなど、複雑な情報処理を行う可能性が報告されてきた。しかし極めてよく発達した樹状突起をもつ三叉神経運動ニューロンでも同様の情報処理機構が存在するかどうかは不明である。そこで我々はカルシウムイメージング法を用いて、幼若期ラット三叉神経運動ニューロン樹状突起の能動的特性を調べた。【方法】実験には生後1-5日齢のラット脳幹スライス標本を用いた。三叉神経運動ニューロンからパッチクランプを行い、活動電位を誘発させた際の蛍光強度変化を共焦点レーザー顕微鏡で記録した。【結果】三叉神経運動ニューロンに活動電位を誘発させると細胞体および樹状突起で蛍光強度の増加がみられ、樹状突起ごとに異なる蛍光強度変化パターンが認められた。さらにテトロドトキシン(1 μM)を投与すると蛍光強度増加比が著しく減弱したことから、この蛍光強度の変化には樹状突起に分布する電位依存性ナトリウムチャネルの活性化が関与していることが示された。【考察】三叉神経運動ニューロンの樹状突起はシナプス入力を受動的に細胞体へと伝えるだけでなく、それ自体が興奮性を持つことによってシナプス入力情報の増幅や加工など複雑な情報統合処理を行っている可能性が考えられた。

P1-5

カルシウム系骨補填材による血管形成抑制
 ○関 裕子¹、高橋 萌¹、清水 良央¹、及川 麻理子¹、熊本 裕行¹ (東北大 歯)

【目的】臨床では様々な骨補填材が使用されているが、組織再生に必要な血管形成への影響については不明である。本研究では各材料の血管形成への影響を検討するため多角的に解析を行った。【方法】1. 材料：正球状の焼結 HA 顆粒および不規則形状の β -TCP 顆粒を用いた。2. In vitro 系：ヒト血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養系を用いた。滅菌した約 8 mg の各材料を培養液中に浸漬し、7、11 日間培養した。顕微鏡下にて血管長、分岐数、面積を計測した。3. In vivo 系：ラットの頭蓋骨に直径 3 mm の骨欠損を形成し、各材料を移植後、骨膜で被覆、縫合した。マイクロ CT 撮影後、パラフィン包埋切片を作製し、HE 染色を施した。顕微鏡下にて病理組織学的に観察後、血管数、血管腔の大きさを計測した。【結果】1. In vitro 系では両材料も 11 日目まで血管の増生が確認された。 β -TCP は焼結 HA に比べ血管長、分岐数、面積は有意に大きな値を示した ($p < 0.05$)。2. In vivo 系では組織学的に両材料も高度な炎症はみられなかった。両材料でも顆粒周囲に多核巨細胞が認められ、焼結 HA の周囲に線維性組織が形成されたが、 β -TCP では乏しかった。組織形態計測では両材料も 1 週から 2 週まで有意に血管数は減少し、面積は増加した ($p < 0.05$)。 β -TCP は焼結 HA に比べ、血管数は有意に少なく、面積は大きかった ($p < 0.05$)。【考察】骨補填材である焼結 HA は β -TCP に比べて血管形成の抑制がみられると思われた。

P1-7

CCN3 の軟骨特異的過剰発現は内軟骨性骨形成の遅延を誘発する
 ○角谷 宏一¹、服部 高子²、桑原 実穂¹、大野 充昭³、星島 光博²、窪木 拓男³、滝川 正春² (岡大 歯、²岡大 院医歯薬 口腔生化、³岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)

CCN ファミリータンパク質 3 (CCN3/NOV) は分泌タンパク質で、軟骨細胞の増殖、分化を制御している事が報告されつつある。また、CCN3 のドメインの一つを欠失した遺伝子改変マウスの解析から、骨格の正常な発育への CCN3 の重要性が示唆されるが、これまで明確な内軟骨性骨形成への関与の報告は無い。今回我々は内軟骨性骨形成における CCN3 の役割を解明するために、軟骨組織特異的に CCN3 を過剰発現するマウスを作製し、表現型の解析を行った。*Col2a1* promoter 下流に GFP 融合 mouse *CCN3* 遺伝子を接続したトランスジェニックマウスを作製し、軟骨組織特異的 CCN3 過剰発現を得た。胎生 15.5 および 18.5 日齢の *CCN3^{Col2a1tg}* マウスの長管骨は、骨化部分が太く短く、*CCN3^{Col2a1tg}* 長管骨の *in situ* hybridization で、軟骨分化の遅延が観察され、骨芽細胞におけるマーカー遺伝子の発現も抑制されていた。さらに軟骨内への血管侵入が抑制されている事が抗 CD31 抗体を用いた蛍光免疫染色で観察された。胎生 18.5 日齢の *CCN3^{Col2a1tg}* 長管骨切片で海綿骨の骨梁形成が抑制されており、海綿骨内 TRAP 陽性細胞の減少が見られた。これらの結果より、軟骨組織における CCN3 の過剰発現は、内軟骨性骨形成の最終段階である軟骨から骨への転化を遅延させる事が明らかとなった。

P1-6

マウスメッセル軟骨後方部の消失様相
 ○鎌口 真由美¹、井上 貴一郎²、高橋 茂²、加藤 剛士²、上北 広樹²、牛島 夏末³、土門 卓文² (北大 歯、²北大 院歯 口腔機能解剖、³北大 院歯 学術支援)

【目的】メッセル軟骨は、前方では軟骨内骨化とやや異なる様式で消失するようであるが、後方では骨に包圍され消失する中部から下顎孔の部、蝶下顎靭帯となる下顎孔から錐体鼓室裂部、そして耳小骨となる後端部など部位特異な経緯を経るため、とくに後部の消失様式に関してはいまだ不明な点が多い。そこで下顎孔前後の部位を中心にメッセル軟骨後部の消失様相について検討した。【方法】マウスでは出生時にメッセル軟骨後半が完全に消失していないため、生後 1 日のマウスを用い、メッセル軟骨の消失様相を、TRAP、ACP、MMPs、Cathepsin K、F4/80、Collagen の局在を組織化学的に検討した。【結果と考察】メッセル軟骨は、AlcianBlue で染色される軟骨が耳小骨から下顎孔の手前まで棒状に確認され、前方ほど軟骨基質は失われ、代わって軟骨膜から変化した細胞が塊となって棒状構造を維持しているが、第 3 臼歯直下で完全に消失する。この全長すべての部位で、軟骨膜部と軟骨膜から変化した細胞塊に MMP-9 が認められ、また MMP-1、Cathepsin K が軟骨と軟骨膜部の細胞に認められた。しかし TRAP、ACP、F4/80 陽性の細胞はメッセル軟骨およびその周囲にほとんど認められなかった。このことからメッセル軟骨の消失はメッセル軟骨の軟骨膜に存在する細胞が主体的に関与していると考えられる。また骨に包圍された軟骨膜細胞の塊では ALP、1 型 Collagen も分泌し骨化にも関与していると考えられる。

P1-8

CBCT を用いたサル下顎骨臼歯部の舌側小孔の解析
 ○花谷 佳菜子¹、島田 和幸³、佐藤 巖² (日歯大 生命歯 4 学年、²日歯大 生命歯 解剖 1、³鹿大 院医歯 神経病 人体構造解剖)

ヒトの下顎管から出る舌側の小孔の存在は以前から知られており、179 の下顎骨を調べて正中中部で最も高く (96.23%)、小白歯部でもかなりの頻度 (27.5%) があり、臼歯部でも第三大臼歯部 (4.7%, 2/42)、第二大臼歯部 (6.1%, 4/66)、第一大臼歯部 (11.7%, 7/60) で小孔の存在が知られている (von Arx et al. J Oral Maxillofac Surg. 2011)。今回、私たちはサルの舌側の小孔に注目し、ヒトの研究同様に非破壊解析装置である CBCT を用い、鹿大所蔵の日本サル (17 例) を用いて詳細な解析を行い、以下の結果を得た。本研究では正中中部に 100% の頻度で複数の小孔が存在し、臼歯部では第三大臼歯部 (2.9%, 3/34)、第二大臼歯部 (35.3%, 12/34)、第一大臼歯部 (29.4%, 10/34) で高い頻度で小孔が出現した。しかも同じ部位での複数出現が第二大臼歯部で 3 例、第一大臼歯部で 2 例みられた。一般にサルでは臼歯部の歯槽部が狭く、ヒトの幅広い臼歯部では槽間中隔などに無数の小孔がみられる。このため、サルの狭い臼歯部ではこれらの小孔は存在するスペースが確保できないなどから、サルの臼歯部舌側の小孔の存在はヒトにみられる歯槽の栄養にあらたるのではないかと考えた。今後は詳細な肉眼解剖によりこの小孔に存在する血管や神経の分布を観察することで小孔の存在意義を明らかにしたい。

P1-9

口腔内乾燥を訴える患者に認められた口唇粘膜上皮のバリア機構の破綻
 ○宇都宮 怜子¹、合島 怜央奈^{1,3}、吉住 潤子²、木附 智子²、檀上 敦³、山下 佳雄³、城戸 瑞穂¹ (¹九大 院歯 分子口腔解剖、²九大 院歯 顔面口腔外科、³佐賀大 医 歯科口腔外科)

【目的】口腔内乾燥を呈するシェーグレン症候群(SS)の患者は、口腔内の痛覚過敏を訴えることが多いが、そのメカニズムは明らかでない。私たちは、唾液腺組織の病変に加え、粘膜上皮における病理的变化が症候に関与するとの仮説を立て実験を行った。【方法】九大の倫理審査委員会の承認の下、SS患者の診断時口唇腺生検の余剰粘膜の切片を作製し、免疫染色を行った。粘液嚢胞の患者からの組織を対照群とした。【結果と考察】SSと診断された患者の口唇粘膜上皮下には多数のマクロファージのマーカー Iba-1 またはマクロファージや顆粒球のマーカー CD11b 陽性細胞が認められた。上皮には細胞内浮腫を示す細胞塊が散在し、こうした領域には Iba-1 または CD11b 陽性細胞が浸潤していた。更に、正常組織では上皮細胞間に明瞭なラインとして認められる細胞間接着タンパクの E-cadherin 陽性反応は、変性した細胞では不明瞭で、上皮間接着構造の障害が示唆された。また、そうした細胞では上皮のバリア機能を担う陽イオン透過性チャネル transient receptor potential channel vanilloid type 4 の発現の低下も観察された。上皮下の神経の分布には SS 群と粘液嚢胞群との間に差が認められなかったことから、SS における上皮への免疫細胞浸潤や上皮細胞間接着装置の破壊が、痛覚過敏等の症状に関連している可能性が示唆された。

P1-10

Wnt5a に関してレチノイン酸がマウス舌筋の発育異常を誘導する研究
 ○劉 波¹、劉 涵¹、肖 晶¹ (¹大連医大 口腔医学院 口腔基礎)

Aim: To study the aberrant morphogenesis and related molecular mechanism of retinoic acid (RA)-induced tongue malformation. Methods: Exogenous RA was used to induce tongue malformation in fetal mouse. Myogenic cell proliferation was analyzed by BrdU incorporation and staining, and the differentiation was measured by IHC assays and qRT-PCR. The expression of relative molecules was evaluated by qRT-PCR. The histological changes of tongue and its muscles were characterized by light and transmission electron microscopy (TEM). Results: The tongue of fetal mouse treated with RA failed to descend at E14.5 and kept abnormally at relative higher position. The proliferation was decreased and the expressions of Myf5 and MyoD were down-regulated significantly at this stage. And also Wnt5a and Camk2d were down-regulated and Tbx1 was up-regulated. Conclusions: Overdose of retinoic acid induces hypoplasia and disorder of tongue muscles. Wnt5a/CaMKII pathway is involved in RA-treated tongue malformation.

P1-11

レチノイン酸が C2C12 細胞系における筋分化を誘導する研究
 ○劉 波¹、劉 涵¹、肖 晶¹ (¹大連医大 口腔医学院 口腔基礎)

Aim: To study the effect and mechanism of excess RA on myogenic differentiation of C2C12 cells. Methods: Effects of RA on the proliferation and cell cycle of C2C12 were detected by CCK-8 assay and Flow cytometry (FAC), respectively. The differentiation was measured by IHC assays and qRT-PCR. The expression of related molecules were evaluated by qRT-PCR. Results: RA inhibited the proliferation and cell cycle of C2C12 cells in a dose-dependent manner. Myf5 was lower than the Control from culture day 0.5 (D0.5) to D6; MyoD decreased on D1, increased from D2, and decreased on D6, similar to the Control. Myogenin increased gradually from D0 to D6, consisted with the Control; MRF4 was higher than the Control on D6. IHC result showed that myosin heavy chain (MyHC)-positive cells were observed from D2 to D6, but the MyHC expression was lower and the cell bodies exhibited more elongated and bifurcate in RA group. The expression of Tbx1, Wnt5a, Ror2 and PKC δ was up-regulated, and PKC δ was significant compared to the Control. Conclusion: Excess RA could induce delayed myogenic differentiation of C2C12 cells depended on the dose, and Wnt signal may play an important role in the process.

P1-12

マウス iPS 細胞の骨芽細胞分化過程における神経ペプチドレセプターの発現について
 ○長尾 怜美¹、後藤 哲哉²、江草 宏³、矢谷 博文³、小林 繁²、牧 憲司¹ (¹九歯大 口腔機能発達、²九歯大 解剖、³阪大 院歯 歯科補綴 1)

【背景と目的】骨組織には交感神経と知覚神経支配が分布し、最近の研究により骨芽細胞分化は神経性の調節を受ける事が分かっている。しかし、未分化間葉系細胞から骨芽細胞までの分化過程においてどの神経ペプチドによって調節を受けているかは不明である。今回、我々は iPS 細胞から骨芽細胞への分化において、神経ペプチドレセプターの発現を調べることによって、どの神経ペプチドの影響を受けているかを調べた。【方法】MitomycinC 処理をしたマウスフィーダー細胞 (SNL) 上に播種したマウス iPS 細胞は、胚葉体形成を経て骨芽培地で 28 日間培養し、骨芽細胞を形成した。分化過程を多分化能維持期、胚葉体形成期、骨芽細胞分化期の大きく 3 段階に分けて、それぞれ RNA 抽出、RT-PCR にて、 β 2-AR, CGRP-R, NK1-R の mRNA 遺伝子発現を検討した。【結果と考察】交感神経系の β 2-AR は多分化能維持期から発現していることが分かった。知覚神経系の CGRP-R も多分化能維持期から発現しているのに対し、NK1-R は骨芽細胞分化期の 7 日目以降に発現することが分かった。これらのことから、iPS 細胞の骨芽細胞分化過程には、交感神経系および知覚神経系の分子機構が関与している可能性が示唆された。NK1-R については骨芽細胞分化期以降に発現していることより、NK1-R のリガンドであるサブスタンス P が骨芽細胞分化後期に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

P1-13

乳癌骨転移巣における骨細胞産生因子の組織化学的解析

○山田 珠希¹、坪井 香奈子¹、平賀 徹³、山本 知真也¹、田中 祐介¹、長谷川 智香¹、織田 公光²、網塚 憲生¹ (北大 院歯 硬組織発生生物、²新大 院医歯 口腔生化学、³松歯大 口腔解剖二)

【目的】骨細胞は基質ミネラルの維持、骨改造及び血中リン濃度の調節を行なっているが、癌の骨転移巣という特殊な環境は骨細胞の機能に影響を与えると考えられる。そこで我々は、乳癌骨転移モデルを用いて、骨転移巣における骨細胞産生因子について組織化学的に検索することを目的とした。【材料及び方法】生後7週齢の雌性 nu/nu マウスの左心室に乳癌細胞 (MDA-MB-231) 浮遊液を注入した。28日後、軟エックス線にて骨破壊像を確認後、4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定し、通法にてパラフィン包埋を行った。大腿骨の組織切片を作製し、骨細胞産生因子である DMP-1、FGF23 と sclerostin 及び骨芽細胞と破骨細胞マーカーである ALP と TRAP について組織化学的に解析した。【結果と考察】乳癌細胞が転移した周囲の骨基質表面には、多数の ALP 陽性骨芽細胞及び TRAP 陽性破骨細胞が局在した。乳癌転移巣に隣接する皮質骨内の骨細胞は DMP-1 陽性であったが、FGF23 及び sclerostin ともに陰性を示した。一方、骨転移巣における乳癌細胞は FGF23 強陽性を示した。以上、乳癌細胞は FGF23 を過剰産生することで低リン環境という骨転移に最適な環境を形成する可能性、また、周囲の骨細胞の機能を抑制する可能性が示唆された。

P1-15

bisphosphonate 投与中止後の骨の細胞群における組織化学的検索

○坪井 香奈子^{1,2}、佐々木 宗輝¹、長谷川 智香¹、北川 善政²、網塚 憲生¹ (北大 院歯 硬組織、²北大 院歯 口腔内科)

骨粗鬆症治療薬である bisphosphonate (BP) は、破骨細胞を抑制する。しかし、破骨細胞の抑制が骨芽細胞とのカップリングに影響が及ぶこと、一方、BP 投与を中止すると破骨細胞形成のリバウンドが生じる可能性も危惧されている。そこで、我々は生後6週齢 ICR マウスへ10日間の alendronate 皮下投与を行い、投与中止後の骨組織において ALP、TRAP、スクレロシンなどの組織化学を行った。BP 投与直後のマウス大腿骨・脛骨では、コントロール群に比べて多数の TRAP 陽性破骨細胞が骨組織に存在していた。BP 投与中止後には破骨細胞は活発に骨吸収を行うのではなく、その数を減少させてゆき破骨細胞のアポトーシス像も観察されたことから、リバウンドの可能性は低いと考えられた。一方、骨芽細胞のマーカーである ALP 陽性反応は速やかに回復せず、骨細胞はスクレロシンを多量に産生するとともに、自らは萎縮する傾向を示した。以上から、BP 投与中は破骨細胞の骨吸収抑制を補うために、何らかの機序で破骨細胞形成が亢進したと考えられた。一方、BP 中止により、破骨細胞数が速やかに回復したが、骨芽細胞・骨細胞系の回復には長期間を要すると推察された。よって、BP 投与後の骨組織の正常化には破骨細胞だけでなく、骨芽細胞・骨細胞の状態も考慮する必要があると考えられた。

P1-14

FGF23/klotho 軸の破綻は血管骨化を誘導する klotho 遺伝子変異マウスを用いた組織学的検索

○長谷川 智香¹、山田 珠希¹、佐々木 宗輝¹、笹野 泰之²、網塚 憲生¹ (北大 院歯 硬組織発生生物、²東北大 院歯 顎口腔形態創建)

メンケベルグ型動脈硬化は病態の進行に伴い動脈中膜に石灰化を生じる。そこで、我々は、中膜石灰化のモデル動物である klotho 遺伝子変異 (*kl/kl*) マウスの大動脈を組織化学的に検索した。

生後7週齢 *kl/kl* マウスでは、野生型マウスと比較して大動脈中膜に著しい石灰化を認めた。石灰化領域の血管平滑筋細胞は TNAP/ENPP1 陽性を示す骨芽細胞様細胞へと変化しており、その周囲には多数の I 型コラーゲン線維および基質小胞を認めた。石灰化が進行した領域では、オステオポンチン、オステオカルシン、基質グラ蛋白陽性を示す石灰化基質が形成されており、基質内部には FGF23 陽性骨細胞様細胞が、また、基質表層には TRAP 陽性破骨細胞様細胞が出現した。TEM-EDX 法で元素分析を行うと、これらの石灰化基質は結晶構造を有するリン酸カルシウムであることが示された。現在の考え方では、血管石灰化は血中 Pi 濃度上昇に起因するとされているが、FGF23/klotho 軸の主役である *kl* マウスでは Pi 濃度が上昇しても著しい血管石灰化を示さない。従って、我々は全身的な FGF23/klotho 軸の破綻以外に原因があると考え、現在、DNA array などを用いた解析を進めている。以上、*kl/kl* マウスでは、血管平滑筋細胞が骨芽細胞様細胞へ変化することにより血管石灰化および血管骨化を誘導する可能性が示唆された。

P1-16

マウス舌乳頭における活性酸素合成酵素 (Nox) の局在

○柏原 祥顕¹、安部 仁晴²、菊地 隆太³、中川 敏浩²、渡邊 弘樹² (奥羽大 院歯 口腔組織構造生物、²奥羽大 歯 生体構造 口腔組織、³奥羽大 院歯 顎口腔外科)

【目的】活性酸素は、生体内で様々な生理活性を持つことが報告されている。近年、活性酸素合成酵素 (Nox) ファミリーが明らかになり、生体の各組織器官におけるこれらの酵素種の局在について検索されてきた。しかし、舌乳頭と活性酸素の関係についての報告は現在までみられない。そこで今回我々は、舌乳頭における Nox ファミリーの局在を検索した。【材料及び方法】材料は、マウスの舌を用いた。方法は、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定、舌を摘出後、パラフィン包埋を行った。薄切後、通法に従い、Nox1、2、3、4 抗体を用い、免疫組織化学的染色を行い、顕微鏡観察した。【結果】有郭乳頭の顆粒層から基底層における細胞において、Nox1、2、3、4 は弱陽性から陽性を示した。有郭乳頭の味蕾を構成する細胞は、Nox1、4 に弱陽性、Nox2、3 に強陽性反応を示していた。糸状乳頭上皮の顆粒層から基底層において、Nox1、2 の発現はわずかであるが、その間の上皮である糸状乳頭間上皮の顆粒層と有棘層においては、Nox1、2、3、4 に対して陽性を示した。【考察】活性酸素は、舌乳頭の上皮では角化の促進に関与し、糸状乳頭間上皮では、アポトーシスを引き起こし、形態形成の維持を行っていると考えられる。味蕾において Nox2、3 が強発現したことから、活性酸素が味覚受容に関与すると思われた。

P1-17

口蓋粘膜上皮におけるタイトジャンクションの細胞生物学的研究

○塩津 範子^{1,2}、川本 忠文³、河井 まりこ¹、鳥井 康弘²、山本 敏男¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔形態、²岡大 院医歯薬 総合歯科、³鶴見大 歯RI 研セ)

【目的】タイトジャンクション(TJ)は隣接する上皮細胞を密着させ、細胞間のバリア機能に関与する。構成分子にはオクルディン(OCD)とクローディン(CLD)がある。近年、重層扁平上皮である皮膚に TJ の存在が報告され、水分蒸散のバリア機能が明らかになっている。口腔粘膜上皮は重層扁平上皮であり、異物や咀嚼による過酷な環境にさらされている。今回、咀嚼粘膜である口蓋粘膜の上皮におけるバリア機能を調べる目的で、まず TJ の分布、および OCD と CLD の発現や局在を調べた。【方法】マウスを用い、OCD、CLD-1,2,3,4,5,8 の免疫組織化学とウエスタンブロット解析(WB)を行った。免疫組織化学用には川本法で凍結切片を作製した。また、硝酸ランタン法、凍結切断法 (FF) での電顕観察も行った。【結果】電顕では顆粒層上部に TJ が認められ、FF では TJ ストランドが観察された。蛍光免疫染色では、OCD と CLD-1,4,8 は顆粒層上部に反応が認められたが、これらの CLD は他の層にも陽性であった。CLD-2,3,5 は陰性であった。WB では OCD、CLD-1,2,4,5,8 は陽性で、CLD-3 は陰性であった。【結論】口蓋粘膜上皮では、顆粒層上部に TJ が存在し、構成分子として OCD、CLD-1,4,8 の存在が明らかとなった。各 CLD の顆粒層上部以外の分布についての意義は検討を要する。WB では陽性、蛍光免疫染色では陰性の CLD-2,5 は上皮以外の組織によるものと推測された。(共同研究者：佐々木博之(帝京平成大、阪大・特任教授))

P1-19

卵巣摘出レプチン受容体遺伝子変異 (db/db) マウスの骨組織における組織化学的検索

○田中 祐介^{1,2}、長谷川 智香¹、山田 珠希¹、織田 公光³、鄭 漢忠²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯硬組織発生生物、²北大 歯 口外、³新大 医歯学 生化)

【目的】レプチンは脂肪細胞で産生される食欲調節ホルモンであり、骨代謝にも影響を及ぼすとされている。我々は、レプチン非作用下のエストロゲン欠乏による骨組織異常を明らかにする目的で、レプチン受容体変異を有する db/db マウスに卵巣摘出 (OVX) を行い、組織化学的に解析した。【方法】12 週齢の雌性 db/db マウスと野生型 (WT) マウスを OVX し、20 週齢で大腿骨・脛骨を通常にてアルデヒド固定した。ALP、TRAP と leptin R の局在を組織化学にて、また、leptinR、ER α と PPAR γ 2 の発現を RT-PCR にて解析した。【結果】db/db 群では著しい骨量の減少と脂肪細胞の増加を認めた。ALP 陽性骨芽細胞領域は db/db 群で減少し、db/db-OVX 群ではさらに減少したが、WT 群の OVX による減少幅より小さかった。leptinR と ER α の発現は 4 群とも同様であり、leptinR 陽性反応は骨芽細胞に認められた。PPAR γ 2 の発現は db/db 群と db/db-OVX 群で上昇していた。【考察】db/db マウスでは OVX を行わなくとも ALP 陽性反応が著しく低下したこと、db/db-OVX 群では ALP 陽性領域が減少したが、WT マウスにおける OVX 群の減少幅に比べると低いことを考慮すると、レプチンの骨芽細胞に対する作用はエストロゲン欠乏に比べて大きい可能性が推測された。

P1-18

副甲状腺ホルモン投与による骨細胞周囲の骨基質改変について

○本郷 裕美¹、山田 珠希¹、宇田川 信之²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯硬組織発生生物、²松歯大 生化)

【緒言】1960 年代に Bélanger により、PTH 投与による骨細胞性骨溶解が提唱されたが、その機序は依然明らかになっていない。そこで我々は、マウスの外頸静脈に PTH 投与し、数時間後の骨細胞・骨小腔の変化について組織化学的に検索した。【材料と方法】生後 11 週齢の雄性 ICR マウスに human PTH (1-34; 80 ug/kg) を外頸静脈投与し、数時間後における骨細胞・骨小腔を原子間力顕微鏡によるナノインデンテーション、透過型電子顕微鏡および von Kossa 染色にて観察した。また破骨細胞が存在しない RANKL-/-マウスにカルセインを投与し蛍光顕微鏡観察した。【結果と考察】PTH 投与後 6 時間の皮質骨において、一部の骨小腔が僅かな形状変化を示したが、骨小腔周囲は著しい弾性率の低下を示した。9 時間後には、骨小腔は拡大し、その周囲には von Kossa 陰性の末石灰化骨基質が認められた。そのような骨小腔壁は凹凸を示し、内部には断片的な石灰化基質とコラーゲン線維が観察された。一方で、RANKL-/-マウスの骨小腔周囲にはカルセイン標識を観察したことから、小腔壁への石灰化が示唆された。以上より、骨細胞は PTH などに反応して、骨小腔周囲の骨基質を融解、あるいは、石灰化沈着を行う可能性が推察された。(本研究は阪大学・中野貴由教授との共同研究として行われた)。

P1-20

炎症抑制因子ガレクチン 9 の膜表面受容体 Tim3 を介した破骨細胞形成制御

○森山 加奈子^{1,2}、久木田 明子³、上原 範久¹、張 旌旗¹、高橋 一郎²、久木田 敏夫¹ (¹九大 歯 分子口腔解剖、²九大 歯 矯正、³佐賀大 医 微生物)

【目的】ガレクチンは β -ガラクトシドを有する糖鎖に特異的に結合するレクチンであり、細胞増殖・分化や免疫系の調節を行う因子である。ガレクチン-9 (Gal-9) は好酸球に対する走化性や Th17 細胞形成の抑制などの活性を持つことが知られており、炎症に対して抑制的に作用することが報告されている。しかしながら炎症性骨破壊の主役である破骨細胞に対する作用については不明の点が多い。最近、Gal-9 の受容体である Tim-3 が自然免疫において重要な働きをすることが分かってきた。本研究では炎症性骨破壊に於ける Gal-9/Tim-3 システムの関与について検討した。【方法】破骨細胞分化系として破骨細胞前駆細胞株 RAW-D 細胞及びマウス、ラットの骨髄細胞を用いた。炎症性骨破壊の系として、アジュバント関節炎ラットを用いた。Tim-3 の発現について RT-PCR 法、ウエスタンブロット法、免疫染色法等により検討した。【結果と考察】Gal-9 は破骨細胞形成を顕著に抑制した。アンタゴニストである β ラクトースの添加によりその阻害は解除された。試験管内での破骨細胞形成系において、破骨前駆細胞に Tim-3 の高い発現を認めた。多核の破骨細胞も Tim-3 を発現していた。免疫組織学的解析により、ラット脛骨遠位端に存在する破骨細胞が Tim-3 を高発現することが分かった。炎症部位では Gal-9 が高発現することが知られており、Tim-3 を介した破骨細胞形成制御が行われている可能性が考えられた。

P1-21

オステオポンチン欠損が歯の損傷後の歯髄治癒過程に及ぼす影響について
 ○斎藤 浩太郎^{1,2}、大島 勇人¹ (¹新大 院医歯硬組織形態、²日本学術振興会)

【目的】今回我々はオステオポンチン (OPN) 欠損が歯の損傷後の歯髄治癒過程に及ぼす影響について解析した。
 【方法】生後 3 および 5~6 週齢の野生型マウスおよび OPN ノックアウトマウスの上顎第一臼歯を抜去後に再植、または歯冠部を舌下部へと移植、あるいは近心歯冠部に溝状に窩洞を形成した。術後 1 日から 4 週に灌流固定し、抗 nestin、抗 OPN 免疫組織化学を施し光顕にて観察した。
 【結果および考察】野生型マウスでは、術後 1 日に象牙芽細胞の nestin 陽性反応が消失した。術後 3~5 日には、再植/移植群では歯髄内の血行の回復が開始し、全実験系において既存の象牙質の石灰化前線に連続的な OPN 陽性反応が認められた。窩洞形成群では術後 3 日、再植/移植群では術後 5~7 日に nestin 陽性の象牙芽細胞様細胞が認められ、既存の象牙質と第三象牙質との境界部に OPN 陽性反応が認められた。一方 OPN ノックアウトマウスでは、窩洞形成群と多くの移植群では術後に象牙芽細胞分化と第三象牙質形成が認められたものの、移植群で骨形成が阻害され、再植群および一部の移植群の標本では術後歯髄内に血行の回復が認められず、歯髄治癒が起らなかった。以上より、歯の損傷後の歯髄治癒過程において、OPN 欠損は象牙芽細胞分化には影響しないものの、歯髄の血行回復や歯髄腔内骨形成を阻害することが明らかになった。

P1-22

ラット象牙芽細胞での ATP の小胞分泌について
 ○岩鍋 恵理奈¹、後藤 哲哉²、郡司掛 香織¹、片岡 真司²、黒石 加代子¹、上田 雅恵¹、小林 繁² (¹九歯大 院歯顎機能矯正、²九歯大 頭頸解析)

【目的】歯の疼痛伝達には象牙芽細胞が感覚受容細胞として機能している。その機能については動水力学説を初めとして多くの説が存在しているが、象牙芽細胞から神経へのシグナル伝達に関しては解明されていない。ATP レセプターである P2X3 受容体、さらに NTPDase (ATP 分解酵素) が象牙芽細胞周囲の神経線維で発現していることが示されている。これらより、ATP が歯の疼痛伝達に関与していることが示唆されるが、象牙芽細胞からどのように ATP が放出されるかは明らかでない。小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) は ATP を小胞内へ取り込み、ATP の小胞分泌を行う。本研究では、象牙芽細胞からの ATP の放出に VNUT が関与するかについて調べた。【材料と方法】6 週 SD ラットより臼歯を抜去し、歯髄を分離して RT-PCR を行った。また、ラットの灌流固定を行い、上顎第一臼歯を取り出した。その後、10% EDTA で 3 週脱灰、凍結切片を作成し、抗 Nestin 抗体と抗 VNUT 抗体および抗 SNAP25 (膜融合タンパク) 抗体で免疫染色を行った。【結果と考察】RT-PCR によって歯髄での VNUT の発現が確認された。免疫染色によって象牙芽細胞で VNUT および SNAP25 の局在が示された。これらの発現により、象牙芽細胞から小胞輸送により ATP が運ばれ、歯髄神経に伝達されていることが示唆された。よって、象牙芽細胞による疼痛伝達において VNUT を介した ATP 分泌が関係している可能性が示唆された。

P1-23

機械的圧迫力を付与したヒト歯根膜線維芽細胞における Asporin と Sclerostin の発現と放出について
 ○上田 雅恵¹、後藤 哲哉²、黒石 加代子¹、郡司掛 香織¹、岩鍋 恵理奈¹、小林 繁² (¹九歯大 院歯顎機能矯正、²九歯大 頭頸解析)

【目的】骨芽細胞に圧迫力を付与すると骨形成を促進するという報告があるが、矯正的歯の移動時において、圧迫側では骨吸収が起り、さらに骨形成は阻害されている。よって、圧迫側では骨吸収促進のみならず、ヒト歯根膜線維芽細胞 (hPDL 細胞) からの骨形成抑制因子、Asporin (ASP) や Sclerostin (SOST) が関わっていると考えられる。hPDL 細胞における SOST の発現はまだ確認されておらず、かつ機械的圧迫力に対する ASP と SOST の発現変化についても明らかにされていない。本研究では培養 hPDL 細胞へ遠心力による機械的圧迫力を付与した時の ASP と SOST の発現と放出を調べた。【方法】矯正治療のため抜去した小白歯から採取した hPDL 細胞を使用し、遠心力 (40/90/135/160 xg) を 24 時間付与した。ASP と SOST の遺伝子発現量は PCR 法、タンパク発現量は免疫染色、細胞外放出量は ELISA 法にて調べた。【結果】in vivo では ASP は PDL 細胞、破骨細胞、骨芽細胞に発現し、in vitro では ASP と SOST は hPDL 細胞に発現していた。hPDL 細胞に遠心力を付与することにより、SOST mRNA の発現は減少したが、ASP mRNA は 90 xg で最大の発現を示し、40/135/160 xg では有意に減少した。また、ASP 免疫陽性細胞数および細胞外放出量は増加し、SOST 免疫陽性細胞数は減少した。【考察】hPDL 細胞に機械的圧迫力を付与した場合、圧迫側では SOST でなく ASP によって骨形成阻害が行われている可能性が示唆された。

P1-24

歯根膜におけるプライマリー・シリアの出現率と過剰咬合による変化
 ○井田 貴子¹、加来 賢¹、北見 恩美^{1,2}、魚島 勝美^{1,3} (¹新大 院医歯生体補綴、²日本学術振興会、³新大 医歯学総合病院)

プライマリー・シリアは細胞表面に突出している非運動性の毛様オルガネラで、組織発生と維持に重要な役割を果たしている。さらにその形態から細胞の機械的刺激受容器として機能するとの報告があるが、歯根膜におけるその局在と存在意義については明らかではない。本研究ではプライマリー・シリアの歯根膜における出現と過剰咬合によるその変化について免疫組織学的に検索した。3 日間の過剰咬合を付与したラット上顎臼歯のパラフィン包埋標本を作成し、抗 acetylated tubulin 抗体にてプライマリー・シリアの検出を行った。上顎第一臼歯の歯頸部、根尖部、根分岐部歯根膜細胞数を計測し、陽性細胞率を算出した。プライマリー・シリアの歯根膜全体における出現率は 12.9 ± 2.9% であり、歯頸部 (16.0 ± 4.9%)、分岐部 (12.8 ± 1.8%)、根尖部 (9.9 ± 2.0%) の順に高い出現率を示し、歯槽骨側と比較してセメント質側に高い出現率を示した。更に過剰咬合により、根分岐部、根尖部の歯槽骨側において著明な増加が認められた。以上の結果より、プライマリー・シリアが歯根膜中のセメント質近傍に多く観察されること、またその出現率は部位により異なることが明らかとなった。過剰咬合に対する出現率が部位特異的に変化することから、機械的刺激に対する歯根膜の部位特異的な応答にプライマリー・シリアが関与している可能性が示唆された。

P1-25

咬合負荷が抜歯即時埋入チタンインプラント周囲の骨組織に与える影響について

○池田 欣希¹、長谷川 智香²、網塚 憲生²、横山 敦郎¹ (1)北大 院歯 口腔機能補綴、²北大 院歯 硬組織発生物)

【目的】インプラント臨床では埋入後早期や即時の機能負荷が行われているが、その際のインプラント周囲骨組織の反応については不明な点が多い。そこで我々は、埋入後早期の咬合負荷がインプラント周囲骨組織に与える影響について組織化学的に検索した。【方法】生後4週齢の雄性Wistar系ラットの上顎左側第一臼歯を全身麻酔下で抜歯し、チタンスクリュー（以下インプラント体）を即時埋入した。実験群には、埋入1週または2週後にインプラント体上部に接着性レジンを追加して咬合負荷を与え、対照群には咬合負荷を与えなかった。咬合負荷1週後にアルデヒド固定し、パラフィン切片を作製後、ALP、TRAP、オステオカルシン(OCN)、オステオポンチン(OPN)の免疫組織化学を行った。【結果と考察】対照群及び実験群ともにスクリューのスレッド間には新生骨が形成されていたが、1週及び2週ともに実験群では、対照群と比較して、スレッド間における骨梁が太く骨梁間が減少する傾向がみられた。TRAP陽性破骨細胞やALP陽性骨芽細胞の局在性は実験群と対照群の間で差異は認められなかったが、骨梁におけるOCN陽性・OPN陽性セメントラインは、対照群では太く複雑な鋸歯状を示すのに対し、実験群では細く滑らかな走行を示す傾向が認められた。以上から、埋入後早期の適度な咬合負荷は骨改造を緩やかにし、スレッド間の骨梁の太さを増加させる可能性が示唆された。

P1-27

ラット頭蓋骨発生・成長過程における骨基質石灰化の成熟に関する検討

○逸見 晶子¹、大方 広志²、三上 靖人¹、鈴木 治³、笹野 泰之¹ (1)東北大 院歯 顎口腔形態創建、²東北大 院歯 歯内歯周治療、³東北大 院歯 顎口腔機能創建)

【目的】骨発生における石灰化の成熟については知見が乏しい。本研究では、発生・成長期のラット頭蓋骨を構成する元素の分布と相対的濃度及び結晶構造の解析を行い、骨基質の石灰化を検討することを目的とした。【方法】胎生16、18、20日齢、生後1、6週齢のラットを固定し、頭部を試料とした。その後、試料を非脱灰で凍結包埋して頭蓋骨前方部まで前頭方向に切片を作製し、組織学的に検討した。切片を得た凍結包埋試料を凍結乾燥し、断面を対象に分析走査電子顕微鏡(SEM-EDX)を用いて構成元素(Ca、P、C)の分布と相対的濃度を解析した。さらに、X線回折(XRD)により、各発生・成長段階のラット頭蓋骨基質の石灰化物の結晶構造を解析した。【結果】組織切片上で、胎生16日に頭蓋骨の形成が認められた。SEM-EDXによる分析では、骨組織に一致してCaとPの集積が見られ、その他の部位にCの集積が見られた。骨基質における元素濃度比Ca/Pは胎生16日で低く、発生・成長に伴い上昇する傾向が見られた。また、C/Ca、C/Pは胎生16日で高く、胎生18日以降は低下した。さらに、XRDによる解析では、胎生16日以降生後6週に至る過程で骨基質の石灰化物の結晶構造が成熟することが示された。【結論】ラット頭蓋骨は発生・成長過程で、有機質の相対的な減少を伴いながら石灰化が進行し、非晶質リン酸カルシウムから低結晶性のアパタイトに成熟する。

P1-26

C2C12培養筋芽細胞の増殖におけるmiR-29の役割について

○千見寺 亮吉¹、山根 明²、安藤 準²、五味 一博¹ (1)鶴見大 歯 歯周病、²鶴見大 歯 物理)

【目的】C2C12培養筋芽細胞を用いた研究から、miR-29がHDAC4を介し分化を抑制していることがすでに報告されている。本研究の目的は、C2C12の増殖におけるmiR-29の役割を明らかにすることである。【材料および方法】C2C12培養筋芽細胞を10%ウシ胎児血清含有培養液中で、3~4日間培養した。細胞増殖をMTT比色法、miR-29aの発現をReal-time PCR法により調べた。さらにmiR-29aに対するインヒビター(mirVanaTM miRNA inhibitor, Life technologies)を培養液に添加し、C2C12の増殖に及ぼす影響について調べた。【結果】C2C12の増殖は培養開始後1日目にはわずかに増加し2~4日で顕著に増加した。4日目は培養開始時と比較し4倍以上増加していた(p<0.01)。また、miR-29aの発現量は培養開始時と比較し1日目に約12倍に増加し(p<0.05)、2日目以降の急激に減少した。miR-29aに対するインヒビターで処理したC2C12の増殖は2日目以降にネガティブ・コントロールで処理したC2C12と比較して約60%抑制されていた(p<0.01)。【結論】以上の結果より、miR-29aがC2C12の増殖調節機序に関与している可能性が示唆された。

P1-28

骨格筋筋芽細胞シートへの間葉系細胞の影響

○梅澤 貴志¹、山根 茂樹¹、井出 吉信¹、阿部 伸一¹ (1)東歯大 歯 解剖)

【目的】我々はこれまでに日本家兎口腔粘膜上皮細胞シートと骨格筋筋芽細胞シートを積層した上皮細胞-筋芽細胞ハイブリットシートを開発し、構造維持に重要な細胞骨格タンパクや接着タンパクの観察を行ってきた。現在は上皮細胞シートと筋芽細胞シートの間に関葉系細胞の層を挟んだより正常組織に近い三層構造の積層シートの作製に取り組んでいる。今回は日本家兎骨格筋筋芽細胞と間葉系細胞を様々な条件で共培養を行い、間葉系細胞が骨格筋筋芽細胞の増殖、分化に与える影響を検討した。

【方法】6ウェルプレートインサート上に日本家兎口腔粘膜から分離した骨格筋筋芽細胞を播種したものを用意し、コラーゲンゲルの有無ならびに日本家兎より採取した間葉系細胞との共培養の有無による影響について検討した。間葉系細胞はコラーゲンゲル内で培養した場合とセパレート培養した場合についても影響を観察した。培養後筋芽細胞シートを回収し、凍結切片による組織学的な観察を行った。

【結果】間葉系細胞と共培養することによって、日本家兎由来骨格筋筋芽細胞は形態学的に差異が生じることがわかった。また、コラーゲンゲルを積層することによっても形態学的な変化が観察された。

【考察】骨格筋筋芽細胞シートの作製においては間葉系細胞との共培養、細胞外マトリックスの重要性が示唆された。今後は間葉系細胞の骨格筋筋芽細胞に対する影響の機序の容細な検討が必要であると考えられた。

P1-29

歯牙発生過程における Tie2/Ang1 の局在の検索
 ○中島 和慶¹、柴田 恭明²、澤瀬 隆¹、池田 通² (¹長大 院医歯薬 口腔インプラント、²長大 院医歯薬 口腔病理)

Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 2 (Tie2)は、血管内皮細胞に発現する受容体型チロシンキナーゼで、そのリガンド Angiopoietin1 (Ang1)は血管支持細胞から分泌され、パラクラインな機序によって血管の新生や安定化に関与する事が知られているが、両分子の歯牙における局在は明らかにされていない。今回我々は、マウス下顎第一大臼歯発生過程における両者の局在を観察した。Tie2は胎生18日目(E18)に、象牙芽細胞頭頂側で発現が開始した。生後1日目(P1)では、Tie2は象牙基質に埋入した象牙突起に局在し、その発現は成熟歯牙の象牙芽細胞でも維持されていた。Nestinとの免疫蛍光二重染色では、両者の局在は一致した。一方、骨芽細胞でのTie2の発現はみられなかった。Ang1は、E18では内エナメル上皮、前エナメル芽細胞、ならびに象牙芽細胞に局在した。P1では、Ang1は象牙基質に局在し、P3以降では、象牙前質ならびに管周象牙質に局在し、その発現は成熟歯牙においても維持された。以上の結果は、Tie2/Ang1が、パラクラインな機序で象牙芽細胞分化に関与する一方、成熟歯牙においてはオートクラインな機序で象牙質維持に関与する事を示唆した。

P1-30

唾液腺介在部導管細胞はCD117とCD66aを指標として分離できる
 ○竹山 旭¹、吉川 美弘²、池尾 隆²、森田 章介¹、檜枝 洋記³ (¹大歯大 院歯 口腔外科1、²大歯大 院 生化、³大歯大 院 生物)

【目的】唾液分泌障害の根本的治療法として幹細胞を利用した再生医療が期待されている。唾液腺上皮幹細胞は介在部や排出部導管に存在するが、唾液腺構成細胞を分離する方法が確立されていないため、詳しい性状はわかっていない。本研究では、細胞表面分子CD117とCD66aが唾液腺構成細胞を系統的に分離するための有用なマーカーであることを報告する。【材料・方法】成体マウス顎下腺の凍結組織切片および単一細胞標本をCD117、CD66a、腺房マーカーAQP5、導管マーカーCLDN4、基底・筋上皮マーカーCK5に対する抗体および蛍光標識2次抗体で染色し、共焦点レーザー顕微鏡観察およびFACS解析を行った。動物実験は大歯大動物実験規定に従った。【結果】顎下腺の腺房、介在部導管、線条/排出部導管の各細胞、そして基底・筋上皮細胞ではCD117とCD66aの染色強度が異なっていた。介在部導管細胞はCD117+CD66aHi、線条・排出部導管の一部の細胞はCD117+CD66aLoであり、これらの細胞をFACS分離できた。【結論】唾液腺上皮幹細胞の存在部位である介在部導管および線条・排出部導管の細胞を、生きたまま分離することに成功した。これらの細胞の分化能や唾液腺再生能、発現遺伝子を調べることによって、唾液腺幹細胞の性質を詳細に解析することが可能となり、唾液腺再生医療の確立に大きく貢献することが期待される。

P1-31

矯正の歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構
 ○村田 直久¹、五百井 秀樹¹、大内 雅博¹、合島 怜央奈²、沖 雄二²、山座 孝義²、高橋 一郎¹、城戸 瑞穂² (¹九大 歯 歯科矯正、²九大 歯 分子口腔解剖)

【目的】矯正歯科治療における予期せぬ歯根吸収の機構は解明されていない。我々は、九大病院矯正歯科における疫学調査において、歯根吸収とアレルギー疾患との間に有意な関連があることを見出した。アレルギー誘導性歯根吸収の機構解明を目的として、アレルギー惹起歯根吸収モデルラットを作製し、破骨細胞の誘導との関連が知られているTh17細胞関連サイトカインや脂質メディエーターの発現変化を検討した。【方法】6週齢BNラットにOVA感作を行い、アレルギー疾患モデルを作製した。14日後、上顎切歯と第一大臼歯間(M1)にcoil springを装着して矯正力を負荷し、24時間後にM1周囲歯槽骨を採取し、脂質およびRNAの抽出を行い、ELISA法および定量PCRを用いて解析した。【結果と考察】Coil springを装着したアレルギー群では、OVA非感作群、coil spring非装着群および無処置群と比較して、IL-17およびIL-23の発現上昇が認められた。さらに、ロイコトリエンB4などの脂質メディエーターの発現量の上昇が認められた。これらの結果から、アレルギー惹起による歯周組織中のTh17細胞関連サイトカインや脂質メディエーターなどのバランスの変化が、歯の移動による破骨細胞の分化誘導を伴う歯根吸収に影響していることが示唆された。

P1-32

ジルコニア上で培養したC2C12細胞の骨芽細胞分化能
 ○斉藤 まり¹、唐木田 丈夫²、山本 竜司²、長野 孝俊¹、五味 一博^{1,2}、大井田 新一郎² (¹鶴見大 歯 歯周病、²鶴見大 歯 分子生化)

ジルコニアは優れた生体適合性や高い機械的強度を有するセラミックスであり、歯科インプラントのアパットメント(支台部)として応用されている。【目的】今回我々は、ジルコニアのフィクスチャー(歯根部)としての適応性を調べるために、ジルコニア、チタン及びガラスディスク上でマウス未分化筋芽細胞株であるC2C12細胞を培養し、細胞増殖能及び骨芽細胞分化能について比較検討することを試みた。【材料及び方法】C2C12細胞をそれぞれのディスク上に播種し、10%FBS含有αMEM培養液中で培養して細胞増殖能を測定した。また、石灰化誘導培地(アスコルビン酸、β-グリセロリン酸、BMP2、レチノイン酸含有)を用いて培養し、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性、アリザリンレッド(ARS)染色、カルシウム量の測定を行うことで骨芽細胞分化能を検討した。【結果と考察】細胞増殖能、石灰化誘導時のALP活性及びARS染色像において、ジルコニアディスク上で培養した細胞は、チタン及びガラスディスク上で培養した細胞とはほぼ同じ所見が得られ、骨芽細胞への分化が認められた。これらの結果は、フィクスチャーにおけるジルコニアの歯科インプラント材料としての将来的有用性を示唆している。

P1-33

Sp7による骨芽細胞分化機構と自己プロモーター制御

○小守 寿人¹、宮崎 敏博¹、森石 武史¹ (長大院医歯薬 細胞生物)

Runx2は骨芽細胞の後期分化を抑制するが、Sp7の機能は完全には解明されていない。今回骨芽細胞分化におけるSp7の役割を追及した。Runx2は、Runx2-/-の頭蓋冠由来細胞においてSp7の発現を誘導した。Sp7発現アデノウイルスの導入は骨芽細胞の後期分化段階でBglap2発現と石灰化を抑制、初期培養骨芽細胞へのsh-Sp7発現アデノウイルス導入は、Alpl、Colla1、Bglap2の発現及び石灰化を減少させた。2.3 kb Colla1プロモーターSp7トランスジェニック(tg)マウスでは骨量が減少、皮質骨は線維骨様を示し、骨芽細胞密度は増加、骨形成は低下していた。また、骨芽細胞及び骨細胞突起の減少が見られた。骨芽細胞におけるCol1a1、Spp1、Ibsp、Bglap2の発現は低下、BrdUの取り込み頻度は増加していた。さらに、Sp7 tgマウスおよびRunx2 tgマウスで低下していた骨量は、Sp7/Runx2ダブルtgマウスでさらに低下、Colla1とBglap2の発現も低下していた。Sp7とRunx2の発現誘導はそれぞれRunx2 tg、Sp7 tgマウスで認められなかった。Sp7 tgマウスとSp7を導入した細胞では内在性Sp7の発現が増加していた。Sp7の導入はSp7プロモーターを活性化、sh-Sp7の導入は抑制した。そして、チップアッセイで、Sp7プロモーター近傍領域に内在性Sp7の結合が検出された。これらの結果から、Sp7とRunx2はそれぞれRunx2とSp7に依存しない方法で、後期骨芽細胞の分化を抑制し、Sp7が正に自身のプロモーターを調節することが示された。

P1-35

大脳皮質形成におけるステロイドホルモンの局在と役割

○駒田 致和¹、池田 やよい¹ (愛院大 歯 解剖)

大脳皮質はヒトで最も高度に発達させてきた器官であり、様々な神経機能を支配している。胎生期の適切な時期に適切な数と種類の神経細胞が形成されることで構造、機能ともに成熟した大脳皮質が形成される。その発生機構は転写因子や液性因子をはじめ、多くのシグナル因子によって調節されている。つまり、この調節因子が様々な要因によって阻害され、組織・機能的に大脳皮質の発生・成熟が阻害されると、様々な精神・神経疾患や高次脳機能障害の原因となることが予想できる。これまでに我々は、大脳皮質の発生においてエストロゲン様作用を引き起こす内分泌かく乱物質の胎児期曝露によって、大脳皮質の形成異常が引き起こされることを報告してきた。エストロゲンレセプターのノックアウトマウスの解析などにより、エストロゲンが脳の発生や成熟に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、大脳皮質の発生における役割には不明な点が多い。本研究課題では、ステロイドホルモンの産生を調節する転写因子であるSteroidogenic factor-1(SF-1)ノックアウト(KO)マウスをステロイドホルモン欠損モデルマウスとして、大脳皮質形成におけるエストロゲンの役割の直接的な解明を試みた。大脳皮質におけるエストロゲンやエストロゲン産生酵素の分布や存在を発生時期特異的に解析するとともに、SF-1KOマウスの大脳皮質形成における異常を組織学的に詳細に解析したので報告する。

P1-34

iPS細胞を用いた歯胚組織再生

○坂野 深香¹、大津 圭史¹、藤原 尚樹¹、原田 英光¹ (岩医大 解剖 発生生物・再生医学)

[背景、目的] 人工多能性幹細胞(iPS細胞)は歯科再生医療のための細胞ソースとして注目されている。我々は以前、iPS細胞から分化誘導した神経堤細胞(NCLC)が、歯原性間葉細胞や歯系幹細胞に分化する能力を持つことを示した。そこで本研究ではNCLCが、歯胚上皮組織と共培養することで歯を構成する細胞に分化し、3次元的な歯胚構造を構築できるかを検討した。[方法] iPS細胞から分化させたNCLCと胎生14.5日齢ddYマウス臼歯上皮組織をsemi-solid medium上で8日間共培養し、その後ddYマウス腎被膜下に移植した。移植15日後に試料を摘出、固定、脱灰した後、パラフィンに包埋し切片を作成した。作製した切片に対してH-E染色、象牙芽細胞マーカー(DSP, DMP1, Nestin)に対する免疫染色を行った。[結果] 培養8日後、歯胚上皮組織とNCLCとの共培養体は3次元的に歯胚様の外観を呈していた。またマウス腎被膜下移植後の組織切片ではH-E染色にて歯胚の組織像が観察され、細胞突起をもつ象牙芽細胞様の細胞はDSP, DMP1, Nestin陽性であった。[結論] 本研究より、iPS細胞から分化誘導した神経堤細胞が象牙芽細胞へと分化し、3次元的な歯胚組織を形成できることがわかった。このことから将来この細胞が、歯の器官再生に有用であることが示された。

P1-36

象牙芽細胞における一次繊毛形成遺伝子IFT88の生理機能の解析

○河田 かずみ¹、竹田 扇¹ (山梨大 院医工 解剖細胞生物)

一次繊毛は細胞外環境を感知するセンサーとして機能することが知られており、象牙芽細胞を含む、体を構成する殆どの細胞に存在する。一次繊毛の形成に関与するものとして、Intraflagellar transport protein (IFT) 88が知られているが、これは同時に細胞分裂にも関わっていることが近年報告されている。今回、我々は、象牙芽細胞においてIFT88の新たな生理機能の一端を示す知見を得たので報告する。象牙芽細胞株KN-3細胞においてIFT88をノックダウンし、一次繊毛欠損KN-3 (sh-IFT88 KN-3)細胞を作製した。細胞播種後1日のsh-IFT88 KN-3細胞において、細胞接着・増殖速度はいずれも低下を示した。これは、KN-3細胞にPI3K inhibitorの添加時と同様の結果であった。また、細胞播種後4日のsh-IFT88 KN-3細胞において、象牙芽細胞分化マーカー遺伝子の発現の増加、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性の抑制が確認された。また、初代象牙芽細胞の分化の進行と共に一次繊毛を有する細胞数は一旦は上昇を見せるものの、次第に減少することが明らかとなった。以上の結果から、象牙芽細胞において、IFT88は増殖期にはPI3Kシグナルを介して細胞接着・速度を制御し、分化初期には一次繊毛特異的シグナルの受容を介して象牙芽細胞の分化を制御する可能性が強く示唆された。

P1-37

Runx/Cbfb シグナリングはアンドロゲン代謝を介した唾液腺の雌雄二形性発現を制御する
 ○伊藤 慎将¹、柳田 剛志²、山城 隆³ (1) 大阪大学歯学部 歯科矯正、(2) 大阪大学病院 矯正歯、(3) 大阪大学歯学部 顎顔面口腔矯正)

【背景】唾液腺は雌雄二形性を示す特徴的な組織である。齧歯類の唾液腺介在部に接する導管の末梢部に、特殊な細胞内顆粒をもつ上皮からなる顆粒管が存在する。その形成は成熟した雄に特有であり、未成熟期の精巣摘出によりその構造は失われる。また唾液腺疾患の罹患に性差があることが知られており、唾液腺の雌雄二形性を決定づける分子機構の解明は、臨床的にも重要である。

【方法】Runx 分子の共役因子である Core binding factor β (Cbfb) を上皮特異的に欠損させたコンディショナルノックアウトマウス (*Cbfb^{tm1a}*) を作成し、唾液腺を解析した。組織学的解析は、*in situ* hybridization 法および免疫組織染色を用い、遺伝子発現解析は、リアルタイム RT-PCR 法を用いて行った。

【結果】*Cbfb^{tm1a}* では、35 日齢の雄の顎下腺において顆粒管が消失していた。*Cbfb^{tm1a}* の顎下腺では、顆粒管細胞のマーカーである *Klk-1* の著しい発現低下がみられ、またアンドロゲン (AG) レセプターのマーカーである *Crisp-3* の発現も低下していた。さらに *Cbfb^{tm1a}* は、AG レセプターの活性化補助因子である Stat-3 のリン酸化が有意に減少しており、同時に AG を活性化させる 5α リダクターゼの発現低下がみられた。

【考察】Runx シグナルは、齧歯類の顎下腺の顆粒管形成において、AG レセプターの活性化補助因子である Stat-3 のリン酸化と、 5α リダクターゼの発現維持を介してアンドロゲンの作用機序制御に関与していることが示唆された。

P1-39

ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布と破骨細胞に対する影響
 ○佐々木 宗輝¹、本郷 裕美¹、小林 幸雄²、坂本 尚義²、網塚 憲生¹ (1) 北大 院歯 硬組織発生生物、(2) 北大 創成研)

【緒言】近年、骨粗鬆症の治療にもちいられる月一回経口投与のビスフォスフォネート製剤が破骨細胞や骨芽細胞に与える影響を明らかにするため、我々は同位体顕微鏡でミノドロン酸の骨組織分布を観察すると共に破骨細胞の変化を組織化学的に検索した。【材料と方法】生後 8 週齢の雄性 ICR マウスに安定同位体である ¹⁵N を標識したミノドロン酸を外頸静脈から投与し、3 時間、24 時間、1 週間、1 ヶ月後に灌流固定を行いパラフィンまたはエポキシ樹脂に包埋した。切片作成後、同位体顕微鏡によるミノドロン酸の骨組織分布の観察、ならびに ALP/TRAP、TRAP/カテプシン K の二重染色を行った。【結果と考察】ミノドロン酸は骨幹端骨梁の形成面ならびに吸収面の両方の骨表面に認められた。投与直後から 1 週間後では成長板近くの一次骨梁表面に、1 ヶ月後では二次骨梁の骨表層内部に局在する傾向を示した。ミノドロン酸投与 24 時間以内では、ALP/TRAP および TRAP/カテプシン K の局在性は大きく変化しなかった。しかし、1 週間・1 ヶ月後では、破骨細胞における TRAP とカテプシン K の局在が一致しなくなり、一部、アポトーシスを示した。ALP 陽性骨芽細胞は、1 週間後では扁平化した。1 ヶ月後ではふくよかな形態を示すものが局所的に観察された。従って、ミノドロン酸は、骨質に広範囲に結合すること、骨吸収抑制があるが破骨細胞の障害性が低いことから、骨芽細胞とのカップリングを維持するものと推測された。

P1-38

Simvastatin がマウス歯肉線維芽細胞由来 iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響
 ○大川 博子¹、江草 宏¹、矢谷 博文¹ (1) 大阪大学歯学部 クラウンブリッジ補綴)

【目的】本研究の目的は、simvastatin が iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響を検討することである。【方法】成体マウスから分離培養した歯肉線維芽細胞を用いて作製した iPS 細胞 (mGF-iPSCs) を、1 μ M simvastatin 含有骨芽細胞分化誘導培地にて 28 日間培養し、RT-PCR 解析を用いて骨芽細胞分化特異的遺伝子 (osteocalcin, collagen 1, osterix) の発現を検討するとともに、Alizalin Red 染色により細胞外基質の石灰化を観察した。また、simvastatin の mGF-iPSCs に対する細胞毒性および増殖能に及ぼす影響を、WST-1 細胞増殖および細胞生存アッセイを用いて検討した。さらに、mGF-iPSCs の三次元細胞凝集体を作製し、1 μ M simvastatin 含有骨芽細胞分化誘導培地にて 30 日間分化誘導後、SCID マウス皮下へ移植した。移植 28 日後に、移植細胞による異所性の骨形成を組織学的に評価した。【結果】simvastatin は、mGF-iPSCs の骨芽細胞分化特異的遺伝子の発現および細胞外基質の石灰化を著明に促進した。また、simvastatin は 0.01-1 μ M の濃度範囲で mGF-iPSCs の増殖を濃度依存的に抑制した。さらに、simvastatin 存在下で骨芽細胞へ分化誘導した細胞移植体の内部には、非添加の場合と比較してより成熟した骨組織の形成を認めた。【結論】本研究の結果、simvastatin は mGF-iPSCs の骨芽細胞分化を促進し、mGF-iPSCs による異所性骨形成を促進することが明らかとなった。

P1-40

骨細胞は interferon- β (IFN- β) を産生し破骨細胞形成を負に制御する
 ○林田 千代美¹、伊東 順太¹、中谷地 舞²、岡安 麻里²、大山 洋子³、羽毛田 慈之¹、佐藤 卓也¹ (1) 明海大 歯 形機成 口腔解剖、(2) 明海大 歯 形機成 歯科矯正、(3) 明海大 歯 病診治 口腔顎顔面外科 1)

【目的】骨細胞による破骨細胞 (OC) 形成調節について、株化骨細胞 MLO-Y4 の培養上清 (MLO-Y4-CM) 及び骨細胞を高純度を含む骨片 (OEBF) の新規培養法を用いて検討した。【方法】OC 形成の評価は、骨髄細胞から M-CSF により OC 前駆細胞 (OCP) を誘導、さらに可溶性 RANKL を加え OC を誘導する系を用いた。OEBF は、5 週齢マウス大腿骨骨幹を 2 mm \times 3 mm の骨片にし、骨片表面の細胞をコラゲナーゼ/EDTA 処理で除去し調製、トランスウェルプレートインサートウェル上で器官培養法に準じ培養した。【結果と考察】OCP 形成期に MLO-Y4-CM 存在下で誘導した細胞では、*double-stranded RNA protein kinase (PKR)* mRNA の発現亢進、可溶性 RANKL が産生を促進する c-Fos の翻訳阻害及び OC への分化能の低下が見られた。これら MLO-Y4-CM の作用は抗 IFN- β 中和抗体の添加で一部解除された。インサートウェル上の OEBF と骨髄細胞を OCP 形成期のみ共存培養すると OC 形成は抑制され、この抑制は抗 IFN- β 中和抗体添加で一部回復した。実際、MLO-Y4 細胞及び OEBF は IFN- β mRNA を発現していた。また、OPG 欠損マウス由来の OEBF も OC 形成を抑制した。以上の結果から、骨細胞は IFN- β を産生し OC 形成を抑制することが示唆された。

P1-41

レクチン様酸化 LDL 受容体-1 (LOX-1) の破骨細胞形成と炎症性骨破壊に対する役割の解明

○伊東 順太¹、中谷地 舞^{1,2}、林田 千代美¹、岡安 麻里^{1,3}、大山 洋子^{1,4}、佐藤 卓也¹、羽毛田 慈之¹ (明海大 歯 口腔解剖、²明海大 歯 歯科矯正、³東大 医 口腔外科・歯科矯正歯科、⁴明海大 歯 口腔外科一)

【目的】我々は細胞外 LDL が破骨細胞形成に必須であることを明らかにしてきた。しかし、骨代謝と脂質の関連には未だ不明な点が多く残る。そこで本研究では、破骨細胞形成と炎症性骨破壊に対する酸化 LDL 受容体の役割を解明するために、レクチン様酸化 LDL 受容体-1 (LOX-1) および scavenger receptor class A (SRA) の遺伝子欠損 (KO) マウスと野生型 (WT) マウスを用いて検討した。【方法】3 系統の骨髄細胞からの破骨細胞形成を *in vitro* で測定した。また、各マウスの頭蓋骨骨膜下に LPS を 5 日間投与した炎症性骨破壊モデルを作製し、頭蓋骨における破骨細胞形成関連因子の mRNA の定量を行った。【結果】SRA KO の *in vitro* の破骨細胞形成は WT と同等であったが、LOX-1 KO において、細胞融合促進によって破骨細胞形成が増加した。一方、頭蓋骨における TRAP、Cathepsin K、NFA Tc1 mRNA の発現は WT と SRA KO では LPS で同等に増加したが、LOX-1 KO では LPS による遺伝子発現誘導は小さいものであった。この時各マウス間の LPS による TNF- α 、RANK mRNA 発現誘導に差はなかったが、RANKL mRNA は、LOX-1 KO でその発現誘導が減少した。【結論】LOX-1 は潜在的に破骨細胞抑制因子であるが、炎症部位において、RANKL 発現が LOX-1 依存的に調節されることが示唆された。

P1-43

ラット三叉神経節における endomorphin-1 の分布; 免疫組織化学的手法による検討

○矢島 健大¹、佐藤 匡²、齋藤 正寛¹、市川 博之² (東北大 院 歯 歯科保存、²東北大 院 歯 口腔器官構造)

endomorphin (EM) は μ オピオイド受容体に特異的に結合するペプチドである。EM-1 は脳に広く分布し、EM-2 は脊髄に含まれていることが知られている。しかしながら末梢組織における EM の分布については不明な点が多い。本研究では、ラット三叉神経節における EM-1 の分布を免疫組織化学的手法である ABC 法により調べた。三叉神経節においては、EM-1 を発現する一次感覚ニューロンが豊富に存在していた (40.4%)。これらのニューロンは小型から中型であった。小型のニューロンでは 79.9%、中型のニューロンでは 37.6% が EM-1 を発現していた。EM-1 を含む大型のニューロンは非常に稀であった (5.5%)。さらに、侵害受容ニューロンのマーカーである calcitonin gene related peptide (CGRP) と EM-1 との関係は蛍光二重染色法により調べたところ、多くの小型ニューロンでこれらの物質の共存が認められた。また、逆行性トレーサーである Fluorogold (FG) を用いて、三叉神経節における EM-1 陽性ニューロンの支配領域についても調べた。FG をラット顔面皮膚あるいは歯髄に注入し、三叉神経節における FG 陽性ニューロンでの EM-1 の発現について比較した。顔面皮膚を支配するニューロンの一部では、EM-1 の発現が観察されたが、歯髄を支配するニューロンでは非常に稀であった。以上の結果から、EM-1 が三叉神経節において侵害刺激の伝達に関与することが示唆された。

P1-42

粉末食を与えて飼育したマウスの下顎骨形態変化
○柳田 剛志¹、久保田 聡²、滝川 正春²、山城 隆³ (¹岡大病院 矯正、²岡大 院医歯薬 口腔生 化、³阪大 院歯 顎顔面口腔矯正)

【背景】不正咬合の頻度は歴史的に見て増加している。これは咀嚼機能が低下し顎骨が退化縮小した結果であると言われている。しかしこのような環境因子が、どのように骨の形態に影響を及ぼすのか不明である。硬さの違う食餌で飼育すると、ウサギやラットの顎骨形態に変化が生じることは報告されているが、顎骨形態決定の分子生物学的解析を効率的に進めるためには、マウスで同様のモデルを作成する必要がある。ところが、マウスのような小さな動物では、従来の単純 X 線装置で骨格の変化を観察することは難しかった。【方法】離乳直後より、固形状マウス試料で 2 週間飼育した生後 5 週齢のオス ICR マウスと、粉末状マウス試料で飼育したオス ICR マウスを使用して解析を行った。実験動物用 X 線 CT 装置 (ラシータ LCT-200、日立アロカ社) にて撮影したデータを、3D 解析ソフト (VGStudio MAX 2.0、ポリウムグラフィクス社) を用いて立体構築を行った。その後、セファログラム分析法を用いてサンプル間の比較を行った。【結果と考察】非破壊的にマウスの顎骨の形態を詳細に解析し、食餌の硬さの違いがマウスの顎骨形態形成に影響を与えることを明らかにした。粉末食を与えたマウスは骨格性ハイアングルの形態的特徴を有していた。今後、このモデルマウスを用いて顎骨形態決定の分子生物学的解析をすすめていく予定である。尚、本研究は JSPS 科研費 24792284 の助成を受けて実施したものである。

P1-44

ヒト上顎骨における大口蓋管の観察

○大峰 悠矢¹、福田 真之¹、野口 拓¹、木下 英明¹、松永 智¹、井出 吉信¹、阿部 伸一¹ (¹東 歯大 歯 解剖)

【目的】上顎臼歯部におけるインプラント治療では、骨が十分に存在するため上顎結節部に支持が求められることが多い。上顎結節部や周囲構造には不明な点が多く残されており、局所解剖学的な検索を行った。【方法】東京慈恵会医科大学所蔵の平均年齢 28.2 歳の日本人頭蓋骨のうち、有歯顎 20 体 40 側を用いた。マイクロ CT にて撮影を行ったのち、三次元立体構築を行った。基準平面は HIP 平面に設定した。その後、大口蓋管の長径 l、前後径 a、幅径 b、体積 v および基準平面とのなす角度 $\theta 1$ について計測を行った。さらに大口蓋管を定点 K、L、M で前頭断したのち、上顎結節部から大口蓋管への距離 d および基準平面と d のなす角度 $\theta 2$ 、上顎第二大白歯遠心辺縁線と大口蓋管への距離を結ぶ線と基準平面とのなす角度 $\theta 3$ を計測した。【結果と考察】大口蓋管を底面とし翼口蓋窩の最下点に至る円錐状の構造が認められた。l は 9.8 ± 0.8 、a は 2.3 ± 1.1 、b は 2.2 ± 1.4 ミリメートル、v は 47.6 ± 27.6 立方ミリメートル、 $\theta 1$ は $32.6 \pm 5.9^\circ$ であった。かつ d は 12.6 ± 2.8 ミリメートル、 $\theta 2$ は $49.8 \pm 12.1^\circ$ 、 $\theta 3$ は $51.0 \pm 11.1^\circ$ であった。上顎結節部のフィクスチャー埋入の場合、長径 14 ミリメートル以上、 $\theta 2$ に関して舌側に 60° 程度に傾斜させ埋入を進めた場合には、大口蓋管に近接する可能性があることが示唆された。

P1-45

両側性非対称にみられた顎二腹筋前腹の破格の一例

○山崎 洋介¹、磯川 桂太郎^{1,2} (1)日大 歯 解剖 2、2)日大 歯 総歯研 機能形態)

顎二腹筋前腹の破格は高い頻度で見られ、形態的なバリエーションがあることが知られる。その報告は古くからあり、症例報告も過去に数多い。本報告の顎二腹筋前腹の破格は、両側性にみられ、過剰筋束の数や形態が左右非対称であった。顎二腹筋異常の型別分類としての Zlabek(1933)および山田(1935)の分類に基づけば、右側は起始型と停止型の、左側は起始型の過剰筋束が存在する複合型となっていた。また顎二腹筋の正中縫線を跨ぎ、両側の顎二腹筋中間腱を繋ぐように走行する過剰筋束も存在した。18世紀以降の45の文献から、図や写真により示されている303症例と照合したが、同じ種類の筋異常の報告は無く、稀有な症例と考えられた。これら過剰筋束は、発生起源を同じくする顎舌骨筋の過剰筋束である可能性や、顔面神経の支配を受ける顎二腹筋後腹と関係する筋束である可能性もあるが、いずれの過剰筋束も左右顎二腹筋前腹の内側でかつ顎二腹筋前腹と同一平面内にあること、顎舌骨筋神経からの枝が過剰筋束の頭側から侵入することから、やはり顎二腹筋前腹の過剰筋束であると結論した。これら顎二腹筋前腹の過剰筋束は、第一鰓弓に由来する顎下部の複雑な形態形成を反映したものである。顎下部の解剖や臨床的施術は、本報告例を含めて顎二腹筋前腹の多様かつ種々の頻度で生じる破格を念頭に実施する必要がある。

P1-47

ヒト上顎骨白歯部皮質骨における生体アパタイト結晶配向性解析

○笠原 正彰¹、松永 智¹、井出 吉信¹、阿部 伸一¹ (1)東歯大 解剖)

【目的】骨質の一つである生体アパタイト (BAp) 結晶の配向性は、局所応力に対して骨量 (骨密度) よりも鋭敏に反応することから、骨強度を示す新しい指標として注目が集まっている。顎骨は、歯を介して様々な荷重を負担し再構築されるため、その複雑な構造特性を解明するのは困難であった。そこで我々は微小領域 X 線回折法を用いて BAp 結晶配向性地図を作製し、上顎骨における構造特性の定量的評価を行うことを目的とした。【方法】試料は正常咬合を有するヒト上顎骨とし、関心領域は第一大臼歯周囲の皮質骨とした。BAp 結晶配向性の計測は微小領域 X 線回折装置を用いて回折強度比を算出し、三次元的な評価を行った。【成績・考察】口蓋側皮質骨においては近遠心方向に、頬側皮質骨においては咀嚼方向・頬側口蓋側方向に優先配向性が得られた一方、頬側皮質骨においては咀嚼方向、頬側方向に優先配向性が得られた。この結果より、上顎骨において骨成長と異なる方向の BAp 配向性が示され、複雑な咀嚼荷重によるメカニカルストレスが上顎骨皮質骨に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

P1-46

一次求心ニューロンによる精製 A 型ボツリヌス毒素の取り込みと軸索輸送

○丸濱 功太郎¹、松香 芳三²、寺山 隆司¹、窪木 拓男³、杉本 朋貞¹ (1)岡大 院医歯薬 口腔機能解剖、2)徳大 院 HBS 咬合管理、3)岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)

【目的】我々は精製 A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) の疼痛抑制効果に着目し、これまでに末梢に投与した BoNT/A が神経障害性疼痛モデルラットの痛覚関連行動を軽減すること、また三叉神経節において神経伝達物質遊離を抑制することを報告した。しかし、神経障害性疼痛に対する臨床応用への期待が高まる BoNT/A が疼痛抑制効果を発現する詳細なメカニズムは未だ不明である。本研究では、末梢に投与した BoNT/A の三叉神経における取り込み機構ならびに輸送メカニズムを検討した。【方法】Sprague-Dawley 系ラットの培養三叉神経節細胞に蛍光標識した BoNT/A 重鎖を加え、細胞内における BoNT/A の局在を、またラット頬髭部中央に蛍光標識した BoNT/A 重鎖を投与し、摘出した三叉神経節細胞における BoNT/A の局在を共焦点レーザー顕微鏡装置にて観察した。【結果と考察】投与 20 分後、培養三叉神経節細胞内に標識の局在が観察された。また末梢投与 60 分後、同側三叉神経節細胞内において標識の局在が観察された。さらに、コルヒチン前投与により、三叉神経節細胞内の標識蛍光輝度が有意に低下した。本結果は、末梢に投与した BoNT/A が一次求心ニューロンに取り込まれ、軸索輸送により細胞体に到達することを示すものである。本研究は、輸送された BoNT/A が神経障害性疼痛の発症への関与が示唆される神経節内の神経伝達物質遊離を抑制する可能性を示唆するものである。

P1-48

温度感受性 TRP チャネルによる口腔粘膜の新しい創傷治癒機構

○合島 怜央奈^{1,2,3}、大崎 康吉¹、張 旌旗¹、木附 智子¹、村田 直久¹、城戸 瑞穂¹ (1)九大 院歯 分子口腔解剖、2)佐賀大 医 歯科口腔外科、3)佐賀大 医 生体構造機能 組織神経解剖)

【目的】TRPV3 チャネルは温度センサーとして知られ、32°C 以上の温かい温度で活性化される非選択的な陽イオンチャネルである。我々はこれまでに TRPV3 が口腔上皮細胞に高発現し、口腔内の温度環境を積極的に感知していることを明らかにしてきた。本研究では口腔粘膜に生じた傷の治りが速やかであることに着目し、この速やかな治癒に「口腔内の温度環境とそれを感受する TRPV3 チャネルが関与する」との仮説を立てた。【方法】C57BL/6 の上顎第一臼歯を抜歯する創傷モデルを作製し、創部での TRPV3 の発現を調べた。粘膜治癒に重要な役割を担う上皮細胞の増殖と TRPV3 の関係を明らかにするため、野生型マウス (WT) と TRPV3 遺伝子欠失マウス (V3KO) より調整した培養口腔上皮細胞を用い、TRPV3 を活性化する刺激が増殖能へ与える影響を調べた。また WT と V3KO における抜歯後の粘膜治癒を比較した。【結果と考察】創部粘膜では TRPV3 mRNA およびタンパクの発現が上昇していた。口腔上皮細胞を TRPV3 アゴニストで刺激すると細胞数が増加し、さらにアゴニストおよび温度刺激により細胞増殖マーカー陽性細胞数が増加した。また V3KO では WT と比較し口腔粘膜の増殖マーカー陽性細胞数が減少していた。さらに V3KO の粘膜治癒は WT より遅延していた。以上より、口腔粘膜には温度を感知する機能的な TRPV3 チャネルが発現し粘膜の創傷治癒に寄与している可能性が示唆された。

P1-49

口内炎モデルラットを用いた口腔内疼痛の新規評価法と発症メカニズムの解明

○人見 涼露¹、小野 堅太郎¹、稲永 清敏¹ (九歯大 歯 生理)

口内炎など口腔内に痛み伴う疾患に悩まされる人は多いが、これまで口腔内疼痛に関する動物実験はほとんど行われていない。おそらくそれは、動物における口腔内の疼痛評価が困難であるためと考えられる。そこで本研究では、酢酸により惹起した口内炎モデルラットを作製し、下唇粘膜の組織変化と、新たに開発したラット覚醒下における口腔内疼痛評価法を用いた機械および化学刺激に対する疼痛関連行動、組織の物質浸透性および三叉神経節細胞におけるチャネル発現について検討した。口内炎作製2日目では、粘膜上皮が剥離し、炎症性細胞が多く浸潤していた。侵害受容チャネル TRPV1 アゴニストであるカプサイシン溶液 (100 mM) およびクエン酸溶液 (100 mM) の口内炎部位へ滴下刺激により、口内炎発症2日目において有意に疼痛関連行動が増加した。口内炎部の機械的逃避閾値は、口内炎発症2日目以降に低下し、それはキシロカイン塗布によって抑制された。さらに、下唇粘膜深部組織への Fluorogold (FG) 浸透性および三叉神経節での FG 陽性細胞数は、健常粘膜と比較して口内炎粘膜では増加していた。下唇粘膜支配三叉神経節における TRPV1 または ASIC3 陽性神経細胞数に変化は認められなかった。以上より、口内炎によって炎症部位の組織浸透性が増加し、機械および化学的刺激に対する疼痛感受性亢進が起こる可能性が示唆された。

P1-51

口唇刺激による体性感覚誘発磁場第一成分の加齢変化に関する検討

○日原 大貴¹、金高 弘恭²、小枝 聡子³、後藤 哲⁴、高橋 哲⁴、斎藤 正寛¹ (1東北大院歯 歯科保存、2東北大院歯 歯イノベーション、3東医歯大院歯 顎口腔外科、4東北大院歯 顎顔面口腔外科)

目的：体性感覚誘発磁場は加齢により第一成分の潜時が延長し信号強度が増大することが正中神経を利用した研究で報告されているが、口腔領域での詳細な研究は行われていない。そこで本研究では、MEG (脳磁計) を利用して口唇刺激時の体性感覚誘発磁場第一成分の加齢変化を検討することを目的とした。対象：本研究の趣旨を説明し、インフォームドコンセントが得られた健常ボランティアを対象とした。若年者群 (20-27 歳) 男女 31 名、高齢者群 (63-76 歳) 男女 29 人とし、右利きで神経系の疾患の既往がない者を選択した。方法：左下唇に持続時間 0.3 ms の刺激を 0.7 Hz で 600 秒間加えた。15 ms 付近に現れる第一成分 N15m の頂点の信号源を単一電流双極子モデルで推定し、得られた信号源を被験者の MR 画像に表示し解剖学的中心溝に推定できた場合のみを評価の対象として、強度と潜時について 2 群間での比較を行った。結果：左下唇刺激時の N15m の潜時は若年者群 12.69 ms、高齢者群 15.47 ms と高齢者群で有意な延長が認められた。強度は若年者群 2.48 nAm、高齢者群 5.48 nAm と高齢者群で有意な増大が認められた。考察：口唇刺激時の体性感覚誘発磁場一次成分は加齢により変化することが示唆された。潜時の延長は加齢による末梢神経の機能低下、強度の増大は加齢による GABA 抑制系の減少が理由として考えられた。

P1-50

タンニン酸の舌刺激に対するラット舌神経と鼓索神経の応答

○美甘 真¹、兒玉 直紀²、美藤 純弘¹、小橋 基¹、皆木 省吾²、松尾 龍二¹ (1岡大院歯 口腔生理、2岡大院歯 咬合・有床義歯補綴)

[目的] タンニン酸 (植物性ポリフェノール) は渋味を惹起する代表的な物質である。従来より渋味は味覚の一部であるという考えと、口腔の体性感覚の一つであるという考えがある。現在のところ、味神経である鼓索神経から神経応答が記録されているが、体性感覚神経である舌神経からの記録は報告されていない。そこで、本研究ではタンニン酸による舌刺激を行ない、舌神経と鼓索神経から神経応答の記録を試みた。[方法] 成熟 Wistar ラットを用い、ウレタン麻酔下にて、気管カニューレを挿入し、左側の舌神経と鼓索神経を剖出した。それぞれの神経の切断末梢側から求心性神経活動をワイヤー電極にて記録した。舌の刺激は、タンニン酸 (0.3 mM, 1 mM, 3 mM, 10 mM, 30 mM)、100 mM NaCl、冷水 (4℃) であり、冷水以外の溶液は室温 (20~25℃) とした。[結果と考察] 舌神経と鼓索神経は、タンニン酸刺激により濃度依存性に応答した。閾値はそれぞれ 0.1 mM から 0.3 mM であった。鼓索神経ではその全神経束から応答の記録が可能であった。一方、舌神経では全神経束からの記録は不可能であり、分離した細い神経束から記録可能であった。また舌神経のタンニン酸応答神経束は冷水にも応答した。この所見は、比較的細い神経が関与するポリモデル受容器が渋味を受容することを示唆している。

P1-52

ラット最後野ニューロンのシナプス前 CCK 受容体を介した興奮性調節

○菅田 真吾¹、平井 喜幸¹、前澤 仁志¹、船橋 誠¹ (1北大 院歯 口腔生理)

[目的] コレシストキニン (CCK) は上部消化管から分泌される摂食抑制ペプチドホルモンであると同時に、神経伝達物質として末梢および中枢のニューロンでも産生される。CCK 受容体は脳内各部および延髄の最後野にも発現しているが、その受容機構については不明であった。そこで我々は、最後野ニューロンの CCK に対する応答の細胞内機序を明らかにするために本研究を行った。[方法] SD 系哺乳ラット (4-18 日齢) を用いて脳スライスを作成し、ホールセルパッチクランプ法により単一ニューロン活動を記録した。CCK-8 (10~1000 nM) 投与に対する膜電位変化およびシナプス電位を解析した。[結果] CCK 投与により最後野ニューロンにおいて微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) の発生頻度が増大し、振幅分布が振幅増加の方向へと変移した。また平均振幅の増大を認めた。持続的な内向き電流は検出されなかった。この応答は、過分極作動性カチオン電流 (H 電流) を示さない 24 ニューロンと H 電流を示す 2 ニューロンから記録された。抑制性の反応を示したニューロンはなかった。[考察] 最後野ニューロンの CCK に対する応答はシナプス前膜の CCK 受容体を介してグルタミン酸の放出を増加させることにより生じることが示唆された。また、H 電流を示さない最後野ニューロンが主として CCK 受容性を有することが明らかとなり、膜特性が異なる最後野のニューロン群で、機能が分化している可能性が示唆された。

P1-53

ラット中枢 GLP-1 の反射性嚥下におよぼす作用
 ○水谷 諭史¹、小橋 基¹、藤田 雅子¹、美藤 純弘¹、松尾 龍二¹ (大塚 院医歯薬 口腔生理)

【緒論】以前の研究で、我々はオレキシン-A を第四脳室内滴下投与することにより上喉頭神経由来の反射性嚥下が抑制され、この抑制は孤束核交連部のオレキシン 1 受容体を介して生じることを明らかにした。オレキシン-A は摂食亢進ペプチドであることが知られている。一方、Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) は摂食抑制ペプチドとして知られており、GLP-1 受容体は最後野や孤束核に存在する。そこで、今回我々は、GLP-1 を投与し、上喉頭神経由来の反射性嚥下におよぼす作用を調べた。【方法】実験にはウレタン・クロラロース麻酔下の SD ラットを用いた。上喉頭神経を剥離、切断し、その中枢端で 20 Hz の頻度で 20 秒間の電気刺激を与えることにより、嚥下反射を惹起した。GLP-1 はリンゲル液に溶解し、60 nL の溶液を延髄内に微量注入した。微量注入前後の初回嚥下潜時の変化と、刺激中 20 秒間の嚥下回数の変化を観察した。【結果および考察】最後野および孤束核交連部を含む部位への GLP-1 微量注入により、上喉頭神経由来の反射性嚥下が抑制された。一方で、嚥下起動神経群の存在する孤束周辺部 (dorsal swallowing group) に GLP-1 を微量注入しても反射性嚥下は抑制されなかった。これらの結果により、GLP-1 は最後野あるいは孤束核交連部のニューロンを介して反射性嚥下を抑制することが示唆された。

P1-54

麻酔下ウサギにおける自律神経活動変化が及ぼす開口反射への影響
 ○酒井 翔悟¹、辻 光順¹、真柄 仁¹、辻村 恭憲¹、井上 誠¹ (新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

【目的】低閾値刺激によって引き起こされる開口反射は咀嚼・嚥下時に抑制を受けることが知られているが、嚥下時における開口反射の変調メカニズムについては不明な点が多く残されている。本研究は嚥下反射を誘発する上喉頭神経 (SLN) 電気刺激や呼吸活動を変調させる KCN 投与時の開口反射の変調を観察し、嚥下中枢および自律神経系中枢と開口反射の変調との関連を考察する事を目的とする。【方法】ウレタン麻酔下 (1.0 g/kg, iv) のウサギを使用した。開口反射および嚥下反射の指標のために顎二腹筋、顎舌骨筋筋電図を記録し、下歯槽神経への電気刺激 (低閾値 1.5 T、高閾値 4 T) により開口反射を誘発した。自律神経活動の変調を目的に与えた上喉頭神経 (SLN) への連続電気刺激や KCN (200 μg, iv) の投与時の呼吸リズム (横隔膜筋電図)、脈拍 (心電図)、血圧 (大腿動脈)、開口反射の変調を観察した。【結果と考察】SLN 刺激時に観察された自律神経活動の変調と嚥下反射発現には関連を認めなかった。SLN 刺激や KCN の投与による自律神経活動変調時には低閾値刺激誘発性の開口反射の抑制が観察された。嚥下時の開口反射の抑制には、嚥下中枢に加え自律神経中枢の関与が示唆された。

P1-55

上喉頭神経同時刺激による嚥下誘発の促進
 ○高橋 功次朗^{1,2}、北川 純一²、山村 健介²、齋藤 功¹ (新大 院医歯 矯正、²新大 院医歯 口腔生理)

【目的】飲食物を嚥下する際に、食塊によって刺激される左右喉頭粘膜からの求心性情報が、嚥下中枢においてどのように処理されているかを電気生理学的に検討した。【方法】Wistar 系雄性ラット (200 - 400 g) を、ウレタン麻酔 (1.0 g/kg, ip) し、背位に固定した。その後、気管カニューレを挿入し、両側上喉頭神経を割出した。左右上喉頭神経の中枢端に双極ステンレス電極を取り付け、電気刺激 (10-100 μA, 1.0 ms, 10-70 Hz) を与え、誘発された嚥下反射の潜時を解析した。嚥下運動の指標には顎舌骨筋から導出した筋電図を用いた。【結果】両側上喉頭神経を同時に電気刺激した場合、上喉頭神経を単独で刺激した時に比べ、嚥下反射の誘発潜時の短縮が観察された。この両側上喉頭神経の同時刺激による嚥下反射の促進は、5 Hz 以下の低頻度刺激で有意であった。しかし、10 Hz 以上の頻度で同時刺激した場合、上喉頭神経を単独で刺激した時の嚥下誘発潜時と有意な差が認められなくなった。【考察】左右側からの上喉頭神経同時電気刺激が嚥下誘発を促進させるという結果は、嚥下中枢内での空間的加重を示している。すなわち、実際の摂食状態を考慮した場合、左右喉頭粘膜からの食塊による化学的および機械的な刺激による求心性情報が、嚥下中枢において加算され、嚥下反射に対する促進効果を高めていると考えられる。

P1-56

マウス味蕾における甘味特異的な GLP-1 の分泌
 ○高井 信吾¹、安松 啓子¹、吉田 竜介¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三¹ (九大 院歯 口腔機能解析)

近年、味細胞において様々な消化管ホルモンが発現しているという報告がなされている。この消化管ホルモンは味覚情報伝達機構に関与している可能性が示唆されているが、メカニズムは不明であり、その解明が急務となっている。今回我々は、腸管から分泌され、膵臓β細胞に働きかけてインスリン分泌を促すホルモンとして知られている GLP-1 に着目した。まずはじめに、免疫組織学的手法を用いて、マウス舌茸状乳頭味細胞における GLP-1 の発現を確認した。その結果、GLP-1 発現味細胞の約半数は、甘味受容体ヘテロダイマーを形成する T1R3 を共発現していることがわかった。一方、酸味受容細胞に存在すると考えられている GAD67 とは 15% 程度しか共発現が見られなかった。さらに、単一味細胞に記録電極を当て、活動電位を記録することが可能なルーズパッチクランプ法を用い、味刺激に対する細胞の 1 分間の応答を記録後、記録電極内溶液を回収、分析した。その結果、甘味刺激に対して応答する細胞から回収した電極内溶液中の GLP-1 濃度は、苦味に反応した細胞のそれよりも高値を示した。また、甘味刺激に応じ味蕾全体から分泌される GLP-1 量を測定した結果、甘味強度に依存して GLP-1 濃度は高くなる傾向を示した。以上の結果は、GLP-1 は特定の甘味感受性味細胞から、甘味刺激特異的に分泌されていることを示唆する結果である。

P1-57

三叉神経節内への A-タイプ K チャネル拮抗薬の電気泳動的投与による顎関節由来 A δ -C-三叉神経節ニューロンの興奮性増強効果について
 ○原 紀文¹、武田 守¹、高橋 誠之¹、松本 茂二¹ (1日歯大 生命歯 生理)

【目的】 *in vivo* において三叉神経節 (TRG) 内への A-タイプ K チャネル拮抗薬 (4-AP) の微小電気泳動的投与による顎関節支配の A δ -C-TRG ニューロンの興奮性が増強されるかについて、マルチバレル微小電気泳動・細胞外記録法を用いて電気生理学的に検討を行った。

【結果】 麻酔下のラット TRG より、顎関節部位の電気刺激に応じる A δ -及び C-TRG ユニット放電を記録した TRG 内への 4-AP の電気泳動的投与により大多数のユニットにおいて自発放電スパイクが誘導された。一方、顎関節部位電気刺激に誘発される A δ -C-TRG ユニットのスパイク放電頻度は 4-AP の投与電流依存的に有意に増強された。自発放電スパイクを誘発させる 4-AP 投与電流の平均的閾値は A δ -ニューロンに比較して C-ニューロンは有意に低い値を示した。顎関節電気刺激によるスパイク増大させる平均的閾値も A δ -ニューロンに比較して C-ニューロンは低い値を示した。

【考察と結論】 *in vivo* の条件下において TRG 内への 4-AP の電気泳動的投与により顎関節支配の TRG ニューロンの興奮性が増強し顎関節炎と同様、小型 TRG ニューロンの興奮性増強効果があることが判明した。4-AP 感受性は A δ -に比較して C-TRG ニューロンが高かった。したがって、顎関節を支配する C-TRG ニューロン A-タイプ K チャネルは A δ -TRG ニューロンに比較して顎関節炎随伴する疼痛により重要な役割を演じている可能性を示唆している。

P1-59

L-ヒスチジン腹腔内投与による摂食抑制と脳幹部神経活動の連関
 ○奥舎 有加^{1,2}、平井 喜幸¹、船橋 誠¹ (1北大 院歯 口腔生理、²北大 院歯 高齢者)

【目的】 我々は以前に、ヒスタミンの前駆体である L-ヒスチジンの腹腔内投与により生じる摂食抑制において、悪心や味覚異常は随伴していないことを報告した。本研究は、L-ヒスチジン誘発の摂食抑制と脳幹部神経活動との連関を明らかにすることを目的として行った。【方法】 SD 系雄性ラット (250~350 g) を用い、L-ヒスチジン (0.5、0.75 g/kg) を腹腔内に投与して摂食量を測定した。その後、4%パラホルムアルデヒドによる灌流固定を行い、脳を摘出し凍結ミクロトームを用いて厚さ 50 μ m の連続切片を作成した。c-Fos タンパクの発現を ABC 法により可視化する免疫組織化学的解析を行った。上述の実験を前迷走神経幹切離群についても行った。【結果】 L-ヒスチジン腹腔内投与により容量依存的に摂食量の有意な減少を認め、孤束核における c-Fos 陽性細胞数の増加が認められた。また、前迷走神経幹切離群では L-ヒスチジン腹腔内投与による摂食抑制は生じなかった。【考察】 L-ヒスチジン腹腔内投与による摂食抑制は孤束核ニューロン活動の増加を伴うことが明らかとなり、これらが迷走神経求心路からの入力によることが示唆された。

P1-58

ラットの舌を支配する三叉神経節ニューロンにおける TRPV1 と ANO1 の発現
 ○金澤 卓也¹、松本 茂二¹ (1日歯大 生命歯 生理)

【目的・方法】 Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) は侵害熱受容チャネルとして知られている。近年、Ca²⁺ activated Cl⁻チャネルの 1 種である Anoctamin 1 (ANO1) が脊髄後根神経節 (DRG) ニューロンにおいて、TRPV1 と高率に共存することが報告された。さらに、ANO1 の阻害によりカプサイシン誘発電流が減弱することから、これらのイオンチャネルが共役的に侵害受容に対して重要な役割を果たすことが示唆された。そこで、舌前方部を支配する三叉神経節 (TRG) ニューロンを逆行性ニューロントレーサーである Fluoro gold (FG) を用いて標識し、TRG ニューロンにおける TRPV1 と ANO1、侵害受容マーカーの 1 つである Substance P (SP) の発現と共存について、免疫組織化学的手法により検討した。

【結果】 TRG の FG 陽性細胞において、TRPV1 陽性細胞の多くは ANO1 も発現していた。さらに、TRPV1、ANO1 を共に発現している細胞は SP 陽性を示す傾向があった。

【結論・考察】 舌前方を支配する TRG ニューロンにおいて、侵害熱受容チャネルである TRPV1 と ANO1 の多くは共発現することが判明した。さらに、両チャネルが発現している細胞の多くは侵害受容マーカーの SP をも発現していた。従って、TRPV1 と ANO1 は共役的に舌の侵害受容に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

P1-60

マウス顎下腺の時計遺伝子、時計制御遺伝子と機能分子 mRNA の概日リズム
 ○内田 仁司^{1,2,3}、阪井 丘芳²、中村 渉¹ (1阪大院歯 口腔時間生物、²阪大院歯 顎治、³日本学術振興会)

唾液は摂食等の刺激により分泌量が増加する。一方、安静時唾液量は 1 日の時刻に応じて変化する。しかし、その日内変動の制御機構は明らかでない。本研究では、マウス顎下腺の遺伝子発現の時間変動を個体及び培養組織と比較検討し、唾液腺機能リズムの生じる機構を解明することを目的とした。概日リズムの測定は時計遺伝子 *Per2* 発光レポーターマウスから顎下腺を摘出して器官培養し、生物発光を連続的に記録した。マウス顎下腺 *PER2* 発現量は明瞭な概日リズムを示したが、1 週間の測定期間中にリズム振幅が減衰した。次に、マウス顎下腺を培養し 24 時間で 6 時間毎にサンプリングし、時計遺伝子 *Per2*、*Bmal1*、時計制御遺伝子 *Dbp*、機能分子 *Aqp5*、*Amy* の mRNA 量を定量して *in vitro* における発現変動を検討した。時計遺伝子 mRNA の発現量は明瞭な概日変動を示した。*Aqp5* と *Amy* mRNA も概日変動を示し、それらの発現タイミングは *Dbp* と同期していた。更に、マウス個体から 4 時間毎に 24 時間、各点で顎下腺を採取し、*in vivo* における mRNA 発現を定量して *in vitro* の発現リズムと比較した。*In vivo* において顎下腺の時計遺伝子 mRNA 発現は概日リズムを示した。一方、*Aqp5* mRNA は概日リズムを示したが、発現量のピークはマウスの活動期である夜間に位置し、*Amy* mRNA は概日リズムを示さなかった。以上の結果から、顎下腺機能の概日リズムは顎下腺自体の概日リズムをベースにして、中枢性の制御を受けていると考えられた。

P1-61

新生仔ラットの呼吸と循環にデクスメドミジン腹腔内投与が及ぼす影響

○田宮 旬子¹、佐伯 周子¹、井出 良治¹、松本 茂二¹ (1日歯大 生命歯 生理)

【目的】 α_2 アドレナリン受容体アゴニストであるデクスメドミジン(以下 DEX)は、新たな鎮静薬として成人に限らず小児領域にも普及しつつある。本実験では、新生仔ラットに DEX を腹腔内投与し、呼吸・循環系に起こる変化を調べた。

【方法】新生仔ラット(生後 2~4 日齢, n=10)を対象とした。実験当日、イソフルラン麻酔下で腹腔内に極細チューブ(直径 0.28 mm)を挿入・留置した。動物をチャンバーに静置し覚醒後、先ず安静状態で測定を行い、次にチューブを介して DEX (0.04 mg/kg、容量 0.013 ml/kg) を腹腔内投与し、10 分後に同様に測定した。呼吸測定にはニューモタコグラフを用い、1 回換気量(V_T)、呼吸数(f_R)、吸気時間(T_I)、呼気時間(T_E)を求めた。更に、皮下電極を用いて心拍数(HR)も算出した。

【結果】実験群(n=5)では DEX 投与により V_T の変化を伴わない f_R の有意な減少が認められ、分時換気量は有意に低下した。この f_R の低下は、主に T_E の延長によるものだった。更に、DEX 投与により HR の有意な減少も認められた。なお、生理食塩水のみを投与した動物(コントロール群, n=5)に有意な変化は認められなかった。

【結論】本実験より、DEX は新生仔ラットの換気量を減少させ、それは主に T_E 延長による f_R 減少によりもたらされることが示された。加えて、HR も減少したことから、DEX の呼吸循環系への影響には、個々への直接効果に加え、両者の相互作用による結果も含まれていることが示唆された。

P1-63

三叉神経運動核咬筋領域内の γ 運動ニューロンの電気生理学および形態学的特性

○西村 佳世^{1,2}、磯貝 由佳子^{1,2}、齋藤 充¹、佐藤 元¹、豊田 博紀¹、山城 隆²、姜 英男¹ (1阪大 院歯 高次脳口腔機能、2阪大 院歯 口腔分化発育情報)

三叉神経運動核咬筋領域には、咬筋を支配する α 運動ニューロンおよび咬筋筋紡錘の錘内筋を支配する γ 運動ニューロンが存在している。咬筋では、一個の筋紡錘のなかに多数の錘内筋線維を含むことが報告されており、閉口運動では他の運動に比して γ 運動ニューロンがより重要な役割を果たす可能性が高い。そこで、三叉神経運動核を含む脳幹スライス標本を作成し、咬筋領域のニューロンからホールセル電流固定記録を行い、発火特性やそのイオン機構に基づいた電気生理学的特性の検討を行った。基線電位を -75 mV に設定し脱分極性パルス電流を与えると、ある特定のニューロンで、持続性 Na^+ 電流による緩徐な脱分極電位が認められ、さらに、脱分極性パルス電流の終了後、 Ca^{2+} 依存性陽イオン電流による緩徐な脱分極性後電位が認められた。過去の報告から、こうした特定のニューロンは α 運動ニューロンでない可能性が高いと考えられたため、その発火特性の解析を行った。電気生理学の記録終了後、記録細胞を α および γ 運動ニューロンのそれぞれのマーカーである NeuN あるいは Err3、コリン作動性ニューロンのマーカーである choline acetyltransferase (ChAT) および Ia 神経終末のマーカーである VGLUT1 の蛍光三重染色を行った。染色した切片を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、 γ 運動ニューロンの形態学的解析を行った。

P1-62

象牙芽細胞におけるアルカリ感受性の検討

○津村 麻記¹、佐藤 正樹¹、Sobhan Ubaid¹、児玉 紗耶香¹、陽田 みゆき²、西山 明宏³、田崎 雅和¹、澁川 義幸¹ (1東歯大 生理、2東歯大口健 小児歯、3東歯大 オーラル)

歯科臨床では第三象牙質、象牙質橋 (dentin bridge) 形成を誘発する目的で水酸化カルシウム製剤や mineral trioxide aggregate (MTA) が使用されている。しかし、これらの製剤が象牙質形成過程を駆動する機序は不明である。これらの薬剤の共通点としてアルカリ性であることがあげられる。そこで、本研究では象牙芽細胞におけるアルカリ刺激感受性を検討した。新生仔ラット切歯から得た歯髄スライス標本上で dentin sialoprotein, nestin, dentin matrix protein-1 の免疫蛍光染色により象牙芽細胞を同定し、fura-2 を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を計測した。アルカリ刺激は pH10 の細胞外溶液 (クレブス溶液) を象牙芽細胞に投与することにより行った。細胞外 Ca^{2+} 存在下において、pH10 のクレブス溶液を投与すると $[Ca^{2+}]_i$ が増加した。pH10 のクレブス溶液の反復投与を行ったところ、pH10 のクレブス溶液による $[Ca^{2+}]_i$ の増加は脱感作しなかった。加えて、pH10 のクレブス溶液による $[Ca^{2+}]_i$ の増加は TRPA1 (transient receptor potential ankyrin 1) チャネルアンタゴニストである HC030031 の投与で抑制された。象牙芽細胞においてアルカリ刺激は TRPA1 チャネルにより受容され、その受容は脱感作しないことが示唆された。

P1-64

内因性レプチンとエンドカンナビノイドがマウスの甘味感受性に及ぼす影響

○仁木 麻由¹、上瀧 将史¹、吉田 竜介¹、二ノ宮 裕三¹ (1九大 院歯 口腔機能解析)

中枢の視床下部で摂食調節に関わるレプチンとエンドカンナビノイド(2-AG,AEA)が、舌の味覚器にあるそれぞれの受容体を介し甘味を調節することがこれまでの研究で明らかになっている。レプチンは甘味を抑制し、エンドカンナビノイドは甘味を増強させる。今回我々は、C57BL/6J マウス、食餌性肥満マウス、レプチン受容体変異 *db/db* マウスを用い、生体内(味覚器)で両者がどのように甘味を調節しているかを調べた。それぞれの受容体拮抗薬を投与して味刺激の鼓索神経応答を調べたところ、C57BL/6J マウスは、レプチン受容体拮抗薬(LA)により甘味応答が有意に増強したが、エンドカンナビノイド受容体拮抗薬(AM251)では変化は認められなかった。食餌性肥満マウスは、血中レプチン濃度が上昇するにつれ、LA による応答変化率は減少し AM251 では上昇した。また *db/db* マウスは、AM251 で甘味応答が有意に抑制され、茸状乳頭中の 2-AG 量も C57BL/6J マウスに比べ多く、2-AG 合成酵素を発現している細胞も多かった。以上のことから、正常ではエンドカンナビノイドではなくレプチンにより甘味は恒常的に抑制されているが、肥満によりレプチン機構が破綻すると優位な甘味修飾物質がレプチンからエンドカンナビノイドへ移行する可能性が示唆された。(非会員共同研究者: 大栗 弾宏、Dipatrizio NV、Piomelli D)

P1-65

胃酸分泌抑制剤ニザチジンの唾液分泌促進作用について

○植田 紘貴¹、菅 真有²、八木 孝和¹、宮脇 正一² (¹鹿大 医・歯病院 発達系歯科セ 矯正歯科、²鹿大 院医歯 歯科矯正)

【目的】口腔乾燥症は高齢社会の到来により増大している。我々は、脳腸相関の観点から内臓感覚と唾液分泌機能を含む口腔生理機能の関連について検討を行ってきた。近年、H2 ブロッカーであるニザチジンが副次的に唾液分泌を促進することが報告されているが、その作用機序は未だ不明な点が多い。本研究は、ニザチジンが中枢へ作用し、自律神経活動と協調して唾液分泌を促進するという仮説を立て検証を行った。【資料および方法】実験には Wistar 系雄性ラットを用いた。ケタミンおよびキシラジンで全身麻酔を行い脳定位装置を用いて第四脳室にカニューレを設置した。左側顎下腺導管にポリエチレンチューブを挿入後、左側頸部迷走神経を切断し中枢側に刺激電極を設置した。電気刺激は 5 V、10 秒間とし、迷走神経刺激前後の唾液分泌量を圧力トランジューサーで計測した。さらに第四脳室へのニザチジン投与前後の唾液分泌量を記録した。【結果および考察】ニザチジン非投与下において迷走神経刺激により誘発された唾液分泌量と比較して、ニザチジン投与後に迷走神経を刺激した場合に多くの唾液分泌が誘発された。本結果から、ニザチジンの中枢投与は迷走神経刺激を伴う場合により多くの唾液分泌を促進することが示唆された。【結論】ニザチジンは迷走神経活動と協調して唾液分泌を促進する。本薬は今後新たな口腔乾燥症治療薬として歯科臨床で応用される可能性があると考えられる。

P1-66

エタノールおよびアセトアルデヒドの口渴中枢ニューロンに対する作用

○氏原 泉^{1,2}、人見 涼露²、小野 堅太郎²、柿木 保明¹、稲永 清敏² (¹九歯大 老年障歯、²九歯大 生理)

二日酔いの時に起こる口渴感、脳の口渴中枢に対するエタノールおよび代謝産物であるアセトアルデヒドの作用により起こるかもしれない。我々はラット脳スライス標本を用いて、口渴中枢として知られる脳弓下器官ニューロンに対するエタノールおよびアセトアルデヒドの作用を調べた。実験には、細胞外記録法 (Multichannel Systems) およびパッチクランプ法を用いた。脳弓下器官ニューロンのマルチユニットのうち約半数において、エタノール (50-200 mM) 投与により用量依存性に発火頻度の増加がみられた。一方、アセトアルデヒド (3-100 μM) は脳弓下器官ニューロンのマルチユニットの大半において、用量依存性に抑制を示した。また、抑制性反応前に一過性の興奮性反応が認められた。この興奮性反応は、グルタミン酸受容体阻害剤および GABA 受容体阻害剤の存在下でも観察された。膜電位固定記録においてエタノールは、抑制性シナプス後電流の大きさを減らすことなく頻度を増加させた。脱分極は、TTX 存在下でも観察された。これらの結果は、エタノールおよびアセトアルデヒドはラット脳弓下器官ニューロンに対して直接あるいは間接的に作用し、水や塩分の摂取を調節している可能性を示唆する。

P1-67

ラット唾液腺の血流動態に関連する副交感神経性血管拡張線維の局在性

○佐藤 寿哉¹、石井 久淑¹ (¹北医大 歯 生理)

【目的】ラット顎下腺では反射性の副交感神経性血流増加反応が生じることが報告されている。しかし、唾液腺内の血管拡張神経の走行や血流増加の部位特異性は不明である。本研究はレーザーバックルイメージング血流計 (LSI) を用いて、ラット顎下腺および舌下腺における反射性副交感神経性血流増加反応誘発時の血流動態を解析し、血流増加の波及を基に想定される血管拡張神経の走行を検討した。【方法】ラットはウレタン麻酔後、ミオブロックで非動化し、人工呼吸下で管理した。大腿動脈と静脈にカテーテルを挿入し、それぞれ体幹血圧測定と薬物投与に用いた。また、頸部交感神経幹と迷走神経は頸部で両側とも切断した。舌神経を求心性に電気刺激し、LSI にて顎下腺および舌下腺の血流動態を解析した。【結果および考察】舌神経刺激により顎下腺および舌下腺の血流増加が認められた。これらの血流増加は小葉に沿って限局性に始まり、その後、唾液腺全体に波及した。両腺の血流増加反応はアトロピン (0.1 mg/kg) およびヘキサメトニウム (10 mg/kg) の投与によりほぼ完全に抑制されたことから、大部分がムスカリン受容体を介した副交感神経性血管拡張反応であることが明らかになった。血流動態の経時的な変化から、副交感神経性血管拡張神経は小葉間を血管に沿って走行し、腺房全体に分枝することが示唆された。

P1-68

Somatostatin_{2A} 受容体を介した GABA ニューロンの脱抑制による侵害受容性頸髄後角ニューロンの促通効果

○高橋 誠之¹、武田 守¹、松本 茂二¹ (¹日歯大 生命歯 生理)

【背景と目的】最近 *in vitro* で脊髄後角第二層抑制性介在ニューロンがソマトスタチン (SST) により脱抑制され侵害受容ニューロンの興奮性を増強することが報告された。本実験では *in vivo* で三叉神経領域の侵害刺激に応じる上部頸髄後角 (C1) ニューロンの興奮が GABA ニューロンを介して SST により変調を受けるか否かをマルチパレル電極細胞外記録法と免疫組織化学法で検討した。【方法】ラット開口反射を指標とし歯髄に侵害レベルの電気刺激を与え、C1 第二層のユニット放電を記録、局所電気泳動的に投与した SST、SST_{2A} 受容体拮抗薬 (Cyana-mide I54806)、GABA_A 受容体拮抗薬 (Bicuculline) の効果を検討した。この部位の介在ニューロンの GABA 合成酵素 (GAD67)、SST_{2A} 受容体の活性の共存の有無も検索した。【結果】記録された 14 個のユニット放電頻度は電気泳動的局所投与された SST により有意に増加し、その効果は投与電流依存的、可逆的応答であった。この促通効果は SST_{2A} 受容体拮抗薬の投与により遮断され、GABA_A 受容体拮抗薬により抑制された。同部位の SST_{2A} 受容体と GAD67 免疫組織活性の共存も確認された。【結論と考察】歯痛伝達に関わる頸髄後角ニューロンの興奮性は SST_{2A} 受容体を介した GABA ニューロンの脱抑制により促通を受けることが示唆され、歯髄損傷、炎症等における三叉神経領域の侵害受容伝達に頸髄後角の抑制性介在性ニューロンが発現する SST_{2A} 受容体は疼痛緩和の新たな分子標的となることが推察された。

P1-69

ビジュアルフィードバックを用いた随意的口唇閉鎖力調節の特性

○宮本 剛至¹、笹山 智加²、加藤 隆史³、山田 一尋¹、増田 裕次² (¹松歯大 院歯 硬組織疾患、²松歯大 院歯 顎口腔機能、³阪大 院歯 口腔解剖二)

口唇閉鎖機能はさまざまな口腔機能を営む上で重要な役割を持つ。しかし、随意的な口唇閉鎖力の特性については不明な点が多い。そこで、本研究では随意的な口唇閉鎖力の調節能力における方向特異性や性差を明らかにすることを目的とした。実験は、個性正常咬合を有する健康成人男性 13 名、女性 18 名を対象として行った。8 方向からの力が、バーの長さとしてリアルタイムで表示できるディスプレイを被験者の前方に配置した。つまり、そのとき口唇が出力している力を目で確認することができるようにした。各方向別に最大努力で発揮された力の 50% の値をターゲット値として表示し、口唇閉鎖力をターゲット上に 5 秒間維持するように指示した。口唇閉鎖力が発揮されにくいことが明らかとなっている左右の 2 方向を除いた 6 方向について測定を行った。口唇閉鎖力が発揮されてからの 3 秒間で、ターゲットとした値の ±8% 内に維持できた時間の割合を正確率とした。6 方向の正確率には、男性と女性のいずれにおいても方向による有意な相違が認められ、上下方向の正確率が斜め方向の正確率よりも高い傾向が認められた。また、男性に比べて女性の正確率が低い傾向にあり、4 つの斜め方向の正確率の平均値は有意に女性の方が低かった。これらの結果から、口唇閉鎖力は正中で上下方向の強さを調節する方が容易であること、および性差の存在が示唆された。

P1-71

三叉神経運動核における α および γ 運動ニューロンのサイズの分布についての検討

○磯貝 由佳子^{1,2}、山城 隆²、姜 英男¹ (¹阪大院歯 高次脳口腔機能、²阪大院歯 口腔分化発育情報)

ラットの三叉神経運動核の背外側部及び腹内側部には、それぞれ、閉口筋及び開口筋を支配する運動ニューロン (MN) 群が分布している。筋紡錘は、閉口筋には存在するが開口筋には存在しないため、筋紡錘を支配する γ MN は開口筋支配 MN 群内に存在せず、そのサイズの分布は単峰性を示す。閉口筋支配 MN 群のサイズの分布は二峰性を示し、小型細胞群の分布が閉口筋 MN 群でのみ認められることから、小型細胞群は γ MN であると想定されてきた。しかし、その真偽は確定していない。そこで、この小型細胞群が γ MN 群のみで構成されているのか、あるいは α MN と γ MN の両方を含むのかを、三叉神経を含む脳幹スライス標本を作成し、免疫組織学的に検討した。 α MN と γ MN の分子マーカーとしては、脊髄運動核で報告されている Neuronal Nuclei (NeuN) および Estrogen related receptor 3 (Err3) をそれぞれ用いた。その結果、閉口筋 MN 群における α MN のサイズ分布は二峰性を、 γ MN は単峰性を示した。小型の α MN 群のピークは γ MN 群のピークと同様のサイズを示し、閉口筋 MN 群における小型細胞群は α MN を含むことが明らかになった。このことは、サイズの原理から、閉口筋 α MN 群が支配する筋線維は径の極めて小さいものから径の大きいものまで含むことを示唆する。

P1-70

下歯槽神経損傷後に発症する顔面部異所性痛覚過敏に対する Connexin43 の関与

○梶 佳織^{1,2}、篠田 雅路²、清水 典佳¹、岩田 幸一² (¹日大 歯 歯科矯正、²日大 歯 生理)

下歯槽神経切断 (IANX) により顔面皮膚に異所性痛覚過敏が発症することが明らかにされているが、そのメカニズムには不明な点が多く残されている。本研究では IANX により顔面部異所性痛覚過敏に対する Cx43 の役割を解明することを目的とした。深麻酔下で IANX モデルラットの作成し、口ひげ部の機械刺激に対する頭部引込め反射閾値 (HWT) を測定した。術後 1 日目より HWT は有意に低下し、14 日目まで続いた。IANX 後 8 日目に同ラットの三叉神経節細胞での Cx43 発現を Western blotting 法および免疫組織化学染色法にて解析した。その結果、IANX8 日目において多くの Cx43 タンパク発現を認めた。また、免疫組織学検索によって多くの Cx43 陽性細胞が、三叉神経節内で観察された。また、ほとんどの Cx43 陽性細胞は三叉神経節細胞を取り囲むように分布しており、グリア細胞に発現している可能性が高い。以上の結果から、IANX により顔面皮膚に発症する異所性痛覚過敏には、三叉神経節に存在するグリア細胞が活性化し、さらに Cx43 を介してグリア細胞活性が三叉神経節全体に広がることによって、神経節細胞活動が増強することにより引き起こされた可能性が考えられる。

P1-72

Nicotine 誘導性 CCN2/CTGF がヒト歯周組織由来培養細胞の線維化に与える影響

○五十嵐 寛子^{1,4}、久保田 聡²、立花 利公³、村 檉 悦子¹、岡部 正隆⁴、滝川 正春²、沼部 幸博¹ (¹日歯大 歯周病、²岡大 院医歯薬 口腔生化学、³慈恵大 共用施設、⁴慈恵大 解剖)

喫煙者の歯肉に肥厚が見られるが、これらの関係を示した報告は少ない。そこで、線維化因子である結合組織成長因子 (CCN2/CTGF) に着目し、ヒト歯肉線維芽細胞と歯根膜由来線維芽細胞における TGF- β 1 と CCN2/CTGF との関係、nicotine の CCN2/CTGF 産生に与える影響、I 型コラーゲン、MMP-1、TIMP-1 そして TGF- β 1 に対する nicotine の影響、さらに、nicotine 影響下における CCN2/CTGF と I 型コラーゲンとの関係について探索した。その結果、両細胞において TGF- β 1 刺激により CCN2/CTGF の増加が認められ、両者に正の相関が示唆された (Takeuchi et al. J Periodontal Res. 2009)。また Nicotine 刺激により細胞数の減少および細胞に空胞変性が認められる一方、CCN2/CTGF の増加が認められた。興味深いことに Type I collagen にも増加が認められ、それは CCN2/CTGF 中和抗体によって打ち消された (Takeuchi et al. J Dental Res. 2010)。さらに nicotine 刺激によって MMP-1 の分泌は起こらず、TIMP-1 および TGF- β 1 の増加が認められた。以上から、nicotine の刺激により増加した CCN2/CTGF により I 型コラーゲンが誘導され、nicotine により I 型コラーゲンの恒常性の調節因子である MMP-1、TIMP-1 にアンバランスが生じることにより I 型コラーゲンが蓄積するという、歯周組織線維化の分子機構が明らかとなった。

P1-73

移植細胞の初期動態とストレスタンパク質 HSP27 導入による影響

○北見 恩美^{1,3}、加来 賢¹、井田 貴子¹、秋葉 陽介^{1,2}、魚島 勝美^{1,2} (¹新大 院医歯 生体歯科 補綴、²新大 医歯学総合病院、³日本学術振興会)

インプラント前処置として用いられる骨増成法において、細胞移植を併用する方法が行われているが、移植細胞の生着率等、その初期動態については未だ不明な点が多い。一方、各種ストレス下において産生される Heat Shock Protein (HSP) は、細胞のストレス耐性を向上させることが知られている。本研究ではヒト顎骨由来細胞をラット頭蓋骨骨膜下に移植し、移植細胞の初期挙動を解析した。観察期間を通して移植細胞中に TUNEL 染色陽性のアポトーシス細胞が検出され、その数は3日後に最大であった。細胞増殖を示す PCNA 陽性細胞は3日後より観察され、5日後に最大であった。ストレスタンパクの1つである HSP27 の発現が顕著な細胞数は3日後に最大となりその後減少した。そこで、移植細胞の HSP27 発現亢進は結果的にアポトーシス回避に繋がっている可能性があると考え、次に骨芽細胞における HSP27 発現亢進の影響を解析した。発現ベクターを用いて骨芽細胞株 (MC3T3-E1) に HSP27 を過剰発現させたところ、細胞増殖能、石灰化能に影響は認められなかったが、TNF- α に誘導される TUNEL 陽性細胞数の減少が観察され、アポトーシスの抑制が認められた。以上の結果より、移植細胞における HSP27 の発現がその生着に有利に働いている可能性が示唆された。

P1-74

未分化性維持に関連している miRNA-720 は歯髄細胞の細胞増殖・分化を制御する

○Hara Emilio¹、大野 充昭¹、Pham Hai¹、窪木 拓男¹ (¹岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)

microRNAs (miRNAs) play crucial roles in stem cell biology, related to cell reprogramming and cell differentiation. To search for novel miRNAs that can control the fate of dental pulp cells (DPCs), we sorted side population (SP) cells, known to be enriched in stem cells, and performed a miRNA array. As a result, miR-1260b and miR-720 were highly expressed in the differentiated main population (MP) cells. Gain-and-loss of function analysis showed that miR-720 regulates the expression of NANOG and DNA methyltransferases DNMT3A, DNMT3B and DNMT1 in DPCs. Knockdown of miR-720 significantly increased the levels of NANOG as well as the number of SSEA4 + cells, but down-regulated the levels of DNMTs. miR-720 also regulated the proliferation of DPCs as determined by immunocytochemical analysis against ki-67, as well as odontogenic differentiation demonstrated by alizarin red staining, alkaline phosphatase activity and osteopontin mRNA level. Our findings identify mi-720 as a novel miRNA involved in the regulation of stem cell fate of DPCs.

P1-75

脂肪細胞の分化と成熟におけるオステオカルシンの役割

○大谷 崇仁¹ (¹九大 歯科研 口腔細胞工)

骨細胞が作るオステオカルシン (osteocalcin, OC) の大部分は Gla タンパクとして骨基質に埋められているが、わずかな量が循環している。最近、OC が血糖値やエネルギー代謝の調節に関わっていることが示されたが個々の臓器における OC の効果と作用機序の検討は十分になされていない。今回我々は脂肪細胞の分化および成熟における OC の役割について検討した。脂肪細胞としてマウス 3T3-L1 細胞株を分化誘導して実験に供した。カルボキシル化していない OC (ucOC, uncarboxylated OC) を種々の濃度で培地に添加したところ、0.01 ng/ml の濃度から 5 ng/ml をピークに細胞内のアディポネクチンの発現および培地中への分泌がおこることを認めた。一方、Gla 型 (GlaOC) は無効であった。アディポネクチンの発現や分泌に一致して ERK のリン酸化および peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ の発現増加を認めた。この ucOC 刺激における ERK、PI3K、PKA 各経路の関わりを調べるために各々の阻害剤 U0126、LY294002、H-89 の効果を検討した。U0126、H-89 が ucOC 依存的な ERK および CREB のリン酸化を抑制し、それに伴い PPAR- γ およびアディポネクチンの発現増加を抑制した。一方、LY294002 は無効であった。以上の結果から脂肪細胞では ucOC 刺激特異的に ERK および cAMP / PKA 経路が活性化し、PPAR- γ およびアディポネクチンの発現量の増加が生じることが示された。

P1-76

CXCL3 は脂肪細胞分化を正に制御する

○楠山 譲二¹、坂東 健二郎¹、柿元 協子¹、大西 智和¹、松口 徹也¹ (¹鹿大 院医歯 口腔生 化、²日本学術振興会)

脂肪細胞はアディポカインと総称される生理活性物質を分泌することで、代謝や病態形成に関与することが知られている。脂肪細胞の産生するケモカインとしては CCL2 (MCP-1) が報告されているが、その他のケモカインの分泌や役割についてはよく分かっていない。我々は脂肪細胞分化に伴う種々のケモカインの発現を調べ、新規アディポカインとしての機能を検討した。マウス脂肪前駆細胞株 3T3-L1 細胞を分化誘導し、ケモカイン群の発現レベルを網羅的に解析したところ、CXCL3 (MIP-2 β)、CXCL13 (BLC)、CCL24 (MPIF-2) の mRNA 発現レベルが著明に上昇した。またケモカイン受容体群については、CXCL3 受容体である CXCR2 の発現が高くなった。リコンビナント CXCL3 を培地に添加しながら、3T3-L1 細胞を分化させると、脂肪滴の形成や脂肪分化マーカー遺伝子の発現が促進した。一方、CXCL3 と同様に CXCR2 リガンドである CXCL2、CXCL13 を加えた場合は、脂肪細胞の分化に影響を与えなかった。さらに CXCL3 および CXCR2 の siRNA によるノックダウンを行うと、脂肪細胞分化は抑制された。3T3-L1 細胞への CXCL3 投与によって活性化されるシグナル分子を検討したところ、ERK、JNK がリン酸化され、その標的遺伝子として C/EBP δ を同定した。このように脂肪細胞によって産生される CXCL3 は、オートクライン/パラクラインの作用によって、分化を促進する新規アディポカインであることが示唆された。

P1-77

カテプシン D 欠損マウスの脳病変における脳ペリサイト消失と免疫細胞の脳内浸潤の関与
 ○岡田 亮¹、武 洲¹、中西 博¹ (九大院歯口腔機能分子)

【目的】神経性セロイド様リポフスチン蓄積症 (NCL) は進行性のニューロン死を伴う疾患グループで、8 種類の原因遺伝子が同定されている。カテプシン D (CatD) 遺伝子は原因遺伝子の一つで CLN10 として知られている。NCL におけるニューロン死には活性化ミクログリアが関与すると考えられているが、脳内に浸潤した免疫細胞が関与する可能性については検討されていない。そこで、NCL 病態モデルマウスの CatD 欠損マウスを用い、免疫細胞の脳内浸潤の可能性ならびに浸潤メカニズムについて解析を行った。

【方法・結果】脳内の常在性ミクログリアと末梢由来の単球・マクロファージの割合を解析した結果、CatD 欠損マウスでは単球・マクロファージの割合が野生型マウスと比較して増加していた。また、CatD 欠損マウスの脳血管は野生型マウスと比較して直径が有意に太く、異常な形態を示していた。さらに、CatD 欠損マウスでは血管構造維持に重要なペリサイトが消失していた。野生型マウスより単離した脳ペリサイトを CatD 阻害剤存在下で培養すると酸化ストレスによる細胞死が誘導された。

【考察】以上の結果より、リソソーム蓄積に伴う酸化ストレスによる脳ペリサイト消失により脳血管構造が破綻し、末梢由来の単球・マクロファージが浸潤することでニューロン死に関与することが示唆された。

P1-78

アメロプラスチンは口腔上皮細胞の細胞増殖を抑制する
 ○西藤 法子^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、鷲尾 絢子²、北村 知昭²、西原 達次¹ (九歯大 感染生物、²九歯大 保存治療)

【目的】これまでの研究で、エナメルマトリックスタンパクの 1 つであるアメロプラスチンに上皮細胞増殖抑制効果が存在していることを見出した。しかし、アメロプラスチンの上皮細胞に対する詳細な生物学的機能については未だ不明な点が残されている。そこで、リコンビナントアメロプラスチンを作製し、*in vitro* の培養系を用いて上皮細胞の細胞増殖に及ぼす影響について解析を行った。【方法】アメロプラスチン発現プラスミドをサル腎上皮細胞 (COS7) にエレクトロポレーション法で遺伝子導入した。細胞を回収し Halo-Tag Mammalian Protein Purification System (Promega) を用いてアメロプラスチンタンパクを精製し、精製効率を Western Blotting で定量化した。精製後のアメロプラスチンを脱塩後、凍結乾燥し *in vitro* の実験系に使用した。精製タンパクをヒト扁平上皮癌細胞 (SCC25) に作用させ増殖抑制効果を WST-1 assay で調べた。【結果と考察】今回、リコンビナントアメロプラスチンを効率良く精製し、*in vitro* の培養系を用いて、アメロプラスチンの新規の生物学的活性を見出した。特に、精製アメロプラスチンタンパクは上皮細胞の増殖に対して、濃度依存的に抑制することが明らかになった。現在、精製アメロプラスチンの活性部位を同定し、上皮細胞の抑制に関わる分子メカニズムについて検討しているところである。

P1-79

RelB は NF- κ B2 のプロセッシングを誘導し、*aly/aly* マウスの破骨細胞分化抑制を解除する
 ○谷口 礼^{1,2}、福島 秀文²、牧 憲司¹、自見 英治郎² (九歯大 歯 口腔機能発達、²九歯大 歯 分子情報生)

【目的】NF- κ B inducing kinase (NIK) 遺伝子に不活型変異をもつ *aly/aly* マウスは、NF- κ B2 である p100 から p52 へのプロセッシングがみられないことから RelB の核移行が阻害され、破骨細胞形成が抑制される。一方、p100 と p52 が存在しない NF- κ B2 遺伝子欠損マウス (NF- κ B2 KO) は野生型と同程度の破骨細胞が存在し、RelB の核移行も認められる。このことから NF- κ B2 のプロセッシングおよび RelB の核移行が破骨細胞分化に重要であると考えられる。そこで破骨細胞分化における NF- κ B2 と RelB の役割について検討した。【方法・結果】*aly/aly* マウス由来破骨細胞前駆細胞に RelB を遺伝子導入し RANKL で刺激すると破骨細胞形成の抑制が解除され、その際 NF- κ B2 のプロセッシングがみられた。NF- κ B2 KO マウス由来の細胞にプロセッシングがおきない p100 の変異体を遺伝子導入すると破骨細胞形成が抑制され、RelB を遺伝子導入しても破骨細胞形成の回復が認められなかった。*aly/aly* マウス由来の細胞に RelB を遺伝子導入し、RelB 依存的に上昇する遺伝子を検索すると Cot の発現上昇が認められた。【考察】*aly/aly* マウスの破骨細胞分化抑制は、RelB の過剰発現により Cot の発現が上昇し、NF- κ B2 のプロセッシングが誘導され、解除することが示唆された。

P1-80

MC3T3-E1 細胞におけるインクレチン受容体の発現変化
 ○青山 絵美奈¹、渡 一平¹、井上 カタジナ アンナ²、柳下 正樹²、小野 卓史¹ (東医歯大 院歯 咬合機能矯正、²東医歯大 院歯 硬病生)

【目的】インクレチンとして知られる glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) と glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、十二指腸 K 細胞および小腸 L 細胞からそれぞれ分泌され、膵 β 細胞に作用してインスリン分泌を促進する。これらの受容体である GIP receptor (GIPR) および GLP-1 receptor (GLP-1R) は、骨芽細胞に発現していることが報告されているが、その機能の詳細は不明であり、糖代謝との関連も明らかではない。そこで、骨芽細胞におけるインクレチン受容体の機能を検討する目的で *in vitro* の実験を行った。【方法】MC3T3-E1 を高グルコース培地および骨形成タンパク質 (BMP-2) 添加高グルコース培地にて、24 時間、48 時間および 72 時間培養し、GIPR および GLP-1R の発現量の変化を real-time PCR を用いて解析した。【結果】MC3T3-E1 細胞における GLP-1R、GIPR の同時発現が確認され、その発現量は BMP-2 添加により増加した。さらに、BMP-2 添加培地において、GLP-1R、GIPR の発現量はグルコース濃度の影響を受けることが示唆された。また、GLP-1R は時間依存的にも発現量が増加する傾向が認められた。

P1-81

成長板軟骨細胞の肥大化に関する新規 RNA 分子の探索

○原 規子¹、久保田 聡¹、青山 絵理子¹、滝川 正春¹ (岡大 院医歯薬 口腔生)

内軟骨性骨形成過程は、顎骨の一部を含む大部分の骨の成長を決定する重要な発生・成長プロセスである。そこでは骨原基中の軟骨細胞が静止期を脱して増殖軟骨細胞となることにより成長を実現し、さらに肥大化を経て石灰化を誘導し骨形成が成し遂げられる。この分化過程を制御するさまざまな細胞内外の情報伝達分子、転写因子や転写後調節因子などのタンパク質、そして転写後調節の一翼を担うマイクロ RNA などについてはすでに多くの報告がある。しかしながら軟骨細胞の分化を制御、もしくは媒介する長鎖非コード RNA (ncRNA) に関しては現在までほとんど情報が無い。本研究ではニワトリ軟骨細胞を用いたモデルを利用し、石灰化時期を規定する軟骨細胞後期分化、すなわち肥大化に関連する長鎖 ncRNA 候補を探索した。まずニワトリ胎児胸骨原基より、肥大軟骨細胞 (upper sternum: US) および増殖軟骨細胞 (lower sternum) を分離培養し、それぞれから RNA を抽出した。続いてこれを用いてマイクロアレイ解析を行い、両細胞間で発現強度の差が 8 倍を超える遺伝子群のデータベースを構築した。そこから既知のタンパク質コード遺伝子群、およびタンパク質をコードしていると予測される遺伝子群を除外することにより候補を絞り込み、これらについてリアルタイム RT-PCR 法により両者間の発現量の差を再確認した。現在その構造・機能解析を進めており、その後得られた知見も併せて報告する予定である。

P1-83

ブタ幼若エナメル質中の生理活性物質と低分子エナメルインについて

○木下 冨子¹、唐木田 丈夫²、大井田 新一郎²、朝田 芳信¹、山越 康雄² (鶴見大 歯 小児歯科、²鶴見大 歯 分子生)

【目的】幼若エナメル質中にはマウス筋芽細胞 (C2C12 細胞) 及び歯根膜由来培養細胞 (PDL 細胞) に対してアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を上昇させて石灰化を促進させる物質が含まれていることが知られているので、それら生理活性物質を分離精製することを試みた。【方法】生後約 5 ヶ月のブタ永久第二大臼歯より幼若エナメル質を採取しリン酸緩衝液 (pH7.4) (N) と炭酸緩衝液 (pH10.8) (AL) を用いてタンパク質を抽出した。N 画分に対してはさらに 40% 飽和となるように硫酸分画を行った (N-1E)。AL 及び N-1E 試料をヘパリンクロマトグラフィーにて分離し、各溶出画分に対して C2C12 及び PDL 細胞に対する ALP 活性を調べた。さらに N-1E 試料から分離され、ALP 活性を上昇させる画分中に含まれる主要タンパク質を LC/MS 分析にて同定した。【結果と考察】AL 及び N-1E 試料はヘパリンクロマトグラフィーによりそれぞれ 5 及び 7 つの画分に分離された。AL 試料では、0.2 M 及び 1 M NaCl 溶出画分に C2C12 細胞に対して、また、ヘパリン未吸着画分と 50 mM NaCl 溶出画分に PDL 細胞に対して ALP 活性を上昇させる物質が含まれていた。N-1E 試料では 0.1 M NaCl 溶出画分に PDL 細胞に対して ALP 活性を上昇させる物質が存在しており、この画分中に含まれている主要タンパク質が、S³⁰⁰-R¹⁹² を範囲とする分子量約 16 kDa のエナメルインであることが判明した。現在、このエナメルインのヘパリンとの親和性及び生理活性物質との関連について検討中である。

P1-82

LAMP2 is involved in the intracellular transport of RANKL

○Rajapakshe Anupama¹、井上 カタジナアンナ¹、柳下 正樹¹、横山 三紀¹ (東医歯大 院医歯 硬生)

RANKL is essential for both osteoclast differentiation and activation through cell-cell contact. Since RANKL mainly resides intracellularly, the mechanism of intracellular transport of RANKL is important to understand how the amount of cell-surface RANKL is regulated. Previously, the association of RANKL with secretory lysosomes in osteoblastic cells was reported. However, it is not clear whether RANKL is directly transported by lysosomes or not. In the present study, we investigated subcellular localization of RANKL by focusing on lysosome-associated membrane protein 2 (LAMP2), which is the major component of lysosome membrane and considered to be involved in the lysosome motility.

In mouse preosteoblastic cell line (MC3T3-E1), RANKL was not co-localized with LAMP2, regardless the cells underwent osteoblastic differentiation or not. However, when the expression of LAMP2 was reduced by siRNA treatment, RANKL was accumulated to peri-nuclear regions, implying a defect in the plus-end-direct transport along microtubules. The results suggest that, although RANKL is transported via transport vesicles distinct from lysosomes, LAMP2 is involved in the intracellular transport of RANKL.

P1-84

歯根膜線維芽細胞に高発現する CXCL12 の機能について

○八城 祐一¹、野村 義明²、石川 美佐緒¹、新井 千博¹、野田 晃司¹、花田 信弘²、中村 芳樹¹ (鶴見大 院歯 矯正、²鶴見大 歯 探索歯)

【緒言】歯根膜は他の結合組織と比較してコラーゲン線維や基質の代謝が活発であり、この代謝を担うのは歯根膜線維芽細胞 (PDLFs) であるといわれている。しかし、この歯根膜の線維芽細胞の供給については明らかでない。我々はこの PDLFs の発現遺伝子の網羅的解析から、線維芽細胞や骨芽細胞に分化する間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells: MSCs) に対する走化性をもつ遺伝子 Chemokine ligand12 の高い発現を認めた。本研究の目的はヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDLFs) における CXCL12 の発現および MSCs の走化性を検討することである。【資料および方法】HPDLFs およびヒト皮膚線維芽細胞 (HDFs) の細胞内発現遺伝子を網羅的に比較検討し、さらに CXCL12 発現量を解析した。機能的解析として MSCs を用いた Migration assay を行った。また、MSCs を HPDLFs および siRNA 導入 HPDLFs の Condition Medium (CM) に暴露し RT-PCR を行った。CXCL12 の局在はラット歯根膜領域の凍結切片片を使用し免疫組織学的に検討した。【結果】マイクロアレイ解析の結果より HPDLFs における CXCL12 の高発現を認めた。また qRT-PCR、ELISA の結果から同様の結果を得た。Migration assay では HPDLFs の走化性は HDFs に対し有意に高かった。CM によって CXCL12 発現亢進が認められた。免疫組織学的には CXCL12 は歯根膜に強く発現していた。【結論】PDLFs は CXCL12 を産生し、細胞外に分泌することで血管内の MSCs を歯根膜内に誘導するのではないかと考えられる。

P1-85

ヒト歯根膜細胞におけるギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションの検討

○加藤 龍史¹、石原 嘉人²、川邊 紀章²、上岡 寛²、山本 照子¹、山城 隆³ (¹東北大院歯 顎口腔矯正、²岡大院歯 歯科矯正、³阪大院歯 顎顔面矯正)

【目的】歯根膜は矯正力等の機械的刺激を受けて応答性の反応を示し、ギャップ結合(GJ)を介した細胞間コミュニケーションは、それらの刺激に対する情報伝達系の一つとして歯周領域の恒常性維持に重要な役割を担うと考えられる。本研究は、ヒト歯根膜細胞におけるGJの発現と機能性について比較検討を行い、GJを介した細胞間コミュニケーションの骨代謝へ及ぼす影響を調べた。【資料および方法】実験は、健全な便宜抜去小白歯から単離した歯根膜細胞において行った。矯正的歯の移動時における圧迫側モデルとして低酸素培養を2% O₂下で行った。GJの機能性は、蛍光退色法(FRAP)により検討を行った。mRNA発現はRT-PCR、タンパク発現はWestern Blotting法を用いて検討した。【結果および考察】FRAPによる蛍光輝度の回復が認められ、その回復はGJ阻害剤投与群および低酸素群において濃度・時間依存的に抑制された。GJを構成する主要タンパクであるConnexin-43の発現量は、低酸素環境下において時間依存的に減少した。GJ阻害剤投与群において、RANKL mRNA発現は有意に上昇する一方で、OPG mRNA発現の有意な減少を認めた。【結論】歯根膜細胞間におけるGJ結合を介した細胞間コミュニケーションが骨代謝制御へ関与している可能性が示唆された。

P1-86

メタボローム解析による口腔扁平上皮癌のエネルギー代謝特性の解明とバイオマーカーの探索

○小川 珠生^{1,2}、鷲尾 純平²、高橋 哲¹、高橋 信博² (¹東北大院歯 顎顔面口腔外科、²東北大院歯 口腔生化学)

【目的】近年、メタボローム解析による癌特有のエネルギー代謝が解明しつつあり、癌の診断や治療法の開発に有益な新情報となることが期待されている。しかし口腔扁平上皮癌(OSCC)を対象とした研究はほとんどない。そこで本研究では、OSCCのメタボローム解析を行い、エネルギー代謝特性の解明とバイオマーカー(BM)の探索を試みた。【方法】東北大学病院受診患者33人を対象とし、手術時に切除した癌組織と周囲正常組織を試料とし、メタボローム解析を行った。代謝産物の同定・定量にはCE-TOFMS(HMT社)とグルコース測定kit(和光純薬)を用い、得られたデータから群間比較、ヒートマップ、クラスター解析によりBMを探索した。本研究は所属研究科研究倫理委員会の承認を得た。【結果】正常組織と比較し、癌組織ではグルコース(72±67%)、グルタミン(90±55%)の減少と、乳酸(161±68%)、コハク酸(285±345%)、フマル酸(154±15%)、リンゴ酸(157±102%)、グルタミン酸(158±82%)の増加が認められ、いずれも統計学的に有意であった。しかし、明確なBMは見出されなかった。【考察】OSCCにおいて、Warburg効果(解糖系の亢進)に加え、グルタミノリシス(グルタミンの利用亢進)が認められ、正常細胞と比べ、アミノ酸から効率的にエネルギーを得ていることが示された。癌特異的BMではなく、代謝パターンによる癌鑑別の可能性が示唆される。

P1-87

扁平上皮癌細胞におけるGLUT1を介したEGFRの発現制御

○吉本 尚平^{1,2}、長野 公喜¹、杉山 悟郎¹、森田 浩光²、中村 誠司³、平田 雅人¹ (¹九大院歯 口腔細胞工、²九大病院 全身管理歯科、³九大院歯 顎顔面腫瘍制御)

がん細胞では、正常細胞に比し5~8倍程度グルコース取り込み能が上昇しているといわれ、経路についてはGLUT1がその役割を担っていると考えられている。今回我々はGLUT1を介したグルコース流入がEGFRの発現に影響を与えるという結果を得た。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株(HSC-2、HSC-3)、ヒト皮膚扁平上皮癌細胞株(A431)および対照としてヒト正常角化細胞株(HaCaT)を用い、2種類の異なる濃度のグルコース(低濃度:LG, 5.5 mMまたは高濃度:HG, 25 mM)を含む培地中(10%血清を含有)で培養した。上記全ての細胞においてHG培地では、ErbB受容体蛋白であるEGFR、HER2、HER3およびHER4の全ての発現が認められることをウエスタンブロット法で確認した。一方LG培地で培養すると、HSC-2、HSC-3及びA431はErbB受容体全てにおいて発現量の減少を認めた。このような現象はHaCaT細胞では認められなかった。このErbB蛋白の発現量の減少はグルコース流入量によるものと考え、グルコース輸送体であるGLUT1~4およびSGLT1~3の発現をRT-PCRにて確認した結果、GLUT1のみが共通して発現していた。さらに、グルコース輸送体は通過するが解糖系による代謝は受けない2-deoxy-D-グルコースを加えると高濃度添加に関わらずEGFR発現の著明な低下を認めた。以上の結果より、扁平上皮癌細胞においてEGFRの発現がGLUT1を介したグルコース流入と引き続く代謝により調節されていることが示唆された。

P1-88

ヒアルロン酸が破骨細胞に及ぼす影響

○廣田 秀逸¹、川本 章代¹、吉川 美弘²、高橋 一也¹、池尾 隆²、小正 裕¹ (¹大歯大院歯 高齢者歯、²大歯大 生化学)

【目的】関節リウマチ(RA)の治療方法の一つとしてヒアルロン酸(HA)が用いられる。しかし、HAがRAの症状である傍関節性骨粗鬆症や関節骨破壊に作用するメカニズムは明らかになっていない。そこで破骨細胞前駆細胞を用いて、HAが破骨細胞分化に及ぼす影響について検討した。【方法】マウス骨髄由来細胞(ddY雄6週齢)(BM)や頭蓋冠由来骨芽細胞(ddY雄1日齢)(OB)を1,25(OH)2D₃、PGE2存在下で、またBMのみをRANKLとM-CSF存在下で、それぞれHAを添加した培地で培養した。BMのRANKL、OPG発現をReal time-PCRで測定した。【結果および考察】BMとOBを共培養すると、TRAP陽性細胞が染色され、それらのTRAP陽性細胞数はHA刺激群で減少した。OBの増殖はHA刺激群において促進したが、RANKLやOPG mRNA発現に変化がなかった。一方、RANKL、M-CSF存在下でのBMの破骨細胞への分化は、HA刺激群で抑制された。また、HA刺激群でBMの細胞接着は抑制された。HAが骨芽細胞の増殖を促進し、BMの接着を抑制することで、骨芽細胞と破骨細胞前駆細胞数のバランスが崩れ、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化が抑制される可能性が示唆された。

P1-89

Cdc42は軟骨形成に必須の遺伝子である

○鈴木 航^{1,2}、山田 篤¹、相澤 怜^{1,3}、鈴木 大¹、中山 睦子^{1,4}、山本 松男³、横 宏太郎¹、馬場 一美²、上條 竜太郎¹ (昭大 歯 口腔生化、²昭大 歯 歯科補綴、³昭大 歯 歯周病、⁴昭大 歯 歯科矯正)

Rhoファミリー低分子量Gタンパク質Cdc42は、アクチン細胞骨格系の制御を介した細胞の増殖、分化、細胞死など、細胞機能にとって重要な役割を果たしている。しかし、Cdc42を全身で欠損させたマウスが胎生初期で死亡するため、生体レベルでの機能には不明な点が多い。そこで我々は、マウス生体内で組織特異的に遺伝子を欠損させるCre-loxPシステムを用い、II型コラーゲンプロモーター制御下でCreを発現させ、軟骨細胞特異的にCdc42遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウトマウス(Cdc42fl/fl; Col2-Cre)を作製し、軟骨細胞の分化、成熟に対する機能解析を行った。作製されたコンディショナルノックアウトマウスはコントロールマウス(Cdc42fl/fl)と比較し、体長で17.6% (P<0.05)、大腿骨長で21.8% (P<0.01)の減少が認められた。また、大腿骨成長板での増殖軟骨層の短縮、柱状配列の喪失、肥大軟骨層の肥厚などの表現型が認められ、海綿骨における類骨量の増加も認められた。大腿骨成長板での遺伝子発現様式を検討した結果、増殖軟骨細胞マーカー遺伝子である*type II collagen*、肥大軟骨細胞分化マーカー遺伝子である*type X collagen*および*matrix metalloproteinase 13*の発現低下が認められた。以上の結果から、Cdc42は成長板における軟骨分化および軟骨内骨化を制御し、軟骨形成に必須の役割を果たしていることが示唆された。

P1-91

象牙質・幹細胞複合体の骨再生への応用

○田中 雅士^{1,2}、川木 晴美¹、小栗 健策^{1,2}、森 春菜²、神谷 真子¹、高山 英次¹、吉田 隆一²、近藤 信夫¹ (朝日大 歯 口腔生化、²朝日大 歯 歯科保存)

我々は自己供給可能な骨補填材料として、象牙質に注目した。象牙質を自己由来の幹細胞の足場として、ヒト歯髓由来幹細胞(hDPSC)と象牙質からなる象牙質・幹細胞複合体(凝集塊)を作成し、形状観察を行い、細胞数、アルカリホスファターゼ(ALP)活性について既存の骨補填材である水酸化アパタイト(HA)やβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)を比較対象に検討した。

象牙質は患者の同意のもと、朝日大歯学部倫理委員会の承認を得て採取した抜去歯より調整した。まず種々の細胞密度で細胞塊作成条件を検討し播種後3~5日で凝集し、細胞塊が形成されることを確認した。そして細胞塊を固定し、アルカリホスファターゼ(ALP)染色を行ったところHAでは濃染されたが象牙質、β-TCPではほとんど染色されなかった。走査型電子顕微鏡観察を行うと象牙質を用いた細胞塊では多数の細胞が顆粒を被包しているのが観察された。さらに細胞塊中の細胞数を比較すると、象牙質顆粒の細胞塊では細胞増殖が顕著であり他の材料と比較して有意に上昇していた。

hDPSCは今回用いた全ての材料とともに細胞塊を形成し、骨補填材へ応用可能であることが示唆された。現在、実験動物の皮下への細胞塊移植実験を行い骨誘導能について検討中である。

P1-90

破骨細胞の前駆細胞における接着シグナルは分化誘導受容体(RANK)の発現を誘導する

○望月 文子¹、高見 正道²、宮本 洋一²、井上 富雄¹、上條 竜太郎² (昭大 歯 口腔生理、²昭大 歯 口腔生化)

破骨細胞は骨組織にのみ存在する多核細胞だが、その局在性がどのような機序で制御されているかは不明である。我々は、破骨細胞の前駆細胞(破骨前駆細胞)の骨基質への接着が破骨細胞分化の「場」を決める一因ではないかと仮説をたて、接着シグナルの役割について解析した。マウスの骨髄細胞からM-CSFで誘導したBone marrow-derived macrophage(BMM)を破骨前駆細胞として用いた。BMMは接着可能なラミニンコートプレート上で分化誘導因子RANKLの刺激により破骨細胞に分化したが、BMMが接着できないゲル上(メチルセルロース)では分化しなかった。この時、プレート上ではRANKLによるIκBのリン酸化と転写因子NFATc1の発現上昇が認められたが、ゲル上ではそれが認められなかった。しかし、TNF-αやLPSはプレート、ゲルの差に関係なくIκBのリン酸化を誘導したことから、ゲル上ではRANKL受容体(RANK)に依存したシグナルだけが障害されていると予想した。そこでRANKの発現レベルを解析したところ、プレート上に比べてゲル上では著しく低いことが判明した。しかしそれは、BMMをゲルからプレート上へ移行することにより回復した。また、強制的にRANKを発現させると、ゲル上でも破骨細胞に分化したことから、接着シグナルはRANKの発現を誘導する役割を担うことが示唆された。すなわち破骨細胞の局在性には、骨基質への接着によるRANKの発現上昇が関与すると推察される。

P1-92

GLUT4 トランスロケーションにおける Akt による tomosyn のリン酸化の影響

○長野 公喜¹、竹内 弘²、杉山 悟郎¹、大谷 崇仁¹、平田 雅人¹ (九大 院歯 口腔細胞工、²九歯大 口腔応用薬理)

インスリン応答性のグルコース取り込みは、Aktによるグルコーストランスporter 4 (GLUT4)を含有する小胞(GLUT4 storage vesicles; GSV)の細胞膜上へトランスロケーションによって行われる。我々はGSVトランスロケーションへの関与が報告された開口分泌調節タンパク質 tomosyn に Akt のリン酸化モチーフが存在することを見出したので、Aktによる tomosyn のリン酸化の有無と GSV トランスロケーションへの関わりについて検討した。試験管内リン酸化実験を行ったところ、野生型 tomosyn は Akt1、Akt2 によってリン酸化されたが783番目のSerをAlaに置換した変異体(S783A)はリン酸化されなかった。さらに、細胞を用いた実験でもインスリン刺激によって野生型はリン酸化されたが、変異体のリン酸化は認められなかった。次に、GSV輸送に関わるSNAREタンパク質 syntaxin 4 と tomosyn の試験管内結合実験を行ったところ、両分子の結合はAktによる tomosyn のS783のリン酸化によって抑制された。これらの結果から、インスリン刺激に伴うGSVのトランスロケーションの調節にはAktによる tomosyn のS783のリン酸化が関与することが示唆された。

P1-93

炎症・組織再生を制御する CCN1 の 3' 非翻訳領域を介した遺伝子発現調節
 ○村瀬 友里香^{1,2}、久保田 聡¹、前田 彩¹、原規子¹、住吉 久美¹、西田 崇¹、佐々木 朗²、滝川 正春¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)

CCN1 は CCN ファミリーに属するタンパク質で、細胞外基質や成長因子、接着因子などの協同因子との相互作用を通じて炎症、組織再生過程で重要な役割を演じている。特に近年関節疾患や組織線維化との関連が明らかとなり、顎顔面領域でも注視すべき分子のひとつである。CCN1 の機能は共存する協同分子に大きく依存するので、CCN1 がいつでもどこに存在するかを規定する遺伝子発現制御の解明は重要な課題である。そこで本研究では、CCN1 mRNA に存在する 3' 非翻訳領域 (3'-UTR) に焦点をあて、それを介した遺伝子発現制御機構を解析した。まずヒト CCN1 遺伝子の 3'-UTR を蛍光シフェラーゼ遺伝子下流に接続し遺伝子発現に対する影響を検討したところ、強い抑制効果が観察された。続いてこの 3'-UTR を前後半に分断し、各々の活性を評価した実験では、両方の断片が等しく遺伝子発現抑制効果を発揮した。さらに前半部分について欠損変異体を作成し、同様の評価で抑制エレメントを 110 塩基長まで絞り込んだ。興味深いことに in silico 解析ではこのエレメントは安定した二次構造を形成すると予測された。一方後半については二次構造形成予測、およびマイクロ RNA の標的予測で得られた候補部分につき効果を検証したが、いずれも抑制活性を示さなかった。後半部分の抑制機能を担う部分の同定が今後の課題である。本研究は仲川洋介、湊雅直、住吉久美博士との共同研究である。

P1-95

破骨細胞の骨吸収活性を制御する Wnt5a-Ror2 シグナルによる Rho 活性化
 ○上原 俊介¹、宇田川 信之¹、高橋 直之²、小林 泰浩² (¹松歯大 口腔生化、²松歯大 総合歯科医学研究所)

Wnt5a は Ror2 受容体を介し、破骨細胞分化誘導因子 RANKL の受容体である RANK の発現を亢進し、破骨細胞分化を促進する。今回我々は、破骨細胞の骨吸収機能における Wnt5a-Ror2 シグナルの役割を明らかにするため、破骨細胞特異的 Ror2 欠損マウス (Ror2 cKO) を解析した。Ror2 cKO は骨量増加を呈し、骨吸収マーカーである血清 CTX は低値を示した。しかし、骨形態計測では破骨細胞の減少を認めなかった。培養実験において Ror2 cKO 由来の破骨細胞は、アクチンリング形成および吸収窩形成不全を示した。すなわち Ror2 シグナルは、破骨細胞の骨吸収活性を調節することを示唆した。低分子量 G タンパク質である Rac 及び Rho は、骨吸収に関与する。そこで、Ror2 cKO 由来の破骨細胞において恒常的活性化型 (CA)-RhoA あるいは CA-Rac1 を過剰発現した。CA-RhoA は低下した骨吸収活性を回復させた。Wnt シグナルにおける Rho 活性化因子である Daam2 の発現は、破骨細胞分化に伴い増加した。shRNA を用い Daam2 発現を抑制したところ、吸収窩形成が抑制された。また、Daam2 をノックダウンした破骨細胞において CA-RhoA を発現すると、低下した吸収窩形成は回復した。以上より、Ror2 シグナルは Daam2 を介して Rho を活性化し、破骨細胞の骨吸収活性を制御する。会員外共同研究者：山下照仁 (松歯大)、南康博 (神戸大)

P1-94

歯周病関連菌の義歯用レジン (PMMA) 表面への付着性および唾液による影響
 ○石黒 和子^{1,2}、鷲尾 純平²、佐久間 陽子¹、竹内 裕尚¹、福島 庄一³、佐々木 啓一¹、高橋 信博² (¹東北大 院歯 口腔システム補綴、²口腔生化、³次世代歯科材料工)

【目的】義歯表面 biofilm は、齲蝕、歯周病、誤嚥性肺炎等の原因となる。我々は、齲蝕関連菌を対象として、alamarBlue による非 RI 微量細菌付着定量法を確立し、細菌の PMMA 表面付着を定量した。しかし、歯周病関連菌の多くは alamarBlue との反応が弱く、各菌特異的な代謝基質を加え、反応を活性化させる必要がある (石黒ら、2012)。本研究では *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Fusobacterium nucleatum* (Fn) の PMMA への付着を従来法及び基質添加改良法で測定し、さらに唾液による PMMA 表面処理の影響を検討した。

【方法】Pg (ATCC 33277)、Fn (JCM 8532) の各標準株を用いた。PMMA プレートを経済液あるいは唾液で一晩処理した。各菌懸濁液を 37℃ で 2 時間付着させ、1% alamarBlue 溶液と代謝基質 (Pg: 0.5% tryptone、Fn: 0.2% glutamate) を加え、3 時間後の蛍光強度から付着量を算定した。

【結果】Pg、Fn とも、改良法において蛍光強度が 13.8 倍、161 倍に増加した。両菌とも PMMA 表面に付着し、Pg の付着量は Fn の 3.0 倍であった。また、両菌とも唾液によって付着量に有意な変化はなく、唾液で付着が増減する齲蝕関連菌 (Sakuma et al., 2013, in press) と異なっていた。

【結論】改良法によって歯周病関連菌の付着が定量できた。義歯表面 biofilm から歯周病関連菌が検出されているが (Teles et al., 2012)、これらの細菌が義歯表面に直接付着できることが示された。

P1-96

培養幹細胞を用いた象牙質顆粒の機能解析
 ○小栗 健策^{1,2}、川木 晴美¹、田中 雅士^{1,2}、森春菜²、神谷 真子¹、高山 英次¹、吉田 隆一²、近藤 信夫¹ (¹朝日大 歯 口腔生化、²朝日大 歯 歯科保存)

我々は象牙質顆粒を根尖封鎖材として応用すべく研究を行ってきた。そして象牙質が根尖部で dentinal plug を形成することを動物実験にて示した。しかし象牙質顆粒填入後の周囲組織の応答については不明な点が多い。そこで象牙質および人工骨補填材存在下での細胞応答を様々な組織由来の幹細胞 (ヒト歯髓由来幹細胞 (hDPSC)、ヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC)、ヒト脂肪由来幹細胞 (hASC)) を用いて検討した。

象牙質は患者の同意のもと朝日大歯学部倫理委員会の承認を得て抜去歯より調整した。象牙質顆粒、HA、β-TCP に対する細胞の初期接着を細胞播種後 12 時間で検討した結果、3 種の細胞とも骨補填材非存在下 (NC) と比べ有意差はみられなかった。次いで細胞増殖について検討した結果、象牙質顆粒は 3 種の幹細胞の増殖を有意に促進したが、HA、β-TCP では細胞増殖促進は認められなかった。アルカリホスファターゼ (ALP) 活性は HA で有意に高かったが象牙質顆粒および β-TCP には有意な促進効果は認められなかった。

今回用いた材料は細胞接着を顕著に阻害するものではなかった。そして細胞増殖においては、象牙質顆粒は比較的用いた人工材料よりも有意に促進効果を示した。しかしながら象牙質による ALP 活性上昇促進効果は認められず、本材料が未分化な状態で増殖を促進する基材として有望であることが示唆された。今後は培養後の細胞の性状を詳細に検討するため、遺伝子発現解析を行っていく予定である。

P1-97

炭酸含有アパタイトの骨髄由来間質細胞の接着・増殖促進効果の検討

○高橋 潤^{1,2}、川木 晴美¹、尾上 一平^{1,2}、近藤 雄三^{1,2}、神谷 真子¹、高山 英次¹、永原 國央²、近藤 信夫¹ (朝日大 歯 口腔生化、²朝日大 歯 インプラント)

【目的】我々は骨組織の欠損を生理的に再生、再建することを目指し、骨アパタイトに物理化学的性状が酷似する炭酸含有アパタイト(CA)を開発した。そしてCAが既存の人工骨補填材料と同等の骨誘導能を有し、破骨細胞性吸収が迅速であることを動物モデルを用いて示してきた。しかしながら、in vivoで確認されたCAの効果についての詳細なメカニズム解析は行われていなかった。そこで我々はラット骨髄由来間質細胞を用い接着および増殖について検討した。

【方法】ラット骨髄由来間質細胞を調整し、この細胞を整粒したCA、水酸化アパタイト(HA)、β-リン酸三カルシウム(β-TCP)を0.25~8 mg/wellにてコーティングした培養器で培養し、無コーティングの培養器をコントロール(NC群)として増殖と接着について検討した。また、播種後12時間で固定、あるいはタンパク質試料を回収してVinculinの蛍光免疫染色とERK1/2のリン酸化解析を行った。

【結果および考察】CA群ではHA、β-TCP群に比べコーティング量依存的に細胞増殖が促進され、細胞の初期接着においてもHA、β-TCPが接着を阻害する傾向がみられるのに対しNC群と同等の細胞接着がみとめられた。さらに、CA群においてVinculinの染色性とERK1/2の活性化が顕著であった。以上のことからCAはHA、β-TCPに比べ細胞接着性に優れており、それにはERK1/2経路が関与していることが示唆された。

P1-99

デキサメタゾン培養骨芽細胞が形成する石灰化物のリン酸含有量と硬さを増強する

○宮本 尚^{1,2}、宮本 洋一¹、横 宏太郎²、上條 竜太郎¹ (昭大 歯 口腔生化、²昭大 歯 歯科矯正)

骨強度は、骨密度だけでなく石灰化細胞外基質の物理化学的性質、すなわち骨質に依存する。本研究では、骨芽細胞様MC3T3-E1細胞(以下、細胞)の石灰化培養系を用い、骨芽細胞が形成する石灰化物の物理化学的性質に影響を与える要因を解析した。通常の増殖培地(培地A)、アスコルビン酸(Aa)とβ-グリセロリン酸(Gp)を添加した培地A(培地B)、デキサメタゾン(Dex)を添加した培地B(培地C)の3種類の培地で細胞を2週間培養した。培地Aで培養した細胞のアルカリホスファターゼ活性は、培地Bあるいは培地Cのものより高かった。培地Bと培地Cの培養系では、アリザリン赤とコッサ染色陽性の石灰化物が観察された。培地Bと培地Cでの石灰化物のカルシウム量に有意な差はなかった。ラマン分光法で分析すると、培地Bの石灰化物にはリン酸基が確認できなかったが、培地Cでは、カルシウム沈着に遅れてリン酸基含量の上昇が観察された。一方、糖質コルチコイド受容体阻害剤存在下に培地Cで培養した細胞の石灰化物はリン酸基を含まなかった。さらに、培地Cで生じた石灰化物の硬さをナノインデンテーション法で解析したところ、培地Bで生じた石灰化物に比べ、有意に硬かった。ヒドロコルチゾンでも上記と同様の結果が得られた。以上より、骨芽細胞の石灰化物形成にはAaとGpで十分だが、より硬いリン酸カルシウムを含む石灰化物の形成には副腎皮質ステロイドが必要であることが示された。

P1-98

炭酸含有アパタイトの骨芽細胞増殖分化促進効果の検討

○近藤 雄三^{1,2}、川木 晴美¹、尾上 一平^{1,2}、高橋 潤^{1,2}、神谷 真子¹、高山 英次¹、永原 國央²、近藤 信夫¹ (朝日大 歯 口腔生化、²朝日大 歯 インプラント)

【目的】近年、リン酸カルシウム基材が骨代用材、骨修復材として整形外科領域を中心に臨床応用されており、β-リン酸カルシウム(β-TCP)が整形外科領域において骨欠損の補填材に使用され、ハイドロキシアパタイト(HA)が歯科用インプラント体のコーティング材に応用されている。我々はより生理的な骨再生を目指し、生体吸収性の骨補填材料として炭酸含有アパタイト(CA)を開発した。そして焼結温度の異なるCA上では骨髄由来細胞の応答性が異なることを見出した。そこで3種の焼結温度のCAを用いてラット頭蓋冠由来骨芽細胞の増殖分化について検討した。

【方法】Wisterラット胎仔頭蓋冠由来骨芽細胞を調整して実験に用いた。この細胞を3種の異なる温度(400、550、700℃)で焼結したCAを培養器に4 mg/wellずつコーティングした上で培養して(CA400、CA550、CA700群)増殖と接着、アルカリホスファターゼ(ALP)活性および石灰化レベルについて検討した。同様にHA、β-TCP群を作成し、無コーティングのものとともに比較対象とした。

【結果および考察】CAはHAに比べ骨芽細胞の接着・増殖に優れておりその効果はCA400群が最も高かった。ALP活性はHA群が高く、次いでCA700群が高かったが石灰化においてはCA群が優れており特にCA400群で顕著であった。以上よりCAは骨芽細胞の増殖分化において優れた材料であることが示された。

P1-100

骨芽細胞のスフィンゴミエリン合成酵素(SMS2)が破骨細胞分化に及ぼす影響

○加山 智規¹、吉川 美弘²、池尾 隆²、岡崎 定司¹ (大歯大 欠損歯列補綴咬合、²大歯大 生化)

【目的】1,25(OH)₂D₃は骨芽細胞の機能を亢進することで破骨細胞の分化を促進する。一方、白血球細胞株はスフィンゴミエリンを減少させることで、細胞機能の発現を促進することが知られている。今回、私たちは役割が明確にされていない骨芽細胞のSMS2に着目し、SMS2と骨芽細胞が発現する破骨細胞分化調節因子との関連について検討した。【方法】1日齢 ddY マウスの頭蓋冠から単離した骨芽細胞(OB)からSMS2をsiRNAにてノックダウンした。6週齢 ddY マウス脛骨より単離した骨髄細胞(BM)と1,25(OH)₂D₃刺激下で共培養し、1週間後TRAP染色を行った。また、SMS2をノックダウンし、1,25(OH)₂D₃で刺激したのちRANKLのmRNA発現をreal-time PCR法にて解析した。同様にRXRタンパク質発現をウエスタンブロッティング法により解析した。【結果と考察】SMS2をノックダウンするとOBとBMの共培養によるTRAP染色陽性多核細胞形成が抑制された。さらに、1,25(OH)₂D₃刺激でRANKLのmRNA発現は有意に低下した。一方RXRは1,25(OH)₂D₃刺激に関係なく、タンパク質の発現が抑制された。以上により、SMS2はRXRを介してRANKLの発現を制御することで、破骨細胞分化を調節している可能性が示唆された。

P1-101

マウス口腔扁平上皮癌による脾細胞インターフェロロン γ 産生能の抑制効果
 ○稲垣 俊弘¹、神谷 真子²、東 康加³、川木 晴美²、高山 英次²、村松 泰徳¹、近藤 信夫² (朝日大 歯 口腔外科、²朝日大 歯 口腔生化学、³朝日大 歯 歯科麻酔)

【目的】我々は本学会において、口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) 株を移植した同系マウスにおいて脾細胞のインターフェロロン γ (IFN- γ) 産生能が腫瘍体積の増大に逆相関して低下し、抗腫瘍免疫能が抑制されることを報告している (東ら 第 54 回、55 回 歯科基礎医学会学術大会)。そこで本研究では、この分子機構を解明するために、*in vitro* 共培養系を用いて癌細胞と免疫細胞の直接的相互作用を検討した。【方法】C3H マウス由来頬粘膜扁平上皮癌細胞株 (Sq1979、理研 BRC) とそのサブクローン Sq23311 (原発巣より採取) および L-5 (転移リンパ節より採取) を用いた。これら OSCC 細胞の共存下で、同系統のマウスから採取した脾細胞を抗 CD3 抗体にて 48 時間刺激培養し、上清に分泌される IFN- γ をはじめとするサイトカインの産生能を ELISA 法にて測定した。【結果と考察】L-5 は Sq1979 や Sq23311 に比較して高い移植生着率、成長速度を示していた。Sq1979 および Sq23311 は、抗 CD3 抗体刺激で惹起される脾細胞の IFN- γ の産生量を OSCC 細胞数依存的に低下させたが、L-5 は抑制効果を全く示さなかった。以上の結果から、Sq1979 および Sq23311 はマウス脾細胞集団に直接作用し免疫応答能を抑制することが示された。現在さらに異なる形質の OSCC 細胞株を用いて、脾細胞のサイトカイン産生能の制御について検討を進めている。

P1-103

急性ストレス負荷時のラット副腎髄質における TrkB の役割
 ○近藤 裕介^{1,2}、東 雅啓²、猿田 樹理²、林 隆司²、松木 千紗²、山本 裕子²、清水 智子²、川嶋 理恵³、榎木 恵一² (東海大 医 基盤診療病理診断、²神歯大 院 環境病理、³自医大 院 歯科口腔外科)

【目的】演者らは、唾液腺において急性拘束ストレス時に BDNF の発現が増加し、血中へ移行することで、遠隔臓器に影響を及ぼすことを報告した。さらに、ラット副腎髄質で BDNF の受容体である TrkB が有意に増加することを報告した。今回は、ストレス時に副腎髄質で発現する TrkB の役割と、副腎における BDNF 発現とその局在についての検討を行った。【方法】ラットに急性拘束ストレスを 60 分負荷した後、TrkB を刺激するために Agonist antibody (Anti-TrkB) を投与し、その 5 分後に血中カテコールアミン濃度測定を行った。副腎摘出モデルラットに対しても同様な方法で実験を行った。また、ラット副腎に対して PCR、*In situ hybridization*、免疫組織化学を行い BDNF の発現と局在の検討を行った。【結果】Anti-TrkB を投与した実験では血中カテコールアミン濃度の有意な上昇が認められた。副腎摘出モデルラットではアドレナリン、ノルアドレナリンの有意な上昇は認められなかった。また、BDNF 発現と局在の解析では、BDNF は副腎髄質に発現することが認められた。【考察】副腎に発現する TrkB はストレス応答としてカテコールミンを放出する役割を担うことが示唆された。また副腎髄質に BDNF が発現したことから、Autocrine 機構によるカテコールアミン放出誘導機序の存在が示唆された。

P1-102

不正咬合と片頭痛との関連について
 ○猿田 樹理¹、東 雅啓¹、林 隆司¹、清水 智子¹、山本 裕子¹、松木 千紗¹、川嶋 理恵²、近藤 裕介^{1,3}、榎木 恵一¹ (神歯大 院 環境病理、²自医大 院 歯科口腔外科、³東海大 医 病理診断)

【目的】近年、頭痛と顎関節症との関連性について研究が進んでおり、頭痛と咬合との関連性についても注目されている。しかし、頭痛と不正咬合が関与しているかどうかは、いまだ不明瞭な点が多い。そこで本研究では、片頭痛と不正咬合の関連性について検討することを目的とした。【資料および方法】被験者は、神歯大附属横浜研修センター・横浜クリニック頭痛外来にて、国際頭痛分類第二版により診断を受けた片頭痛患者 60 名 (平均年齢 39.3 歳) と頭痛のないコントロール群 40 名 (平均年齢 31.3 歳) とした。すべての被験者に対し、生活習慣や顎関節に関するアンケート、口腔内写真撮影、上下歯列の印象採得を行った。これらの資料をもとに統計を行い、片頭痛群とコントロール群間での違いを比較した。【結果および考察】顎関節症状についての問診票では、大開口時のひっかかりを自覚している人がコントロール群で有意に高かったが、その他有意差が認められなかった。模型所見においては、片頭痛患者ではコントロール群と比較し、オーバーバイト、くさび状欠損歯数、歯間内開口角、Angle の分類で有意差が認められた。また、片頭痛群の Angle2 級不正咬合のうち、1 類が 9%、2 類が 62%、判別困難が 29% となった。片頭痛群とコントロール群間では、模型所見でいくつかの特徴的な所見が認められた。以上の結果よりこれらは、片頭痛をもつ患者の口腔内の特徴と考えられた。

P1-104

ヒト歯周炎歯肉における hBD-2 発現誘導の解析
 ○東 雅啓¹、清水 智子¹、猿田 樹理¹、佐藤 武則²、近藤 裕介^{1,3}、林 隆司¹、山本 裕子¹、松木 千紗¹、浜田 信城²、榎木 恵一¹ (神歯大 院 環境病理、²神歯大 院 微生物、³東海大 医 病理診断)

【目的】歯周病原細菌の曝露をいち早く受ける歯肉上皮細胞では、細胞表面に存在する Toll-like receptor (TLR) を介して human β -defensin-2 (hBD-2) の発現を誘導することで病態の重症化を防いでいる。この発現メカニズムを含めたヒト歯肉における免疫反応を直接的に解析した報告は未だない。そこで本演題ではヒト歯肉組織再現モデルを使用し、*Porphyromonas gingivalis* に対するヒト歯肉組織の免疫応答を、TLR、hBD-2 の発現量と局在から検討を行った。【方法】慢性歯周炎患者の歯肉を用いて、Tsukinoki ら (*J Periodont Res* 2007) の方法に従いヒト歯周炎歯肉再現モデルをヌードマウス (♂、6-8 週令) にて作製した。その後ヒト歯肉に対して *P. gingivalis* を感染させ、サンプリングし定量 PCR および免疫組織化学的解析、*in situ hybridization* を行った。さらに、移植後歯肉のヒト特異的発現を確認するため免疫組織化学染色を行った。【結果と考察】移植後歯肉においてもヒト由来であることが確認され、また歯肉における TLR および hBD-2 発現が *P. gingivalis* 感染によって有意に増加した。従ってこのモデルにおいても TLR による病原体認識機構が抗菌ペプチド産生を誘導していることが示唆され、このモデルがヒト組織における歯周病病態の解析に有用であると考えられる。

P1-105

マウス咬筋の持続的活動における IL-1 の役割
 ○千葉 航¹、米田 博行²、菅原 俊二³、遠藤 康男³ (1東北大院歯 加齢歯科、2東北大院歯 口腔システム補綴、3東北大院歯 口腔分子制御)

【背景と目的】筋活動に伴い IL-1 β や IL-6 が産生され、IL-6 は筋肉のグルコース恒常性を支えるとの報告がある。しかし、咬筋活動時の IL-1 β に関する研究は少ない。本研究は 5-7 週齢の IL-1 欠損マウス (IL-1-KO) と野生型 (WT) マウス (いずれも Balb/c) を用いて、この点について検討した。【方法】マウスを細い筒に閉じ込め (R: restraint) 出口をプラスチック板で閉じると、マウスは脱走用の隙間を作るため、この板を長時間咬み砕き続ける (G: gnawing) (この実験系を R+G+ と呼称)。R+G+でのプラスチック板の減少量は咬筋活動量を示す。R+G+前後の咬筋組織について、IL-1 β 、IL-6、および糖代謝関連分子 (Glut4、AMPK など) の発現、組織内グリコーゲン量について検討した。【結果】IL-1-KO マウスでの咬筋活動量は WT に比べ有意の低値を示した。WT では 30 分間の R+G+に伴い、咬筋組織での IL-1 β mRNA は 5 倍、IL-6 mRNA は 3 倍に上昇した。しかし、IL-1-KO では IL-6 mRNA 発現の遅延が観察された。IL-1-KO マウスでは、咬筋組織の IL-6 タンパクの上昇も有意に低く、R+G+後の組織グリコーゲン量の回復も有意に低値を示した。またマウスへの IL-1 投与により筋内の AMPK リン酸化が促進した。【考察】持続的咬筋活動により発現する IL-1 は IL-6 を介して咬筋の糖代謝を賦活化し、その機能維持に関与することが示唆された。

P1-107

CCN3 は骨再生における抑制因子である
 ○松下 祐樹^{1,2,3}、坂本 啓¹、南里 篤太郎^{1,4}、原田 清²、山口 朗¹ (1東医歯大 院医歯 口腔病理、2東医歯大 院医歯 顎顔面外科、3長大院医歯 口腔腫瘍治療、4長大院医歯 顎・口腔再生外科)

CCN3 は CCN ファミリー (CYR61、CTGF、NOV の頭文字由来) に属する分泌性タンパク質である。我々は、CCN3 が骨芽細胞の分化を抑制することを報告してきたが、骨再生における役割は明らかにされていない。本研究では骨再生過程における CCN3 の役割を明らかにすることを目的とした。8 週齢雄性マウスの大腿骨骨幹部に骨欠損を作成し、骨再生過程における遺伝子発現の変動をマイクロアレイで解析したところ、骨再生過程の初期で Ccn3 の発現が上昇していた。野生型マウスの骨再生過程の初期で Ccn3 の発現が上昇することを RT-PCR と蛍光免疫染色法でも確認した。2.3 kb Coll1a1 promoter を用いた Ccn3 transgenic (Ccn3 Tg) マウスの骨格は、骨形態計測法で野生型マウスに比べ、骨量が減少していた。一方、Ccn3 knockout (Ccn3 KO) マウスの骨量は野生型と差がなかった。Ccn3 Tg マウスの骨再生は野生型と変化がなかったが、Ccn3 KO マウスの骨再生は野生型マウスより亢進していた。さらに、Ccn3 KO マウスの骨再生過程では、野生型マウスに比べて Runx2、osteocalcin などの骨芽細胞分化に関連する遺伝子の発現が骨再生初期で有意に上昇していた。骨再生初期における Smad1/5 のリン酸化、核移行は、Ccn3 KO マウスの方が野生型マウスに比べて亢進していた。以上のことから、CCN3 は骨再生の初期に発現が上昇し、骨の再生を抑制している因子であることが明らかとなった。

P1-106

in vivo におけるヒト菌周炎歯肉モデルを用いた hBD-2 および IL-1 β 発現と臨床病態との関連についての検討

○清水 智子¹、東 雅啓¹、川嶋 理恵²、林 隆司¹、猿田 樹理¹、佐藤 武則³、近藤 裕介⁴、山本 裕子¹、浜田 信城³、榎木 恵一¹ (1神歯大院 環境病理、2自医大院 歯科口腔外科、3神歯大院 微生物、4東海大 医 病理診断)

【目的】歯肉上皮細胞では細菌や炎症性サイトカインの刺激によって human β -defensin-2 (hBD-2) が産生され、初期防御に関与する。しかしヒト歯肉を用いて反応性を解析した報告はない。そこで、ヒト歯肉組織を免疫不全マウスに移植した *in vivo* モデルを作製し、細菌感染させて hBD-2 および IL-1 β の発現レベルと歯周炎の重症度との関連について検討を行った。【方法】歯周外科手術または抜歯術を行った軽・中等度慢性歯周炎患者 24 名、重度慢性歯周炎患者 13 名より歯肉を採取した。そして、ヒト歯肉組織はヌードマウス皮下に移植し、*Porphyrromonas gingivalis* を感染させ 2 時間後、定量 PCR を用いて hBD-2、IL-1 β mRNA 発現を解析した。【結果と考察】軽・中等度慢性歯周炎群において、*P.gingivalis* 感染によって hBD-2 の発現は有意 ($P < 0.05$) に増加したが、重度慢性歯周炎群では有意な増加を認めなかった。また、IL-1 β と hBD-2 は相関 ($r = 0.421, P < 0.05$) した。これらの結果から、重度慢性歯周炎では、感染後 hBD-2 の発現が抑制されており、病態の違いと hBD-2 の発現動態 (感染後の歯肉上皮の反応性) の間には関連がある可能性が示唆された。

P1-108

コラーゲンゲルを用いたラット唾液腺における創傷治癒関連細胞の解析

○小林 史卓^{1,2}、井上 孝^{1,2} (1東歯大 口腔科学研究セ、2東歯大 臨床検査病理)

【目的】ラット顎下腺の創傷部にコラーゲンゲルを填入してゲル内に侵入する細胞の特徴と動態を免疫組織化学的に検討した。【方法】ラット顎下腺に生検パンチを用いて $\phi 3$ mm の欠損を付与し、欠損部には 1:コラーゲンのみ、2:EGF 添加、3:bFGF 添加、4:FGF7 添加、5:BMP-2 添加、6:マトリゲルを填入した。3、5、7、14 日後に標本作製し、免疫組織化学染色をおこなった。填入したゲルの残存面積および各抗体陽性細胞数の計測をおこなった。【結果】1 では、5 日目からコラーゲンゲルの吸収がみられ侵入細胞数が増加した。14 日目でゲルは消失し線維性結合組織による置換が認められた。免疫組織化学的染色では、CD49f 陽性細胞が創面付近に接するゲル周囲内に観察され、ゲル中心部へは vimentin、 α -SMA、GFAP に陽性を示す細胞の侵入が主体で、僅かに CK19 陽性を示す細胞もみられた。2、3、4 では、1 と比較してゲルの吸収促進および侵入細胞数の増加が認められた。5 では、ゲル周囲に硬組織片の形成がみられた。6 では侵入細胞が細胞塊を形成し増殖した。【考察】創傷部へゲルを填入後、CD49f 陽性細胞が創面付近に発現し、BMP-2 添加時に同部に硬組織形成が認められたことから創傷面から幹細胞が発現し創傷治癒に関与することが示唆された。また、ゲル内へ増殖因子を添加することで治癒を促進したことは、幹細胞の分化を促したためであると考えられた。

P1-109

卵巣摘出ラットの抜歯窩新生骨形成におよぼすビスホスホネートの影響

○山崎 貴希¹、蛭間 信彦¹、見明 康雄¹、森口 美津子¹、澤田 隆¹、山本 仁¹、柳澤 孝彰¹ (東歯大 超微構造)

【目的】 Bisphosphonate 関連性顎骨髄壊死 (BRONJ) の危険因子の中で、抜歯などの侵襲的歯科処置は最も重要な因子とされている。本研究は BRONJ の発生機序を明らかにする目的で卵巣摘出ラットをエストロゲン低下による骨粗鬆症モデルラットとし、Bisphosphonate 製剤 (BP) 投与が抜歯後の治癒過程、特に新生骨形成にどのような影響を及ぼすかを検討した。【方法】 9 週齢の雌 Wistar 卵巣摘出ラットの顎第二臼歯を抜去後、対照群 (生理食塩水投与群) と BP 投与群の二群 (各 6 匹) に分け、1、2、4 週間経過後に同部を採取した。試料は脱灰後パラフィン切片を作製し、H-E 染色および TRAP 染色を行い、新生骨形成状態・破骨細胞の数・形態を観察した。試料の一部は非脱灰とし μ CT を用いて新生骨の骨密度を測定した。さらに研磨標本を作製し、コンタクトマイクロラジオグラフィ (CMR) を撮影した。【結果と考察】 BP 投与群では対照群に比べ、核の濃縮、多核、巨大細胞などの像が観察され、また骨表面からの乖離する破骨細胞数が増加していた。新生骨骨密度は、抜歯後 1 週経過後・4 週経過後で BP 投与群のほうが control 群よりも少なかった。抜歯後 2 週では両群で顕著な差が見られなかった。以上の結果から、BP は抜歯後の治癒の際に、早期の段階で抜歯窩内の新生骨形成に影響を及ぼすと考えられた。また、BP 投与群での密度の低い骨梁構造は BRONJ の炎症の広がりに影響を及ぼすことが考えられた。

P1-110

レジンモノマーはアジュバントとして歯科材料アレルギーによるマウスでのアレルギーを促進する

○坂東 加南^{1,2}、田中 志典^{1,3}、黒石 智誠¹、山本 照子²、菅原 俊二¹、遠藤 康男¹ (東北大 院歯 口腔分子制御、²東北大 歯 顎口矯矯正、³東北大 歯 歯学イノベーションリエンジン)

【背景と目的】 レジンモノマー (RM) が原因とされる接触過敏感症がしばしば報告されている。歯科医療従事者では、皮膚疾患の 64% は RM が原因だったとの報告もある。しかし、RM のアレルギーとしての強さは極めて弱く、マウスモデル確立の報告はなく、私達も成功していない。しかし、私達は RM の methyl methacrylate (MMA), 2-hydroxyethyl MA (HEMA) が Ni アレルギーでアジュバント効果を示すこと、RM 重合防止剤として使用される hydroquinone (HQ) がアレルゲンになることを報告した。本研究では HQ アレルギーに対する RM のアジュバント効果を検討した。【方法】 感作処理として HQ を acetone または acetone/RM 混合液に種々の濃度で溶解し、マウス剃毛脇腹に塗布した (200 μ l/mice)。7 日後、惹起処理として同溶液を耳介に塗布 (20 μ l/ear) し、炎症 (腫脹) を測定した。【結果】 感作投与が HQ を acetone だけに溶解した場合に比べ、HQ を acetone/RM 混合液に溶解した場合に強い腫脹が観察された。【考察】 以上の結果は、RM が HQ アレルギーに対するアジュバント効果を持つ事を示唆する。従って、臨床において、“HQ や金属がアレルゲン、RM がアジュバント” として誘導されるアレルギーが“レジナルアレルギー”と見なされる可能性がある。

P1-111

長期 LPS 刺激されたヒト歯根膜線維芽細胞における DNA メチル化の網羅的解析

○高井 理衣¹、植原 治²、中條 隆俊¹、佐藤 英樹¹、吉田 光希¹、佐藤 惇¹、西村 学子¹、荒川 俊哉³、田隈 泰信³、安彦 善裕¹ (北医大 歯 臨床口腔病理、²北医大 歯 保健衛生、³北医大 歯 口腔生化)

【目的】 エピジェネティクスは、DNA 塩基配列の変異を伴わず遺伝子発現が変化するもので、主に DNA 高メチル化やヒストン修飾がある。近年、エピジェネティクスの歯周炎症や進行への関与を示唆する報告はあるが、その詳細は不明である。本研究では、*P.gingivalis* 由来 LPS による歯周組織のエピジェネティクスを明らかにするため、長期 LPS 刺激でのヒト歯根膜線維芽細胞 (HPdLs) における DNA メチル化の網羅的解析を行った。

【方法】 HPdLs (LONZA) を LPS (WAKO, 1 μ g/ml) 添加、無添加 DMEM (3 日毎に交換) にて、1ヶ月間培養した。コントロールは、LPS 非添加 DMEM にて 1ヶ月間培養した。培養後、DNA を抽出、cytidine 5-dUTP および cytidine 3-dUTP にてラベリング、Human CpG islands 224k array に DNA をハイブリダイズ、DNA Microarray Scanner (Agilent technology) にて解析した。解析データの再現性確認のため、上位と下位 10 遺伝子ずつの定量的リアルタイム PCR (MSP 法) を行った。

【結果および考察】 全 30112 probes (5760 遺伝子) 中、12918 probes (2910 遺伝子) に 4 倍以上の高メチル化がみられ、10330 probes (3375 遺伝子) に 1/4 以下の低メチル化が認められた。解析データと定量的リアルタイム PCR から、CACNA1F 遺伝子に最も高メチル化が認められた。これらのことより、長期 LPS 刺激での HPdLs の多くの遺伝子応答が、DNA メチル化に関わることが示唆された。

P1-112

自己免疫疾患モデルを用いた腫瘍免疫システムの解析

○近藤 智之¹、山田 安希子¹、新垣 理恵子¹、工藤 保誠¹、石丸 直澄¹ (徳大院 HBS 口腔分子病態)

【目的】 自己免疫反応は自己の細胞や組織に対する免疫反応であり、腫瘍免疫もまた自己に発生した腫瘍細胞に対する免疫反応であることから、自己免疫と腫瘍免疫には何らかの共通点あるいは相違点が想定されるが、詳細については不明な点が多い。本研究では、シェーグレン症候群を含む自己免疫疾患モデルマウスである B6/*lpr* マウスを用いて腫瘍移植実験を行うことにより、新規の腫瘍免疫制御機構を明らかにすることを目的とする。【材料及び方法】 C57BL/6 (B6) マウスと B6/*lpr* マウス (自己免疫疾患モデル) に対し悪性黒色腫細胞 (B16F10) 及び GM-CSF を強発現する G-B16F10 の移植実験を行い、腫瘍の増殖、各種免疫細胞分画を病理学的あるいは免疫学的手法を用いて検討した。【結果】 B6/*lpr* マウスに移植した B16F10 の腫瘍増殖は対照群に比較して軽度の亢進が見られ、B6/*lpr* マウスに移植した G-B16F10 の増殖は対照群に比較して有意に亢進していた。G-B16F10 を移植された B6/*lpr* マウスの CD11b 陽性細胞は対照群に比較して有意に上昇していたことに加え、腫瘍本体中の VEGF は有意に増加していた。【結論】 自己免疫疾患モデルへの腫瘍移植実験結果から、自己免疫反応を背景にしたマクロファージは正常な腫瘍免疫システムに何らかの機能不全をもたらす可能性が示された。

P1-113

核内長鎖 non-coding RNA – その唾液腺腫瘍における役割 –

○外菌 知恵¹、入江 太朗¹、安原 理佳¹、田中 準一¹、美島 健二¹ (昭大 歯 口腔病態診断 口腔病理)

Non-coding RNA (ncRNA)はタンパク質をコードしないRNAである。ncRNAの中でも数百から数千塩基対に及ぶ「長鎖ncRNA」については、その大部分の生理機能は不明であった。我々はこれまでに核内長鎖 ncRNA である MALAT-1 が口腔粘膜上皮異形成や扁平上皮癌において発現が高まることを明らかにしてきた。今回唾液腺腫瘍における MALAT-1 の発現について検討したので報告する。

【方法】 当科にて診断された唾液腺腫瘍 17 症例について in situ hybridization を行った。また laser microdissection 法と real-time PCR 法によりその発現量を検討した。さらに唾液腺腫瘍 87 症例がスポットされた tissue array を用いて in situ hybridization を行いその生存解析を行った。

【結果】 MALAT-1 は正常唾液腺、良性腫瘍、悪性腫瘍の順に発現が亢進し、筋上皮系細胞と導管上皮系細胞の両者に発現した。生存解析においては MALAT-1 陽性症例において予後不良となる傾向がみられた。

【考察】 唾液腺腫瘍において良性腫瘍より悪性腫瘍において陽性率が高まる傾向がみられたこと、その発現が予後に影響する傾向がみられたことから、MALAT-1 は唾液腺腫瘍の表現型そのものに大きな役割を果たしていることが示唆された。

会員外共同研究者：秋光信佳；東京大アイソトープセンター 森泰昌；国立がん研究所、大西忠博；株式会社エム・シー・オー

P1-115

転移能力違い舌扁平上皮癌細胞系における体外浸潤の比較

○劉 涵¹、劉 波¹、肖 晶¹ (大連医大 口腔医学院 口腔基礎)

Objective: Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is the key process driving cancer invasion and metastasis. The aim of this study was to investigate the invasion mechanism of miR-140-mediated potential negative regulation of Smad3 expression in tongue squamous cell carcinoma (TSCC) in vitro. Methods: Tca8113 (mut-p53) and UM-SCC6 (wt-p53) cells that migrated through the membranes and attached to the transwell lower-chamber compartments were harvested aseptically. Immunocytofluorescent was applied to detect the expression of E-cadherin and Vimentin. qRT-PCR was also used to detect the mRNA levels of miR-140 and Smad3. Results: E-cadherin was detected in both cell lines, whereas Vimentin was partially detected. In invasive mesenchymal-type cells, E-cadherin was significantly reduced, while Vimentin was increased. Furthermore, we discovered that the expression of Smad3 was suppressed by miR-140 only in UM-SCC6 cells. Conclusion: EMT was found in both cell lines during the invasion. The abnormal expression of miR-140 and Smad3 in UM-SCC6 had remarkable association with the invasiveness. The gene of p53 may be involved in the EMT procedure.

P1-114

ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染が口腔扁平苔癬 (OLP) の悪性化に関与する可能性についての検討

○加藤 世太¹、河合 遼子¹、鳥居 亮太¹、本田 由馬¹、加藤 郁郎¹、吉田 和加^{1,2}、杉田 好彦^{1,2}、佐藤 恵美子^{1,2}、久保 勝俊^{1,2}、前田 初彦^{1,2} (愛院大 歯 口腔病理、²愛院大 未来口腔医療研究セ)

【目的】 我々はヒトパピローマウイルス (HPV) が口腔前癌状態である口腔扁平苔癬 (OLP) の悪性化に関与する可能性を考え、同疾患における HPV 感染を検索した。

【材料および方法】 愛院大歯学部附属病院および関連施設にて OLP と診断された 200 症例 (頬粘膜 132 例、歯肉 30 例、舌 19 例、口唇 15 例、口蓋 4 例) のホルマリン固定パラフィン包埋病理組織切片より DNA 抽出し、コンセンサスプライマー (GP, GP⁺, MY) を用いた PCR を実施した。そこで陽性と判定した 83 症例について型特異的プライマー (HPV-6, 11, 16, 18, 33) を用いた PCR を実施した。また、*In-situ* Hybridization と免疫染色により HPV 感染を確認した。

【結果】 コンセンサスプライマーを用いた PCR における 3 種のプライマーのうちいずれかで陽性になった割合は 41.5% であった。型別の HPV 感染率は、多い順に、16 型 (25.5%)、18 型 (23.5%)、11 型 (6.5%)、6 型 (5.5%)、33 型 (3.5%) であった。悪性病変に関与する 16、18、33 型のいずれかに感染している症例は 31.5% にのぼった。また、*In-situ* Hybridization では上皮全層の、免疫染色では上皮上層の細胞の核に HPV DNA 陽性像がみられた。

【結論】 今回の結果は、多くの HPV が OLP 病変に存在していることを示すものであり、HPV 感染が OLP の悪性化を起こす危険因子の一つである可能性が示唆された。

P1-116

エナメル上皮腫における CCN2 の発現と間質線維芽細胞への作用について

○武部 祐一郎¹、辻極 秀次¹、于 湊¹、藤井 昌江¹、河合 穂高¹、玉村 亮²、佐々木 朗³、長塚 仁¹ (岡大 院医歯薬 口腔病理、²岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科、³日大 松戸歯 解剖 2)

【緒言】 腫瘍間質は腫瘍の形態や性格に影響を及ぼす因子として注目されている。歯原性腫瘍においても、腫瘍間質が腫瘍の生物学的特性に寄与すると考えられるが、腫瘍間質に着目した研究は少ない。本研究ではエナメル上皮腫において、腫瘍実質が間質に及ぼす影響について検討した。【材料と方法】 エナメル上皮腫を用い、間質に影響を及ぼす因子として TGF-β、BMP4、CCN2、CD68、RANKL の発現と局在を免疫組織化学的に検索した。さらに、エナメル上皮腫摘出物から間質線維芽細胞を初代培養して得た ASF0000、ASF0111 細胞にエナメル上皮腫由来細胞株 AM-1 細胞の培養上清や rhCCN2 を加え、影響を観察した。【結果および考察】 腫瘍間質は線維の増生が強い Fibrous type (Ft) と粘液腫状を示す Myxoid type (Mt) に大別された。TGFβ、BMP4、RANKL の腫瘍実質での発現と間質の性状に関連は認めなかった。腫瘍実質で CCN2 が高発現している部位に近接する間質は Ft を示し、間質でも高発現していた。Ki-67 は CCN2 発現の高い部位で陽性率が高かった。間質の CD68 陽性細胞数は Mt で多かった。In vitro の実験で、AM-1 培養上清または rhCCN2 を添加すると細胞増殖は亢進し、免疫組織化学と一致した。以上から、エナメル上皮腫では、成長因子の発現の差異が、間質の性状に関与する可能性が考えられた。特に CCN2 は間質の線維化に寄与することが示唆された。

P1-117

ラクトフェリンの舌下からの吸収による脳への移行と抗酸化能との関連についての検討

○林 隆司¹、山本 裕子¹、吉野 文彦²、吉田 彩佳²、猿田 樹理¹、東 雅啓¹、近藤 裕介^{1,3}、川嶋 理恵⁴、李 昌一²、槻木 恵一¹ (¹神歯大院環境病理、²神歯大院 口腔科学、³東海大 医病理診断、⁴自医大院 歯科口腔外科)

[目的]ラクトフェリン(LF)は乳汁や唾液などに存在し多機能性を有することから、サプリメントとして経口投与で応用されることが多い。経口投与は最も安全だが初回通過効果を受ける。そこで、迅速な効果を目的としてラットにウシLF(bLF)を舌下投与し、更に唾液由来LF(sLF)の舌下からの吸収について検討し、LFの抗酸化能との関連を調べた。[方法]ラットをbLF投与群とBSA投与群の2群に分け、各粉末を舌下投与後5分、15分、30分にてサンプリングし、脳内bLF濃度をELISA法で測定した。また三大唾液腺摘出後1週および2週のラットを用いて脳内および血中sLF濃度をELISA法で測定し、sLFの舌下からの吸収による移行量を検討した。更に抗酸化能は、hydroxyl radicalおよびsuperoxideの消去率をESR法で測定した。[結果と考察]bLF舌下投与後5分で脳内bLF濃度が有意に上昇し、それ以降は低下傾向であった。またsLFの舌下からの吸収については、摘出後1週の脳内および血中sLF濃度がControl群と比較し有意に低下した。更に抗酸化能に関しては、hydroxyl radicalを約40%有意に消去した。これらの結果から、唾液腺摘出による唾液流出量の減少が脳内および血中sLF濃度を低下させることが示唆された。sLFの舌下からの吸収にbLF舌下投与の外因的要素が加わり、より効果的な抗酸化能を発揮すると思われる。

P1-119

唾液腺腫瘍におけるPTEN及びSmad4の発現

○劉 涵¹、劉 波¹、肖 晶¹ (¹大連医大 口腔医学院 口腔基礎)

Objective: to analyze the expression of PTEN and Smad4 in salivary gland tumors. Methods: 24 of pleomorphic adenoma (PA) and 45 of adenoid cystic carcinoma (ACC) were submitted to immunohistochemistry. 19 of normal salivary gland (NSG) were used as control. Results: In NSG, intense staining of PTEN was observed in both of cytoplasm and nuclus in myoepithelial and duct cells; but Smad4-positive cells only localized in the cytoplasm of seromucous cells. In cell-rich PA, high rates of nuclear staining of PTEN in myoepithelial-like cells and high rates of cytoplasm Smad4 in pleomorphic tumor cells were observed; PTEN and Smad4 expression showed marked variation within tumors, just like in NSG. In ACC, PTEN and Smad4 positive rate decreased with the decreasing degree of histological differentiation (P<0.05). The loss of PTEN expression was observed in solid type, while Smad4 showed strong nuclear expression in some cases (33%). Conclusion: Our studies suggest that PTEN and Smad4 may play a potential role in suppressing the formation of malignant tumor in salivary glands synergistically.

P1-118

F-spondin は歯周組織の硬組織破壊を抑制する

○岡 広子¹、北川 雅恵²、高田 隆^{1,3} (¹広大院 医歯薬保 国際歯科医学連携開発、²広大病院 口腔検査セ、³広大院 医歯薬保 口腔顎顔面病理病態)

歯周組織の慢性炎症性病変である辺縁性歯周炎は歯槽骨破壊を伴う一方で、臨床的に歯根吸収が認められることは稀有である。このことから、歯根周囲に特異的な細胞や因子が周囲の硬組織維持に大きく関わっていると示唆される。そこで、我々が近年セメント芽細胞に特異的に発現する遺伝子として報告したF-spondin に注目し、硬組織破壊機構に対する影響を検討したところ次の結果が得られた。1) F-spondin 投与により、M-CSFに対する破骨細胞前駆細胞の遊走は有意に抑制された。2) F-spondin 投与はRANKLによるNfatC1の誘導を抑制し、破骨細胞分化関連マーカー (TRAP, Cathepsin K, DC-STAMP) の発現およびTRAP陽性多核細胞の誘導を抑制した。3) F-spondin 過剰発現マウス由来の骨芽細胞からの分泌因子はRANKLによる破骨細胞分化誘導を抑制した。4) siRNAを用いてLDL receptor-related protein 8 (LRP8)を抑制すると1)、2)、3)で認められた抑制作用の一部が解消された。以上、歯周組織において、F-spondin は破骨細胞前駆細胞の遊走・分化を抑制し、硬組織破壊を制御する作用を持つことが明らかとなり、歯周組織において硬組織破壊を抑制する可能性が示唆された。

P1-120

LPSの破骨細胞形成に対するMDPの作用の検討

○石田 匡彦¹、北浦 英樹¹、木村 桂介¹、高田 春比古²、山本 照子¹ (¹東北大院歯 顎口腔矯正、²東北大院歯 口腔微生物)

近年高齢化に伴い、歯周病などの病的骨吸収を伴った疾患が問題となっている。この病的骨吸収はグラム陰性菌のLPSによって引き起こされることが知られている。LPSはTLR4受容体を介して骨吸収を引き起こすことが知られている。一方、ペプチドグリカンの構成成分であるMDPはNOD2を介して炎症を誘導するとされている。そこで本報告ではLPSによって引き起こされる破骨細胞誘導に対するMDPの作用を検討した。本研究では、マウス頭蓋部にLPS及びMDPの濃度を変え注入し、屠殺後組織切片を作製しTRAP染色により破骨細胞形成を評価した。また、頭蓋骨よりRNAを抽出後、リアルタイムPCRを行い破骨細胞形成マーカーのmRNAレベルを測定した。骨吸収を評価するために血中のTRACP 5b濃度を測定した。その結果、LPS単独でも高濃度では、破骨細胞形成が強く促進されたが、低濃度の場合では、破骨細胞形成が促進されなかった。一方、LPSとMDPを同時にMDPを注入した場合は、破骨細胞形成が強く促進され、また、相乗的に破骨細胞形成マーカーの発現の増強と、TRACP 5b濃度の増加が認められた。これらの結果からMDPはin vivoにおいてLPSによって誘導される破骨細胞形成を促進し、骨吸収を増強することが分かった。歯周病等の病的骨吸収は、LPSとMDPが連携して働き、骨吸収を相乗的に誘導していると考えられる。

P1-121

Curdlan-dectin-1 を介した新たな破骨細胞分化の制御機構

○山崎 徹^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、細川 隆司²、西原 達次¹ (九歯大 感染分子、²九歯大 口腔再建リハ)

【目的】 Dectin-1 は主にマクロファージや樹状細胞に発現し、βグルカンとの結合により、さまざまな細胞内反応を引き起こす。今回、βグルカンの一つである curdlan が receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL) 誘導下の破骨細胞形成に及ぼす影響について調べた。【方法】 マウス単球系細胞 RAW264.7 の dectin-1 過剰発現細胞を用い、RANKL、curdlan を添加して培養した。また、マウス骨髄細胞を用い、macrophage-colony stimulating factor (M-CSF)、RANKL、curdlan 刺激下で培養を行った。Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、TRAP 陽性多核細胞数を計測した。Osteo Assay Stripwell Plate にて骨吸収活性を評価し、さらに、破骨細胞のアクチンリング形成を観察した。RT-PCR、Western blotting にて nuclear factor of activated T cell c1 (NFATc1)、および関連分子を解析した。【結果】 Curdlan は RANKL 誘導下の成熟 TRAP 陽性多核細胞形成、さらに、吸収窩形成、アクチンリング形成を抑制した。また、NFATc1 とその関連分子、c-Fos の発現を抑制した。【考察】 Curdlan は RANKL 誘導下のシグナル経路を阻害することで、破骨細胞形成を抑制する可能性があることが示唆された。

P1-123

Streptococcus mutans と *Fusobacterium nucleatum* との共凝集におけるクオラムセンシングの関与について

○竜 佑宗¹、三上 正人²、葛城 啓彰²、下村-黒木 淳子¹ (1日歯大 新潟生命歯 小児歯、2日歯大 新潟生命歯 微生物)

【目的】 歯周病原細菌である *Fusobacterium nucleatum* のバイオフィームへの参入にはすでに付着定着している菌との共凝集による結合が必要であることが知られている。我々はこれまでに齶蝕病原性細菌である *Streptococcus mutans* との共凝集においてグルカン合成に関与する遺伝子発現レベルが高まる事を報告した。口腔内では種々の菌が混在しており、クオラムセンシングによる菌のバイオフィーム形成との関係を解明することは齶蝕発生メカニズムの解明につながると考える。付着に強く関連するとされるグルカン合成遺伝子 *gtfC* とクオラムセンシングに関与すると考えられている *luxS* 遺伝子の発現について検討した。【方法】 *S. mutans* MT557 に対し *F. nucleatum* ATCC25586 を Cisar らの方法に準じ嫌気条件下にて共凝集試験を行った。また *F. nucleatum* を 70℃、10 分間熱処理した後、共凝集試験を行い熱未処理菌と比較した。その後、凝集した菌体から RNA を調製し cDNA を合成し、*gtfC* と *luxS* について定量的 real-time PCR (qRT-PCR) にて遺伝子発現量を比較した。【結果】 *S. mutans* と *F. nucleatum* との共凝集が認められた。*S. mutans* の遺伝子発現は、熱未処理 *F. nucleatum* と共凝集する事で *gtfC* および *luxS* の発現レベルの上昇が認められたが、熱処理 *F. nucleatum* との共凝集においては遺伝子発現レベルが低下した。【考察】 *S. mutans* と *F. nucleatum* の間において異種菌間シグナル分子の存在が示唆された。

P1-122

S. sanguinis のバイオフィーム形成に対する *V. parvula* 培養上清の作用

○眞島 いづみ¹、鎌口 有秀¹、宮川 博史¹、藤田 真理¹、中澤 太¹ (1北医大 歯 微生物)

【背景】 口腔 *Veillonella* は、口腔バイオフィームの形成初期から存在し、それを構成する主たる早期定着菌として報告されている。現在、*V. atypica*、*V. denticariosi*、*V. dispar*、*V. parvula*、*V. rogosae*、*V. tobetsuensis* が知られている。しかし、口腔 *Veillonella* が、口腔バイオフィーム形成に及ぼす詳細なメカニズムや菌体間情報伝達機構等の解明は未だに進んでいない。【目的】 *V. parvula* 培養上清が、*Streptococcus sanguinis* 及び *V. parvula* のバイオフィーム形成へ及ぼす影響を明らかにする。【材料と方法】 バイオフィームの形成にはワイヤー法を用いた。事前に *S. sanguinis* のバイオフィームを形成させたワイヤーを、*V. parvula* 培養上清入り試験管に挿入し、嫌気条件下で培養後、*S. sanguinis* によるバイオフィーム形成量を解析した。また、同培養上清と *V. parvula* 懸濁液の混合液に、同ワイヤーを挿入したバイオフィームの形成量も解析した。培養後、全 DNA を抽出し、定量的 real-time PCR により、ワイヤー上に形成されたバイオフィームの構成菌種を定量した。【結果と考察】 *V. parvula* 培養上清は、*S. sanguinis* のバイオフィーム形成を抑制した。しかし、同培養上清と共に *V. parvula* 菌体が存在した場合は、その形成を促進した。これらの結果は、*V. parvula* 培養上清中におけるバイオフィーム形成抑制・促進因子、菌体間情報伝達物質の存在、また、これらの変化等を示唆するものと考えている。

P1-124

Porphyromonas gingivalis において電気穿孔法で導入可能なプラスミドベクターの構築

○田川 淳平¹、井上 哲圭²、佐藤 啓子³、内藤 真理子³、中山 真彰²、中山 浩次³、山城 隆⁴、大原 直也² (1岡大 病院 矯正、2岡大 院医歯薬 口腔微生物、3長大 院医歯薬 口腔病原微生物、4阪大 院歯 矯正)

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* へのプラスミド導入には現在接合伝達法が用いられている。本研究では、操作が簡便な電気穿孔法で導入できる汎用性の高いプラスミドの作製を試みた。プラスミドの作製に当たり、接合伝達法で *P. gingivalis* に導入可能な大きさ 11.0 kb の *Bacteroides* 属-大腸菌シャトルベクター pVAL-1 を使用した。最初に pVAL-1 の全塩基配列を決定し、次に pVAL-1 の配列の中で、*Bacteroides* 属/*Porphyromonas* 属の菌体内で複製に必要な最小領域を決定した。そして決定した領域を大腸菌用プラスミド pBlueScript II にクローニングした。さらに抗生物質耐性遺伝子カセットをこのプラスミドに挿入することにより、大きさ約 4.5 kb のプラスミド pTIO-1 を構築した。pTIO-1 は電気穿孔法により、導入された *P. gingivalis* 6 株と *Bacteroides* 属 3 菌種すべてに導入された。pTIO-1 の *P. gingivalis* ATCC 33277 への導入効率は高く、また pVAL-1 と比較して安定性は増加していた。定量 PCR の結果、pTIO-1 と pVAL-1 のコピー数は共に 1 と算出された。以上のことから pTIO-1 は電気穿孔法で簡便に使用できる *P. gingivalis* 用のプラスミドであることが示された。

P1-125

Porphyromonas gingivalis PGN_1796 は薬剤感受性に関与する

○田口 裕子¹、佐藤 啓子⁴、井上 哲圭²、加野小奈美³、中山 真彰²、前田 博史¹、中山 浩次⁴、大原 直也² (¹岡大 院医歯薬 歯周病態、²岡大 院医歯薬 口腔微生物、³岡大 院医歯薬 歯科矯正、⁴長大 院医歯薬 口腔病原微生物)

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) PGN_1796 は Leucine-rich repeat モチーフを持つ 1125 アミノ酸からなるタンパク質をコードする。その機能を解析することを目的とし、PGN_1796 遺伝子を欠損させた ΔPGN_1796 株を作製した。解析の途上、親株と比較して ΔPGN_1796 株は、複数の抗生物質に対する感受性が低下していることが示唆された。本研究では ΔPGN_1796 株の抗生物質に対する感受性の変化を調べ、その原因となる機序を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】 Pg ATCC 33277 株を使用し、相同組換え法により ΔPGN_1796 株を作製した。遺伝子組換えの確認は PCR で行なった。抗生物質に対する感受性は微量液体希釈法を用いて測定した。

【結果および考察】 ΔPGN_1796 株は血液寒天培地上に平滑で黒色の集落を形成し、大きさも親株のものとは認められなかった。薬剤感受性については、Metronidazole 及び Tetracycline に対する MIC が親株に対して 2 倍以上上昇した。Metronidazole と Tetracycline では作用機序が異なることから、PGN_1796 は物質の排出/透過性に関与することが推測される。現在、他の薬剤に対する感受性の変化およびそれら抗生物質感受性の変化をもたらす機序の解析を進めている。

P1-127

次世代シーケンサーを用いた歯石細菌叢の解析
○城 隆太郎¹、熊田 直子¹、石丸 英彦¹、森嶋清二²、近 亮¹ (¹ライオン株式会社 分析技術センター、²ライオン歯科衛生研究所)

【目的】 歯石は歯周病など様々な口腔疾患との関連が指摘されており、歯石沈着の予防は重要な課題となっている。しかし、歯垢細菌の石灰化メカニズムに関しては、未だ不明な点も多い。そこで、我々は細菌学的な視点から歯石形成のメカニズムを明らかにすることを目的とし、次世代シーケンサーを用いて歯石の細菌叢を網羅的に解析した。

【方法】 本研究に同意の得られた 20~60 代の成人 30 名(男性 19 名、女性 11 名)を対象者とし、下顎前歯舌側に形成された歯石を採取した。一方、歯石非形成部位として上顎前歯舌側より歯垢を採取した。歯石はさらに超音波処理により歯石と周囲に付着していた歯垢とに分離した。その後、脱灰およびピーズ破砕により DNA を抽出し、16S rDNA v1-2 領域を PCR 増幅した後、454 GS FLX titanium プラットフォームによるシーケンシングに供し、歯石、歯石付着歯垢、歯石非形成部位歯垢の 3 検体の菌叢比較を行った。

【結果と考察】 1 検体当たり 3,000 リードの 16S 配列を用いた OTU 解析の結果、調べた 3 部位の中で歯石の OTU 数が有意に少なく、菌種多様性が低いことが明らかとなった。また、Unifrac 解析の結果、歯石周囲と非形成部位との間で有意な菌叢の違いが確認され、歯石形成部位には特有の菌叢が存在することが示唆された。

会員外共同研究者：真木 佐恵子、河村 有美子、堀尾 茉衣((公財)ライオン歯科衛生研究所)、服部正平、大島健志朗、須田 互(東大院 新領域)

P1-126

新規植物抽出物による口腔微生物発育抑制効果

○大屋 学¹、田村 宗明^{1,2}、今井 健一^{1,2}、落合邦康^{1,2} (¹日大 歯 細菌、²日大 総歯研 生体防御)

【目的】 日常的な口腔ケアの欠如は口腔内フローラのバランスを崩し、口腔疾患の原因となるばかりでなく、様々な全身性疾患の原因となることが報告されている。近年、高齢者の増加に伴い、正常な口腔衛生環境の維持は極めて重要な問題となっている。今回、効果的な口腔ケア剤の開発を目的として、新たな植物抽出物の口腔微生物の発育に及ぼす影響、特に *Candida albicans* に対する抗菌作用について検討した。【方法】 臨床応用を目的とし、植物抽出物 10 種類の抗菌作用について、口腔微生物 10 菌株を用いて改良型寒天拡散法にて評価した。その結果、最も抗菌作用の強い黄金草の抽出物、オウゴンエキスを供試し、高齢者ならびに義歯装着者から検出率が高い *C. albicans* に対する発育および菌糸形変換抑制効果について検討した。菌糸形変換に関連する遺伝子発現への影響を Real Time PCR で測定した。【結果と考察】 オウゴンエキスはう蝕原因菌、歯垢形成関連菌、歯周病原菌および真菌に良好な抗菌効果を示した。しかし、口腔の環境維持に重要なレンサ球菌群の発育に及ぼす影響は認められなかった。また、オウゴンエキスは、レジニン付着 *C. albicans* の発育を顕著に阻害した。低濃度で菌糸形変換を抑制するとともに、変換関与の特異的な遺伝子発現も抑制した。以上の結果から、植物抽出物・オウゴンエキスは口腔ケアに使用できる可能性が示唆された。(会員外協力者：一丸ファルコス株式会社・田中清隆)

P1-128

Streptococcus sanguinis の菌体表層スクレアーゼは自然免疫からの回避に寄与する

○住岡 龍一¹、森田 知里¹、中田 匡宣¹、岡橋暢夫²、住友 倫子¹、川端 重忠¹ (¹阪大 院歯 口腔細菌、²阪大 院歯 口腔科学フロンティアセ)

【目的】 *Streptococcus sanguinis* は感染性心内膜炎患者の病巣から高頻度で分離される。病態形成の過程で本菌は血中において感染防御機構を回避し、心臓へ定着すると考えられる。近年、好中球の細胞外殺菌機構として NETs が注目されている。本研究では、*S. sanguinis* の推定細胞壁架橋型スクレアーゼ SWAN に着目し、本酵素が NETs による殺菌からの回避に寄与するかについて検討した。【方法】 組換え SWAN を作製し、核酸分解能、金属イオン要求性および至適 pH を検討した。同様に、推定活性残基をアラニンに置換した点変異組換えタンパクを作製し、スクレアーゼ活性を測定した。また、組換え SWAN による NETs DNA の分解を蛍光顕微鏡で観察した。さらに、*S. sanguinis* が SWAN 活性により NETs の殺菌を回避するかについて、*swan* 欠失株を用いて検討した。乳酸球菌を用いた異種発現系を構築し、同様の解析に供した。【結果と考察】 組換え SWAN は Mg²⁺ と Ca²⁺ の共存下で核酸を分解し、中性付近の pH で最も高い分解活性を示した。点変異組換えタンパクでは酵素活性が消失したことから、推定活性残基は SWAN の活性に必須であると推測された。NETs への感染実験では、野生株と比較して、*swan* 欠失株の生存率は低下した。また、異種発現系では、SWAN の発現により菌生存率は上昇した。以上の結果から、SWAN のスクレアーゼ活性により *S. sanguinis* は NETs の殺菌を回避することが示唆された。

P1-129

Porphyromonas gingivalis の PGN₁₂₀₂ (*rpoN*) は必須遺伝子である

○加野 小奈美¹、井上 哲圭²、田口 裕子³、田川 淳平⁴、中山 真彰²、山城 隆⁵、大原 直也² (岡大 院医歯薬 矯正歯科、²岡大 院医歯薬 口腔微生物、³岡大 院医歯薬 歯周病態、⁴岡大病院 矯正、⁵阪大 院歯 矯正)

目的：細菌は RNA ポリメラーゼのシグマ因子を複数保有している。*rpoN* 遺伝子産物 sigma-54 は大腸菌などでは運動性や窒素代謝に関わる分子の遺伝子発現に関与する。*P. gingivalis* ゲノム上にも *rpoN* が存在するが、その機能は不明である。*P. gingivalis* の sigma-54 の機能を明らかにするために、本菌の *rpoN* 欠損株の作製を試みた。

方法：*P. gingivalis* ATCC 33277 株を供試菌とし、*rpoN* (PGN₁₂₀₂) 遺伝子欠損株作製には相同組換え法を用いた。*rpoN* 発現プラスミドベクターの *P. gingivalis* への導入は電気穿孔法によった。

結果と考察：当初 PGN₁₂₀₂ 欠損株の作製を試みたが、PGN₁₂₀₂ 欠損株は得られなかった。次に、*rpoN* 発現ベクター保持菌を作製し、ゲノム上の PGN₁₂₀₂ の欠失を試みた。その結果、発現ベクター保持菌ではゲノム上の PGN₁₂₀₂ を破壊することができた。また、ゲノム上の PGN₁₂₀₂ が破壊された株では発現ベクターは脱落しなかった。以上より、*P. gingivalis* では *rpoN* は必須遺伝子であることが強く示唆された。なお、菌種によっては *rpoS* 遺伝子産物が *rpoN* 遺伝子産物の機能を相補し合う場合、逆に拮抗的に働く場合が報告されているが、*P. gingivalis* には *rpoS* 様遺伝子は存在しなかった。

P1-131

歯周病関連細菌 *Treponema denticola* の主要膜タンパク質の性状解析

○安彦 友希¹、永野 恵司¹、吉田 康夫¹、吉村 文信¹ (愛院大 菌 微生物)

【目的】 *T. denticola* の主要な膜画分タンパク質を解析したところ、機能未知の TDE2508 (45 kDa) が検出された。そこで本研究では、TDE2508 の性状および機能解析を試みた。【方法】 *T. denticola* ATCC 35405 株の菌体破砕物を超遠心後、可溶性、膜画分に分離し、さらに、膜画分を内膜および外膜に分離した。TDE2508 はウェスタンブロット法にて検出した。*T. denticola* の付着因子である Msp についても同様に行った。TDE2508 欠失変異株は、標的遺伝子をエリスロマイシン耐性遺伝子 (*ermB*) に置換して作製した。付着性はポリスチレンプレートおよび歯肉上皮細胞 (Ca9-22) を用いて検討した。自己凝集性は菌懸濁液を静置し、濁度 (OD600) を経時的に測定した。菌体表面の疎水性は n-ヘキササン分配法を用いた。【結果】 TDE2508 は外膜に局在し、また複合体を形成している可能性が示された。欠失株は、ポリスチレンプレートおよび歯肉上皮細胞への付着性が有意に上昇した。しかし、自己凝集性および疎水性には変化が見られなかった。また、Msp の発現にも変化はみられなかった。【結論】 TDE2508 は付着制御に関与していることが推察された。しかし、TDE2508 の菌体表面への露出については不明であり、本タンパク質による付着制御機構については、直接的あるいは間接的かを含めてさらなる検討が必要である。

P1-130

Streptococcus sanguinis によるインフラマゾームの活性化

○佐伯 歩¹、杉山 正博¹、長谷部 晃¹、中澤 太²、柴田 健一郎¹ (北大 院歯 口腔病態 口腔分子微生物、²北医大 菌 微生物)

【目的】 口腔常在菌である *Streptococcus sanguinis* (Ss) は感染性心内膜炎の原因菌として注目されている。現時点では、その病因論は十分には明らかにされていないが、炎症性サイトカインの一つである IL-1 がその病態の形成に関与しているという報告がなされている。IL-1β の産生には細胞内センサーである inflammasome の活性化が必要であるが、Ss による inflammasome の活性化については明らかにされていない。本研究では、Ss による inflammasome の活性化について検証した。【方法】 菌株は *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556 を用い、細胞としては A/J マウス由来樹状細胞 (XS-106 細胞) を用いた。IL-1β の産生は ELISA 法と Western blot 法で評価した。caspase-1 ならびに NLRP3 の発現は Real-time PCR 法で調べた。【結果と考察】 菌体ならびに培養上清は XS-106 細胞に IL-1β の産生ならびに細胞死を誘導し、IL-1β の産生誘導活性は pan-caspase ならびに caspase-1 阻害剤、さらに caspase-1 のノックダウンにより抑制された。XS-106 細胞の生菌刺激で NLRP3 の発現が上昇し、また、NLRP3 特異的な siRNA でノックダウンすると IL-1β の産生量が低下した。さらに、菌体刺激で Reactive oxygen species (ROS) が産生され、ROS の阻害剤 (N-acetylcysteine) で IL-1β の産生が抑制された。以上より、Ss 菌体ならびに培養上清には XS-106 細胞に NLRP3 inflammasome を活性化する物質が存在し、ROS が関与していることが示唆された。

P1-132

神経障害性疼痛に対する GABA トランスポーター阻害薬の鎮痛効果

○秦泉寺 紋子^{1,2}、十川 千春²、宮脇 卓也¹、森田 克也³、十川 紀夫²、北山 滋雄² (岡大 院医歯薬 歯科麻酔、²岡大 院医歯薬 歯科薬理、³広島文化大 看護 薬理)

現在用いられる神経障害性疼痛 (NP) 治療薬には抗うつ薬などがあるが、副作用や不十分な治療効果などの問題があり、新薬の開発が望まれる。脊髄における抑制性神経伝達物質の調節は疼痛制御において重要であり、その代表的な伝達物質である GABA は NP 制御に関与すると考えられる。われわれは、中枢神経系での GABA の調節を担う GABA トランスポーター (GAT) に着目し、GAT 阻害薬の鎮痛効果を検討した。坐骨神経結紮による NP モデルマウスを作製し、GAT サブタイプである GAT-1 (SLC6A1) に特異的な阻害薬 SKF89976A (SKF) と、Betaine/GABA トランスポーター (BGT-1: SLC6A12) に比較的選択的な阻害薬 NNC 05-2090 (NNC) の抗アロディニア効果を検討した。NNC を脊髄腔内投与または腹腔内投与を行った場合いずれにおいても抗アロディニア効果を認め、一方 SKF の抗アロディニア効果は NNC より弱かった。これらの薬物の、モノアミントランスポーター (MAT) と GAT サブタイプに対する阻害作用について検討するため、GAT および MAT 安定発現細胞株を用いて、トリチウムラベルした基質取込み活性より阻害濃度を解析した。SKF は GAT-1 に対する特異性が非常に高く、NNC は GAT サブタイプの中で BGT-1 の阻害が最も強かった。さらに NNC は各 MAT にも BGT-1 とほぼ同等の阻害作用を示した。以上より、NNC の抗アロディニア効果は BGT-1 と MAT 阻害効果の複合的なものである可能性が示唆された。

P1-133

骨芽細胞における Na,K-ATPase の機能

○山田 淳一¹、出山 義昭²、吉村 善隆²、鈴木 邦明²、八若 保孝¹ (¹北大 院歯 小児・障害者 歯科、²北大 院歯 細胞分子薬理)

Na,K-ATPase は細胞内外の Na⁺ならびに K⁺の維持を行う膜輸送タンパクである。近年、Na,K-ATPase が細胞接着や細胞内情報伝達に関与することが明らかにされている。本研究では、Na,K-ATPase の骨芽細胞における機能を明らかにすることを目的とした。

【材料・方法】 マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 (E1)細胞を通常法により培養し、3日毎に回収した。Na,K-ATPase 活性の測定は Chifflet らの方法により行った。また、Na,K-ATPase の $\alpha 1$ ならびに $\beta 1$ サブユニットのタンパク質発現は Western blot 法により検討した。さらに、Na,K-ATPase の阻害薬である Ouabain を細胞に作用させて、細胞数の変化を検討した。

【結果と考察】 E1 細胞の Na,K-ATPase 活性は confluence 以前において最も高く、confluence を過ぎるとその活性は急激に減少した。Na,K-ATPase $\alpha 1$ サブユニットタンパク質の発現も同様の変化を示した。一方、 $\beta 1$ サブユニットタンパク質の発現はほとんど変化しなかった。さらに培養液中に Ouabain (1~500 μ M) を添加すると濃度依存的に E1 細胞の増殖は抑えられたが、500 μ M においても細胞死は認められなかった。以上の結果から、Na,K-ATPase は骨芽細胞の増殖に関与し、特に $\alpha 1$ サブユニットの発現がその調節に関わっていることが示唆された。

P1-135

ヒト歯肉線維芽細胞内カルシウムイオン調節機構におけるフェニトンの関与

○林 良宣¹、村田 佳織¹、倉重 圭史¹、齊藤 正人¹、谷村 明博² (¹北医大 歯 小児歯科、²北医大 歯 薬理)

【目的】 副作用として歯肉増殖を起こす抗てんかん薬フェニトイン (PHT) の歯肉線維芽細胞の Ca²⁺動態への作用を明らかにした。

【方法】 正常ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) に Ca²⁺蛍光色素 Fura2-AM を導入し、PHT による細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) の変化を画像解析システムで測定した。

【結果と考察】 HGF に 10~100 μ M の PHT を作用させると、濃度依存的に持続的な [Ca²⁺]_i 上昇が認められた。この作用は可逆的で、PHT の除去によって [Ca²⁺]_i は速やかに低下した。また、PHT による [Ca²⁺]_i 上昇は、細胞外 Ca²⁺非存在下でも認められた。さらに、PHT は Epidermal Growth Factor (EGF) による [Ca²⁺]_i 上昇反応を大きく増強させた。同様に PHT は、ホスホリパーゼ C 活性化剤 m3-M3FBS や小胞体 Ca²⁺-ATPase 阻害剤タプシガルギンによって起こる持続的な [Ca²⁺]_i 上昇に対しても増強作用を示した。小胞体 Ca²⁺-ATPase 阻害によって細胞内 Ca²⁺ストアを枯渇させた HGF において、[Ca²⁺]_i 上昇の増強が起こったことから、この作用に細胞外への Ca²⁺排出阻害が関与する可能性が示唆された。

【結論】 臨床的に用いられる濃度の PHT が、Ca²⁺排出阻害によって生理的反応や病態に関与する Ca²⁺応答を増強する可能性が示唆された。

P1-134

PICK1 は CalcineurinB と結合し破骨細胞分化を促進する

○鎌野 優弥^{1,2}、江草 宏¹、佐伯 万騎男²、大川 博子¹、矢谷 博文¹ (¹阪大 院歯 口腔補綴、²阪大 院歯 薬理)

我々はこれまでに神経細胞株を用いて、NFAT 活性を制御する calcineurin B に結合するタンパク質として PICK1 を見出している。本研究の目的は、PICK1 の破骨細胞分化制御への関与を検討することである。**【方法】** マウス骨髄由来マクロファージ (BMM) を RANKL 刺激下で培養し、PICK1 遺伝子およびタンパク質の発現を real-time RT-PCR および Western blot 法にて検討した。BMMs における PICK1 と calcineurin B の結合を免疫沈降法にて検討した。また、RAW264.7 細胞 (RAW) に PICK1 遺伝子を導入し、破骨細胞分化誘導後の TRAP 陽性多核細胞数を計測した。さらに、NFAT レポーター遺伝子を導入した RAW を用いてテトラサイクリン (Tet) 誘導性 PICK1 遺伝子発現株を作製し、Tet 刺激による NFAT 活性を計測した。また、NFAT レポーター RAW に PICK1 と calcineurin B の結合阻害薬を添加し、NFAT 活性を測定した。**【結果】** PICK1 mRNA およびタンパク質の発現が BMM の破骨細胞分化に伴って増加し、さらに、破骨細胞における PICK1 と calcineurin B の結合が確認された。PICK1 の強制発現によって、TRAP 陽性多核細胞数は有意に増加し、Tet の添加は細胞の NFAT 活性を有意に促進した。PICK1 と calcineurin B の結合阻害薬は細胞の NFAT 活性を有意に抑制した。**【結論】** PICK1 は破骨細胞前駆細胞において calcineurin B に結合し、NFAT シグナリングの活性化を介して破骨細胞分化を促進している可能性が示唆された。

P1-136

還元型コエンザイム Q10 の歯周組織の加齢変化に対する効果について

○米田 俊樹¹、友藤 孝明¹、江國 大輔¹、東 哲司¹、遠藤 康正¹、粕山 健太¹、町田 達哉¹、森田 学¹ (¹岡大 院医歯薬 予防歯)

【目的】 加齢と酸化ストレスとの間に関連性があることが知られている。本研究では抗酸化作用を有する還元型コエンザイム Q10 (rCoQ10) をラット歯肉に塗布し、歯周組織の加齢変化に対する有効性を検討した。**【方法】** 4ヵ月齢の Fischer 雄性ラット 14 匹を、7 匹ずつ、対照群 (単軟膏を塗布) と実験群 (1% の濃度で rCoQ10 を配合した単軟膏を塗布) の 2 群に分けた。軟膏塗布は 1 日 1 回、週 5 回の頻度で行い、2ヵ月間行った。**【結果】** 実験群の血清中の酸化ストレス度は、対照群より有意に低かった (p<0.05)。また、歯肉結合組織のコラーゲン密度について、試験群の値は対照群と比べて有意に大きくなった (p<0.05)。一方、歯槽骨レベル及び多核好中球数は、対照群と実験群との間に有意な差を認めなかった。**【考察】** rCoQ10 には加齢に伴う酸化ストレスを減少させるとともに、歯肉組織のコラーゲンを増加させる効果があることが示唆された。

P1-137

下垂体腺腫における miRNA 発現解析

○小野 信二¹、岩田 武男²、水澤 典子³、吉本 勝彦² (徳大 院 口腔教育 分子薬理、²徳大 院 HBS 分子薬理)

下垂体腺腫は、各下垂体ホルモンの過剰分泌を伴う成長ホルモン (GH) 産生腺腫、プロラクチン (PRL) 産生腺腫、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 産生腺腫およびホルモンの過剰分泌を伴わない非機能性腺腫 (NF 腺腫) に分類されるが、これらの腺腫の発症機序は不明である。miRNA は 20~25 塩基ほどのノンコーディング RNA で、特定の遺伝子発現調節に関わる機能分子である。様々な疾患で特定の miRNA 発現異常が報告されており、特に癌や腫瘍で発現異常をきたす miRNA は癌遺伝子や癌抑制遺伝子としての機能を有すると考えられる。そこで各タイプの下垂体腺腫での miRNA プロファイリングを行い下垂体腺腫発症に関与する miRNA の同定を目的に研究を行った。正常下垂体 8 例、GH 産生腺腫 14 例、PRL 産生腺腫 6 例、ACTH 産生腺腫 13 例、NF 腺腫 20 例の miRNA マイクロアレイ解析を行い、各タイプの腺腫で特徴的な発現が認められる miRNA について qRT-PCR による検証を行った。またそれらの miRNA についてマウスの各組織での発現解析を行った。その結果、脳および下垂体に特異的に発現し、各タイプの腺腫に特徴的な発現を示す miRNA がいくつか得られたので報告する。これらの miRNA はそれぞれのタイプの下垂体腺腫の発症に関与する可能性がある。

P1-139

唾液腺の老性萎縮や老性遺伝子発現変化に及ぼすホエーの効果

○Pieczonka Tomasz¹、Bragiel Aneta¹、石川 康子¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)

Physiological aging induces salivary gland atrophy and hypofunctions. Whey, by-product of cheese making, may offer many benefits to humans. We investigated the effect of whey-administration on age-dependent changes of salivary glands. 【方法】 Male Wister rats (3 or 16 mo old) were given laboratory chow and whey or water ad libitum. Two mo later, salivary glands were fixed in formalin. Sections were stained with hematoxylin and eosin. The glands were also processed for RNA isolation. Gene expression profile was studied by using Affymetrix GeneChip array and analyzed by Gene Spring software. 【結果】 Histological analyses showed acinar atrophy in sublingual (SL) glands from senescent but not young rats. These age-dependent changes were found to be reversible after whey-administration. In SL glands from senescent rats, whey-administration induced more than 10-fold increase in the expression of proline-rich protein genes (Prp2, Sgp158) and cystatin S gene (Cyss) and 2-fold decrease in granzyme B gene (Gzmb) compared to water-administration. 【考察】 Whey-administration restores the age-dependent atrophy and gene expression of SL glands. (共同研究者: 株アプロサイエンス 福田佳奈、金智蓮、金敦祚)

P1-138

カテプシン S に依存した抗原提示は神経障害性疼痛の維持に必須である

○張 馨文¹、武 洲¹、林 良憲¹、中西 博¹ (九大 院 歯 口腔機能分子科学)

【目的】 神経障害性疼痛の発症にはミクログリアが重要な役割を果たすことが明らかとなっているが、疼痛の慢性化メカニズムについては不明な点が多い。最近、慢性化における免疫細胞の関与が示唆されている。そこで MHC クラス II 分子の抗原結合に必須なインバリアント鎖切断 (lip10 から CLIP への切断) を担うカテプシン S (CatS) の神経障害性疼痛における役割を解析した。【方法・結果】 脳移行性のない CatS 阻害剤 Z-FL-COCHO (i.p.) は神経障害性疼痛の発症には影響することなく慢性化を有意に抑制した。神経障害に伴って脾臓が肥大し、CD4 陽性 T 細胞ならびに IFN- γ の増大が認められた。一方、CatS 阻害剤を投与したマウスならびに CatS 欠損マウスではこのような変化は認められなかった。また、CatS 欠損マウスでは脾臓には lip10 が蓄積していた。さらに、脾臓摘出マウスでは神経障害性疼痛の慢性化が起こらず、神経障害 14 日目の野生型マウスの脾臓より調整した splenocyte を CatS 欠損マウスに腹腔内投与すると持続的な疼痛が誘発された。【結論】 以上の結果より、神経障害に伴う脾臓における CatS に依存した抗原提示による CD4 陽性 T 細胞の活性化が神経障害性疼痛の慢性化に重要であることが明らかとなった。CatS 阻害剤など免疫抑制剤が神経障害性疼痛の治療に有用であることが示唆される。

P1-140

窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) の炎症壊死作用: リン酸 transporter 阻害剤の効果

○山本 朋美^{1,2}、岡田 諭^{1,3}、佐藤 衣莉¹、佐々木 啓一²、菅原 俊二¹、遠藤 康男¹ (東北大院 歯 口腔分子制御、²東北大院 歯 口腔システム補綴、³東北大院 歯 顎顔面外科)

【背景】 N-BPs は顎骨壊死のリスクをもつ。N-BPs は軟組織細胞にも取り込まれ、細胞毒性を示すが、その細胞内取り込み機序は不明だった。当教室の岡田はリン酸 transporter (Pi-TP) 阻害剤 phosphonoformate (PFA) が、zoledronate (骨吸収抑制作用と顎骨壊死発症リスク最強の N-BP) のマウスでの炎症壊死作用を抑制することを発見し、その細胞内取り込みに Pi-TP の関与を示唆した。Minodronate は 2009 年発売の本邦開発 N-BP である。私達のマウス実験では、その炎症壊死作用は zoledronate 以上であり、non-N-BP の clodronate はこれを抑制する。今回は N-BPs の細胞内取り込みへの Pi-TP 関与の普遍性を検証するため、3 種類の N-BPs (minodronate, zoledronate, alendronate) について、PFA とその関連物質の効果を比較した。【結果】 (i) マウス耳介での炎症壊死を指標にした実験で、いずれの N-BPs に対しても、PFA および PFA 構造類似の PAA, PPA, PBA は抑制効果を示し、その効果は PAA > PFA > PPA > PBA であった。(ii) Radio-isotope 標識 alendronate の耳介組織への貯留を PFA と clodronate は減少した。【考察】 上記結果は、N-BPs の軟組織細胞への取り込みには、いずれの場合も Pi-TP が関与し、この取り込みを non-N-BP の clodronate は抑制するとの考えを支持し、また、顎骨壊死の予防・治療に clodronate と N-BP の併用の有効性が期待される。

P1-141

骨芽細胞様細胞におけるずり応力による細胞内カルシウム濃度の上昇にグルタミン酸が関与する
○土屋 範果^{1,2}、兒玉 大介¹、後藤 滋巳²、戸苅 彰史¹ (1愛院大 院歯 薬理、2愛院大 院歯 矯正)

【目的】マウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞 (以下 MC3T3-E1 細胞) において機械刺激による細胞内カルシウム濃度 (以下 $[Ca^{2+}]_i$) 上昇や ATP やグルタミン酸 (以下 Glu) などの伝達物質放出が報告されている。しかし、その詳細なメカニズムは解明されていない。そこで、機械刺激伝達における伝達物質放出の役割について調べた。【試料および方法】MC3T3-E1 細胞に機械刺激 (ずり応力) を与えた際の $[Ca^{2+}]_i$ の変化を Ca^{2+} 蛍光指示薬を用いた Ca^{2+} イメージング法により測定した。【結果および考察】機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は、細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出を阻害する 2-APB や U73122 の作用により有意に抑制された。また、伝達物質の放出を阻害する monensin や brefeldin によっても抑制された事により、機械刺激により放出された伝達物質が細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出を起す事が示唆された。次に、放出される伝達物質について検討した。機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は ATP 受容体阻害薬によって変化が認められなかったが、Glu 受容体阻害薬によって抑制された。これにより機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇には、Glu が関与している事が示唆された。【結論】機械刺激を受容した骨芽細胞は Glu を放出し、放出された Glu が自己の細胞に作用する事により $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が起こる。

P1-143

放射線粘膜炎に対する DMX シートの効果
○四宮 敬史¹、吉川 正信^{1,2}、川口 充¹、奥村 重年³、大久保 みぎわ¹ (1東歯大 薬理、2東海大 医 臨床薬理、3ロート製薬 (株))

【目的】頭頸部放射線治療においては、口腔粘膜の障害と唾液腺に起因した唾液分泌機能低下による患者の QOL 低下が問題となっている。本研究では口腔湿潤作用ならびに創傷治癒効果が報告されているサケ白子プロタミン分解ペプチド配合の DMX シート (ロート製薬株式会社) を用いて、放射線照射により生じた潰瘍ならびに唾液分泌減少に対しての DMX シートの効果を調べた。【方法】9 週齢雌性 C3H/HeN マウスを用いて、放射線非照射群、放射線照射群 (DMX シート非貼付群、DMX シート貼付群) にグループ分けした。放射線照射 (実効線量 6 Gy、6.25 Gy、6.5 Gy ならびに 7 Gy) を 5 日間行い、照射 6 日目から 10 日目まで 1 日 1 回、DMX シートを硬口蓋部に貼付し、上皮厚計測と口腔水分計ムース (株式会社ライフ) による口腔水分量計測を行った。【結果】放射線照射群において上皮厚は減少したが、DMX シート貼付群では非貼付群に比べて照射 10 日後での上皮厚が大きかった。口腔水分量は放射線非照射群では放射線照射群と比較して有意な減少が認められ、放射線照射 7 日後に急激に減少したが、DMX シート貼付群では非貼付群と比較して照射 8 日後から 10 日後にかけて口腔水分量の有意な増加が認められた。【考察】これらの結果から、DMX シートは上皮厚減少ならびに放射線性唾液腺障害による唾液分泌減少に対して効果があり、プロタミン分解ペプチドによる口腔粘膜に対する治癒効果ならびに口腔湿潤作用によることが示唆された。

P1-142

RANKL 結合ペプチドの軟骨細胞分化促進と軟骨破壊抑制作用
○菅森 泰隆¹、加藤 玄樹¹、田村 幸彦¹、大谷 啓一¹、青木 和広¹ (1東歯大 院歯 硬組織薬理)

<目的> 腫瘍壊死因子 1 型受容体模倣ペプチドである W9、およびオステオプロテグリン模倣ペプチドである OP3-4 は、共に RANKL に結合し骨吸収抑制作用を示す。また、W9 は骨芽細胞上の RANKL に結合し、骨形成を促進する可能性が示されている。一方、軟骨細胞に RANKL が発現することから、本実験では、RANKL 結合ペプチドが軟骨細胞分化に影響を与えるか否か検討した。

<方法> 軟骨細胞の増殖評価を ATDC5 を用いて行った。50 μ M、100 μ M、200 μ M の濃度で OP3-4 を添加。72 時間後に生細胞数の測定を行った。また、W9 および OP3-4 を添加後 14 日目に Alcian blue 染色による分化評価を行った。また、コラーゲン誘導関節炎 (CIA) モデルを用い、4 mg/kg/day の W9、9 mg/kg/day および 18 mg/kg/day の OP3-4 を浸透圧ポンプにより皮下投与し組織学的解析を行った。

<結果> 50 μ M 以上の OP3-4 添加により軟骨細胞の生細胞数が有意に増加した。OP3-4 濃度依存的に Alcian blue 陽性面積の増加が認められたが、W9 よりその増加作用は低かった。CIA モデルを用いた検討では、W9 および OP3-4 による軟骨破壊像の抑制が認められた。

<結論> RANKL 結合ペプチドは、軟骨細胞の分化促進作用と CIA モデルにおける軟骨破壊抑制作用を示した。骨形成活性が W9 より強い OP3-4 の方が軟骨に対する作用は弱かったことから、RANKL 結合ペプチドの軟骨に対する作用が RANKL 依存的な作用か否か、今後検討する予定である。

(この研究は下川仁彌太、高橋真理子 (両名ともに東京医科歯科大学) の協力をいただきました。)

P1-144

Na,K-ATPase 活性及びそのリン酸化反応中間体量に対するフッ素の作用
○沖野 雄一郎¹、出山 義昭²、吉村 善隆²、鈴木 邦明² (1北大 院歯 予防歯、2北大 院歯 細胞分子薬理)

【目的】フッ化物 (F) は腐蝕防止に広く応用されているが、急性・慢性毒性が制限要素となり応用の範囲が限定されている。Na,K-ATPase は細胞内外の Na と K の濃度勾配の形成・維持を行う酵素である。この酵素が F の毒性のターゲットとなりうると推測し、ATPase 活性及びリン酸化反応中間体 (EP) 形成に及ぼす F の作用を検討した。【方法】活性はラット脳由来の精製 Na,K-ATPase を用い、ATP 加水分解により生じた無機リンを Chifflet 法で定量し測定した。EP 形成量は ATPase を使い、³²P-ATP を用いて形成した ³²P-EP 量を測定した。各種濃度の F と AlCl₃ を添加し活性と EP 形成量に対する影響を調べた。【結果と考察】Na,K-ATPase 活性は F 濃度に依存して阻害された。50% 阻害濃度は約 1.4 mM で、最終濃度 5 mM ではほぼ 100% の活性が抑制された。Al 存在下では非存在下と同様に濃度に依存して酵素活性は低下し、Al 非存在下と比較してより低濃度の F で活性が抑制された。EP 形成量も F 濃度に依存し阻害されたが、完全には抑制しなかった。Al 存在下では EP 形成抑制が増強されたが、約 50% しか形成阻害されなかった。以上より Na,K-ATPase 活性抑制の濃度依存性と EP 形成抑制における F の濃度依存性が一致したことから、F は EP 形成を抑制することにより Na,K-ATPase 活性を抑制することが示唆された。また EP 形成量が約半分しか阻害されないことから Na,K-ATPase における half of the site reactivity の存在も示唆された。

P1-145

口腔癌で明らかになった keratin13 遺伝子のエピジェネティック変異

○永沼 香織^{1,2}、八田 光世²、大久保 つや子²、山崎 純² (福歯大 口腔顎顔面外科、²福歯大 細胞分子生物)

【目的】細胞骨格タンパク質である keratin13 (KRT13) は、口腔上皮の癌化さらに癌の悪性度に関連して発現抑制が認められるとの報告が多数あり、口腔癌の診断や病態の指標に有用と考えられている。本研究は口腔癌での KRT13 発現抑制に関わるエピジェネティック変異の解明を目的として KRT13 遺伝子領域のクロマチン修飾の解析を行った。【方法】正常上皮細胞 (HaCaT) 及び舌癌細胞 (高分化型: HSC4、低分化型: HSC3、SAS) を用いて、KRT13 mRNA 発現レベルを qPCR にて比較検討した。さらに KRT13 遺伝子プロモーター領域の CpG 部位のメチル化をパイサルファイト・シーケンス法、ヒストン修飾をクロマチン免疫沈降法にて解析した。【結果と結論】KRT13 mRNA の発現は HaCaT と HSC4 に比べて、HSC3 と SAS において著しく抑制されていた。KRT13 遺伝子プロモーター領域において CpG 部位はこれらの舌癌細胞において高度にメチル化されていた。一方、ヒストン修飾に関しては HSC3 と SAS において H3K4 トリメチル化の低下及び H3K27 トリメチル化の増加が確認された。これらの結果から、KRT13 遺伝子は低分化型舌癌細胞においてヒストン H3K4 及び K27 メチル化修飾を介したエピジェネティック変異により抑制されることが明らかになった。さらに、これらのメチル化修飾パターンの決定に重要な役割を担っているエピジェネティック酵素複合体 PRC2 (Polycomb repressive complex 2) の制御異常が関与している可能性が示唆された。

P1-146

食塩感受性および非感受性高血圧診断用バイオマーカーとしての唾液中のイオンチャンネル

○Bragiel Aneta¹、Pieczonka Tomasz¹、石川 康子¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)

Aquaporin-5 (AQP5) and lipid rafts were identified in saliva. We showed that changes in saliva AQP5 levels can be used as an indicator of xerostomia. In this study, we investigated salivary ion channels in relation with hypertension. Wistar, spontaneously hypertensive rats/Izumo strain (SHR/Izm), Wistar Kyoto rats/Izumo strain (WKY/Izm), Dahl-Iwai salt-sensitive rats (Dahl-Iwai S) and salt-resistant (Dahl-Iwai R) rats were used. Rats were given NaCl solution or water to drink for 1 week. Western-blotting was used to analyse: sodium channel (ENaC and CFTR), chloride channel (CLC-Ca, CLC2 and CLC3), potassium channel (Kca), calcium channel (TRPV2) and water channel (AQP5) in saliva. ENaC, CFTR, CLC-Ca, CLC2, CLC-3, Kca, and TRPV2 have been identified in saliva from these rats. 0.5% NaCl decreased the level of salivary ENaC in Wistar, WKY/Izm, Dahl-Iwai R and Dahl-Iwai S rats but not in SHR/Izm rats. While, 0.5% NaCl decreased the level of salivary CLC-Ca in Wistar, WKY/Izm and Dahl-Iwai R rats but not in SHR/Izm and Dahl-Iwai S rats. These results suggest that salivary ENaC and CLC-Ca concentration may be useful tool to diagnose the salt-sensitive or salt-insensitive hypertension.

P1-147

顎顔面感覚入力に応答するウサギ視床ニューロン活動の電気生理学的検討

○鈴木 崇弘¹、若森 実²、田端 孝義¹、坪井 明人^{1,3} (東北大 院歯 加齢歯科、²東北大 院歯 歯科薬理、³東北メディカル・メガバンク機構)

【目的】顎口腔領域の感覚情報は、視床での情報処理後、大脳皮質に投射されて運動感覚を自覚する一方、下顎運動の制御にも関与していることが推察される。これら口腔顎顔面部の知覚は、三叉神経系を介して視床の後内側腹側核 (VPM) に達することが組織学的研究により明らかにされている。本研究の目的は、顎顔面領域の感覚情報が入力される視床ニューロンの電気生理学的特性を検討することである。【方法】実験にはウサギ (日本白色種、メス) を用いた。α-クロラロース・ウレタンにて麻酔した。視床 VPM に金属微小電極を刺入し、神経活動を記録した。記録後、屠殺した動物から脳を摘出し、組織学的に記録部位を同定した。【結果】ウサギ 26 羽より、266 個のニューロン活動を記録した。これらのニューロンは、Bregma より後方 3~5 mm、正中より外側 3.5~5 mm、大脳皮質表面より深さ 8~12 mm の範囲に位置していた。178 ニューロンは、前歯、白歯、頬粘膜などの口腔内への刺激に、29 ニューロンは、ヒゲ、顔面皮膚、口唇などの口腔外への刺激に応答した。また、口腔内刺激に応答するニューロン活動は口腔外刺激に応答するものよりも内側から記録された。一方、開口運動、噛みしめ運動など下顎運動に関連する刺激により 51 ニューロンが応答した。記録されたニューロンの 45% が速順応性だった。【結論】下顎運動の制御に関与する深部感覚情報は視床 VPM へ投射され、変調されることが示唆された。

P1-148

Poxn 発現味覚ニューロンのショウジョウバエ摂食行動における機能

○古山 昭¹、大須賀 謙二¹、宗形 芳英¹ (奥羽大 歯 口腔機能分子生物)

Pox neuro (Poxn) 遺伝子はショウジョウバエ末梢神経および中枢神経系の発生において重要な機能を果たす。末梢の Poxn ニューロンは味覚受容器であり、Poxn 発現ニューロンは味覚受容機能を持つと信じられている。一方、Poxn 発現脳ニューロンの味覚情報処理への関与は十分に検討されていない。末梢および中枢の Poxn 発現ニューロンの摂食行動における機能を明らかにするために、我々は遺伝子操作により Poxn 発現ニューロンを特異的に破壊あるいは興奮抑制したショウジョウバエを用いて、摂食行動の諸過程がいかなる影響を受けているかを調べた。末梢と中枢の Poxn 発現ニューロンの機能を共に抑制した場合、摂食行動最初期の反射過程および、二瓶法における濃度識別能力に障害が見いだされた。脳における poxn 発現ニューロンのみ機能を回復させると、吻伸反射は依然として機能が低下していたが、ウェーバー比 33% 程度の濃度差では濃度識別は回復した。

P1-149

mGluR4 ノックアウトマウスの鼓索神経および舌咽神経におけるうま味受容体の機能解析
○安松 啓子¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三¹ (九大 院歯 口腔機能解析)

【目的】うま味受容体として mGluR4、T1R1 + T1R3、mGluR1 などが提唱されているが、神経レベルでのこれらの受容体の機能証明はまだまだ不十分で、特に舌咽神経における機能は未解明である。本研究では mGluR4-KO マウスのグルタミン酸応答について各受容体アンタゴニストを用い検討した。【方法】動物は mGluR4-KO 及び野生型マウスを用い、鼓索神経と舌咽神経の全神経線維束におけるうま味応答を記録した。その際受容体アンタゴニスト AIDA (group I mGluRs)、CPPG (group III mGluRs)、D-AP5 (NMDA 受容体)、NBQX (kainic acid 受容体) と AMPA 受容体、グルタミン (T1R1 + T1R3) を用いた。【結果と考察】mGluR4-KO マウスの鼓索と舌咽神経両方において、野生型に比べ MPG 応答が有意に減少した。KO マウスにおける残存グルタミン酸応答は、鼓索神経では AIDA、舌咽神経では AIDA と D-AP5 によって有意に抑制された。これらの結果から、野生型マウスの舌の鼓索神経領域では T1R1 + T1R3、mGluR1、mGluR4、舌咽神経領域では mGluR1、mGluR4、NMDA 受容体がグルタミン酸を受容する可能性が示唆された。非会員共同研究者：真鍋智宏、高橋一郎、岩槻健、畝山寿之

P1-150

混合味溶液の味質強度とおいしさをヒトはどう判断するか？
○片川 吉尚¹、安尾 敏明²、諏訪部 武²、玄景華¹、碓 哲崇² (朝日大 歯 口腔病態医療障害者歯科、²朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)

混合味溶液の味質強度やおいしさが各コンポーネント単体の場合とどう異なるかを、同意を得た男性 (30 名) に対して gLMS 法 (Green ら; 1993) および LHS 法 (Lim ら; 2009) を用いて検討し、先行研究 (Bartoshuk; 1975, Frank & Archambo; 1986 など) と比較した。サッカリンナトリウム (Sacc; 0.3 mM-10 mM)、食塩 (Na; 0.03 M-1.0 M) および塩酸キニーネ (Q; 0.1 mM-0.3 mM) の味質強度とおいしさを評価させた後、5 mM Sacc と Na または Q の各濃度との混合溶液に対するものも評価させた。その結果、0.3 M Na と 5 mM Sacc の混合物の塩味強度は、Na 単体のものよりも有意に低かった ($p < 0.05$; Newman-Keuls 法)。おいしさは、混合物に対するものが Na 単体に対するものよりも有意に高かった ($p < 0.05$)。Q と 5 mM Sacc を混合した場合、Q 単体の苦味強度は、混合物のものよりも全濃度において有意に高く ($p < 0.001$)、おいしさでは、Q 単体のものは、混合物のものよりも有意に低かった ($p < 0.001$)。本研究の結果は、単体味溶液に味質の異なる溶液を混合すると各コンポーネントに対する味質強度が低下し、先行研究と類似の結果となった。また、おいしさは味溶液の混合により変化することを明らかにした。

P1-151

無顆粒島皮質における fast-spiking 細胞の軸索投射様式
○福田 理美¹、小林 真之¹、越川 憲明¹ (九大 院歯 薬理)

【緒言】島皮質は、味覚嫌悪学習など神経可塑性の制御に重要な役割を担っている。我々は、抑制性回路の中心的役割を果たす parvalbumin 陽性細胞の密度が高い領域と低い領域が無顆粒島皮質において隣接して存在することを明らかにしてきた (Chen et al., 2010)。このような特殊な抑制性神経回路の存在は、島皮質が独自の情報処理機構を持つことを示唆している。【目的】今回我々は、parvalbumin 陽性細胞と考えられる fast-spiking (FS) 細胞から whole-cell patch-clamp 記録を行い biocytin を注入することで、記録細胞の形態学的特徴を明らかにした。【結果・考察】無顆粒島皮質の parvalbumin 陽性細胞の密度が低い領域にある FS 細胞は、比較的広範囲に軸索が伸展しており、軸索密度も疎であるものが多かった。一方、無顆粒島皮質 V 層深部の parvalbumin 陽性細胞が高密度に分布する領域に存在する FS 細胞では、周辺細胞に対する高密度の軸索投射が観察された。興味深いことに、その軸索投射のほとんどは、V 層深部に局限しており、隣接する III 層への投射は極めて少なかった。V 層深部には皮質外へ投射する興奮性細胞が多く存在することから、この領域の FS 細胞は島皮質からの興奮性出力を強力かつ特異的に抑制する働きがあると推察される。

P1-152

CCK のマウス鼓索神経活動に及ぼす影響
○八坂 美沙¹、安松 啓子¹、仁木 麻由¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三¹ (九大 院歯 口腔機能解析)

コレシストキニン (CCK) は消化管ホルモンのひとつである。CCK の受容体には CCK-A、CCK-B 受容体の二種類が存在し、機能としては胆嚢収縮や膵酵素分泌を促すことが知られている。近年、味覚において様々な消化管ホルモンの発現報告がなされている。CCK も味細胞での発現が報告されており、味細胞・味神経間での modulator として機能している可能性が示唆されている。そこで、本研究では C57BL/6 マウスの膝神経節における CCK、CCK-A、CCK-B の遺伝子発現を調べた。次に CCK の静脈内投与によるマウス鼓索神経活動の変化を調べた。さらに、CCK-AR 遺伝子ノックアウト (KO) マウス、CCK-BKO マウス、野生型マウスを用いて鼓索神経全神経線維束における応答を記録した。その結果、RT-PCR 法により、膝神経節における CCK、CCK-A、CCK-B の発現が認められた。味神経応答解析により、CCK のマウス静脈内投与によって CCK が鼓索神経活動を引き起こしていることがわかったが、野生型マウスに比べて CCK-ARKO マウスでは苦味応答が減少し、CCK-BRKO マウスでは明らかな減少は認められなかった。以上の結果から CCK は味覚の modulator として働いている可能性が示唆された。(非学会員共同研究者：瀧口総一、中村誠司)

P1-153

閉口筋運動ニューロンに対する興奮性シナプス伝達のゲート機構に関与する TASK3 電流の発現系における解析

○田中 千恵^{1,2}、齋藤 充¹、佐藤 元¹、豊田 博紀¹、姜 英男¹ (¹阪大 院歯 口腔生理、²阪大院歯 第二補綴)

漏洩 K⁺電流は興奮性細胞の静止膜電位や入力抵抗を支配的に決定している。ニューロンにおいては、TASK1/3 チャネルが漏洩 K⁺電流を担っている。我々は、免疫組織学的手法により、三叉神経運動ニューロン (TMN) の細胞体及び樹状突起に、TASK1 及び TASK3 がそれぞれ主に発現していることを明らかにした。閉口筋等尺性収縮時には TMN の入力抵抗依存的に運動単位の序列動員が生じることから、TASK1/3 チャネル活動が運動単位の序列動員様式を決定している可能性が高い。我々は、一酸化窒素-cGMP-蛋白キナーゼ G (PKG) 系の活性化によって TASK1 が活性化されることを HEK 細胞の発現系で既に明らかにしている。ホールセル電流固定下の TMN では、cGMP 投与により入力抵抗は低下するが、EPSP の振幅は増加した。このことは、cGMP 投与により樹状突起局所の TASK3 が抑制され入力抵抗が上昇した可能性を示す。そこで、cGMP が TASK3 をどの様に修飾するかを明らかにするため、TASK3 を HEK293・COS-7・CHO 等の株細胞へ導入した。TASK3 を発現させた細胞は培養中あるいは記録時に人工脳脊髄液へ浸漬した際に崩壊した。そこで、Xenopus oocyte に TASK3 を導入したところ、安定的に発現させることができたが、cGMP による TASK3 電流の修飾は観察されなかった。これは、同細胞における PKG の発現量が細胞容積に比して小さいためであると考えられる。そのため、更に本実験に適した他の発現系を検索中である。

P1-155

嗅覚訓練マウスを用いた Dimethyl Sulfide に対する 3,7-dimethyl terpene 類の嗅覚マスキング作用の確認

○長田 和実¹ (¹北医大 歯 口腔生物 生理)

【目的】本研究では Y 字型迷路 (Y-maze) を用いたマウスの嗅覚訓練パラダイムを用い、口臭の原因成分の 1 つである dimethyl sulfide (DS) に対する芳香物質の嗅覚マスキング作用の評価を試みた。【方法】実験動物はにおいセンサーマウス (♀: n=6) として C57BL/6j を用いた。DS マスキング成分 (masker) としてシトロネラル (CN)、リモネン (LM)、シトラール (CR) を用いた。Y-maze の左右両側腕の先端より、絶水マウスに対して 10 ppm DS 溶液およびその溶媒のみのおいを同時に提示し、正しいにおいを選択した場合、報酬として一滴の水を与える。左右両側腕のおいを何回も入れ替え、繰り返し実験し、マウスは DS の匂いを識別していることを確かめる。次に DS および様々な濃度の masker を同時に提示し、マウスが DS を識別不能となる masker の濃度を確かめ、各 masker の嗅覚マスキング強度を測定した。【結果と考察】1) 匂い嗅ぎマウスは DS に関しては odor cue が 100 分の 1 になると識別しなくなる。2) 10 ppm の DS の匂いを識別できるマウスは、テルペン類の共存で識別が出来なくなる。3) モノテルペンのマスキング作用は濃度依存的であり、CN が最も活性が高かった。本法を応用することにより、様々な化学物質のマスキング作用を定量的に、且つ個体レベルで評価出来る可能性が示された。

P1-154

ストレス負荷卵巣摘出マウスにおいて、KCC2 の発現減少による GABA 系の脱抑制が生じている可能性。そして、17 α -エストラジオールによる改善

○塚原 飛央¹、増原 正明¹、菌村 貴弘²、植村 正憲¹、佐藤 友昭¹ (¹鹿大 院医歯 歯科薬理、²鹿大 院医歯 歯科機能形態)

ストレスは、各種神経系に影響を与えるが、GABA 系に対する障害機序の報告は少ない。そこで、卵巣摘出マウス (OVX) の行動評価と GABA 系に与える影響を高架十字迷路試験 (EPM) 等の行動試験と免疫組織学的手法を用い、海馬 CA3 領域において検討した。ストレス負荷群 (OVX/S) は、ストレス非負荷群 (OVX/nonS) に比べ、EPM における open arm 滞在時間 (OAT) が増加し、GAD と GABA (A)-R 発現は増加した。一方、KCC2 (K-Cl-cotransporter) の発現は減少した。また、GABA (A)-R 作用薬であるジアゼパム (DZ) 投与時では、OVX/S 群においては、DZ 非投与時に比べ OAT は減少傾向があり、OVX/nonS 群においては、非投与時に比べ、OAT の増加が認められた。更に、これらストレスに対する行動変化の改善作用を検討するため、17 α (E2) 及び β E2 を投与すると、強制水泳試験では、 α E2 は β E2 よりも OVX/S 群の無動時間の減少と KCC2 発現の増加を生じた。これらにより、ストレス負荷は OVX マウスにおいて、KCC2 減少による GABA 系の脱抑制を引き起こし、高架十字迷路等において行動変化を生じる。その変化は、抗不安薬の奏功不定の一因になると考えられた。また、このような状態においては、17 α E2 投与が効果的であることが示唆された。

P1-156

脳血流動態における三叉一副交感神経性血管拡張反応の役割とそれらの GABA 入力による機能修飾機構

○石井 久淑¹、佐藤 寿哉¹ (¹北医大 歯 生理)

【目的】顎・顔面領域には副交感神経性血管拡張線維が存在し、三叉神経入力によるこれら線維の活性化は同領域に顕著な血流増加を誘発する。また、この反射性血流増加反応は脳幹の GABA 入力によって影響を受けることも近年明らかにされている。副交感神経線維は脳血管にも豊富に分布し、これらの線維の活性化は脳血流動態の調節に関与することが示唆されている。しかしながら、反射性血管拡張反応による脳血流調節については明らかにされていない。本研究は三叉一副交感神経性血管拡張反応の 1) 脳血流動態における役割と 2) GABA 入力による機能修飾機構を明らかにすることを目的とし、舌神経の求心性刺激或いは諸種の薬物が局所脳血流 (rCBF) に及ぼす影響を検討した。【方法】麻酔したラットの rCBF は 2 次元血流計を用いてイメージング解析した。舌神経は中枢性に電気刺激した。両側の頸部交感神経幹と迷走神経は頸部で切断し、これらの影響を完全に除去した。【結果と考察】rCBF は舌神経の単独刺激では有意な変化を示さなかったが、GABA_A 受容体抑制薬であるベンチレンテトラゾール投与を組み合わせた舌神経刺激で顕著に増加した。この rCBF 増加はヘキサメソニウム及びアトロピンの投与で有意に抑制された。したがって、三叉一副交感神経性血管拡張反応は脳血流増加に関与しており、この血流増加反応は中枢の GABA 入力により制御されていることが示唆される。

P1-157

顎-頸協調運動が開口反応時間におよぼす影響
○宗形 芳英¹、大須賀 謙二¹、古山 昭¹ (奥羽大 歯 口腔生理)

【目的】光刺激に対する開口反応時間を測定すると、多くの被験者で、同刺激による指屈曲反応時間から想定されるよりも延長する結果が得られる。今回、その原因として開口運動に協調する頭頸部後屈運動の影響を検討した。【方法】顎口腔および手指に特記すべき既往歴がなく、本実験の意義を十分に理解して協力を得ることができた健康成人 15 名を被験者とした。光刺激に対して素早く開口するように指示し、開口動作に協調して発現する頭部運動と開口運動を同時に測定した。さらに、頭部をヘッドレストに固定させた条件下でも同様に測定し頭部固定の影響を検討した。【結果・考察】すべての被験者で頭頸部後屈の反応運動が開口反応運動に先行して出現した。開口反応時間と頭頸部後屈開始時間との差は、開口反応時間が長い被験者ほど大きく、両者の間で有意な相関関係が認められた。頭部を固定した場合には、ほとんどの被験者で開口反応時間が短縮し有意な差が認められた。さらに、開口反応時間が長い被験者ほど大きく短縮する傾向があった。以上の結果から、開口反応時間がその神経経路から想定される時間よりも延長する一つの原因として、開口運動に協調する頭頸部後屈運動の影響が確かめられた。

P1-158

咀嚼と食行動に及ぼす桂花の香り
○山本 隆¹ (畿央大 健康科学 健康栄養)

心地よい香りの中に摂食抑制効果を示すものがあるかどうかを探索することが目的である。食事に際しての飲み物等の香り 6 種類の中からスクリーニングし、桂花 (キンモクセイ) とミルクの香りを選び実験を行った。ウイスター系雄性ラットにそれぞれの香りを 15 分間嗅がせた後、視床下部の摂食促進ペプチドと摂食抑制ペプチドの mRNA の活性を RT-PCR 法にて測定した。香りを慢性的に提示し、摂食量、体重を測定した。また、急性的に提示し、摂食パターンをビデオ撮影し、咀嚼筋 EMG 活動を記録し、分析した。ラットに桂花の香りを嗅がせた群、ミルクの香りを嗅がせた群、香りを嗅がせなかった群について、60 分後の摂食促進ペプチド (AgRP, MCH, NPY, prepro-orexin) と摂食抑制ペプチド (CART, POMC) の mRNA 活動を測定した結果、桂花の香りでは、すべての摂食促進ペプチドの活性が低下し、食欲抑制物質の活性は上昇した。ミルク群ではほぼその逆の効果となった。嗅覚脱失によりこのような効果は消失した。各群について、長期的に香りを提示し、餌の摂取量、体重を測定すると、桂花群は餌の摂取量の減少、体重の減少が認められた。桂花の香りは嗅覚情報として視床下部に送られ、摂食促進ペプチドが減少し、摂食抑制ペプチドが増加したことにより結果的に体重が減少したと考えられる。[謝辞] この研究は、阪大人間科学研究科の乾 賢先生、阪大学歯学研究科の辻 忠孝先生との共同研究である。

P1-159

味覚中継核刺激によって誘発される島皮質での興奮伝播に対する嗅球刺激の効果
○溝口 尚子^{1,2}、小林 真之²、村本 和世¹ (明海大 歯 生理、²日大 歯 薬理)

味覚の情報処理には、嗅覚系からの入力が多く関与する。最近、島皮質には味覚のみならず嗅覚情報も入力することが明らかになってきた。しかし、その統合機構については不明な点が多い。そこで本研究は、味覚中継核である視床腹内側核 (VPMpc) の電気刺激によって誘発される島皮質での興奮伝播が嗅球 (OB) の電気刺激のタイミングによってどのように変化するか明らかにすることを目的として、ラット *in vivo* 標本を用いた光学計測による実験を行った。VPMpc を電気刺激 (50 Hz, 5 回刺激) すると、中大脳動脈に近接して左右の不全顆粒島皮質 (DI) およびその周辺皮質に興奮伝播が観察された。一方、OB 腹側表層を電気刺激したところ、島皮質腹側に位置する梨状皮質および無顆粒島皮質 (AI) に応答が認められた。VPMpc と OB をそれぞれ単独刺激した場合、興奮が伝播した領域に重なりはほとんど認められなかった。一方、同一個体で VPMpc と OB を同時刺激すると、AI において応答変化率に有意な増加が認められた。また、DI と PC では最大応答部位の振幅に有意な変化を認めなかった。これらの結果は、味覚と嗅覚の統合部位の一部は AI で行われていることを示唆している。

P1-160

カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔痛み感覚
○吉住 潤子¹、宇都宮 怜子²、合島 怜央奈^{2,3}、木附 智子^{1,2}、城戸 瑞穂² (¹九大 院歯 顔面口腔外科、²九大 院歯 口腔解剖、³佐賀大 医歯科口腔外科)

【目的】痛みは、熱や機械的な刺激あるいは化学的な刺激などの多様な刺激により侵害受容ニューロンが活性化することにより惹起されると考えられている。痛みを惹起する化学的な刺激の一つとして、古くより唐辛子の辛味成分であるカプサイシンが知られているが、辛味の多様な感受性について明らかになったとは言えない。私たちは、カプサイシン受容体の TRPV1 (transient receptor potential channel vanilloid 1) の遺伝子多型 (SNP) に着目し、カプサイシン・温度感受性との関係を明らかにすることを目的として研究を行った。【方法】実験は九大臨床試験倫理審査委員会の承認を受け実施した。頬粘膜擦過により健康日本人 300 名よりゲノム DNA を抽出し、SNP 解析を行った。さらに、カプサイシンの辛味感知閾値、および冷・温覚閾値を測定した。【結果および考察】TRPV1 の SNP rs8065080 SNP (C>T) は、口腔へのカプサイシン刺激による辛味感受閾値および VAS 値に有意な差を認めた。温度については、有意な差は認められなかった。また、辛味の嗜好とは明らかな関連は認められなかった。TRPV1 の遺伝子型の差が辛味の感受性と関連を示したことから口腔の痛みにも影響することが考えられた。

P1-161

GLP-1 受容体欠損マウスにおける選択的甘味抑制について

○岩田 周介¹、安松 啓子¹、高井 信吾¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三¹ (¹九大 院歯 口腔機能解析)

Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) は腸管内分泌細胞 L 細胞から分泌されるインクレチンであり、近年 L 細胞が味覚 G タンパク質である α -gustducin と甘味・うま味受容体コンポーネント T1R3 を発現し、甘味刺激によって GLP-1 を分泌することが示唆されている。さらに GLP-1 の KO マウスの行動応答では甘味に対する感受性が低下しているという報告があるが、用いた味物質種は限定的であり、かつ味神経応答についての報告はまだない。GLP-1 の味覚修飾作用を検討するため、本研究では GLP-1rKO マウス、及び野生型マウス (C57BL/6) を用い、鼓索神経と舌咽神経の全神経線維束応答を記録した。また、甘味 (スクロース、サッカリン、D-フェニルアラニン、グルコース)、苦味 (キニーネ)、塩味 (NaCl)、酸味 (HCl)、旨味 (MSG + 1 mM IMP + 100 μ M アミロライド) の行動応答を 10 秒間リック測定法で解析した。その結果、GLP-1rKO マウスでは、野生型マウスに比べ、鼓索神経ではショ糖、サッカリン、SC45647、グルコース、MPG + IMP、舌咽神経においてはショ糖、SC45647、D-アミノ酸に対する応答が有意に減少した。また 10 秒間リック測定法では用いた全ての甘味物質に対するリック数の有意な減少が認められた。このことから、GLP-1 シグナリングが甘味感受性の維持あるいは増強に関与することが示唆された。

P1-163

覚醒サル一次体性感覚野ニューロンの熱刺激に対する応答特性

○海野 俊平¹、岩田 幸一¹ (¹日大 歯 生理)

一次体性感覚野 (S1) ニューロンの熱受容に対する役割を明らかにするために、2 頭のニホンザルの顔面皮膚に熱刺激強度弁別課題を訓練し、課題遂行中の S1 単一ニューロンの活動を記録した。サルの口髭部に設置した温度刺激用プローブより温度刺激を与えた。サルがボタンを押すとプローブ温度が 35°C から 45-47°C に上昇する (T1 期間)。ボタンを押し続けると温度がさらに 0.2-0.8°C 上昇し (T2 期間)、サルがこの温度変化を検出し 3 秒以内にボタンを離せば報酬としてジュースが与えられる。サルがこの課題を行わせると、T1 期間の温度が高いほど正答率は向上し、反応時間は短縮した。訓練完成後、サル S1 より課題遂行中の単一ニューロン活動を記録した。一部の S1 ニューロンは T1 と T2 の両方の温度変化に反応したが、多くのニューロンは T1 または T2 のどちらか一方の温度変化にのみ反応した。この結果から S1 ニューロン活動は単純に刺激部位に加えられた温度をコードしているのではなく、T1 と T2 の間のわずかな温度変化を検出するのに非常に適したパターンを示すことがわかった。また T2 期間のニューロン活動の応答潜時は、サルのボタン離しの反応時間と相関していた。これらの結果は S1 ニューロンの活動が侵害熱刺激弁別課題における微小な温度変化の検出に重要な役割を果たしていることを示唆している。

P1-162

下歯槽神経損傷後に孤東核内で認めたマイクログリアの応答

○柿原 理奈¹、諏訪部 武³、西川 泰央²、森田 章介¹ (¹大歯大 院 口腔外科一、²大歯大 生理、³朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)

【緒言】下歯槽神経支配領域に対する侵害刺激に反応して、三叉神経脊髄路核尾側亜核でグリア細胞の数が増加することは報告されている。下歯槽神経は孤東核にも投射することから、本研究では下歯槽神経損傷に対する孤東核のマイクログリアの応答を組織学的手法により調べた。【材料および方法】7 週齢のラットを全身麻酔後、右側下歯槽神経を下顎角部で露出し、切断した。1 週後、ラット脳をパラホルムアルデヒドで固定し、厚さ 50 μ m の延髄スライス標本 (水平断) を作製した。抗 Iba1 蛍光免疫染色を行い、Iba1 陽性細胞を観察した。マイクログリアの個数は、蛍光像を構成するピクセルの個数を計測することで評価した。【結果】下歯槽神経切断群の手術側と非手術側、Sham 手術群の手術側において Iba1 陽性細胞を観察したところ、下歯槽神経切断群の手術側の孤東核吻側部でマイクログリアの増加を認めた。【考察】マイクログリアは損傷した神経の一次投射領域で増加する。一方、三叉神経脊髄路核尾側亜核では下歯槽神経切断後にグリア細胞の働きによってニューロン活動が亢進し、痛覚過敏の発症に関わることが報告されている。今回の実験から、下歯槽神経切断後にマイクログリアの応答を認めたのは、孤東核吻側部であった。ここには口腔領域からの感覚入力を取束し、味覚の投射部位であることから、下歯槽神経損傷は味覚に影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

P1-164

二日酔いでの口渇感は一アセトアルデヒドが原因で起こる

○稲永 清敏¹、氏原 泉^{1,2}、人見 涼露¹、小野 堅太郎¹、柿木 保明² (¹九歯大 歯 生理、²九歯大 歯 老年障害)

二日酔いをすると、時として強力な喉の渇きが生じる。一般的には、エタノールがバゾプレッシン分泌を抑制することによって起こる「アルコール利尿」が原因で喉が渇くといわれている。われわれは、エタノールの分解産物であるアセトアルデヒドが他の二日酔いの諸症状と同じく、喉の渇きの原因物質ではないかという仮説をたて実験を行った。実験にはウイスター系雄ラットを用いた。エタノール腹腔内投与により、水および食塩水の摂取量が増加した。アセトアルデヒド脱水素酵素阻害剤のシアンミドとの併用投与により、摂取量は増大した。シアンミド前投与後、アセトアルデヒドの投与により、水および食塩水の摂取量はさらに増加した。アセトアルデヒドがマスト細胞に作用しレニンを分泌させることが知られている。水および食塩水摂取量の増加は、マスト細胞膜安定剤およびアンジオテンシン II 受容体拮抗剤により減弱した。尿量は、水および食塩水を与えた場合にのみ、摂取量に見合った尿量の増加が遅れて観察された。c-Fos 免疫組織の結果より、エタノール投与により口渇中枢の神経細胞が活性化されることがわかった。これらのことより、二日酔いをした時、アセトアルデヒドのマスト細胞への作用を介して生成されたアンジオテンシン II が、口渇中枢にはたらき、喉の渇きを誘発している可能性が考えられた。

P1-165

ビタミンC欠乏ラットの5基本味に対する鼓索神経応答

○安尾 敏明¹、諏訪部 武¹、畚 哲崇¹ (朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)

ビタミンは、周知のとおり、きわめて微量で動物の正常な生理機能を保持する不可欠の有機化合物で、不足すると特有の欠乏症を起こす。これまでの報告から、ビタミンA、B₁、B₆等の欠乏において、ある特定の味質に対する嗜好性が変化する可能性が示されている。申請者らは、これまでに、ビタミンC欠乏時にビタミンC水溶液に対する嗜好性が変化することを報告したが、ビタミンC欠乏時に現れるこの行動変化が、味覚の変化によって起きているのかどうかはまだ明らかにできていない。そこで、本研究では、5基本味(甘味:スクロース、塩味:塩化ナトリウム、苦味:塩酸キニーネ、酸味:塩酸、うま味:グルタミン酸カリウム)に対する鼓索神経応答がビタミンC欠乏時に変化するのかがどうかを明らかにするために、ビタミンC合成能欠如ラットを用いて、ビタミンC欠乏前後での5基本味に対する鼓索神経応答を記録し、解析を行った。その結果、欠乏前と比べ、欠乏後には、塩化ナトリウムや塩酸に対する鼓索神経応答が有意に減少していることが明らかとなった。以上の結果から、ビタミンCの欠乏状態は、一部の味覚受容機構に変化を及ぼす可能性のあることが示唆された。

P1-166

カプサイシンによって惹起される島皮質味覚野-自律機能関連領域間のθリズム同期化現象

○齋藤 充¹、豊田 博紀¹、佐藤 元¹、姜 英男¹ (阪大 院歯 高次脳口腔機能)

島皮質においては、味覚野(GI)と自律機能関連領域(AI)が吻尾的に隣接しているが、両領域の神経活動が協調し得るか否かは不明であった。我々はカプサイシン(CAP)を含む食品を摂取すると、顔面からの発汗や唾液分泌亢進、心血管系の促進等の自律反応が生じる。また、CAP摂取時にGIニューロンが活動することが近年機能的MRI解析により明らかになった。これらのことから、GIに発現しているCAP受容体TRPV1が活性化されると、両領域が機能協調し、その結果、これらの自律反応が生じた可能性が想定される。本研究では、ラット大脳薄切標本を用い、先ずGI第三層及び第五層錐体細胞(L3/L5 PC)におけるTRPV1電流の性質を調べた。全細胞電位固定下のL3 PCに対しCAP溶液をパフ投与し電流応答を観察すると明確な脱感作がみられなかったが、L5 PCではCa²⁺依存的な脱感作が認められた。次に、GI電気刺激により惹起した興奮の伝播の時空間的パターンを光学的膜電位測定法で観察した。CAP非存在下では単相的かつカラム状のパターンを示したが、CAP投与によりGIからAIへ広がる同期化したθリズムオシレーションへと変化した。全細胞電流固定記録の結果から、L3及びL5 PCはTRPV1活性化時にそれぞれ4 Hz及び8 Hzの持続的発火活動を示すことが判った。これらのθリズム発火活動が、GI-AI間にみられるθリズム同期化現象を引き起こしており、CAP摂取時の自律反応の神経基盤となっていることが示唆された。

P1-167

歯根膜侵襲刺激後の神経ペプチド pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) の発現について

○北浦 英樹¹、木村 桂介¹、石田 匡彦¹、山本 照子¹ (東北大 院歯 顎口腔矯正)

神経ペプチドは、中枢神経系および末梢神経系に広く分布し神経伝達物質、神経修飾因子として、また、侵襲性の刺激により痛みの伝達を担っていることなどが知られている。本報告では、歯の脱臼により歯根膜に侵襲性の刺激を与えた場合の神経ペプチドである Pituitary adenylylate cyclase activating polypeptide (PACAP) およびそのレセプターである PAC1 の発現および分布を調べた。6週齢SDラットの上顎第一臼歯を脱臼後、凍結組織切片を作製した。PACAP および PAC1 の免疫染色を行い、脱臼後の組織学的変化、PACAP 陽性神経線維および PAC1 陽性細胞の分布を調べた。脱臼後3、5日後には骨の吸収窩が認められ破骨細胞が骨表面に認められた。7日後には骨の吸収窩の骨表面に類骨が認められ骨芽細胞出現していた。PACAP 陽性神経線維は脱臼後、増加が認められた。また、PAC1 陽性の破骨細胞および骨芽細胞も増加した。蛍光二重染色により脱臼後 PACAP 陽性神経線維が PAC1 陽性破骨細胞および PAC1 陽性骨芽細胞に近接しているのが認められた。侵襲刺激により歯根膜内に神経ペプチドである PACAP および PAC1 が増加することがわかった。また、PACAP が PAC1 陽性破骨細胞および骨芽細胞に近接していることから破骨細胞および骨芽細胞に作用し活性化している可能性が示唆された。

P1-168

絶食条件下での味蕾における味覚情報伝達系に関わる分子の発現調節

○豊野 孝¹、瀬田 祐司¹、片岡 真司²、鬼頭 文恵³、豊島 邦昭¹ (九歯大 歯 健康増進 口腔組織機能解析、²九歯大 歯 健康増進 頭頸部構造解析、³九歯大 歯 生体機能 老年障歯)

カロリー制限食のラットでは、甘味感受性が増加することが明らかになっている。しかしながら、味蕾での味覚情報伝達系に関わる分子に関して、摂食状態による発現調節機構は明らかになっていない。そこで、本研究では味蕾を含むマウス有郭乳頭において、絶食時におけるこれらの分子の発現量の変化をリアルタイムPCR法により調べた。自由飲水下で2日間絶食、または通常給餌を行ったC57BL6/J雄マウスの有郭乳頭上皮からtotal RNAを調製した後、cDNAを調製しリアルタイムPCR法による解析を行った。その結果、細胞内味覚情報伝達分子 gustducin および PLCβ2 に関しては、摂食時と比較して絶食時ではそれぞれ1.4倍、1.2倍の発現量の増加が認められた。次に甘味・うま味受容体 TIR ファミリー (TIR1, TIR2 および TIR3) に関しては、摂食時と比較して絶食時ではそれぞれ1.8倍、2.2倍および2.4倍の発現量の増加が認められた。一方、苦味受容体 T2R138 に関しては、絶食時では1.3倍の発現量の増加が認められた。以上の結果から、絶食により特に TIR ファミリーの転写が活性化されることが明らかになった。

P1-169

PRIP 蛋白の発現抑制はバレル皮質錐体細胞において一過性 GABA 抑制を強化する

○豊田 博紀¹、齊藤 充¹、佐藤 元¹、兼松 隆²、平田 雅人³、姜 英男¹ (阪大 院歯 口腔生理、² 広大院 医歯薬 歯科薬理、³ 九大院 院歯 口腔細胞工)

新規イノシトール 1,4,5-三リン酸結合蛋白質 (PRIP) は、GABA_A受容体のシナプスへの移行に重要な役割を担っている。今回我々は、バレル野錐体細胞における抑制性後シナプス電流 (IPSC) 及び GABA パフにより生じる GABA_A受容体電流が、PRIP1/2 分子欠損によりどのように変化するかについて検討した。mIPSC の発生頻度、振幅及び立ち上がり時間のいずれにおいても、PRIP1/2 ノックアウトマウス (DKO) と野生型マウス (WT) の間に有意差は認められなかったが、その 1/2 持続時間は DKO の方が WT に比べて有意に小さい値を示した。その一方、eIPSC の 1/2 持続時間はその逆の大小関係を示した。DKO の GABA_A受容体電流は WT に比べて強い脱感作を示し、パフオフセット直後にハンパ状のテール電流が観察された。DKO で観察された強い脱感作及びハンパ状のテール電流は、BAPTA 及びカルシニューリン拮抗薬により抑制された。細胞内 Ca²⁺濃度上昇に伴う GABA_A受容体チャネルのキネティクス変化は、シナプス外 GABA_A受容体でのみ生じると報告されており、また、カルシニューリンの活性化により、シナプス下 GABA_A受容体がシナプス周辺へ移行することが報告されている。これらのことから、DKO の錐体細胞では、シナプス下 GABA_A受容体がシナプス周辺に移行しており、シナプス伝達の際、シナプス下 GABA_A受容体だけでなく、シナプス周辺 GABA_A受容体も活性化されるため、一過性抑制が増強される可能性が示唆される。

P1-171

ラット顎下腺・舌下腺を支配する上唾液核ニューロンに対するオレキシンの興奮作用

○美藤 純弘¹、佐藤 匡²、藤田 雅子¹、小橋 基¹、市川 博之^{1,2}、松尾 龍二¹ (岡大 院歯薬 口腔生理、² 東北大 院歯 口腔器官構造)

【目的】オレキシンは視床下部外側野 (摂食中枢) ニューロンから分泌される摂食促進ペプチドである。予備実験でオレキシンは顎下腺・舌下腺を支配する副交感神経の一次中枢である上唾液核 (SSN) ニューロンを興奮させることを明らかにしている。本研究はその興奮作用をより詳細に分析し、また SSN ニューロンのオレキシン受容体を免疫組織化学的に調べた。【方法】Wistar 系成熟ラットの鼓索-舌神経に Fast Blue を注入して SSN ニューロンを逆行性に標識した。脳幹部の凍結切片を作製してオレキシン A と B 受容体を免疫染色した。Wistar 系幼若ラットの SSN ニューロンを同様に蛍光標識して新鮮脳スライス標本を作製した。標識細胞からホールセルパッチクランプ法により記録を行い、膜電位や膜電流に対するオレキシン A および B の影響を調べた。【結果および考察】多くの SSN ニューロンはオレキシン A および B 受容体を共発現していた。しかし活動電位や内向き電流発生に関しては、オレキシン A で誘発されるニューロンの割合の方がオレキシン B のものよりも多かった。また多くの SSN ニューロンで、オレキシン A により微小興奮性シナプス後電流の発生頻度が上昇した。よって SSN ニューロンは主にオレキシン A により興奮性調節を受けていることが示唆された。オレキシンは摂食時の豊富な唾液分泌に関与しているのかもしれない。

P1-170

神経障害性疼痛モデルにおける酸化型ガレクチンの鎮痛効果について

○米原 典史¹、寺澤 理恵¹ (奥羽大 歯 歯科薬理)

神経障害性疼痛は、神経損傷に伴う神経機能の異常に起因し、異常痛覚 (アロディニア) と痛覚過敏を主症状とする難治性の疼痛である。この疼痛には口腔・顔面領域では、抜歯・囊胞摘出術・インプラント植立術などの手術に伴う末梢神経の損傷に起因するもの、あるいは帯状疱疹後神経痛・三叉神経痛などの病因によるものがあり、多数のヒトがこの痛みを苦しんでいる。本研究では、神経障害性疼痛を発症する動物実験モデルを用い各種神経栄養因子の鎮痛効果を検討した。【方法】病態動物は、ICR マウス (20-25 g) の坐骨神経を緩やかにクロミック縫合糸で 3ヶ所結紮し作成した。神経栄養因子は結紮部位に 5 μl 直接塗布した。鎮痛効果は、熱刺激装置 (Plantar test) を用い、熱刺激に対する逃避潜時を測定することにより検討した。【結果】坐骨神経結紮により、結紮 7 日目から熱刺激に対する逃避時間の短縮 (痛覚過敏) が生じ、10 日から 14 日目にかけて逃避潜時は最短となった。酸化型ガレクチン塗布群は、生理食塩水塗布群に比べ結紮直後から 28 日目にかけて逃避潜時の著しい延長 (鎮痛効果) が観察された。酸化型ガレクチンは、神経損傷後の軸索再生の初期過程に重要な役割を果たすことが知られていることから、本研究結果は、酸化型ガレクチンが神経再生のみならず神経障害性疼痛の発症抑制および治療に有効な治療薬となりうる可能性を示唆している。

P1-172

乾燥による上皮細胞の乾燥は、さらなる乾燥を誘発する

○八田 あずさ^{1,2}、黒瀬 雅之¹、藤井 規孝²、山村 健介¹ (新大 院歯 口腔生理、² 新大病院 総合診療)

【背景】我々は、涙腺を摘出したモデル動物を用いて、角膜の長期間に渡る乾燥が、涙膜の状態をモニタリングしている角膜求心性神経活動に影響を及ぼすことを明らかにしてきた。次に、影響を及ぼす因子として炎症性サイトカインに着目し、モデル動物を用いて、サイトカインの動態を検討した結果、摘出 1 週後の角膜上皮細胞において IL-6 の有意な増加が見られた。そこで、摘出 1 週後のモデル動物を用いて、電気生理学的手法により求心性神経線維の活動量の変化を記録し、サイトカインの及ぼす影響を検討した。【方法】片側の眼窩上・眼窩下涙腺を摘出 7-10 日間経過したラットを用いて、麻酔下にて、三叉神経節から冷刺激や高浸透に対して応答することで涙膜の状態をモニタリングしている角膜求心性神経細胞を同定した後、温度刺激と TRPM8 チャネルの作動薬であるメントールに対する神経応答を記録した。また、涙の分泌量と瞬目反射の経過変化を記録した。【結果と考察】涙腺摘出は、涙の分泌量を有意に低下させ、瞬目反射数を非摘出側と比較して有意に増加させた。摘出群の冷刺激により誘発される神経活動は非摘出群より有意に減弱し、誘発閾値の温度は有意に低かった。メントールに対する感受性は非摘出群と比較して、有意に増強したものの、脱感作を誘発する溶液の濃度は有意に低かった。これらのことから、サイトカインが角膜求心性線維の脱感作に関与していることが示唆された。

P1-173

睡眠時の末梢刺激応答性変化に関わる神経機構の検討

○日野 峻輔¹、加藤 崇雄¹、堀江 憲夫¹、下山 哲夫¹、坂上 宏²、安達 一典² (¹埼玉大 総医セ 歯口外、²明海大 歯 薬理)

【目的】近年、我々はサルの顎運動活動性が、安静覚醒 (quiet awake:QW) 時に比較して安静睡眠 (quiet sleep:QS) 時に低下することを報告した。そこで本研究では、その活動性変調に関わる神経機構を解明するために薬物投与が容易に行えるラットを用いて検討を行った。【方法】SD系雄性ラット(6週齢)に心電図、筋電図(顎二腹筋前腹)、脳波、眼電図記録用電極と舌刺激用電極(オトガイ舌筋)を留置し、一週間の回復期間の後に実験に用いた。QW時にオトガイ舌筋に電気刺激(200 μ s、0.2 Hz、5回)を加え、顎二腹筋活動を3/5以上で発現させる刺激強度を開口反射誘発閾値 (TH) とし5分間隔で3回計測した(QWB)。続いて、QS時とその後の覚醒 (QWA) 時のTHを求めた後、グリシン (150 mg/kg、i.p.) を投与し検討を行った。また、刺激強度と開口反射応答性の相関を検討するために、THの1.5-2倍の刺激を与えた。【結果】QWBにおいてTHは安定していたが、QSでは有意に上昇 ($P<0.05$ 、 $118.7\pm 3.3\%$ vs QWB) し、QWAではQWBのレベルまで戻った ($104.5\pm 1.9\%$ vs QWB)。また、QSではQWBと比較して開口反射潜時の延長と顎二腹筋 RMS の減少が各刺激強度で有意 ($P<0.05$) に認められた。グリシン投与はQWBのTHを上昇 ($P>0.05$ 、 $105.1\pm 3.5\%$ vs グリシン非投与) させたが、QSのTHを有意に上昇させることはなかった。【考察】ラットの顎運動機能は睡眠時にグリシン神経機構を介した抑制を受けていることが示唆された。

P1-174

環境ホルモン曝露ラットにおけるニオイ関連行動の解析

○藤本 哲也¹、西川 泰央¹ (¹大歯大 生理)

【目的】ビスフェノール A(BPA)は歯科材料にも用いられる環境ホルモンの1つである。我々は極微量BPAの周産期曝露が仔ラットのうつ情動を増強することを報告してきた。今回は情動行動の背景を調べるため、捕食者のニオイを用いた行動解析を試みた。【方法】4方向のチャンバーからなる十字型の観察ボックスを作製し、BPAを周産期曝露したあとの仔ラットをその中に置いて行動を解析した。初日はニオイを置かず、翌日、2方向のチャンバーの端にニオイ溶液を置いた。【結果】対照群においてニオイ存在下で活動性が低下したが、ニオイに対する回避行動は認められなかった。一方、曝露群では、活動性の低下とニオイ回避の両方が認められ、活動性の低下は雄ラットで顕著であった。【考察】本実験ではニオイ刺激として3%の溶液を用いた。これは対照群の回避行動に影響を与えず、活動性のみを低下させるニオイ強度と考えられた。この条件下でBPAは有意なニオイ回避行動を引き起こし、活動性を顕著に低下させたことから、BPA曝露ラットにおいてストレス感受性が亢進していることが示唆された。うつ情動においても雄で顕著であることから、その背景の1つとしてストレス脆弱性が考えられた。

P1-175

味覚感受性に与える冷刺激の影響：性差

○藤山 理恵¹、岡田 幸雄¹、戸田 一雄¹ (¹長大院 医歯薬 生体情報科学)

【目的】味覚と温度感覚の間には関連があることが報告されており、我々はこれまでに冷刺激による味覚感受性の効果について報告した。味覚障害患者は女性に多いと言われている。そこで今回、冷刺激の効果における性差について味質ごとに検討した。【方法】健常者249名のうち、男性131名、女性118名について調べた。全口腔法の変法である滴下法を用いて味覚検査を行ない、四基本味の認知閾値を調べた。1分間アイスキューブを口に含み、口腔内全体に作用させたのち、3分後に滴下法にて再検査を行った。【結果】全被験者について冷刺激前後の認知閾値を統計的に比較したところ、四基本味すべてにおいて味覚感受性の上昇がみられた。さらに男性と女性に分けて四基本味それぞれの冷刺激前後の認知閾値を統計的に比較した。四基本味のうち甘味と酸味の感度は男性・女性とも冷刺激による有意な上昇が観察され性差は無かった。しかし塩味の感度は男性では冷刺激による有意な上昇が観察されたが、女性では有意差は見られなかった。塩味とは反対に、苦味の感度上昇は男性では冷刺激による有意差は観察されなかったか、女性では有意差が見られた。【結論】冷刺激による味覚感受性は、甘味・酸味については性差が見られなかったが、塩味・苦味については性差が観察された。味覚感受性に与える冷刺激の影響は性別の違いにより、味質ごとに異なる可能性が示唆された。

P1-176

上喉頭神経連続電気刺激は嚥下反射をどのように脱感作させるのか？

○辻 光順¹、辻村 恭憲¹、井上 誠¹ (¹新大院 医歯 摂食・嚥下リハ)

【目的】上喉頭神経(SLN)への電気刺激は、その嚥下反射誘発の容易さからこれまで動物を用いた研究において広く用いられてきた。しかし、SLN連続電気刺激が嚥下反射誘発やその神経機構にもたらす影響については明らかになっていない。そこで本研究では、SLN連続刺激による嚥下誘発とその変調に関わる神経メカニズムについて検討した。【方法】38匹のウレタン麻酔下SD系雄性ラットを用いた。左側甲状舌骨筋および顎舌骨筋から筋活動電位を導出し、嚥下の指標とした。嚥下誘発のためのテスト刺激としてSLN、延髄孤束核(NTS)、皮質嚥下領域および反回神経刺激を選択し、嚥下回数および嚥下間隔時間を計測した。次に、条件刺激としてテスト刺激前にSLN連続刺激(SLN前刺激)を行い、その効果を検討した。最後に、SLN連続刺激時のNTSニューロン活動の変化を検討した。【結果】テスト刺激であるSLN連続刺激時には、経時的な嚥下回数の減少と嚥下間隔時間の延長を認めた。SLN前刺激は、いずれの嚥下誘発に対しても抑制効果を示した。SLN高頻度刺激時(30 Hz)のNTSニューロン活動は経時的に減少を認めたのに対し、低頻度刺激時(2 Hz)にはその変化は認められなかった。【結論】SLN連続刺激により生じた嚥下の脱感作に、嚥下中枢の活性化と関連するNTSニューロン活動の低下が関与している可能性が考えられた。

P1-177

三叉神経上核プレモーターニューロンの形態学および生理学的特性

○中村 史朗¹、中山 希世美¹、望月 文子¹、吉田 篤²、井上 富雄¹ (¹昭大 歯 口生理、²阪大院 歯 高次脳口腔機能)

我々はこれまで閉口筋および開口筋運動ニューロンに興奮性および抑制性出力を送るプレモーターニューロンが三叉神経上核(SupV)に存在することを報告してきた。しかしSupVプレモーターニューロンの形態学および生理学的性質は不明な点が多い。そこで本研究では、カルシウムイメージング法を用いて同定したSupVプレモーターニューロンの形態学および電気生理学的特性について解析した。生後1~6日齢Wistar系ラット脳幹スライス標本内のMoVを電気刺激すると、短潜時間で細胞内カルシウム濃度の上昇を示すニューロンがSupVに1232ニューロン中139個(11.2%)認められた。次に139個中38ニューロンからパッチクランプを行いMoVを100 Hz・3連発で電気刺激したところ、32個のニューロン(84.2%)で逆行性の活動電位が誘発された。逆行性応答を示したニューロンは、発火特性に基づいて高頻度スパイク発射型(HF)ニューロンと低頻度スパイク発射型(LF)ニューロンに分類された。さらにHF、LFニューロンを形態学的に検索したところ、樹状突起の分布および軸索の走行様式に両ニューロングループ間で差が認められた。以上の結果から、SupVに存在するプレモーターニューロンは、様々な電気生理学的および形態学的特性を有し、複雑で多様な下顎運動の遂行に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

P1-179

大動脈減圧神経と三叉-舌神経刺激による孤東核吻側部ニューロン応答

○石塚 健一¹、佐藤 義英¹ (¹日歯大 新潟生命 歯 生理)

孤東核吻側部は味覚の第一次中継核としてよく知られている。しかしながら、孤東核吻側部ニューロンは多くの異なる組織からの求心性入力を受けるとともに、多種類の末梢刺激に応答する。そこで、我々は孤東核吻側部ニューロンの大動脈減圧神経と舌-三叉神経刺激による応答をウレタンクロラロース麻酔下ラットで検索した。総計36個の自発発射を示す孤東核吻側部ニューロンを記録した。大動脈減圧神経刺激により12個(33%)のニューロンが有意($p < 0.05$)に発火頻度を変調したが、残りの24個(67%)の発火頻度の変調には有意差が認められなかった。変調を示した12個のうち、11個が発火頻度を減少させ、そして1個のニューロンが発火頻度を増加させた。一方、三叉-舌神経刺激により17個(47%)のニューロンが有意($p < 0.05$)に発火頻度を変調したが、残りの19個(53%)の発火頻度の変調には有意差が認められなかった。変調を示した19個のうち、11個が発火頻度を減少させ、そして6個のニューロンが発火頻度を増加させた。以上の結果より、大動脈減圧神経刺激と三叉-舌神経刺激は約半数以下の孤東核吻側部ニューロン活動に興奮性または抑制性効果を及ぼすことが明らかになった。

P1-178

体性感覚誘発脳磁場による口唇感覚異常の客観的評価

○前澤 仁志^{1,2}、吉田 和也³、美馬 達哉²、平井 喜幸¹、舩橋 誠¹、長峯 隆^{2,4}、福山 秀直² (¹北大 歯 口腔生理、²京大 医 脳機能セ、³京都医療セ 歯、⁴札医大 神経科学)

智歯抜歯後などに口唇感覚異常を生じることがあるが、下歯槽神経の走行が深いため、電気生理学的手法を用いて末梢神経の電気活動を記録することは困難である。口唇刺激による体性感覚誘発脳磁場(SEF)を用いて、下唇感覚異常の客観的評価を試みた。対象は口腔外科手術中の神経損傷により片側の下唇に感覚異常を有した患者6名(男性4名、女性2名、32-56才)と健常者10名(男性6名、女性4名、24-62才)。口唇粘膜(正中から2cm側方)に、一組のピン電極を接触させ、片側ずつ刺激した。感覚閾値の3倍で幅0.5msの定電流矩形波を刺激間隔1sで与えた。全頭型脳磁図計の平面型差分センサー204chで記録を行い、600回加算した。再現性のある2セッションの群加算を解析に用いた。すべての健常者の左右側刺激で対側頭頂側頭部に25ミリ秒付近を頂点潜時とするSEF反応(P25m)を認めた。また、P45m、P60m、P80mのうち少なくとも1つの反応を認めた。各反応の頂点潜時は右側刺激では23-33、42-50、56-67、72-98msであり、左側刺激では23-34、46-49、52-68、71-90msであった。患者の健常側刺激では、すべての被験者で対側半球にP25m(24-34ms)を認めたが、患側刺激ではP25mは認めなかった。5人で対側半球に小さな反応を認め、各被験者の反応の最短潜時は57、89、65、53、54msであった。SEFによるP25mの反応が下唇の感覚異常の客観的評価の指標になることが示唆された。

P1-180

海馬学習依存的なAMPA受容体のCA1シナプスへの移行は、両側の背側海馬にみられ、腹側海馬ではみられない

○水野 潤造¹、美津島 大^{1,2} (¹神歯大 院 歯 口腔科学、²山口大 院 医 システム神経科学)

近年、海馬での学習依存的なシナプス可塑性が報告されたが(Science 308: 83-88, 2005)、未だ多くが未解明である。我々は、ラットを用いて文脈学習である受動的回避学習(IA task)を行い、海馬CA1シナプスにおけるAMPA受容体のシナプス移行が学習依存的であることを報告した。さらに、このシナプス移行の阻止は文脈学習を阻害することから、AMPA受容体のシナプス移行が文脈学習に必要であることも確認した(PNAS 108: 12503-508, 2011)。左右の海馬CA1のシナプス結合には構造的差異があり、背側と腹側では機能的差異が存在する。本研究では、CA1領域のどの部分が学習成立に関わるか、文脈学習の記憶領域を確認するため、学習後のラットから急性脳スライスを作製してパッチクランプ解析を行った。まずvoltage clamp法で、左右の背側および腹側海馬のCA3-CA1線維を刺激し、CA1ニューロンからAMPA受容体およびNMDA受容体を介するEPSC反応を記録した。背側海馬のCA1ニューロンでは左右両側で学習依存的なAMPA/NMDA比の上昇が見られたが、左右差は認められなかった。一方、腹側海馬のCA1ニューロンでは学習依存的なAMPA/NMDA比の変化は見られず、左右差も認められなかった。また、current clamp法での解析では、学習依存的変化や左右差は認められなかった。以上より、学習依存的なCA3-CA1シナプスの可塑性は背側海馬の左右両側で見られるが、腹側海馬では見られないことが明らかになった。

P1-181

赤核刺激による開口反射の変調における外側網様核の関与

○佐藤 義英¹、石塚 健一¹、岩崎 信一¹ (1)歯大 新潟生命歯 生理)

【目的】我々は赤核刺激が低閾値求心性線維の刺激により誘発された開口反射を促進し、高閾値求心性線維の刺激により誘発された開口反射を減弱することを報告した。外側網様核は赤核からの投射線維を受けていることが明らかにされている。また外側網様核刺激は侵害性刺激誘発性開口反射を減弱するが、非侵害性刺激誘発性開口反射を減弱しないことが報告されている。従って、赤核刺激による開口反射の変調は外側網様核が関与していると考えられる。そこで赤核刺激による開口反射の変調が外側網様核の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。下歯槽神経刺激(試験刺激)により開口反射を誘発させ、顎二腹筋前腹からの筋電図を記録した。下歯槽神経の刺激強度は閾値の1.2倍か4倍とした。そして赤核の電気刺激(条件刺激)による開口反射の変調を記録した。次に外側網様核の電気破壊を行い、赤核刺激による開口反射の変調が影響を受けるか検索した。記録終了後、刺激部位と破壊部位を組織学的に確認した。【結果と考察】赤核刺激による低閾値求心性線維刺激誘発性開口反射の促進は、外側網様核を破壊しても影響を受けなかった。一方、赤核刺激による高閾値求心性線維刺激誘発性開口反射の減弱は、外側網様核破壊後、消失した。これらのことから、赤核刺激による高閾値求心性線維刺激誘発性開口反射の減弱は、外側網様核が関与していることが示唆された。

P1-183

光学的膜電位測定によって観察されたラットパレル野における周期的同期化

○佐藤 元¹、豊田 博紀¹、齋藤 充¹、姜 英男¹ (1)阪大 院歯 口腔生理)

ラットは複数のヒゲにより空間認知を行うことから、隣接カラムの神経細胞集団間で発火活動の協調や同期化が生じていると考えられる。実際、カイニン酸の灌流投与により、パレル野第2/3層に1-5 Hzの周期的同期活動が生じることが細胞外記録法により報告されている。一方、我々はカラム間の脱同期化にGABA_Bシナプス前抑制が関与することを既に報告している。本研究では、発火活動の周期的同期化、或いは、脱同期化に、GABA_Bシナプス前抑制が関与するか否かを明らかにするため、ラットパレル野のスライス標本を用いて光学的膜電位測定法により実験を行った。第3層に与えたpaired pulse 刺激(200 ms 間隔)により引き起こされる第2/3層における水平方向の興奮伝播の広がり、一発目より二発目の方が小さかった。この興奮伝播の広がりのpaired-pulse depressionは、bicuculline + APVの存在下でのみ認められ、GABA_B受容体阻害薬CGP55845により消失した。これらの結果は、GABA_Bシナプス前抑制が隣接カラム間の神経活動の脱同期化に関与することを示唆している。また、カイニン酸の灌流投与により、パレル野第2/3層の広い範囲にわたって、同期化した約5 Hzの振動活動が出現し、カイニン酸受容体拮抗薬の灌流投与により消失した。さらに、こうした周期的同期化はCGP55845によっても消失したことから、GABA_Bシナプス前抑制の働きにより、その周期が決定されている可能性が高いと考えられる。

P1-182

ラット咽頭及びその周囲組織におけるTRPV1とTRPV2の分布

○佐藤 匡¹、矢島 健大²、狩野 充浩¹、鈴木 敏彦¹、市川 博之¹ (1)東北大 院歯 口腔器官構造、2)東北大 院歯 歯科保存)

Immunohistochemistry for TRPV1 and 2 was performed on the pharynx and its adjacent regions. TRPV1-immunoreactivity (IR) was detected in nerve fibers beneath and within the epithelium and/or taste bud-like structure. In the pharynx, these nerve fibers were abundant in the nasooral part and at the border region of naso-oral and laryngeal parts. They were also numerous on the laryngeal side of the epiglottis and in the soft palate. TRPV2-IR was expressed by dendritic cells in the pharynx and epiglottis, as well as in the root of the tongue and soft palate. These cells were located in the epithelium and lamina propria. Some TRPV2-IR nerve fibers could be also observed in the epithelium of the soft palate. Retrograde tracing method revealed that many sensory neurons which innervate the pharynx or soft palate expressed TRPV1- or TRPV2-IR in the jugular-petrosal ganglion complex. Co-expression of TRPV1 and CGRP was frequent among pharyngeal and soft palate neurons. The present study suggests that TRPV1- and TRPV2-IR jugular-petrosal neurons may be associated with the regulation of the swallowing reflex. This work was collaborated with Ms. Rika Sasaki.

P1-184

連続舌運動課題遂行時における大脳体性感覚皮質のニューロン活動

○戸田 孝史¹、工藤 忠明¹、林 治秀¹ (1)東北大 院歯 口腔生理)

【目的】ヒトの摂食、構音では舌などの運動が連続的に遂行される。その巧緻的制御の神経機構を明らかにするため、覚醒動物の大脳中心後回一次体性感覚野(SI)の後方部から頭頂連合野にかけて、運動課題遂行中のニューロン活動を調べた。この領域では受容野を有するニューロンの割合が少ないことが知られている。【方法】*Macaca fasciata* 雌1頭の訓練を行った後、ニューロン活動記録を開始した。舌運動課題は、方向の異なる2枚のスライドドア(上下、左右)をすばやく連続的に開け前方の報酬を舌尖で取るものである。1試行の所要時間は、課題開始から報酬タッチまで約1秒である。舌とドアとの接触をモニターすると同時に、PCカメラを用い課題遂行の様子を撮影した。試行は20回以上行わせ、試行間の活動パターンのばらつきについて検討した。【結果と考察】SI後方部から連合野にかけて、231個のユニットが記録され、これらのうち口腔や顔面に受容野が同定されたものは33%(77/231)であった。残り67%は、探索したにもかかわらず受容野が同定できなかったユニットであり、これらのうちの10個は、課題中の特定の運動相にのみ活動し、試行間で活動パターンを比較すると極めて高い類似度を示した。このようなニューロンは、試行毎の感覚入力の変動に影響されずに連続動作の過程を正確にモニターするのに適している。【謝辞】実験動物はナショナルバイオリソースプロジェクトから提供を受けた。

P1-185

レプチンは甘味応答味細胞の甘味応答を特異的に抑制する

○吉田 竜介¹、仁木 真由¹、上瀧 将史¹、高井 信吾¹、二ノ宮 裕三¹ (¹九大 院歯 口腔機能解析)

レプチンはマウスの甘味に対する行動・神経応答を抑制する。この効果は、レプチンが味細胞の甘味応答を抑制することで生じると考えられるが、その詳細は明らかとなっていない。本研究では、マウス茸状乳頭味細胞におけるレプチン受容体 (Ob-Rb) の発現、および味応答に対するレプチンの効果を調べた。免疫組織化学的手法により Ob-Rb の発現を調べると、Ob-Rb は I 型細胞マーカーである GLAST 発現細胞 (~20%) や III 型細胞マーカーである GAD67 発現細胞 (~4%) よりも、甘味・うま味受容体コンポーネントである T1R3 を発現する味細胞 (~40%) に多く発現が見られた。味細胞応答を調べると、レプチンは甘味応答細胞の甘味応答を濃度依存的に抑制したが、酸味、苦味応答細胞の味応答には影響を与えなかった。また甘味応答細胞に対するレプチンの抑制効果はレプチン受容体アンタゴニストにより消失し、レプチン受容体変異マウスである *db/db* マウスでは見られなかった。また、低濃度のレプチン (1~5 ng/ml) に味細胞を順応させた後、高濃度のレプチンを与えた場合にもレプチンの甘味抑制効果は見られた。以上の結果は、レプチンが甘味応答味細胞の Ob-Rb 受容体を介し甘味応答を抑制することを示唆する。

P1-186

咬合挙上によるラット咬筋の筋肥大と筋線維タイプの選筋化にラパマイシンによる mTOR 抑制が与える影響

○梅木 大輔¹、大貫 芳樹²、新井 千博¹、奥村 敏²、中村 芳樹¹ (¹鶴見大 矯正、²鶴見大 生理)

【目的】Akt/mTOR シグナル伝達経路が咬合挙上による咬筋の筋肥大を伴う選筋化に関与しているかを、mTOR の阻害薬であるラパマイシン (RAPA) の投与することにより解明することにした。【方法】8 週齢の Wistar 系雄性ラット (24 匹) を、対照群、BO 群 (3 mm の咬合挙上)、RAPA 群 (1.2 mg/kg/日 腹腔内注射)、BO + RAPA 群に分け、2 週間飼育後、体重および摘出した咬筋 (両側) の重量を計測後、左側咬筋の筋線維直径を組織化学的手法にて測定した。右側咬筋におけるミオシン重鎖アイソフォーム (MHC I, IIa, IIx, IIb) mRNA 量を real time RT-PCR 法にて定量的に解析。MHC の構成比率を SDS-PAGE で解析し、S6K1 と 4E-BP1、および ERK1/2 のリン酸化レベルはウェスタンブロット法で解析した。【結果と考察】(1) 咬筋重量、筋線維直径は、BO 群において増加が認められ、RAPA 群で減少が見られた。(2) MHC mRNA の発現量では BO 群で選筋化傾向が認められたが、RAPA 群では変化が見られなかった。(3) BO 群で S6K1 と 4E-BP1 は増加が認められ、ERK1/2 では減少が認められた。以上の結果は、機械的刺激が Akt/mTOR 経路を介し、ERK1/2 経路を抑制することで、ラット咬筋の筋肥大と筋線維タイプの選筋化に関与していることを示唆する。

P1-187

マウス舌筋走行のマイクロ CT による可視化

○岩崎 信一¹、青柳 秀一² (¹日歯大 新潟生命歯 生理、²日歯大 新潟生命歯 先端研)

The aim of this study is to obtain information about the mouse tongue muscle by using micro-CT (μ CT) at low, middle, and high magnifications. With the use of osmium tetroxide, μ CT has been effectively employed to observe soft tissue. Therefore, we chose the mouse tongue as a soft tissue for μ CT, and generated 3D images of the tongue backed up by image rendering with histological resolution. During this observation, we developed new methods of low-magnification observation to show the relation between the tongue and surrounding tissues. We also applied high-resolution μ CT in high-magnification observation of muscle fiber fascicles. The results obtained in the present study are follows; 1. For low-magnification observation, pre-treatment with decalcification and freeze drying is suitable to observe the area between the muscle of the tongue and the bone around the tongue using μ CT. 2. For middle-magnification observation, the use of osmium tetroxide to observe the muscle arrangement of the tongue by μ CT is suitable. 3. For high-magnification observation, high-resolution μ CT is suitable for biological observation of the transverse muscle of the tongue through fiber fascicles.

P1-188

歯科基礎医学の講義に替わる TBL (チーム基礎学習) の実践に必要な 5P システムの改良

○葛城 啓彰¹ (日歯大 新潟生命歯)

【目的】能動的学習は歯科医師として生涯学習に重要である。現行カリキュラムの中で講義から第 2 学年の講義の変革に TBL を実践したのでその概略を報告する。【対象と方法】2011、2012 年度本学第 2 学年 79、62 名を対象とし、感染微生物学の講義に、前学期は一斉講義、後学期に TBL を実施し比較検討した。TBL 導入に際しては、学生に予習ノート作成、学習前プレテスト、ツリーマップ作成、学習後の同僚評価、予習ノートのポートフォリオの 5P システムの実施と、評価は TBL の形成的評価と後学期本試験の総括評価で行うことを説明し同意を得た。2012 年度は学生アンケート結果に基づき、ツリーマップの全グループ同時プレゼンテーションと学習後のポストテストを加えた 7P システムとし、前学期と比較検討した。【結果および考察】講義支援システムへのアクセス状況は、2011 年度は一課題あたり前期 6.3 ± 13.2 人、後期 24.5 人 ± 33.9 人、2012 年度は一課題あたり前期 8.1 ± 4.6 人、後期 25.9 人 ± 7.0 人と有意に増加した ($p < 0.001$)。前期・後期本試験では、再試験者該当者は、2011 年度は前期 18 名から後学期に 2 名に、2012 年度は前期 34 名から後学期に 16 名に有意に減少した ($p < 0.001$)。学生アンケートの結果では、2011 年、2012 年度とも TBL は学生の発言の機会が増え、楽しいと感じていた。今後も学生からの要望を取り入れ TBL のシステムを改良していくことは、更なる学生の能動的学習を促進するものと考えられる。

P2-1

多視点 3D 解剖システムを用いた口腔領域の人体解剖学教育
 ○山合 友一朗¹、大野 充昭²、伊原木 聡一郎³、窪木 拓男² (¹岡大 院医歯薬 口腔機能解剖、²岡大 院 医歯薬 インプラント再生補綴、³岡大 病院 口腔外科 病態)

歯学部学生や研修医あるいは開業歯科医に対する人体解剖学教育は、臨床現場で常に必要な知識や経験を習得するための必要不可欠な学習である。しかし多くの場合、人体解剖は一過性の学習として捉えられがちであるうえ、人体解剖の自由な繰り返しは不可能なため、曖昧な記憶が臨床現場での妨げになる。それを補うために、種々のテキスト、図譜などがあるが、いずれも紙面に描かれた 2 次元のな人体像であるため、知識の補完には不十分であった。そこで、岡大ではバナソニック (株) と共同で 3D 解剖プロジェクトを立ち上げ、見たい時に、見たい場所で、見たい方向から、見たい深さで何度でも人体解剖が再現可能な多視点 3D 解剖システムを構築するに至った。今回、口腔領域の解剖に適合するように 2 種類の固定法を用い、3D 解剖撮影を施行した。まずホルマリン固定を用い、インプラントの植立の参考となるよう、上顎洞周囲や下顎管を重点的に扱い上歯神経叢と伴行動脈、下歯槽動脈分岐を可視化、同時に舌神経と舌下神経の走向、舌下動脈とオトガイ下動脈の吻合、下歯槽動脈切歯枝や鼻口蓋動脈の位置を明確化した。次に軟組織の可動性が保たれるシール法固定を用い、前頰三角隙と頰筋膜の広がり、開口させて口腔底最奥部の構造の可視化、外頰動脈と舌動脈、顔面動脈、顎動脈の分岐部の構造と走向の明瞭化を試みたので報告する。

P2-3

下顎隆起発生の起源に関する仮説
 ○崎山 浩司¹、坂東 康彦¹、瀧澤 将太^{1,2}、天野 修¹ (¹明海大 歯 解剖、²明海大 歯 口腔外科 2)

【目的】 歯科分野でよく知られている下顎隆起は、下顎骨体の舌側面がかつ顎舌骨筋線の上方に増殖する骨隆起と定義されている。これまでの研究では、下顎隆起の発生機序として、遺伝的要因、咀嚼による応力などの生後外的環境要因あるいは、その両方に起因していると言われてきたが未だ解明されていない。そこで本研究は、成人に発生する下顎隆起の部位とメッケル軟骨の発生学的観点から、下顎隆起の起源について新たな仮説を提供することを目的とした。【方法】 下顎骨形成に重要な時期に対応する段階である胎齢 10 週～13 週の子鼠を用いた。10～50 マイクロメートルのパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行い、位相差顕微鏡下にて下顎骨の形成発育を観察した。【結果および考察】 胎齢 10 週では、メッケル軟骨が下顎骨内面に並走するように接した。胎齢 11 週では、オトガイ孔のレベルでメッケル軟骨は S 字状に屈曲し、下顎骨内面に接した。胎齢 12 週では、下顎骨の内側層板は発育段階の顎舌骨筋の上方で接し、メッケル軟骨に到達するほど内側に突出しメッケル軟骨の後方かつ上面を覆うほど発達した。胎齢 13 週ではオトガイ孔のレベルで、下顎骨内面に隆起するような形で、メッケル軟骨の一部だけが存在した。以上のことから、我々は内側層板の突出と屈曲したメッケル軟骨から構成される骨隆起が、下顎隆起の起源ではないかと示唆した。

P2-2

アクリル樹脂脈管注入鋳型法の改良
 ○諏訪 文彦¹、上村 守¹、竹村 明道¹、戸田 伊紀¹、方 一如² (¹大歯大 解剖、²大歯大 歯科 東洋)

【目的】 アクリル樹脂 (AR) 脈管注入鋳型法は、脈管の三次元的形態の観察には優れているが、改良点もある。この改良点は、市販の液体モノマーからハイドロキノン (HQ: 重合防止剤) を蒸留しないで除去する点、注入用 AR を加熱重合せずに粘度を一定にする点、注入の圧力・速度を一定にする点である。今回、これらを改良することを試みた。【方法】 市販の液体モノマーから HQ の除去は、NaOH 法を用いて行った。注入用 AR の粘度調整を一定化するために、液体モノマーと固体ポリマーを混和による方法とした。また、注入用 AR が、硬化し、気泡の発生が起こらない過酸化ベンゾイル (BPO) と N,N-ジメチルアニリン (DMA) の適正混合濃度比率を求めた。手指圧による注入を行わずに、機械的に AR を注入し、圧力・速度を測定した。【結果】 NaOH 法で、HQ が除去され、無色透明の液体モノマーを得ることができた。液体モノマーと固体ポリマーを混和比は、低粘度 AR: 重量比 9:1、高粘度 AR: 重量比 7:3 が適正であった。BPO と DMA の適正混合濃度比率は、注入用 AR の容量に対し、BPO が 1.0% で、DMA が 0.5% であった。低粘度 AR (粘度: 9.07 ± 0.52 mPa・s、量: 45 ml、速度: 5 ml/min、圧力 11.17 ± 1.60 mPa) を注入した後、高粘度 AR (粘度: 1036.33 ± 144.02 mPa・s、量: 5 ml、速度: 1 ml/min、圧力 58.50 ± 5.75 mPa) を注入し、走査型電子顕微鏡で、微細血管構築を観察した結果、毛細血管まで十分に注入されていることが確認された。

P2-4

GDD1/TMEM16E/Anoctamin 5 遺伝子産物の機能解析
 ○飛梅 圭¹、廣野 力¹、杉田 誠¹ (¹広大院医歯薬保 基礎生命)

GDD1 は優性遺伝性の顎骨骨幹異形成症の原因遺伝子としてミスセンス変異型が同定されたが、野生型は TMEM16 ファミリーに属し、TMEM16E と呼ばれる。一方、ナンセンス変異は劣性遺伝形質として肢帯型筋ジストロフィーに連鎖を示す。TMEM16A はカルシウム依存性クロライドチャンネルをコードするが、この遺伝子欠損マウスは筋ジストロフィーを発症しないことから TMEM16E は独自機能を持つことが推測される。本発表では、293 細胞を用いて解析した TMEM16E の特性を報告する。外来性に発現した TMEM16E はタンパク不安定性を示し、プロテアゾーム阻害により分解を免れ、筋分化によってタンパク発現量が亢進した。TMEM16A 発現細胞とは異なり、TMEM16E 発現細胞にカルシウム依存性クロライドチャンネル活性は検出できなかった。また、チャンネル活性部位を TMEM16A に移植したキメラ蛋白質は細胞膜局在およびタンパク安定性を獲得したにもかかわらず、チャンネル活性は示さなかった。TMEM16E を欠損する肢帯型筋ジストロフィー罹患者は筋以外の組織に症状がないことは TMEM16E が筋以外の組織で分解され機能しないことを示唆する。現在、TMEM16E 分子独自の機能、および顎骨骨幹異形成症を発症させるミスセンス変異による機能獲得を解明することを目指し検討を進めている。

P2-5

イレッサ投与による TGFβ3 ノックアウトマウス胎児の口蓋裂表現型の薬理学的改善
 ○滝川 俊也¹、引頭 毅²、高木 秀太¹、今井田 千恵¹ (朝日大 歯 口腔解剖、²朝日大 歯 口腔微生物)

【目的】上皮成長因子受容体(EGFR)を特異的に阻害する分子標的治療薬である肺癌治療薬イレッサがマウス胎児の口蓋突起内側縁上皮細胞(MEE細胞)の最終分化能力へ与える影響、および異なる2系統の TGFβ3 ノックアウト(KO)マウスの口蓋裂表現型に与える影響を調査した。

【方法】イレッサが野生型マウス胎児(ICR および C57BL/6J 系統)の MEE 細胞に与える影響を単一口蓋突起回転浮遊培養法で解析した。また、口蓋裂発症モデルマウスである TGFβ3 KO マウス(ICR および C57BL/6J 系統)の妊娠母獣にイレッサを腹腔内投与して、イレッサ投与がホモ胎児の口蓋裂表現型に与える影響を調べた。

【結果と考察】*in vitro* 解析により、ICR に比べて C57BL/6J 系統の野生型胎児では MEE 細胞の最終分化能力が著しく劣っており、イレッサ投与による EGFR の特異的機能阻害は C57BL/6J 系統の MEE 細胞の最終分化能力を ICR 系統のそれと同等のレベルにまで回復させることが判明した。また、完全口蓋裂のみを呈する C57BL/6J 系統 TGFβ3KO マウスを用いて妊娠母獣にイレッサを腹腔内投与し、妊娠 18 日で口蓋裂表現型を調べたところ、不完全口蓋裂を呈するホモ胎児が認められた。また、不完全口蓋裂のみを呈する ICR 系統 TGFβ3 KO マウスへのイレッサ投与でも口蓋裂表現型がより軽症化することが判明した。これらの結果はイレッサの低濃度短期投与による口蓋裂重症化抑制を標的とした予防的胎児薬物療法の可能性を示唆している。

P2-7

Fgfr1 conditional knock out mice derived ectopic chondrogenesis and osteogenesis in the cranial bone formation
 ○河井 まりこ¹、山本 敏男¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態)

FGF(線維芽細胞増殖因子)受容体はその変異や欠損により、口蓋裂や頭蓋縫合早期癒合症などの頭蓋顔面部疾患の原因となることは広く知られているが、その全容は明らかではない。今回、われわれは頭蓋骨発生過程における FGF 受容体の役割を明らかにするため、頭蓋骨形成を担う神経堤細胞における fgfr1 欠損マウスの頭蓋骨形成過程の解析を行なった。具体的には胎生期から経時的に組織標本ならびに骨格標本の作製と解析を行なった。また、胎生期の骨形成関連因子の遺伝子発現解析を *in situ* hybridization にて行なった。Fgfr1 コンディショナル ノックアウトマウスは肉眼的には頭蓋骨の大きさが野生型と比較し、前後長が小さいものの、生後の発育は可能であった。組織学的には HE 染色標本では前頭骨中央部に桿状の異所性軟骨とその上方に骨形成が認められた。また、骨格標本においても同様に異所性軟骨ならびに異所性骨形成が認められた。さらに、胎生 10.5 日には前頭骨形成中央部に細胞の集積が認められ、細胞増殖能 BrdU 染色では陽性細胞がその部位に一致し、認められた。このように fgfr1 コンディショナル ノックアウトマウスでは胎生早期より異所性軟骨ならびに骨形成が認められた。

P2-6

歯の発生過程における重要な血管形成調節因子
 ○春原 正隆¹、佐藤 巖¹ (日歯大 生命歯 解剖一)

Objective : Our proposition in this work was to elucidate the role of some regulators on angiogenesis during tooth development. Method: We performed ISH by using Wnt pathway genes and the regulators of megakaryopoiesis and thrombopoiesis as probes and immunohistochemically stained serial sections of dental tissues with the antibodies against them. Result: We observed these genes in dental papilla and mesenchymal layers. β-catenin and its transcript were observed in mesenchymal layers and in dental papilla. On the other hand, the regulators of megakaryopoiesis and thrombopoiesis were also observed in mesenchymal layers. Conclusion: These findings suggested that Wnt signaling pathway is crucial and the regulators of megakaryopoiesis and thrombopoiesis also might have some roles in angiogenesis during tooth development in mice. *This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C) (No.22592052).

P2-8

マウス大腿骨における活性酸素除去酵素 (SOD) の発現
 ○安部 仁晴¹、柏原 祥顕²、菊地 隆太³、中川 敏浩¹、渡邊 弘樹¹ (奥羽大 歯 生体構造 口腔組織、²奥羽大 院歯 口腔組織構造生物、³奥羽大 院歯 顎口腔外科)

【目的】活性酸素はシグナル伝達や様々な生理的役割を担い、生体内では欠くことはできないが、活性酸素の過剰な発生は細胞障害を引き起こす。この過剰な活性酸素を細胞内より除去するために、活性酸素除去酵素 (SOD) が発現する。これまで我々はマウス大腿骨を用い、軟骨内骨発生における活性酸素合成酵素の発現を検索し、活性酸素が軟骨細胞の増殖と分化および骨基質形成に関与することを本学会にて報告した。今回は、SOD の発現を検索し、活性酸素合成酵素の局在と比較検討した。

【材料と方法】材料には 3、18 週齢マウス大腿骨を用いた。方法は 4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定、大腿骨を摘出後、同液にて浸漬固定、10% EDTA にて脱灰、パラフィン包埋した。薄切後、通法に従い免疫組織化学的染色を行い光顕観察した。

【結果】3 週齢マウス大腿骨における抗 Mn-SOD の反応は、前肥大細胞層に限局して弱陽性反応が観察された。また、骨化帯の骨芽細胞では、抗 Mn-SOD 陽性反応は観察されなかった。18 週齢では抗 Mn-SOD 陽性を示す細胞はほとんど観察されなかった。

【考察】活性酸素除去酵素の一種である Mn-SOD について検討したところ、前肥大細胞層に限局して発現が観察されたことから、Mn-SOD は軟骨細胞の分化を調節している可能性、活性酸素の過剰な蓄積による細胞死を制御している可能性が考えられた。

P2-9

両生類 *Xenopus laevis* (アフリカツメガエル) における DMP1 遺伝子の同定および発現解析
 ○米倉 智子¹、本間 宏実¹、桜井 敦朗¹、森口 美津子²、見明 康雄²、豊澤 悟³、新谷 誠康¹(¹東歯大 小児歯、²東歯大 超微、³阪大 歯 病理)

【目的】Dentin Matrix Protein 1 (DMP1) は主に骨細胞や象牙芽細胞で産生され、硬組織の石灰化に関与する細胞外基質タンパク質である。本研究では両生類のアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*; カエル) において DMP1 遺伝子の同定および発現解析を行い、分子進化学的に検討した。【方法】カエル顎骨 cDNA ライブラリーおよびゲノム DNA を用いて、カエル DMP1 の塩基配列と遺伝子構造を決定した。さらに、リアルタイム PCR および *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、カエル DMP1 遺伝子の発現を解析した。【結果および考察】カエル DMP1 の推定アミノ酸配列は羊膜類と比較して相同性は低いものの、その遺伝子構造やアミノ酸の構成比率は酷似していた。また、その遺伝子は歯を含んだ顎骨および脛骨、大腿骨骨頭において特異的に発現し、骨では骨細胞、歯では主に象牙芽細胞において発現していることが示された。しかし、カエル DMP1 遺伝子の発現は初期から中期の歯胚の象牙芽細胞に認められるが、後期には認められなくなった。従って、哺乳類とは異なり、カエル DMP1 は象牙質の形成のみに関与し、維持には関与しないと考えられた。以上の結果から、DMP1 は進化速度が速い分子であるものの、四肢動物においては一貫して骨や歯の形成および骨の恒常性の維持に関与していることが示された。

P2-10

歯髓細胞クローンの分化能の違いによる遺伝子発現の変動
 ○小林 朋子¹、鳥居 大祐¹、筒井 健夫¹、筒井 健機¹(¹日歯大 生命歯 薬理)

【目的】ヒト歯髓細胞クローンの分化能の違いと発現遺伝子の相違を解析した。
 【方法】11歳女性埋伏智歯由来初代歯髓培養細胞から50クローンを単離した。石灰化能(Osteogenic:O)と軟骨分化能(Chondrogenic:C)、および脂肪分化能(Adipogenic:A)は組織化学染色法で検討した。各クローンをagingに達するまで継続培養した。網羅的遺伝子発現はDNAマイクロアレイで解析した。
 【結果】細胞集団倍加数が40以上まで分化能を維持した細胞は5クローンあり、その内訳は、3種類の分化能(OCA)を有するものが3クローン、2種類の分化能(OC)を有するものが1クローン、1種類の分化能(O)を有するものが1クローンであった。これら5クローンの分化能の違いと発現遺伝子の相違との関係を解析したところ、OCAとOC、OCとOの比較では、細胞周期や細胞増殖関連遺伝子が主に変動していた。また、OCAとOC、Oの順に発現が下降する遺伝子は946個で糖代謝関連遺伝子等が多く、OCA、OC、Oの順に発現が上昇する遺伝子は876個で細胞周期や分化関連遺伝子等が変動していた。
 【考察】多分化能を有する間葉系幹細胞様クローンでは細胞分裂関連遺伝子が多く発現変動し、エネルギー代謝が活発なこと、分化能がより限定されたクローンでは分化関連遺伝子の発現が変動することが示唆された。今後、遺伝子の強制発現や発現抑制試験を行い分化能との関連を検討し、分化能マーカーとなる候補遺伝子の絞り込みを行う予定である。

P2-11

筋発生関連因子における筋関連 microRNA 標的の進化
 ○安藤 準¹、山根 明¹(¹鶴見大 歯 物理)

Pax-3, Pax-7 および miR-1, 133 は筋発生に関与し、進化の歴史上殆どの左右相称動物が持つ因子だが、Pax-3/7 における miR-1/206, 133 の標的配列は主に脊椎動物を中心に存在することを昨年の歯科基礎医学会で発表した。今回は microRNA およびその標的となる筋関連因子の対象を広げて解析した結果、若干の知見を得たので報告する。miR-1/206, 133, 181, 208 の標的配列は、全体として構造タンパク質の3'-UTRには標的配列は少ないが、転写因子である Pax3/7、増殖因子の IGF-1/2 の3'-UTRに多く存在することが明らかになった。また miR-1, 133 の標的配列が主として脊椎動物に偏る傾向は Pax-3/7 以外でも共通であった。miR-181, 208 は脊索動物以降に出現するにもかかわらず、脊椎動物以前から標的配列が認められた。いっぽう筋発生と関係がないと考えられ、なおかつ多細胞動物に広く保存されている miR-10, 99/100 については標的配列が散見されるものの、その存在確率は筋発生に関係の深いと考えられる microRNA と比較し明らかに低かった。以上の結果から、microRNA による筋発生の制御は主に Pax-3/7, IGF を介して、脊椎動物を中心とした大型で体制の複雑な動物においてその関与がより強いと考えられる。

P2-12

Cytokines-induced matrix metalloproteinase (MMP)-3 regulated cell proliferation in odontoblast-like cell derived from mouse embryonic stem (ES) cells
 ○檜山 太希¹、尾関 伸明¹、山口 秀幸¹、中田 和彦¹、茂木 眞希雄²、中村 洋¹(¹愛院大 歯 歯内治療、²愛院大 薬 生体機能化学)

OBJECTIVES: The present study used odontoblast-like cells derived from ES cells transfected with siRNA to reduce MMP-3 levels to investigate whether induction of MMP-3 expression by cytokines suppressed apoptosis and promoted cell proliferation. METHODS: We used a MMP-3 activity assay, a cell proliferation assay, and DNA fragmentation ELISA analysis to evaluate the siRNA-mediated down-regulation of MMP-3 expression and activity, and any changes in the proliferative/apoptotic responses associated with this reduced expression. RESULTS: Cytokines induced the expression of MMP-3 mRNA and protein, and increased activity and cell proliferation, but not apoptosis. When MMP-3 expression was silenced by MMP-3 siRNA, we noted a potent and significant suppression of cytokines-induced MMP-3 expression and activity, decreased cell proliferation and increased apoptosis. CONCLUSIONS: Our results suggest that cytokines induce MMP-3-regulated cell proliferation and anti-apoptosis effects in odontoblast-like cells derived from ES cells in addition to their better documented destructive role in inflammation.

P2-13

α7 integrin-positive human skeletal muscle stem cells differentiate into odontoblast-like cells with induction of altered adhesive and migratory phenotype

○尾関 伸明¹、茂木 眞希雄²、山口 秀幸¹、檜山 太希¹、中田 和彦¹、中村 洋¹ (1愛大院 歯内治療、2愛大院 薬 生体機能化学)

【目的】 We examined whether *α7* integrin-positive human skeletal muscle stem cells (*α7*⁺ hSMSC) would have the potential to differentiate into the odontoblast-like cells. **【方法】** Cell aggregates were cultured with retinoic acid (RA), plated on gelatin scaffold (GS) and cultured with bone morphogenetic protein-4 (GS/BMP-4). Odontogenic differentiation was assessed by expression of odontoblast phenotype such as DSPP, Enamelysin and ALP. We examined modulation of integrin expression and adhesion/motility functions with ECM. **【結果】** Following RA and GS/BMP-4 treatment, *α7*⁺ hSMSC transdifferentiated along an odontogenic pathway expressing DSPP and enamelysin. The differentiated cells acquired specific function, as evidenced by the appearance of odontoblastic phenotypes such as ALP and calcification. Since anti-*α1* integrin antibody could suppress the expression of odontoblastic markers such as DSPP and Enamelysin using current cultured system. **【結論】** These findings demonstrate that *α7*⁺ hSMSC are pluripotent stem cells capable of differentiation along odontogenic lineages.

P2-14

Thymosin beta 4 遺伝子導入による歯原性上皮細胞の作製

○藤原 弘明¹、清島 保¹、永田 健吾¹、和田裕子¹、木原 慎子^{1,2}、長谷川 佳那^{1,3}、染矢 祐孝^{1,4}、坂井 英隆¹ (1九大 院歯 口腔病理、2九大 院歯 歯科矯正、3九大 院歯 歯科保存、4九大 院歯 口腔機能修復)

【目的】 現在、ヒト由来の歯原性間葉細胞の作製の報告は見られるが、歯原性上皮細胞の作製の報告は未だに報告がない。本実験の目的は、歯の再生に必須な歯原性上皮細胞の作製である。**【材料と方法】** ヒト由来の角化細胞 (HaCaT 細胞) に当研究室において歯胚発生初期に重要な働きをしていると報告してきた Thymosin beta 4, X-linked (TMSB4X) を導入し、TMSB4X 過剰発現株において歯原性因子の発現や石灰化形成能の有無を分子生物学的手法および免疫細胞化学染色などを用いて解析を行った。**【結果および考察】** TMSB4X 過剰発現株を3週間の石灰化誘導培養を行ったところ、石灰化がみられた。歯原性上皮に発現がみられる CK14 や PITX2 の有意な上昇が認められた。また、Type II RUNX2、や歯原性因子 (amelogenin, ameloblastin, enamel) の mRNA および蛋白の発現レベルの有意な上昇を認め、免疫細胞化学染色においてもこれらのタンパクの共発現がみられた。TMSB4X 過剰発現株を石灰化誘導1週後にヌードマウス背部皮下に移植し、3週および6週飼育後に移植部位に石灰化を認め、in vitro と同様の結果を得た。以上の結果から HaCaT 細胞に TMSB4X を導入することで歯原性上皮細胞の作製の可能性が示唆された。

P2-15

培養ヒト歯根膜細胞の特性と硬組織形成能の解析
○鳥居 大祐¹、古西 清司²、後藤 真一³、筒井 健機¹ (1日歯大 生命歯 薬理、2日歯大 生命歯 微生物、3日歯大 新潟生命歯 理工)

【目的】 歯根膜には骨芽細胞やセメント芽細胞への分化能を持つ歯小嚢由来前駆細胞の存在が知られている。しかし、その特性やセメント芽細胞への分化過程には不明な点が多い。今回、骨髄間質や真皮で存在が確認されている多能性幹細胞と同様の表面抗原を発現する少数細胞を培養ヒト歯根膜細胞から分取し、それらのセメント芽細胞分化能を検討した。**【方法】** ヒト歯根膜由来正常細胞 (Pel) と不死化細胞 (Pelt) を FACS 解析し分取前後の細胞について BMP-2 または BMP-7 刺激によるセメント芽細胞分化を定量 RT-PCR や免疫染色で検討した。また、石灰化培地で培養した細胞を alizarin red (AR) 染色および EPMA で解析した。**【結果】** Pel および Pelt では 99.8% 以上が間葉系マーカー CD44、73、90、105 陽性であった。多能性幹細胞マーカーである SSEA-3 の陽性率は 0.8% 以下であった。一方、BMP-2 や BMP-7 刺激後 2 週目の細胞ではセメント芽細胞マーカーの CAP と CEMP1 の発現が上昇した。また、石灰化誘導後 3 週目では AR 陽性の結節様構造物が観察され、EPMA でカルシウムとリンが検出された。CD44、105、SSEA-3 共陽性細胞の BMP-7 刺激後 2 週目の細胞では、CAP および CEMP1 が陽性であった。**【考察】** 培養ヒト歯根膜細胞は少数の SSEA-3 陽性細胞を含みセメント芽細胞や石灰化能陽性細胞に分化し得ることを確認した。これらの特性は不死化後の細胞にも維持されていた。(会員外共同研究者：国立成育医療研究センター 成育遺伝 渡辺信之)

P2-16

マウス歯肉上皮由来角化細胞への Thymosin beta 4 遺伝子導入による歯原性上皮細胞誘導

○染矢 祐孝^{1,2}、清島 保¹、永田 健吾¹、和田裕子¹、藤原 弘明¹、木原 慎子^{1,3}、長谷川 佳那^{1,4}、古谷野 潔²、坂井 英隆¹ (1九大 院歯 口腔病理、2九大 院歯 インプラント・義歯補綴、3九大 院歯 歯科矯正、4九大 院歯 歯科保存)

【目的】 Tb4 (Thymosin beta 4) は、beta-thymosin ファミリーに属する 43 個のアミノ酸からなるペプチドでありアクチン重合阻害作用を有することで知られている。本研究室では過去に Tb4 がマウス下顎第一大臼歯の発生初期に歯胚上皮に強発現しており、Tb4 をノックダウンすると歯胚の発生・発育が障害されることを明らかにした。また Tb4 には細胞の形質転換を促進する Direct-reprogramming 作用が報告されている。本研究では Tb4 遺伝子の導入により初代歯肉上皮細胞が歯原性上皮細胞へ形質転換を起こすかどうか検討した。**【方法】** BALB/C マウス (生後 2-3 週齢) の歯肉上皮組織より初代上皮細胞を単離し Lipofection 法により Tb4 を遺伝子導入し Tb4 強制発現株を作製した。Tb4 強制発現株に対し real-time PCR を行い歯原性因子の発現解析、石灰化誘導実験において石灰化物生成の有無を調べた。**【結果と考察】** real-time PCR の結果より、Tb4 非導入細胞に比べて、Tb4 強制発現株では Tb4 の発現量が増加していた。本発表では Tb4 を強制発現させたマウス口腔粘膜上皮細胞における歯原性因子の発現や石灰化物形成などについて解析し、歯原性上皮細胞への形質転換の可能性について検討した。

P2-17

ヒト乳歯歯髓組織由来の不死化細胞は骨および脂肪細胞への分化能を持つ

○赤澤 友基¹、長谷川 智一¹、帖佐 直幸²、吉村 善隆³、浅川 剛吉⁴、石崎 明²、岩本 勉^{1,5}
 (1)徳大 病院 小児歯、(2)岩医大 生化 細胞情報、(3)北大 院歯 口腔病態 細胞分子薬理、(4)昭大 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯科、(5)徳大 院 HBS 医療創生科学 社会環境衛生 小児歯)

【目的】 齶蝕や外傷における歯髓組織の再生機構および恒常性の維持には、歯髓細胞の修復制御機構について検討することが重要であると考えられるが、研究に必要な歯髓細胞には不死化した細胞株が存在しないのが現状である。そこで今回、ヒト乳歯歯髓より分離した線維芽細胞様細胞（乳歯歯髓細胞）に対して (*hTERT*) 遺伝子を導入し不死化細胞株の樹立を行ったので報告する。【方法】 咬合誘導を目的として抜去された乳歯より歯髓組織を無菌的に分離し、分離した歯髓細胞に対して neomycin 耐性遺伝子を持つ *pBABE-neo-hTERT* plasmid の安定的遺伝子導入を行った。その後 single cell cloning を行い、石灰化能および脂肪細胞への分化能の検討を行った。【結果】 single cell cloning により 27 clones の細胞株が得られた。これらのうち 3 clones の細胞株は *hTERT* 活性を有し、細胞倍化指数は 100 PDs 以上を示し、不死化していると考えられた。このうちの 1 つの細胞株は von Kossa 染色陽性の石灰化能と、oil-red O 染色陽性の脂肪細胞への分化能を有していた。【考察】 今回樹立したヒト乳歯歯根膜細胞の不死化細胞株は、今後の再生医療研究や歯科修復材料の細胞毒性試験に非常に有用であると考えられる。

P2-19

両生類顎槽骨の再生過程における甲状腺ホルモンレセプターの発現について

○三輪 容子¹、春原 正隆¹、山口 泰平²、佐藤 巖¹ (1)日歯大 生命歯 解剖 1、(2)鹿大 院歯 歯健康科学 発生発達成育)

【目的】 哺乳類は肝臓部など一部の臓器にのみ再生能を有するが、有尾両生類アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) は四肢のみならず顎骨においても切断後数カ月で歯や歯周組織も含めた顎骨がほぼ完全な形で再生することが報告されている。甲状腺ホルモンは脊椎動物に共通して存在し骨形成と骨吸収を促進し骨代謝回転を高める作用を有することが知られている。アカハライモリを用いて下顎骨歯槽部切断後の再生実験を行い再生途中の顎骨における甲状腺ホルモンレセプターの発現を検討し顎骨再生時の甲状腺ホルモンの影響を考察した。【方法】 東北産アカハライモリの下顎骨右側歯槽骨を切断し 50 日間飼育した後、下顎骨を採取した。固定・脱灰後にパラフィン切片を作製し組織学的に顎骨再生の過程を観察した。また in-situ ハイブリダイゼーション法にて甲状腺ホルモンレセプターの mRNA 発現を検出した。【結果と考察】 歯槽骨切断後 50 日の下顎骨において歯槽骨切断部では外側皮質骨から内部にかけて再生した骨組織が観察された。甲状腺ホルモンレセプター mRNA は再生中の顎骨周囲の線維芽細胞に散在して発現していた。このことから甲状腺ホルモンは顎骨再生において何らかの影響を及ぼしていると考えられる。

P2-18

間葉系幹細胞が分泌する SCRG1 は骨分化を抑制する

○青松 恵美子¹、帖佐 直幸²、衣斐 美歩²、客本 齋子²、加茂 政晴²、長谷川 智一³、佐藤和朗¹、三浦 廣行¹、石崎 明² (1)岩医大 歯 矯正、(2)岩医大 生化 細胞情報、(3)徳大 院 HBS)

【目的】 SCRG1 は間葉系幹細胞 (MSC) の骨分化に伴って発現量が大きく減少するシステインリッチペプチドで、哺乳動物において高度に保存された遺伝子であるが、その機能は明らかになっていない。本研究では SCRG1 が MSC の増殖や骨分化に及ぼす影響について検討した。【材料と方法】 ヒト骨髄由来 MSC、UE7T-13 細胞を組換え SCRG1 を添加した骨分化誘導培地で培養し、カルシウム沈着をアリザリンレッド染色で評価した。また SCRG1 添加による細胞増殖活性への影響は WST-1 アッセイによって評価した。SCRG1 刺激による細胞内シグナル伝達経路の活性化、とくに MAP キナーゼファミリーと PI3 キナーゼ/Akt 経路については、ウェスタンブロットにて検討した。【結果】 骨分化誘導培地に SCRG1 を添加することによって濃度依存的にカルシウム沈着が抑制された。SCRG1 が MSC の細胞増殖活性に及ぼす影響については、SCRG1 添加により細胞増殖はわずかに増加したものの、SCRG1 非添加群と比較して有意差は認められなかった。さらに SCRG1 刺激による細胞内シグナル伝達経路を検討した結果、Akt のリン酸化が顕著に増強された。【考察および結論】 SCRG1 は PI3 キナーゼ/Akt 経路を活性化することによって MSC の骨分化を抑制することが示された。SCRG1 は MSC が産生・分泌することから、オートクリン/パラクリン的に作用することにより、MSC の未分化能維持に寄与する可能性が示唆された。

P2-20

抜歯創治癒に関与する骨髄由来細胞の動態について

○佐藤 泰生¹ (1)岩医大 病理 病態解析)

【目的】 体性幹細胞は、幹細胞周囲の微小環境 (ニッチ) で制御され維持されると考えられている。しかし成体の抜歯創治癒過程において、幹細胞を含む骨髄ニッチ構成細胞の動態は不明である。そこで本研究では、ラットの抜歯後経過の組織材料を用いて、骨髄ニッチ構成細胞を特徴づけるマーカーの発現を観察し細胞の動態とマーカー分子の機能を検討した。【方法】 ラットの上顎第一臼歯を抜去し、術後 12 時間、1, 3, 5, 7, 10 日目の抜歯創を含む組織切片を作製した。骨髄ニッチ構成細胞とみなされている、SNO 細胞のマーカー: N-cadherin, CAR 細胞のマーカー: CXCL12 (SDF-1)、洞様毛細血管内皮のマーカー: CD31、造血幹細胞のマーカー: CD150 について、蛍光抗体直接法にて組織学的に観察した。【結果と考察】 N-cadherin の発現は骨髄の骨内膜と抜歯窩に新生した骨梁の周囲にみられた。CXCL12 の発現は、抜歯後 1 日では抜歯窩壁の血管内に認められ、3 日では抜歯窩内の線維芽細胞様細胞にみられた。5 日ないし 7 日では抜歯窩に隣接する骨髄の、抜歯窩側の骨内膜および骨髄細胞に強く発現していた。10 日では抜歯窩内の骨梁間に認められた。CD150 は、骨髄内と 5 日ないし 7 日の新生骨梁間にみられた。抜歯創治癒に関与する骨髄由来細胞の移動には CXCL12 の発現が重要な役割を担っていることが示唆された。

P2-21

HDACi 処理細胞移植による骨増成法の検討

○江口 香里¹、秋葉 陽介^{1,2}、秋葉 奈美^{1,2}、北見 恩美^{1,3}、加来 賢¹、魚島 勝美^{1,2} (新大院医歯 生体歯科補綴、²新大 医歯学総合病院、³日本学術振興会)

抗癌剤、抗てんかん薬として臨床応用されているヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) にはエピジェネティクス制御による転写活性、遺伝子発現能があることが知られている。これまでに我々は *in vitro* において VPA、TSA による骨芽細胞分化促進に関する知見を得ているが、HDACi 処理された細胞の移植による *in vivo* での骨形成を観察した報告は未だ見られない。本研究では各種 HDACi の骨芽細胞分化促進作用を検索し、HDACi によって処理された細胞の *in vivo* における骨形成能について検討した。ラット大腿骨から採取した骨髄間質細胞を各種 HDACi で処理し、骨芽細胞の石灰化能に与える影響に関して検索したところ、VPA、TSA に加え BML210、SAHA において石灰化の上昇が観察された。また、コラーゲンスポンジに骨髄間質細胞を播種、HDACi で処理した後、ラット頭蓋骨に形成した限界径骨欠損部に移植し、移植後 3 週間後 μ CT を用いた 3 次元再構成画像により評価したところ、対照群に比較して HDACi 処理細胞移植欠損において欠損中央部における新生骨形成の促進が観察された。以上の結果から HDACi の種類によって骨形成能賦活化作用に差があることが示唆され、更に細胞への HDACi 処理を既存の骨増成法と併用することによって、より確実に予知性の高い骨増成法が開発できる可能性が示唆された。

P2-23

象牙芽細胞様細胞に対する多血小板血漿の作用

○Yeom kyounghun^{1,2}、鷲尾 絢子¹、有吉 渉²、北村 知昭¹、西原 達次² (九歯大 保存治療、²九歯大 感染生物)

多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma; PRP) は成長因子を多く含み、創傷治癒や組織再生に効果があると言われている。本研究では、象牙芽細胞様細胞 (KN-3 細胞) を用い、PRP が KN-3 細胞の抗炎症作用と分化能に与える影響を検討した。KN-3 細胞を 0、0.1、1、2、5、10% の PRP を含有した培地で 6 時間、あるいは 5% PRP で 0、1、3、6、12、24 時間培養後、抗炎症反応を示す IL-1Ra とラクトフェリン、および炎症性サイトカインである IL-1beta の発現を real time PCR で解析した。また、KN-3 細胞が示す象牙芽細胞分化能への影響を検討するため、0、0.1、1、2、5、10% の PRP を含有した培地で KN-3 細胞を 1 時間培養し、象牙芽細胞分化マーカーである dentin sialophosphoprotein (DSPP) および dentin matrix protein-1 (DMP-1) の発現を real time PCR で解析した。さらに、石灰化能への影響を検討するため、5% PRP を含有した培地で 0、3、7、10、14 日培養後、alkaline phosphatase (ALP) 染色を行った。その結果、5% PRP により IL-1Ra とラクトフェリンの発現は時間依存的・濃度依存的に増加した。一方、IL-1beta 発現には有意な変化はなかった。さらに、DSPP および DMP-1 発現は PRP 濃度依存的に増加し、ALP 活性は PRP の作用時間に依存して増加した。以上より、PRP は抗炎症作用とともに象牙芽細胞への分化誘導能・石灰化能を促進する可能性が示唆された。

P2-22

複数サイトカインによる同時刺激は間葉系幹細胞の骨分化誘導能を促進する

○横田 潤¹、帖佐 直幸²、高橋 典子²、衣斐美歩²、客本 斉子²、加茂 政晴²、長谷川 智一³、近藤 尚知¹、石崎 明² (岩医大 歯 インプラント、²岩医大 生化学 細胞情報、³徳大 院 HBS)

【目的】間葉系幹細胞 (MSC) の骨分化は様々な成長因子の作用によって制御される。本研究では骨形成のカップリングファクターである TGF- β に着目し、TGF- β と他の成長因子の組合せが MSC の骨分化能に及ぼす影響を検討した。【材料と方法】ヒト骨髄由来 MSC、UE7T13 細胞を TGF- β 単独または TGF- β と IGF-I、PDGF、VEGF の 2 種類の成長因子を添加した骨分化誘導培地で培養し、Alizarin Red 染色による石灰化能の評価ならびに骨分化マーカー遺伝子の発現を RT-PCR で解析した。さらに、細胞内シグナル伝達因子のリン酸化をウェスタンブロットで解析した。【結果】MSC の石灰化能は TGF- β と他の成長因子を組合せることによって増強され、アルカリホスファターゼの mRNA 発現も上昇した。さらに 2 種類の成長因子の添加群のみで骨シアロタンパクの発現が検出された。TGF- β と他の成長因子の共刺激によって ERK と Akt のリン酸化が増強され、特に TGF- β と PDGF の組合せで顕著であった。TGF- β と PDGF 共処理による石灰化能の増強は MEK ならびに PI3K 阻害剤で有意に抑制された。【結論および考察】TGF- β による MSC の骨分化誘導能は IGF-I、PDGF、VEGF といった複数の成長因子の存在によって増強され、この効果は MEK/ERK や PI3K/Akt といった細胞内シグナル伝達に依存することが示された。MSC の細胞内シグナル伝達を制御することによって骨再生促進効果が期待される。

P2-24

ラット臼歯矯正移動時における歯髄内 prostanoid receptor の遺伝子発現と免疫組織学的局在解析

○大倉 直人¹、大倉 麻里子²、重谷 佳見¹、吉羽 永子¹、吉羽 邦彦¹、齋藤 功²、興地 隆史¹ (新大院医歯 う蝕、²新大院医歯 歯科矯正)

歯の移動時に生じる痛みの機構については、主として歯根膜神経の変化が報告されているが、歯髄の変化はほとんど解析されていない。そこで本研究では、急性炎症や痛みの調節因子である prostaglandin (PG) E₂、I₂ に着目し、矯正力を負荷されたラット臼歯歯髄におけるこれらの受容体 (EP1-4 および IP receptor) の mRNA 発現および免疫組織化学的局在を解析した。8 週齢の Wistar 系ラットを使用し、Waldo の方法に準じ、上顎右側第一、第二臼歯間にエラスティック片を挿入して実験的に矯正力を 24 時間負荷した後、第二大臼歯の歯冠歯髄における prostanoid receptor の mRNA 発現をリアルタイム PCR で解析するとともに、これらの局在を蛍光抗体法で観察した。その結果、矯正力負荷によって第二大臼歯歯髄において、EP4 および IP の mRNA 発現レベルが有意に上昇することが確認された。また、蛍光二重染色によって IP と neurofilament との共染色が認められた。歯髄では IP が末梢神経に発現しており、歯の移動時の痛覚受容に関与する可能性が示唆された。

P2-25

ヒト歯髄幹細胞に対するビリルビンの影響

○星野 慶弘¹、山座 孝義²、馬 蘭¹、山座 治義¹、野中 和明¹ (¹九大 院歯 小児口腔医学、²九大 院歯 分子口腔解剖)

【目的】先天性胆道閉鎖症などによる高ビリルビン血症患者においては、ビリルビンの沈着によって起こるビリルビン着色歯、歯肉の黄染と易出血性、う蝕の多発、歯胚形成の遅延、歯髄腔の拡大などの口腔内臨床症状が報告されている。しかし歯胚形成や象牙質形成に対するビリルビンの直接的な作用については不明のままである。本研究では、象牙芽細胞の幹細胞とされる歯髄幹細胞の生存や細胞増殖に対するビリルビンの影響について解析した。【方法】健康者より脱落乳歯を採取し、その歯髄より歯髄幹細胞を単離・培養した。培地にビリルビンを添加し、一定時間後の細胞生存数を解析した。さらにビリルビン影響下での歯髄幹細胞の細胞増殖能および細胞死についても検討した。【結果】対照群と比較してビリルビン作用群では、乳歯幹細胞の生存が有意に減少していた。またビリルビン影響下では歯髄幹細胞の増殖能は低下し、さらにアポトーシスを思わせる細胞死が観察された。【考察】高ビリルビン血症においては、ビリルビンが直接的に歯髄幹細胞の増殖や生存を低下させ、歯胚形成や象牙質形成に影響を与えていると示唆された。

P2-26

歯胚初代上皮細胞における結合組織増殖因子 CCN2 の発現とその役割

○志茂 剛¹、栗尾 奈愛¹、奥井 達雄¹、黒田 大雅¹、松本 憲一¹、堀切 優¹、伊原 聡一郎¹、吉岡 徳枝¹、佐々木 朗¹ (¹岡大 院歯 歯髄 口腔顎顔面外科)

【緒言】結合組織増殖因子 (CTGF/CCN2) は歯胚発生過程で内エナメル上皮に発現するが、in vitro におけるその発現と機能は明らかとなっていない。本研究では、ウシ鐘状期歯胚上皮細胞初代培養系を用い CCN2 発現およびその機能を調べたので報告する。【方法および結果】ウシ鐘状期歯胚から上皮細胞を dispase を用いて単離、初代培養し、アスコルビン酸、beta-glycerol phosphate 添加し、[35S]methionine ラベルした細胞でパルスチェイスを行うと、I 型コラーゲン、また、ALP 活性、Ca 産生量の異なった培養系が確立できた。15% ウシ胎児血清存在下で培養を行うと、増殖期には CCN2 の著しい発現上昇を、一方静止期ではその発現は減少することが、Northern blot 解析で明らかとなった。また、組換え CCN2 タンパク質で歯胚上皮細胞を刺激すると、FGF-2 と相乗的に増殖能を増大させ、BMP-4 と協同的に ALP 活性を上昇することが明らかとなった。【結論】CCN2 は歯胚上皮細胞の増殖期に増大し、オートクライン作用により、細胞増殖、分化を FGF-2、BMP-4 とともに促進させることが示唆された。(会員外共同研究者：小山英樹)

P2-27

トガリネズミの上顎臼歯の咬頭形成順序

○山中 淳之¹、岩井 治樹¹ (¹鹿大 院歯 歯科機能形態)

現生の有袋類や有胎盤哺乳類の臼歯の歯冠形態は著しい多様性を示すが、これらは全て白亜紀前期に登場したトリボスフェニック型臼歯を基本形にして進化してきたものである。トガリネズミなどの食虫類は現在もこの基本形の臼歯形態を保持している。本研究はトガリネズミ科の実験動物スunks (*Suncus murinus*) の臼歯の発生過程を調べることで、咬頭形成と形態形成期のシグナリングセンターであるエナメル結節との関係を明らかにするものである。スunks 胚頭部の前頭断連続組織切片を作製し、H-E 染色、*Shh*, *Fgf4* の *in situ* hybridization を行った。上顎第一大臼歯 (M¹) の歯胚上皮の 3 次元再構築を行い、それに *Shh*, *Fgf4* の発現部位を重ね合わせた。帽状期の 1 次エナメル結節の一部が、鐘状期前期の 2 次エナメル結節に引き継がれ、これが将来の M¹ の paracone に相当した。これはマウスの歯胚の結果と一致し (Cho et al., 2007)、古生物学における最初の咬頭とも一致する (Osborn, 1981)。歯胚サイズの増大とともに、一定の間隔をあけて別の 2 次エナメル結節が次々に出現した。paracone の次に、metacone, protocone, hypocone, それから類側の styler cusps の順番で 2 次エナメル結節が出現した。スunks の M¹ では、metacone が最初に石灰化を開始するので (花村他, 1983)、2 次エナメル結節の出現の順序と咬頭の石灰化の順序は必ずしも一致しないことが分かる。

P2-28

硬骨魚類条鰭類ガアの歯とガノイン鱗の比較

○笹川 一郎¹、石山 巳喜夫²、横須賀 宏之²、三上 正人³、内田 隆⁴ (¹日歯大 新潟生命歯先端研、²日歯大 新潟生命歯解剖二、³日歯大 新潟生命歯微生物、⁴広大院歯歯髄 口腔細胞生物)

【目的】歯の起源については大別して外胚葉由来と内胚葉由来の二説がある。外胚葉説では鱗から歯が由来するので両者は相同とされる。歯と鱗の形態学的比較はあるものの、発生過程や組織化学による有機基質の比較はまだ不十分である。歯の起源研究の一環として、硬骨魚類の鱗表層の ganoine と歯の enamel を比較し、その同一性を検討した。【方法】硬骨魚類条鰭類ガアの顎歯の collar enamel と鱗の ganoine を材料とした。有機基質を検討するため、哺乳類 amelogenin 由来の抗体、抗血清および部位特異抗体を用い、protein A-gold 法 (光顕・電顕) により免疫組織化学を行った。電顕で微細構造も観察した。【結果と考察】鱗の ganoine 基質 (preganoine) は抗 amelogenin 抗体に反応し、その使用各抗体に対する反応は歯の collar enamel の場合とほぼ同様であり、enameloid には反応が出ない。これより、ganoine には amelogenin 類似タンパクが存在し、これは歯の collar enamel のものと同じかよく似ていると考えられる。また、ganoine 形成期に存在する有機基質は、高石灰となる成熟期には消失することから、結晶の成長に伴う有機基質の脱却機構の存在が示唆される。これは、歯の enamel 形成の成熟期の機構に類似すると考えられる。これらの知見は、鱗の ganoine が歯の enamel と相同とする説を支持する。

P2-29

皮下移植歯の歯髄腔内に形成される骨様組織の由来

○細矢 明宏¹、雪田 聡²、吉羽 邦彦³、吉羽 永子³、笠原 悦男⁴ (1)松歯大 解剖 2、2)静岡大 教育 理科教育、3)新大 院医歯 う蝕、4)松歯大 保存 2)

【目的】歯髄は外部刺激に反応して骨様および象牙質様組織を形成するが、歯髄腔内に現れる骨芽細胞様細胞の由来ならびに分化機構は不明である。そこで本研究では、歯髄の潜在的骨様組織形成能を明らかにする目的で、ラット臼歯皮下移植後の硬組織形成過程を免疫組織化学的に観察した。【方法】4週齢 GFP 発現ラット上顎第一臼歯を抜歯し、ただちに野生型ラット腹部皮下へ他家移植した。5-20日後に移植歯を周囲組織と共に取り出し固定、GFP、 α -平滑筋アクチン (SMA)、Smad4、Runx2、Osterix の局在を観察した。【結果と考察】移植5日後、歯髄上部に壊死がみられ、典型的な象牙質細胞は消失したが、根尖部の象牙質に接して多数の細胞を封入した新生硬組織が認められた。10日後、壊死組織の回復とともに、歯冠部歯髄で幼若骨様組織が形成された。20日以降、根尖部および歯冠部歯髄に形成された硬組織は量を増し、組織学的に骨様を呈した。GFP の免疫反応は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で認められた。幹細胞マーカーの一つである α -SMA は歯冠部の骨様組織周囲の細胞で陽性を示したが、根尖部歯髄では陰性であった。一方、骨芽細胞分化マーカーの Smad4、Runx2 ならびに Osterix は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で陽性反応がみられた。以上より、歯髄には分化段階の異なる骨芽細胞前駆細胞が存在し、広範囲な歯髄傷害後に骨様組織を形成することが明らかとなった。

P2-31

AKT シグナルがグリコーゲン代謝を促進しエナメル芽細胞分化を誘導する

○依田 浩子¹、大島 勇人¹、原田 英光² (1)新大院医歯 硬組織形態、2)岩医大 解剖 発生生物・再生医学)

【目的】エナメル芽細胞分化過程におけるグリコーゲン合成、蓄積ならびに分解の動態を明らかにするとともに、細胞内グリコーゲン蓄積の機能的意義およびそれを制御するシグナル分子機構について in vitro 系にて検証した。【方法】ICR マウス上顎切歯を用いて、グリコーゲンとグリコーゲン合成・分解酵素の局在について免疫組織学的に検索した。胎生期下顎臼歯、生後下顎切歯の器官培養ならびに歯原性上皮細胞培養系を用いて、グリコーゲン代謝関連酵素の抑制や AKT-GSK シグナルの活性化がエナメル芽細胞の分化に及ぼす影響について調べた。【結果と考察】エナメル芽細胞は、分泌期へと分化する直前に、グリコーゲン合成酵素を不活性型から活性型へと変化させ、細胞内にグリコーゲン蓄積する。蓄積したグリコーゲンは、分泌期になると分解が亢進して減少する。器官培養された歯胚にグリコーゲン合成や分解の阻害剤を添加すると、エナメル芽細胞の分化が障害された。一方、IGF-1 刺激によって AKT シグナルを活性化すると、細胞内グリコーゲンの貯留が促進されるとともにエナメル基質形成が亢進した。以上より、エナメル芽細胞は AKT シグナルによりグリコーゲンの合成と分解を調節しており、一過性に細胞内にグリコーゲンを貯蓄することでその後の細胞分化に必要なエネルギーを確保していることが明らかとなった。今後は糖代謝異常とエナメル質形成不全との関連性について検索を進めていく予定である。

P2-30

小児における齲蝕と遺伝的要因についての検討

○下村-黒木 淳子¹、竜 佑宗¹、梨田 智子² (1)日歯大 新潟生命歯 小児歯、2)日歯大 新潟生命歯 生化)

【目的】齲蝕は、バイオフィームであるプラーク中の齲蝕原性細菌が直接的原因となり、さらに環境的要因及び遺伝的要因などにより修飾されて発症する多因子疾患である。遺伝的要因の中には、塩基配列の変異 (遺伝子多型) によるものも含まれる。そのうち、変異が1塩基のみである SNPs (single nucleotide polymorphisms) と齲蝕感受性に関する研究が数多く報告されているが、実際には個々の患者の齲蝕感受性は多様であり、臨床に反映させるためには、さらに多種の遺伝子についての研究が必要である。そこで本研究では、齲蝕原性細菌と齲蝕感受性に関与すると考えられる SNPs との関係を検討し、小児における齲蝕のリスクファクターを明らかにすることを目的とする。【対象及び方法】対象は日歯大新潟病院小児歯科に来院した乳歯列期および混合歯列期の患児とし、頬粘膜より採取した DNA を用いて数種類の遺伝子について SNPs の解析を行った。各群における齲蝕原性細菌の検出率と SNPs の発現頻度の比較検討について、 χ^2 検定を用いて分析した。なお本研究を行うにあたり、全ての患児及び保護者に対し研究目的の十分な説明を行い同意を得た。【結果及び考察】検討した遺伝子のうち、齲蝕原性細菌の検出率と、SNPs の発現頻度との間に相関のあるものを認めた。今回の結果から SNPs の検討も齲蝕感受性を検討する上で有効な手段であることが示唆された。

P2-32

レーザー照射による齲蝕予防に関する研究— μ CT 法による表層下脱灰と再石灰化の観察

○東理 頼亮¹、岡田 康男¹ (1)日歯大 新潟生命歯 病理)

近年、歯科診療でのレーザー技術の応用が著しい。今回、歯面へのレーザー照射によるう蝕病変回復プロセスを理解する目的で、表層下脱灰を伴うヒト臼歯を用いて、炭酸ガスレーザー照射による歯質内部の質的・量的変化を非破壊的・経日的に観察を行い、病巣の範囲と石灰化度の変化を時間軸で追跡した。実験には、本学倫理委員会規定にて使用が許可された大臼歯に、平滑面白斑う蝕を有するものを対象として、バンドソーにてう蝕領域を含む歯質をブロック状に作製し、フッ化ナトリウム塗布と炭酸ガスレーザー照射の併用を経行的に行った。試料は鳥津製作所マイクロフォーカスエックス線撮影装置 SMX-100CT と RATOC 社画像解析ソフト TRI/3D BON を用いて、時系列での μ CT 画像と無機塩濃度変化を定量解析した。結果として、レーザー照射試料と未照射の試料における脱灰深度に有意な差はみられなかった。レーザーが直接照射されるエナメル質表面の色調は、周囲の健全部と類似していたが、 μ CT 画像観察結果から深部の齲蝕病巣の形状や無機塩濃度に著明な変化はみられなかった。本研究の結果から表層下脱灰の領域は炭酸ガスレーザーの照射によって抑制されない可能性が示唆された。本研究は独立行政法人日本学術振興会科学研究費 (課題番号 22791847) の助成を得たものである。

P2-33

合成ペプチドによる in vitro 石灰化阻害
○藤沢 隆一¹、田村 正人¹ (北大 歯 口腔生
化)

【目的】硬組織の石灰化においては、リンタンパク質が重要な役割を演じている。たとえば、象牙質形成では、象牙質リンタンパク質がヒドロキシアパタイトの核形成を行うことが知られている。塩基性アミノ酸のペプチドは、これらのタンパク質に結合してその効果を阻害することが考えられる。本研究では、この阻害機構について明らかにし、合わせてリン酸基の石灰化における役割について検討する。【方法】試験管内石灰化系としては、タンパク質またはペプチド等をスポットしたナイロン膜を、カルシウムまたはリン酸イオンをしみこませた紙でサンドイッチする系を用いた。カルシウムイオンとリン酸イオンは両側から拡散していき、膜上にリン酸カルシウム結晶を沈着させる。形成された結晶は、アリザリンレッドによって染色した。【結果と考察】象牙質リンタンパク質、フォスピチン(卵のリンタンパク質)では、石灰化促進効果が見られたが、高濃度のタンパク質は逆に阻害する傾向があった。ポリ・アルギニン(poly(Arg))、または塩基性ペプチドのプロタミンは、これらのリンタンパク質の石灰化促進効果を阻害した。poly(Arg)は、リンタンパク質のモデルであるデンドリマーとフォスフォセリンの複合体の石灰化促進効果も阻害した。Argは、リンタンパク質のリン酸基をブロックして、そのCaイオンとの結合を阻害し、石灰化の核生成を抑制すると考えられる。

P2-35

ヒト乳歯歯髄細胞における SDF-1 の発現調節機構
○長谷川 智一¹、赤澤 友基¹、帖佐 直幸²、吉村 善隆³、浅川 剛吉⁴、石崎 明²、岩本 勉^{1,5}
(¹徳大 病院 小児歯、²岩医大 生化学細胞情報科学、³北大 院歯 口腔病態細胞分子薬理、⁴昭大 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯、⁵徳大 院 HBS 医療創生科学 社会環境衛生小児歯)

【目的】Stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1)は骨髄における造血系幹細胞の局在に必須であり、また血管内皮前駆細胞、間葉系幹細胞を濃度依存的に遊走を誘導することから、組織修復に重要な働きを担っていると考えられる。歯髄においても同様の自己修復機構が働いているが、その機構については不明な点が多い。そこで我々が樹立したヒト乳歯歯髄細胞を使用して、歯髄細胞における SDF-1 の発現調節について検討を行った。【方法】乳歯歯髄細胞を FGF-2 20 ng/ml の濃度で 48 時間培養後、Trisol を使用して total RNA を抽出した。その後定量的 RT-PCR 法によって SDF-1 mRNA の発現量を検討した。また歯髄細胞における FGF-2 シグナル伝達経路を各種阻害剤を投与して検討を行った。【結果】SDF-1 mRNA 発現に対する FGF-2 の影響を評価した。その結果、FGF-2 の投与によって SDF-1 の発現が抑制された。この抑制効果は FGF 受容体の阻害剤である AZD4547 の投与によって消失したことにより、FGF-2 による作用と考えられた。【考察】FGF-2 などのサイトカインによる SDF-1 発現の調節機構が明らかとなれば、歯髄組織における恒常性の維持機構について、間葉系幹細胞の遊走調節機構と融合した考察が可能と考えられている。

P2-34

Guaiacol は象牙芽細胞の TRPV3 チャネルに作用する
○陽田 みゆき¹、津村 麻記²、佐藤 正樹²、Sobhan Ubaidus²、田崎 雅和²、澁川 義幸² (東
歯大 口腔健康臨床科学 小児歯科、²東歯大
生理)

Guaiacol は、優れた鎮痛作用を有し、歯科臨床で広く利用されている薬剤である。象牙芽細胞は transient receptor potential (TRP) チャネルを介して刺激を受容することが知られているが、guaiacol の象牙芽細胞に対する作用については、未だ不明な点が多い。本研究では、マウス由来象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) に guaiacol を作用させた場合の細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変化について fura-2 を用いたカルシウムイメージングで解析した。細胞外 Ca^{2+} 存在下において、OLC に 0.8 mM guaiacol を投与すると $[Ca^{2+}]_i$ が増加した。同一濃度の guaiacol 連続投与によって、 $[Ca^{2+}]_i$ の増加は徐々に脱感作した。一方、細胞外 Ca^{2+} 非存在下で OLC に guaiacol を投与すると、このような $[Ca^{2+}]_i$ の増加はみられなかった。従って、guaiacol により誘発される $[Ca^{2+}]_i$ 増加は、細胞外からの Ca^{2+} 流入であることが示された。TRP vanilloid subfamily member 3 (TRPV3) チャネルの antagonist である 2,2-diphenyltetrahydrofuran を guaiacol と同時投与すると、guaiacol による $[Ca^{2+}]_i$ の増加は抑制された。guaiacol は OLC の TRPV3 チャネルを活性化し、細胞外からの Ca^{2+} 流入による $[Ca^{2+}]_i$ 増加を誘発することが示唆された。また、guaiacol 連続投与により TRPV3 チャネルが脱感作することで、象牙芽細胞からの感覚情報が減弱し、歯髄鎮痛作用がもたらされる可能性が示唆された。

P2-36

ラット切歯エナメル芽細胞における Prickle の局在
○西川 純雄¹、川本 忠文² (鶴見大 歯 生物、
²鶴見大 歯 RI 研究セ)

Prickle は平面内細胞極性 (PCP) を担うコアタンパク質の一つで、膜タンパク質である Vangl により細胞膜にリクルートされ、極性を持つ分布をすることが知られている。ラット切歯エナメル芽細胞にはこのコアタンパク質の Frizzled3、Vangl1 および Vangl2 が免疫組織化学的に検出されている。本研究では Prickle1、Prickle2、Prickle3、Prickle4 の局在について免疫組織化学的に検出を行った。【材料と方法】9 日齢ラットの未固定非脱灰切片を作製し、一次抗体を 20 倍から 50 倍に希釈し 4℃で一晩標識し、Alexa Fluor 488 標識または Alexa Fluor 555 標識二次抗体で可視化し、蛍光顕微鏡で観察した。【結果と考察】Prickle1 と Prickle2 は増殖期から分化期にかけて点状または棒状の反応が見られ、形成期では近位と遠位の細胞間結合装置に反応が見られた。中間層にも反応が見られた。Prickle2 は成熟期にも反応がみられた。Prickle3 はエナメル芽細胞には繊維状の反応が見られ、中間層や、乳頭層が強く標識された。Prickle4 は形成期に強い反応が細胞質に見られた。Prickle2 と Vangl1 の 2 重染色を行うと共局在が見られた。このように PCP 関連タンパク質がエナメル芽細胞の極性形成とエナメル質形成と密接に関わることを示唆している。

P2-37

ヒト上顎第一大臼歯、第二乳臼歯におけるエナメル象牙境とエナメル質外表面の幾何学的形態解析
○森田 航¹ (京大 理 自然人類)

歯冠形態の変異については、分類や系統関係の解析、咀嚼に関わる機能適応など様々な研究が行われている。本研究は比較的研究例が少ない形態形成過程に注目した歯冠形態変異の分析を行った。エナメル象牙境 (EDJ) は、歯乳頭と内エナメル上皮の間に形成される基底膜の形態を表し、エナメル質外表面 (OES) は、そこにエナメル質が沈着することにより形成される。これまで、EDJ は OES よりも進化的に保守的な形態を残し、また、乳歯は永久歯よりも祖先的な形質を多く保持すると報告されている。そこで、未咬耗のヒト上顎の第一大臼歯 (UM1) と第二乳臼歯 (um2) の EDJ と OES の形態を幾何学的形態測定法により解析し、形状変異の相関と、エナメル質沈着が OES の形態変異に及ぼす影響を検討した。その結果、UM1、um2 共に EDJ と OES 間で共変動する形状変異の傾向は類似しており、エナメル質沈着による形態の改変は限定的であることが示された。形態的な統合性の指標である RV 相関係数は、um2 の方が高かった。また UM1 と um2 間、EDJ と OES 間で有意差のあった主成分の示す形状変異には祖先的形質との対応関係が見られた。さらに UM1 の EDJ と um2 に共通する形状変異傾向が抽出され、EDJ と um2 という異なる文脈で言及されてきた祖先的形質には共通部分があることが示唆された。

P2-38

ラット歯胚の象牙芽細胞における LEF1 のユビキチン化

○森口 美津子¹、見明 康雄¹、山口 康昭²、藤関 元也¹、山本 仁¹ (¹東歯大 口腔超微構造、²新潟医療福祉大 医療技術 理学療法)

【目的】 LEF1 は Wnt シグナル伝達経路の転写因子で象牙芽細胞への分化を制御し、前象牙芽細胞に出現するが象牙芽細胞に分化すると消失することが報告されている。しかし LEF1 消失の直接の機序については不明である。近年 NLK により活性化する NARF が LEF1 のユビキチンリガーゼであることが報告された。そこで象牙芽細胞の分化における LEF1 のユビキチン化を検索する目的で上記の因子について免疫組織化学的検索を試みた。【方法】材料は胎生 19 日、生後 15 日のラット臼歯歯胚で、固定後パラフィン切片を作成して、抗 LEF1、抗 NARF、抗 NLK による免疫反応を行った。【結果】胎生 19 日では LEF1 の反応は歯頸彎曲付近の前象牙芽細胞の核で強く、象牙前質に接する象牙芽細胞では減弱していた。NARF と NLK の反応は逆に、前象牙芽細胞では不明瞭で、象牙芽細胞ではより明瞭であった。生後 15 日においても LEF1 の反応がヘルトヴィッヒ上皮鞘に接する前象牙芽細胞は明瞭で、象牙前質に接する象牙芽細胞は不明瞭であるが、NARF と NLK は象牙芽細胞では明瞭な陽性反応を示すが、前象牙芽細胞では不明瞭であった。【考察】 NARF と NLK は LEF1 に置き換わるように分化した象牙芽細胞に出現したことから、前象牙芽細胞から象牙芽細胞への分化において LEF1 は NLK を介して活性化する NARF によりユビキチン化され、消失することが示唆された。

P2-39

ヒト歯髓組織から outgrowth する細胞による組織構築に関する研究

○吉羽 永子¹、吉羽 邦彦¹、大倉 直人¹、細矢 明宏²、中村 浩彰²、興地 隆史¹ (¹新大 院医歯 う蝕、²松歯大 解剖 2)

【目的】 演者らはヒト歯髓創傷治癒過程では、 α -SMA 陽性細胞が創面に遊走し fibrillin-1 (FBN1) タンパクの分解と mRNA の下方制御が起こることを報告した。本研究では遊走する細胞と細胞外基質の検討を目的に、ヒト歯髓組織から outgrowth する細胞による組織構築を検索した。【方法】 歯髓を厚さ 1.5 mm にスライスし Millicell-CM filter 上で培養した。培養 1 週後スライス片近傍に覆髓材 MTA (直径 1 mm) を静置しさらに培養した。切片を作成し α -SMA, nestin, CD146, CD31, CD45, FBN1, 2,3, fibronectin (FN), I 型コラーゲンに対する免疫染色、TUNEL 法での apoptosis の検出、定量 RT-PCR による FBN1 と FN の発現を調べた。【結果と考察】 培養 10 日後、スライス片周囲に伸び出した組織の細胞は α -SMA 強陽性を呈し CD146 陽性の血管様構造も認められた。細胞外基質は FN 強陽性を示す一方、FBN1 に対する染色性は弱く定量 RT-PCR の結果と一致した。培養 3 週後 MTA は CD146 陽性の血管を含む数十層の α -SMA 陽性細胞に囲まれ、5 週後では MTA 周囲に apoptosis による細胞の希薄層が観察された。時間の経過とともに α -SMA の染色性は減弱し FBN1 陽性反応が認められた。CD45 陽性細胞の多くは I 型コラーゲン共陽性であり fibrocyte と考えられた。Outgrowth する細胞は α -SMA 陽性を呈しここでは血管新生を伴い、初期には FBN1 が下方制御され細胞外基質の変化も伴うことから、in vivo における歯髓創傷治癒過程と類似した変化を示すことが示唆された。

P2-40

Micro CT image versus transparent specimen findings of extracted Japanese mandibular incisors' root canal formation

○亀本 博雅¹、勝又 明敏¹、喜多 奏¹ (¹朝日大 歯 歯科放射線)

Aims: Root canal morphology of mandibular incisors is problematic for the dental practitioner when performing endodontic procedures. Transparent specimens stained with India ink have long been used however micro-focus CT systems are increasingly favored for observation of tooth structures. Methods: Transparent specimens of 57 extracted mandibular incisors were prepared. India ink was administered to the pulp chamber by injection, and stained teeth were then decalcified. A further 57 teeth were scanned using micro-focus CT with a voxel size of 50 μ m. Results: Two root canals per tooth were found in 12% of transparent specimens and 19% of teeth observed by micro-focus CT. Lateral branch canals were found in 5% of transparent specimens and 4% in the CT group. Canal branching in the root apex region was seen in 14% of specimens in the transparent group and 25% in the CT group. The average distance from the surface of the tooth root to the point of divergence was 2.0 mm in the transparent group and 1.2 mm in the micro-CT group. Conclusions: It can be suggested that micro-focus CT imaging is superior to staining with India ink for the visualization of short branch canals.

P2-41

肺魚歯板の高石灰化組織 petrodentine 形成過程の組織化学的解析と象牙芽細胞の cell cycle の一過程におけるグリコーゲンの蓄積

○岡 俊哉¹、三上 正人²、石山 巳喜夫³ (1日歯大 新潟生命歯 生物、2日歯大 微生物、3日歯大 解剖 2)

【目的】肺魚類に特徴的な構造を持つ歯板の主要な構成要素である petrodentine 形成の詳細を調べるため、その形成細胞である odontoblast について組織化学的な検索を行った。【方法】3種の現生肺魚 (*Protopterus aethiopicus*, *P. dolloi*, *Lepidosiren paradoxa*) を入手、常法により組織切片を作成した後、ALP、ACP、TRAP 等の酵素組織化学染色、ワンギーソン、PAS などの一般染色および、透過電顕による観察を行った。【結果と考察】肺魚 odontoblast には高い酵素活性があり、petrodentine 形成過程における有機基質の分解と吸収という二相性の細胞機能を裏付ける所見が得られた。petrodentine 前駆体 (prepetrodentine) 形成および引き続いて起こる petrodentine 成熟完了前後の odontoblast は PAS 強陽性を示し、電顕による観察でも odontoblast の細胞質および突起部分にグリコーゲンの顕著な貯留が確認された。odontoblast による petrodentine 形成には、グリコーゲンの蓄積が何らかの重要な役割を果たしている事が推察される。

P2-42

ネコ糸状乳頭の上皮乳頭および微細血管構築の部位による形態差

○竹村 明道¹、疋田 勝也¹、諏訪 文彦¹ (1大歯大 解剖)

【目的】ネコ糸状乳頭の上皮乳頭および微細血管構築を走査電顕で観察し、それぞれの部位別形態差を、さらに同一部における両者の形態差を調査した。【材料と方法】上皮乳頭観察標本および微細血管鋳型標本に各2頭用いた。両標本を、舌尖部、前部、中部、後部に4等分して観察した。【結果】上皮乳頭：楕円柱状の基部と基部上面から突出する突起で構成されていた。舌尖部で、基部上面外周を楕円状に配列する7~10個の円錐状突起で構成されていた。前部で、基部上面から咽頭側に傾斜する1本の巨大な棒状の突起で構成されていた。中・後部で、基部上面から前部より小さな咽頭側に傾斜する1本の円錐状の突起で構成されていた。微細血管構築：舌尖部で、楕円状に配列する7~10個の毛細血管ループで構成されていた。前部で、巨大な1個の棒状の咽頭側に傾斜する毛細血管網とその前方の多数の毛細血管ループで構成されていた。中・後部で、後方の大きな1個の円錐状の咽頭側に傾斜する毛細血管網と前方の楕円状に突出する多数の毛細血管ループで構成されていた。上皮乳頭と微細血管構築の比較：舌尖部では、上皮乳頭は多数の突起が、微細血管構築は多数の毛細血管ループがみられ、両者の楕円状に配列する形態は類似していた。前・中・後部では、上皮乳頭は1本の突起がみられ、微細血管構築は前方の多数の毛細血管ループと後方の1個の毛細血管網がみられ、両者の形態に類似点はみられなかった。

P2-43

味蕾におけるカドヘリンの発現

○瀬田 祐司¹、鬼頭 文恵¹、豊野 孝¹、片岡 真司¹、豊島 邦昭¹ (1九歯大 歯 口腔組織)

味蕾を構成する細胞は周囲の上皮細胞と同様に、約10日の寿命を持ち、味蕾の内で常に味細胞の更新が行われている。したがって常に味細胞が更新される味蕾において、味の識別が常に正しく行われるためには味情報を伝達する味神経がその味刺激に対する受容体を発現する味細胞を正確に認識して、シナプスを形成しなければならない。しかしながら、味蕾においてどの様にして味神経が特定の味受容体を発現する味細胞を認識して、シナプスを形成するのかについては未だに解明されていない。本研究では、味細胞と味神経との間で行われている選択的なシナプス形成機序の解明を目的として、味細胞の細胞膜に発現しているカドヘリンスーパーファミリーを中心とした細胞膜表面分子の探索をおこなった。RT-PCRで検索すると、有郭乳頭上皮において、N-, R-cadherin, Neurexin1の発現が認められた。さらに in situ Hybridizationで味蕾細胞での発現を検索すると、N-cadherin, Neurexin1は味蕾細胞の1部の細胞での発現が認められた。味蕾内でN-cadherinは2型細胞のマーカーとNeurexin1は3型細胞のマーカーとの局在が一致した。味蕾細胞の細胞型には、細胞型特有の膜表面分子が発現し、味神経が特定の味細胞を認識するために、味細胞の膜表面分子を認識している可能性が示唆された。

P2-44

ケラチノサイトのカルシウム分化誘導による細胞接着分子発現変化

○宮崎 綾子^{1,2}、大久保 つや子²、八田 光世²、石川 博之¹、山崎 純² (1福歯大 成長発達歯、2福歯大 細胞分子生物)

カルシウムはケラチノサイトの増殖や分化における調節因子としての役割を果たしている。本研究では、カルシウムによって制御されるケラチノサイトの分化、遊走、接着に着目し、これらの制御に深く関わるインテグリンなどの細胞接着分子と細胞外基質との相互関係を中心に検討を行った。マウスケラチノサイト Pam212細胞においては、インテグリン $\beta 1, \beta 4, \beta 5, \beta 6$ が発現していた。リアルタイム PCRにより mRNAの発現を調べると、低Ca条件(0.05 mM)に比して正常Ca条件(1 mM)下ではインテグリン各分子の発現量が減少した。これらインテグリン β 分子の減少は、分化マーカーのインボルクリンの増加と共に起きていた。これらのことから、Ca濃度の上昇による細胞分化に際してインテグリン β 分子の発現が減少すると考えられた。蛍光免疫染色においても正常Ca条件下において減少傾向が観察されると共に、細胞内局在の変化も見られた。また、低Ca条件に比べて正常Caで培養した細胞では有意に遊走が抑制された。各種細胞外基質に対する接着能を検討したところ、Pam212細胞は、特にフィブロネクチンとビトロネクチンに対する接着が強いことが観察され、Ca濃度によって接着が変化した。以上のことから、カルシウムによる分化誘導によってインテグリン β 分子の発現が減少し、接着や遊走に影響を与える可能性が示唆された。

P2-45

口腔粘膜上皮の過形成病変におけるデスモゾーム関連遺伝子の発現
○落合 隆永¹、中野 敬介¹、長谷川 博雅¹ (1松歯大 口腔病理)

【目的】デスモゾームタンパク質 (DPs) は口腔粘膜の上皮内腫瘍 (OIN) などをはじめとする腫瘍で発現の増減あるいは異所性発現がみられる。我々は、非腫瘍性増殖病変における DPs の変化を免疫組織学的に検討してきたが、未だ全容は明らかでない。そこで、粘膜の過形成病変の DPs の遺伝子発現を検討した。【方法】対照群には異常な角化や異型を欠く 8 例の正常粘膜を用いた。実験群には上皮の過形成を伴った 10 例の粘液嚢胞を使用した。各検体のパラフィン包埋標本から RNA 抽出し、逆転写反応を行い得られた cDNA を実験に用いた。OIN3 で変化を示す膜貫通型 DPs である Desmoglein1 (DSG1) と Desmocollin3 (DSC3) および γ -Catenin (JUP) を RT-PCR 法と Real-Time PCR 法で解析した。統計解析は Mann-Whitney U 検定を行い $p < 0.05$ で有意差ありとした。【結果】対照群と実験群の全例で DSG1、DSC3、JUP の遺伝子発現が確認された。実験群において発現が消失する遺伝子群はなかったが、Real-Time PCR の結果 DSG1 と DSC3 遺伝子の発現が増加していた。逆に JUP の発現は実験群で減少していた。以上の結果は、統計学的にも有意差を認めた。【結論】増殖活性亢進や不規則な細胞増殖などの過形成性変化が、DSG1 や DSC3 の遺伝子発現を亢進させ異所性発現が惹起される可能性が示唆された。

P2-47

ストレス関連物質による歯周細胞増殖因子への影響
○定岡 直¹、川原 一郎¹、八上 公利²、牧 茂² (1松歯大 口腔衛生、2松歯大 社会歯)

【目的】生体外から受けるあらゆるストレス因子に対し、生体内では糖タンパク質であるクロモグラニン A を産生する。神経内分泌系の生理活性物質で、自律神経系の活動指標である。また、抗菌ペプチドの産生、肥満細胞の遊走に関与するなど、全身および局所の免疫調節機構と密接に関係している。我々はこれまでに歯根膜線維芽細胞に対するストレスに対して細胞がクロモグラニン A を産生することを報告している。今研究では、このクロモグラニン A が歯周組織細胞に対してどのように作用しているのかを探ることとした。【方法】歯周組織のモデルとして正常ヒト歯根膜由来線維芽細胞 (HPdLF) を用いて、非添加群 (対照) とクロモグラニン A 添加群を一定時間培養した。そして細胞周期関連遺伝子群の機能解析を行った。【結果】クロモグラニン A 添加群では細胞増殖因子と呼ばれる TGF- β や、細胞分裂促進に関わる MAPK の遺伝子群が増大していた。また、TGF- β や MAPK 遺伝子群の情報伝達に深く関る Smad 遺伝子群もクロモグラニン A 添加時には増大した。【結論】これまでに他の細胞でのクロモグラニン A の作用として細胞増殖ならびに成長因子作用、アポトーシス抑制作用、また血管拡張作用を含む炎症調節作用を持つ。線維芽細胞にとって隣接細胞との接着を制御する因子となることが報告されており、歯根膜線維芽細胞も同様の作用を持つ可能性が示唆される。

P2-46

セメント芽細胞が発現する F-spondin の抗炎症作用に関する検討
○北川 雅恵¹、宮内 睦美²、岡 広子³、外丸 祐介⁴、高田 隆^{2,3} (1廣大 病院 口腔検査セ、2廣大 院医歯薬保 口腔顎顔面病理病態、3廣大 院医歯薬保 国際歯科医学連携開発、4廣大 自然科学研究支援開発セ)

我々はこれまでに F-spondin が歯周組織ではセメント芽細胞に特異的に発現し、石灰化に関与することを報告してきた。最近、F-spondin が変形性関節炎において軟骨代謝を制御することが報告された。そこで、炎症時におけるセメント芽細胞の F-spondin の役割について明らかにすることを目的に検討を行った。LPS 刺激によりヒトセメント芽細胞 (HCEM) の発現する F-spondin mRNA の発現増加と IL-6 発現低下が認められた。一方、siRNA による F-spondin のノックダウンは、IL-6 の発現低下を回復した。また、F-spondin 過剰発現により IL-6 の発現が有意に低下した。さらに、LPS 刺激により発現する Erk のリン酸化が F-spondin 過剰発現により抑制されたことから、F-spondin は Erk 経路を抑制することで IL-6 の発現を抑制することが示された。In vivo では、F-spondin トランスジェニックマウス (SPONI-TG) を作製し、LPS で 4 週間刺激することで歯周炎を惹起させたところ、SPONI-TG では成熟した破骨細胞や好中球の数が少なく、歯槽骨の吸収も抑制されていた。以上より、セメント芽細胞が発現する F-spondin は IL-6 の発現を抑制することにより炎症反応を抑制し、歯周炎においてセメント芽細胞はセメント質を病的吸収から保護している可能性が示された。

P2-48

歯周炎患者歯周靭帯由来幹細胞の免疫調節能に対するエリスロポイエチンの影響
○増田 啓太郎¹、山座 孝義²、馬 蘭³、星野 慶弘³、樋口 勝規¹、久木田 敏夫² (1九大 病 口 腔 総 合 診 療、2九大 院 歯 分 子 口 腔 解 剖、3九大 院 歯 小 児 歯)

昨年度本学会において、エリスロポイエチンが歯周疾患罹患歯に由来する歯周靭帯幹細胞 (炎症性歯周靭帯幹細胞) の細胞増殖能やセメント質形成能を向上させることを報告した。正常歯周靭帯幹細胞では T 細胞などの免疫細胞に対する調節能が知られており、歯周組織の恒常性の維持に機能していることが示唆されている。本研究では、炎症性歯周靭帯幹細胞における免疫調節能を解析するとともに、その能力に対するエリスロポイエチンの効果を検討した。本研究では、九大病院口腔総合診療科にて抜歯を余儀なくされた歯周疾患罹患歯の歯周靭帯を使用した。対照群としては埋伏智歯の歯周靭帯を用いた。正常歯周靭帯幹細胞と比べ炎症性歯周靭帯幹細胞ではヒト T 細胞増殖抑制能が低下していたが、エリスロポイエチンで刺激すると低下した T 細胞増殖抑制能が正常歯周靭帯幹細胞とほぼ同等に回復した。以上から、エリスロポイエチンは歯周組織再生に有効なツールとなりうる可能性が示唆された。

P2-49

顎顔面部血管注入法による歯周組織微細血管観察法の検討

○松尾 雅斗^{1,2}、飯村 彰^{1,2} (1神歯大 口腔科学、
2横須賀・湘南地区災害医療歯科学研究セ)

【目的】顎顔面部血管注入法による歯周組織微細血管の検討を目的として、プラークコントロール下のインプラント周囲歯肉微小血管の変化を観察した。インプラント周囲組織は天然歯に比べ血管構築が粗造で血流が乏しいため炎症防御機構が脆弱であると言われている。この防御機構を維持するためにはインプラント歯肉のプラークコントロールが重要な課題の一つである。【方法】本実験は学内動物倫理委員会の承認後、実験指針に沿って行った。ビーグル犬を用い、下顎前臼歯部に純チタンスクリューインプラントを埋入した。オッセオインテグレーション確認後下記の3群にわけた。口腔清掃を毎日処置したものをプラークコントロール群、しないものを対照群とした。また、歯頸部にデンタルフロスを設置したものを炎症群とした。90日後に血管注入用合成樹脂を注入し試料を作製し、走査電顕にて観察した。【結果と考察】対照群では歯頸部に沿った背の低い10~80μm程度の血管ループが観察された。プラークコントロール群ではU字型の形態をした10~30μmの毛細血管ループが規則正しく配列していた。炎症群では、血管網は100μm前後の径の太い、内腔変性を伴う血管に変化していた。これらの結果からプラークコントロールにより血管形態および微小循環を健康なものに維持することが示唆された。また、顎顔面部血管注入法は歯周組織微細血管観察に有用な方法であることが示された。

P2-50

セメント質初期形成における上皮鞘細胞と歯小囊細胞の動態について

○山本 恒之¹、長谷川 智香¹、山本 知真也¹、
本郷 裕美¹、山田 珠希¹、織田 公光²、網塚 憲生¹ (1北大 院歯 硬組織発生物、2新大院 医歯 口腔生)

【目的】ヘルトヴィッヒ上皮鞘がどのようにして断裂するのかについてはまだよくわかっていない。また断裂後に上皮鞘細胞の一部はEMT(epithelial-mesenchymal transition)によりセメント芽細胞になるとの説が台頭している。本研究で上皮鞘の断裂機構及びEMTの組織学的解析を試みた。【材料と方法】3週齢ラット上顎第1臼歯歯根の矢状断パラフィン切片を作成した。基質分解酵素(MMP7、KLK7、ADAM10)、あるいはALPに対する抗体で一次染色し、抗ケラチン抗体で二次染色した。【結果と考察】第1臼歯近心根根尖部を3つの部位に分け観察した。部位1:上皮鞘がまだ断裂していない部位。部位2:象牙質形成と上皮鞘の断裂が始まる部位。部位3:セメント質形成が開始する部位。上皮鞘細胞(ケラチン陽性)は全部位でALPに反応するものの、部位1よりも部位2、3で細胞は小型化し反応も弱くなった。また全部位で3種の基質分解酵素に反応した。歯小囊細胞は部位1では上皮鞘側よりも歯槽骨側でALP強陽性反応を示した。部位2で上皮鞘近くの大形化した歯小囊細胞にもALPに強く反応するものが現れた。部位3では歯根表面のセメント芽細胞も強いALP反応を示した。以上から、上皮鞘は酵素を分泌し接着装置を破壊して断裂すること、上皮鞘にEMTは起こらずセメント芽細胞は歯小囊由来であることが示唆された。

P2-51

ラット歯肉由来間葉系幹細胞による硬組織形成について

○高橋 智美¹、牛島 夏未¹、滝田 裕子¹、飯塚 正¹ (1北大 院歯 学術支援)

【目的】歯肉は他の口腔組織に比べ侵襲が少なく比較的簡便に入手できるというメリットがあり、組織再生のソースとして非常に有効な候補と成り得ると考えられる。そこで今回我々は、歯肉由来間葉系幹細胞からの硬組織の誘導・形成能について検討を行った。【材料と方法】生後6週齢のWistar Ratから歯肉組織を摘出し、分離培養して得られた線維芽細胞を使用した。間葉系幹細胞のマーカーとして、抗STRO-1抗体による免疫染色を行った。また、ウェスタンブロッティング法によりSTRO-1の発現を確認した。骨、軟骨および脂肪分化誘導培地による培養をそれぞれ行い、各種染色にて経時的に骨芽細胞および軟骨細胞、脂肪細胞への分化の程度を検討した。【結果・考察】歯肉組織由来線維芽細胞は免疫染色においてSTRO-1陽性を示した。さらにウェスタンブロッティング法にてSTRO-1タンパクの発現が認められた。骨分化誘導培地による培養では、アルカリホスファターゼ活性、オステオポンチンの発現、および硬組織基質の形成が認められた。軟骨分化誘導培地による培養では、軟骨基質の形成が確認できた。また、脂肪分化誘導培地での培養により脂肪細胞への分化がみられた。以上のことより、歯肉由来線維芽細胞は多分化能を示し、間葉系幹細胞としての機能を有することが明らかとなり、硬組織誘導・形成の可能性が示唆された。

P2-52

光機能化処理インプラントにおける実験的炎症時の周囲組織変化について

○高橋 俊介¹、高橋 聡子¹、松尾 雅斗¹ (1神歯大 口腔科学)

【目的】光機能化処理は紫外線を用いてインプラント表面性状の改良を行う方法の一つである。本法によりインプラント周囲の骨芽細胞の集積や血管新生などが促進され骨結合期間が短縮されるとされる。また、抗炎症性が増加するとの報告もある。本研究では、光機能化処理が実験的インプラント周囲炎の防御機構に影響するか検討を行った。【方法】本研究は学内動物倫理委員会の承認後、実験指針に沿って行った。ビーグル犬を用い、下顎前臼歯部歯槽窩内に純チタンスクリュー型インプラントを即時埋入した。片側は光機能化処理を行った実験群、他方は対照群とした。90日後、オッセオインテグレーションを確認後、インプラント体歯頸部にデンタルフロスを設置し、さらに90日間実験的インプラント周囲炎を惹起させた。試料は、MicroCT撮影し骨吸収面積を計測した。また、走査電顕にて観察した。【結果と考察】オッセオインテグレーション獲得時には光機能化群、対照群とも大きな差はなかった。実験的インプラント周囲炎の惹起後、対照群ではインプラント体歯頸部を中心としたリング状の骨吸収が観察された。それに対して、実験群ではその歯頸部の骨吸収量は有意に小さかった。以上の結果から光機能化処理はインプラント周囲組織への炎症波及を抑制する可能性が示唆された。(共同研究者:神歯大・咀嚼機能制御補綴学講座、星 憲幸、石井康鉉、木本克彦)

P2-53

矯正治療に伴う痛みの定量評価：動物モデルによる解析

○安達 一典¹、佐々木 会²、須田 直人²、坂上 宏¹ (1明海大 歯 薬理、2明海大 歯 矯正)

【目的】矯正治療における歯の移動では痛みを伴うことがあり、その疼痛制御は重大な課題である。そこで歯の移動で生じる侵害受容と歯周組織変性を定量可能な動物モデルの評価系を開発した。【方法】Wister系雄性ラットの上顎門歯と上顎右側第一臼歯をコイルスプリングで連結し30~50gの矯正力を負荷した。負荷1(D1)、3(D3)、7(D7)日後に全身麻酔下で電気刺激電極を上顎両側第一大臼歯部に留置し、同部刺激誘発開口反射の閾値を測定した。実験終了後、歯周組織と三叉神経節の標本作製し、それぞれ多核破骨細胞浸潤(TRAP染色)とサテライトグリア細胞(SGC)活性(GFAP染色)を観察した。また、移動歯周囲の知覚異常検討のためラットの鼻根部をvon Frey hair刺激し、頭部回避閾値を浅麻酔下で検討した。【結果・考察】D1以降、右側の開口反射誘発閾値は、左側に比較して有意な低下(56.5±12.6%)を示した。閾値低下はD3でも認められ、D7には認められなくなった。右側の頭部回避閾値も同様にD1~D3で有意な低下(54.3±62.9%)を認めたが、D7には認められなくなった。多核破骨細胞はD1から出現し、D3からD7にかけて増加した。また装置装着後1日目に右側の三叉神経節においてSGCの活性が認められた。これらのことから本研究の動物モデルにより、歯の移動で生じる疼痛と組織変性を同時に定量評価できると考えられる。

P2-55

実験的歯の移動による歯根周囲の破骨細胞の活性化は感覚神経-中枢-交感神経のループを介して惹起される

○近藤 久貴¹、近藤 真代^{1,2}、宮澤 健²、後藤 滋巳²、戸苅 彰史¹ (1愛院大 歯 薬理、2愛院大 歯 矯正)

【背景】我々は、実験的歯の移動が歯周組織の交感神経活動を亢進し、歯根周囲における破骨細胞を増加させることを報告した(Bone. 2013; 52(1):39-47)。本研究では歯の移動に伴う求心性の感覚神経活動が、交感神経活動の亢進に関わっている可能性を検討した。【方法】交感神経、感覚神経あるいは交感神経中枢を6-hydroxydopamine, capsaicinあるいはgold-thio glucoseで遮断したマウスの第1、第2臼歯の間に矯正用ラバーバンドを挿入し、歯の移動量等を解析した。【結果・考察】交感神経および感覚神経のいずれの遮断も歯の移動量および歯根周囲破骨細胞の増加を抑制した。歯周組織の神経線維分布の免疫染色では、歯の移動に伴い感覚神経および交感神経マーカーの免疫染色性の増加がみられたが、感覚神経遮断により感覚神経のみならず交感神経の染色性が低下し、交感神経遮断では感覚神経系の染色性低下はみられなかった。また、感覚神経遮断の影響は感覚神経遮断マウスにアドレナリンβ受容体作動薬 isoprenalineを投与することによりレスキューされた。さらに、交感神経中枢を破壊したマウスにおいても歯の移動が抑制されることを確認した。これらの結果は歯の移動に伴う求心性の感覚神経シグナルが、中枢-末梢の交感神経を介し、歯根周囲の破骨細胞を活性化し歯の移動を促進することを示唆している。

P2-54

歯科矯正学的メカニカルストレスが惹起するHSP47のマウス歯根膜細胞における局在変化

○村岡 理奈¹、中野 敬介²、山田 一尋¹、川上 敏行² (1松歯大 歯科矯正、2松歯大 院 硬組織疾患病態解析)

【目的】メカニカルストレスに対する歯周組織の適応は、矯正学的な歯の移動において重要であり、これまでに本学会にて熱ショック蛋白(HSP27, HSP70)発現について報告してきた。今回我々はHSP47に着目し、歯根膜組織におけるその発現動態について、メカニカルストレスを一定時間負荷後に解除した際の発現推移を検討した。【方法】マウス上顎臼歯部歯根膜にセパレーターによるメカニカルストレスを3時間負荷した。メカニカルストレス負荷後のマウス歯根膜組織を観察するため、セパレーター除去直後から最大1週間後までのマウス上顎臼歯部歯周組織を経時的に摘出し、パラフィン連続横断切片を作製し、免疫組織化学的に染色した。【結果および考察】対照群では歯根膜全域にわたり、均一にHSP47の活性を認めた。実験群において、ストレス負荷直後の牽引側歯根膜でHSP47の発現増強があった。ストレス負荷3時間後に負荷を解除し、その1時間後に圧迫側歯根膜で発現増強があり、3時間後では圧迫側と牽引側ともにHSP47の発現増強が認められた。9時間後では一時的に陽性反応の減弱があったが、24時間以降に再度歯根膜全域と歯槽骨に発現増強が認められた。以上より、HSP47は歯根膜組織のコラーゲン合成を通じて細胞傷害に対する回復反応に寄与し、一方で、発現する時間軸ごとにHSPが発揮する機能も異なる事を強く示唆した。

P2-56

ラット切歯の歯周組織におけるオキシタラン線維の発達—エナメル質側とセメント質側の比較

○井上 孝二¹、原 矢委子²、佐藤 哲二² (1鶴見大 歯 電顕研究セ、2鶴見大 歯 解剖・組織細胞)

【目的】本研究では、無根歯であるラット切歯のエナメル質側(唇側)とセメント質側(舌側)の歯周組織に分布するオキシタラン線維系について検討した。【材料と方法】胎生17日~生後60日のWistar系ラットの切歯を試料として用いた。麻酔下でザンボン固定液にて固定、脱灰後、作製されたパラフィン切片はオキシタラン染色法に供された。一部の試料は、Karnovsky固定液にて固定後、薄切切片が作製され、電顕下で観察された。さらに、胎生20日から生後35日の切歯セメント質側とエナメル質側の歯周組織に分布するオキシタラン線維数を計測した。【結果・考察】オキシタラン線維は胎生18日に初めて確認され、オキシタラン線維は切歯の歯軸とほぼ平行に走行していた。切歯舌側ではセメント質の形成にともなって、オキシタラン線維の一部が埋入されるのが観察されたが、唇側ではそのような線維は見られなかった。次に、切歯のセメント質側とエナメル質側に分布するオキシタラン線維数を測定し、統計学的解析をおこなった。胎生23日以降、切歯の形成部位に関らず、セメント質側のオキシタラン線維は、エナメル質側よりも有意に密に分布していた。電顕観察からは、オキシタラン線維はコラーゲン線維とともに、歯の咬合圧に対する緩衝材としての役割を果たしていた。オキシタラン線維系は血流量の調整とともに、セメント質側では歯の支持機能にも関ることが示唆された。

P2-57

ラット耳下腺分泌顆粒に特異的な pH インジケータの合成と応用
 ○福島 美和子¹、加藤 治¹、横山 愛¹、吉垣 純子¹ (¹日大 松戸歯 生理)

本研究の目的は、耳下腺分泌顆粒をラベルする蛍光 pH インジケータを開発することである。唾液腺の分泌顆粒は未成熟な時期があり、内部は酸性に維持されると予想される。よって、蛍光 pH インジケータによる酸性顆粒のラベルで、未成熟分泌顆粒の検出が可能だと考えた。しかし、唾液腺の分泌顆粒は既存の蛍光 pH インジケータを長時間保持できず、画像解析は困難である。蛍光 pH インジケータを顆粒内に安定に保持するため、我々はすでに開発した分泌顆粒特異的 Halo Tag レポータータンパク質 (SS25H) を応用した。SS25H に共有結合するリガンドの末端に、蛍光 pH インジケータの SNARF-1 が結合した SNARF-O2 を合成した。SNARF-O2 を SS25H を含む細胞液に添加後、抗 Halo Tag 抗体によるイムノプロットで結合能を確認した結果、SNARF-O2 蛍光が HaloTag タンパク質に結合したバンドとして検出された。また、SNARF-O2 ラベルした SS25H 発現細胞を共焦点レーザー顕微鏡観察したところ、SNARF-O2 蛍光が分泌顆粒内に検出された。以上のことから、SNARF-O2 は分泌顆粒に特異的かつ安定的に局在した。一方、SNARF-O2 処理細胞を塩化アンモニウム溶液でアルカリ化しても、pH 依存性の変化は見られなかった。アルカリ化への抵抗性は、分泌顆粒自身の高い緩衝能を反映したと考えられる。

P2-58

メタンフェタミン断薬ストレスはラット唾液腺において PACAP-DBI pathway を活性化し唾液分泌を抑制する
 ○大久保 みぎわ¹、四宮 敬史¹、塚越 絵里¹、川口 充¹ (¹東歯大 薬理)

我々はこれまでメタンフェタミン断薬ストレスがラット唾液腺細胞において、ステロイド合成系の最初に産生されるプレグネノロンの合成酵素である CYP11A1 産生を促進することを明らかにした。また、ラット顎下腺灌流実験においてプレグネノロンは唾液分泌を抑制した。以上の結果から メタンフェタミン断薬ストレスはステロイド産生系を促進し、唾液分泌を抑制することが示唆された。しかし、このストレスが唾液分泌を抑制することの直接の証明はなされていない。また、どの様な経路で CYP11A1 産生を促進するのは明らかではない。ところで、メタンフェタミンが pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) を介して diazepam-binding inhibitor (DBI) の産生を促進すること、DBI はミトコンドリアにある peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR) を活性化することでステロイド産生を促進することが中枢の研究で報告されている。本研究においてラット唾液腺においてメタンフェタミン断薬ストレスが DBI および PACAP の産生を促進することを quantitative RT-PCR と Western blot 法を用いて明らかにした。さらに、このストレスが耳下腺、顎下腺および舌下腺のピロカルピン刺激唾液分泌を低下させることをカンニューレーション法により明らかにした。以上の結果からメタンフェタミン断薬ストレスは PACAP-DBI 系を介してステロイド産生系を活性化し唾液分泌を抑制することが示唆された。

P2-59

NOD マウス耳下腺腺房細胞における抗菌性タンパク質の発現
 ○梨田 智子¹、吉江 紀夫²、佐藤 律子³、今井 あかね¹、下村 浩巳¹ (¹日歯大 新潟生命歯 生化、²日歯大 新潟生命歯 解剖 2、³日歯大 新潟短大)

唾液中には数種類の抗菌タンパク質が存在することが知られているが、感染、疾患発病等の非正常時において発現変化するのは報告されていない。我々は non-obese diabetic (NOD) マウスの耳下腺腺房細胞における遺伝子発現解析から、グラム陰性菌に対する抗菌性および抗炎症性があると言われている bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) ファミリーに分類されるタンパク質の中に、NOD マウスで発現が上昇するものがあることを見出した。そこで、マウス耳下腺におけるこのタンパク質の発現および局在性を調べた。

【方法】 雌の NOD/ShiJcl マウスおよびコントロールとして C57BL/6Jcl マウスを用い、耳下腺を摘出し、調製した腺房細胞から RNA を抽出した。遺伝子解析は cDNA microarray (SurePrint G3, Agilent Tech.)、RT-PCR およびリアルタイム PCR (LightCycler, Roche) により行い、タンパク質は Western blotting および免疫染色により解析した。

【結果】 遺伝子解析から、耳下腺において *Bpifal* (PSP) は NOD マウスでも正常マウスでも同程度発現していたが、*Bpifb1* の発現は正常マウスにおいて低く、糖尿病発症 NOD マウスにおいて著しく高かった。Western blotting および免疫染色により、NOD マウスにおける *Bpifb1* のタンパク質発現が高いことが確認された。また、ヒト唾液中にもこのタンパク質が検出された。

【結論】 *Bpifb1* は NOD マウス耳下腺腺房細胞で高発現していた。

P2-60

唾液中グリシンとプロリンは年齢と歯周病に非依存的に一定の比率を示す
 ○田中 庄二¹、秋田 紗世子¹、片山 直^{1,2}、坂上 宏³、杉本 昌弘⁴ (¹明海大 歯 口腔診断、²明海大 歯 保存修復、³明海大 歯 薬理、⁴慶大 先端生命科学研)

【目的】 口腔内の加齢変化は、生活様式の変化とともに、唾液腺の機能低下等も加わり複雑である。様々な年齢と歯周病の進行度の異なる患者のメタボローム解析を実施し、代謝物の変化を網羅的に定量した。【方法】 学内倫理委員会の規定に従い、様々な年齢と健常者及び進行度の異なる歯周病患者から唾液を採取し、メタボローム解析を行った。【結果と考察】 計 144 物質の定量を行い、40 歳を境目に有意に濃度の高くなる代謝物が多く存在し、歯周病とともに酸化ストレス関係の物質の上昇を確認した。全代謝物で互いに相関をとると、多くのアミノ酸が高い相関を示した。プロリンが常にグリシンの 0.63 倍で一定の比率にあることが新たに判明した。これは、年齢や歯周病にも関係なく一定で、特に高齢者では高血圧やうつ病、また、それに伴う治療薬の影響もなく一定であった。この原因として、加齢による MMP の上昇に伴うコラーゲンの分解が考えられるが、同時に検出されることが期待されるハイドロキシプロリンはグリシンとの相関を示さなかった。また、マクロファージ細胞の LPS 活性化ではグリシンの分泌のみが上昇するために、プロリンとの相関を説明することもできない。この一定の比率をとる原因の同定には更なる追求が必要であり、また、どのような状況で破綻するかを調べる必要があるが、この比率は口腔内または唾液腺の状態を反映する指標になる可能性がある。

P2-61

ヒト唾液腺 HSG 細胞における構成的な AQP5 の取り込み

○長谷川 敬展¹、姚 陳娟¹、赤松 徹也¹、吉村 弘¹ (徳大 院 HBS 口腔分子生理)

近年、我々は、水チャネルアキアポリン 5 (AQP5) が細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇で素早く一過的に短鎖ユビキチン (Ub) 化されることを見出した。この AQP5 短鎖 Ub 化の役割について、細胞内輸送への関与が想定されるが、その実証には至っていない。本研究では、マウス正常 AQP5 あるいは非 Ub 化 AQP5 を発現させたヒト唾液腺 HSG 細胞などを用いて、複数の解析法で AQP5 短鎖 Ub 化とエンドサイトーシスの関連性を探った。蛍光標識デキストラン取り込み解析では、時間依存的なデキストランの取り込みはあるものの、 Ca^{2+} イオノフォア A23187 処理で AQP5 短鎖 Ub 化を惹起しても、AQP5 取り込み促進等の効果は見られなかった。また、細胞表面ビオチン化および脱ビオチン化を用いた生化学的解析においても、AQP5 取り込みは時間依存的に起こるが、A23187 非依存的・短鎖 Ub 化非依存的であった。細胞外領域にタグ配列を挿入した AQP5 の発現細胞を用いて直接 AQP5 の局在を観察すると、時間依存的、A23187 非依存的・短鎖 Ub 化非依存的に取り込まれた AQP5 は、細胞内で粒状のシグナルとして観察され、一部は EEA1 陽性の初期エンドソームに局在していた。以上の結果は、HSG 細胞では構成的な AQP5 取り込み機構が存在するものの、短鎖 Ub 化による調節的な AQP5 取り込み機構の存在の可能性やその重要性は乏しいことを示している。

P2-63

ウイルスベクターを用いた発光および蛍光プローブの唾液腺細胞への導入と機能解析

○森田 貴雄¹、根津 顕弘¹、東城 庸介²、谷村 明彦¹ (¹北医大 歯 薬理、²北医大 生物物理)

【目的】発光プローブは励起光を必要としないため、光毒性などの組織ダメージや自家蛍光を回避できる事から、蛍光プローブに代わるイメージングツールとして期待されている。またアデノ随伴ウイルス (AAV) は外来遺伝子をゲノムに挿入できるため長期間の遺伝子発現が可能である。また唾液腺では導管細胞への特異的な遺伝子導入が期待できる。本研究は唾液腺の *in vivo* イメージングを目的とし、発光プローブのナノランタン Ca^{2+} 発現アデノウイルス (Ad5-NL- Ca^{2+}) と、蛍光 Ca^{2+} センサー (YCnano50) 発現 AAV ベクターを作製し、唾液腺細胞における機能解析を行った。【方法】 Ad5-NL- Ca^{2+} ベクターおよび AAV-DJ-YCnano50 ベクターを作製した。これらを唾液腺などの培養細胞に導入して発現させ、AQUA-COSMOS イメージングシステムにより Ca^{2+} 動態を解析した。【結果と考察】 Ad5-NL- Ca^{2+} を導入した HeLa 細胞の約 80% で NL- Ca^{2+} が発現した。25 μ M 発光基質 (セレンタラジン-h) 存在下でヒスタミン刺激を加えると、一過性またはオシレーション様の Ca^{2+} 応答が観察された。今後は発光 cAMP センサーを作製し、これらのセンサーを発現させた唾液腺を使ったシグナル解析を行う予定である。

P2-62

唾液腺再生におけるサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 PACE4 の関与

○赤松 徹也¹、姚 陳娟¹、長谷川 敬展¹、吉村 弘¹ (徳大 院 HBS 口腔分子生理)

【目的】唾液腺は主導管結紮後、再開放することで、腺房部はアポトーシスにより消失するが、導管細胞が増殖し、腺房部を再生することが知られているが、その分子機構は依然不明である。本研究では唾液腺主導管結紮-再生モデルを用い、サチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 PACE4 の関与について検討した。【方法】7 週齢雄性 SD ラットを深麻酔下、外科的に注意深く顎下腺右側主導管を結紮 (L) した。左側は非結紮の対照 (CL) とした。結紮 1 日後と 1-2 週間後 (L1d, L1, L2)、および結紮 1 週間後に再開放し、更に 1-2 週間後 (L101, L102) に各々顎下腺を摘出し、各種解析に用いた。【結果と考察】 L1d において唾液の貯留を伴う顎下腺の腫脹が認められ、腺重量も増加した。L1 および L2 では顎下腺の萎縮、腺重量の減少が認められ、この変化は L101 および L102 も同様であった。この様な変化は対照群 (CL) では認められなかった。各顎下腺から蛋白質を調整し、ウエスタンブロットにより解析したところ、PACE4 の発現は L1d では殆ど検出できないが、L1, L2 では誘導が認められた。この発現誘導は L1CL, L2CL では認められなかった。免疫蛍光染色の結果、PACE4 は腺房部に局在すると考えられた。PACE4 はラット顎下腺発生過程で強く発現するが、生後成熟に伴い抑制され、成熟後は殆ど発現しないことから、主導管結紮により誘起される唾液腺再生過程に PACE4 の関与が示唆された。

P2-64

唾液中ヒスタチン mRNA レベルと口腔環境衛生との相関性

○佐藤 律子¹、梨田 智子²、三上 正人³、今井 あかね² (¹日歯大 新潟短大、²日歯大 新潟生命科学、³日歯大 新潟生命科学 微生物)

【目的】唾液タンパク質ヒスタチンは唾液腺で合成され、歯周病原菌に対する抗菌作用や抗真菌作用、また近年損傷治癒作用を有するとされている。唾液中ヒスタチンの増加により口腔環境衛生レベルの上昇が予想されるが、この関連性についての疫学的研究は未だなされていない。一方、唾液中には唾液腺由来の mRNA が安定的に含まれていることが近年報告されている。そこで、唾液中から mRNA を抽出してヒスタチン mRNA の発現量を調べ、口腔環境衛生を示す各種項目を検査してヒスタチンレベルと口腔環境衛生との相関性について評価した。【対象および方法】被験対象者は健康な女性 (18-59 歳; 平均年齢 35.3 歳) 15 名とした。口腔環境衛生は、Dentocult[®]SM、Dentocult[®]LB および Dentobuff[®]Strip (Orion Diagnostica) を使用し、*Streptococcus mutans* および *Lactobacillus* の計測数および唾液緩衝能を測定した。これに唾液流速と問診項目を加えた総評をカリエススコアとした。また、RNeasy Protect Saliva Mini (QIAGEN) を用いて自然流出唾液から RNA を抽出した。*HTN1* (histatin-1) および *HTN3* (histatin-3) の発現を RT-PCR および q-PCR (Applied Biosystems) により解析し β -actin (*ACTB*) との比 (*HTN/ACTB*) を求めた。【結果および考察】唾液中 mRNA の *HTN/ACTB* 比とカリエスリスクとの間には負の相関性が見られた。唾液腺におけるヒスタチン発現量の増加はカリエスリスクを低下させることがわかった。

P2-65

唾液ヒスタチンによる熱ショック蛋白質の Toll 様受容体リガンド効果抑制機序
 ○今村 泰弘^{1,2}、王 宝禮³ (1松歯大 薬理、²松歯大 院 遺伝創薬、³大歯大 教育開発)

【目的】ヒスタチンは、歯周病・う蝕原因菌に対して抗菌作用を示す唾液蛋白質である。我々はこれまでに、熱ショック蛋白質 HSC70 が Toll 様受容体 (TLR) 2、4 のリガンドとして働き、NF- κ B を活性化すること、ヒスタチンが HSC70 と結合することにより、これらシグナル伝達を抑制することについて明らかにした。本研究では、HSC70 のリガンド機能において、ヒスタチン 3 はどのような機序により抑制するのか検討した。【方法】合成したヒスタチン 3 あるいはコントロールペプチドとリコンビナント HSC70 をそれぞれ混合した。これら混合物に V8 プロテアーゼを加えて限定的に消化し、SDS-PAGE 後、クマシー染色を行なった。【結果】HSC70 はヒスタチン 3 と結合することにより、V8 プロテアーゼで消化されにくくなった。一方、コントロールペプチド存在下の HSC70 はヒスタチン 3 存在下の場合と比べ、V8 プロテアーゼでより消化された。【考察】HSC70 は TLR2、4 を介したシグナル伝達の活性化 (NF- κ B 活性化) に伴い、炎症性サイトカイン産生を誘導する。ヒスタチン 3 は HSC70 と結合することにより、HSC70 の高次構造変化をもたらす、TLR に対する HSC70 のリガンド効果を抑制すると考えられる。以上から、ヒスタチンは抗菌作用のみならず、口腔内損傷により細胞から放出された HSC70 の炎症作用を抑制する自然免疫関連因子であると示唆される。

P2-67

腺様嚢胞癌における ABCG2 および CD133 の免疫組織学的検索
 ○玉村 亮¹、辻極 秀次²、岡田 裕之¹、寒河江 登志朗¹、長塚 仁² (1日大 松戸歯 解剖 2、²岡大 院 医歯薬 口腔病理)

【目的】腺様嚢胞癌は悪性唾液腺腫瘍の一つであり、5 年生存率は高いものの局所再発、肺転移を高率にきたしやすく、長期的な予後は不良である。近年、様々な腫瘍において癌幹細胞の存在が報告され、臨床への応用が期待されている。本研究では、癌幹細胞マーカーを用いた免疫組織化学的検索により、腺様嚢胞癌における癌幹細胞について検討した。【方法】岡大病院病理部口腔病理診断部門で取り扱った腺様嚢胞癌 25 例について、ABCG2 および CD133 に対する抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。同時に Ki-67 についても検索した。【結果】ABCG2 は全症例において腫瘍細胞に陽性を示し、胞巣内の単一細胞あるいは数個の細胞集団に蛋白の局在を認めた。局在様式は組織型による差異はみられず、主に胞巣辺縁の細胞が陽性を示した。また、ABCG2 の局在は Ki-67 の局在と一部オーバーラップして認められた。一方、CD133 は管腔構造の内面のみ観察された。【考察】ABCG2 は腺様嚢胞癌の癌幹細胞マーカーとして有用である可能性が示唆され、ABCG2 陽性細胞は癌幹細胞を含む階層構造の上層の細胞を認識している可能性が考えられた。また、局在様式から基底膜など細胞外基質がニッチの形成に関与することが示唆された。

P2-66

赤色蛍光強発現 tg マウス唾液腺細胞の蛍光発現に関する研究
 ○古川 真司¹、畠山 慧¹、堀 智樹¹、石崎 明²、大塚 正人³、藤村 朗⁴、金野 吉晃¹、清野 幸男¹、三浦 廣行¹ (1岩医大 歯 口腔保健育成歯科矯正、²岩医大 生化 細胞情報科学、³東海大 医 基礎医学系分子生命科学、⁴岩医大 解剖 機能形態)

【目的】赤色蛍光強発現 tg マウス(大塚ら)は、唾液腺細胞レベルの tdTomato 蛍光発現部位の詳細な報告はまだない。本 tg マウス幹細胞をトレーサーとして用いる再生医療の研究は、唾液腺のみならず、他の臓器の再生への利用が期待される。そこで本研究では、本 tg マウスを用いた唾液腺幹細胞による再生医療の基礎データ作成を目的とした。【試料および方法】赤色蛍光強発現 tg マウス(3 週齢、10 匹、岩医大動物実験承認番号 23-075)の顎下腺、舌下腺を摘出し、固定後、通法によりパラフィン切片を作製した。tdTomato の局在観察には無染色、その他に Phalloidin 染色、HE 染色、PAS 染色を施し、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡にて観察、撮影を行った。【結果】無染色像と Phalloidin 染色の Merge 像で、tdTomato と F-actin の存在部位は一致していた。顎下腺細胞は細胞質内にアモルファスに蛍光が観察されたが、隣接する舌下腺細胞は胞体内の分泌顆粒を取り囲むように籠状の蛍光が観察された。【考察】今回、tdTomato の細胞内局在は、F-actin に大きく影響される可能性が示唆された。現在、本 tg マウスの顎下腺細胞を採取し、赤色蛍光強発現顎下腺由来細胞株の樹立を試みている。この細胞株の樹立により、顎下腺由来細胞の *in vitro* や *in vivo* における動態観察が容易になると期待される。

P2-68

異なる咀嚼負荷飼育マウスの唾液腺に対する DNA チップ解析
 ○河原 和子¹、森田 克也²、清水 慶隆³、二川 浩樹¹ (1広大院 医歯薬保健 口腔生物工、²広島文化学園大 院看護 薬理、³広大院 医歯薬保健 歯科麻酔)

【目的】肥満症や糖尿病患者の耳下腺は顎下腺に比べて脂肪沈着が亢進しやすい。習慣的な咀嚼負荷が唾液腺の糖・脂質代謝に関与する可能性を明らかにすることを目的として動物実験を行った。【材料および方法】ヒト型肥満・糖尿病モデルマウス(以下肥満マウス)と同系統の正常マウスをそれぞれ 2 群に分けて、同一組成の固形飼料あるいは粉末飼料にて 3ヶ月間飼育した。サンプリングは 16 時間絶食させたマウスにブドウ糖液(1 g/体重 1 kg)を腹注投与し、所定の時間に麻酔薬を投与し失血死させて唾液腺を採取した。遺伝子転写レベルの比較は各飼育群 3-4 匹で行い、解析には 194 種の糖・脂質代謝関連遺伝子を搭載したマウスメタボリック DNA チップを用いた。各遺伝子転写レベルの飼育群間における統計的な差違については、通法に従いノーマライズ後 Student t test に依った(有意水準=0.05)。【結果および考察】肥満マウスの顎下腺試料では、固型飼料群と粉末飼料群間で発現に有意差のある遺伝子は認められなかった。しかし耳下腺では、肥満マウスで 71 種、正常マウスで 114 種の遺伝子において飼料群間で転写レベルの有意差が認められ、有意差のあった全遺伝子において、シグナル平均値は固型飼料群>粉末飼料群であった。以上から、習慣的咀嚼負荷が耳下腺の糖・脂質代謝関連遺伝子の活性化に影響する可能性が示唆された。

P2-69

マウス唾液腺の発生過程における PACAP レセプター局在の解析
 ○野中 直子¹、中村 雅典¹ (¹昭大 歯 口腔解剖)

唾液分泌の制御は、主に自律神経支配のもとで行われる。Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) は、ヒツジの視床下部から単離・構造決定された神経ペプチドで、現在では多数の生理機能を持つ神経ペプチドとして種々の組織に認められている。これまでの我々の研究では、8 週齢と 8 か月齢の C57BL/6 マウス (♂) から三大唾液腺の耳下腺・顎下腺・舌下腺を採取し、PACAP レセプター (PACIR) について免疫組織学的検討を行い局在について検討した結果、8 週齢と 8 か月齢の三大唾液腺を比較すると、PACIR の免疫反応の局在には加齢に伴う明確な違いは見られなかった。今回の研究では、出生時 (0 日)・1・3・5・7 日の耳下腺・顎下腺・舌下腺を採取し、発生学的に PACIR の免疫反応の局在について検討を行った。耳下腺の発育は顎下腺・舌下腺の発育より極端に遅く、腺房や導管の形成は生後 3 日目位から確認できたが、免疫染色での反応は弱かった。顎下腺では、PACIR は線条部導管と顆粒性導管内にある細胞 (pillar cell) に免疫反応が認められた。また舌下腺では、PACIR の免疫反応は線条部導管に認められた。

P2-70

X 線照射されたマウスの胎仔期の顎下腺に対するアミノチオール系防護剤の効果
 ○那須 優則¹、中原 貴²、井出 吉昭² (¹日歯大 生命歯 共同研セ、²日歯大 生命歯 発生・再生)

【目的】胎仔期の顎下腺に及ぼす放射線の影響、および化学的防護剤 amifostine の効果を組織化学的、機能的に追究した。【方法】(1)マウス胎仔期 15.5 日目の唾液腺原基を分離、器官培養し、30 分間 10 mM の WR-1065 (amifostine の活性型；還元型) に浸漬し X 線 (0, 1, 3 Gy) 照射した。(2)妊娠 15.5 日目 (プラグ形成を 0.5 日とする) の親マウスに amifostine (リン酸型；プロドラッグ) を X 線照射 30 分前に 0.1 mg/g 投与した。実験(1),(2)ともに 2 日後の AQP3, AQP5, E-cadherin の発現を観察した。【結果】組織化学的観察で、放射線照射により胎仔顎下腺の分枝形態形成が遅延し、水の輸送チャンネルの AQP5 の発現が低下すること、そして防護剤がこれらの影響を軽減する傾向があることがわかった。

P2-71

糖尿病モデルラット大唾液腺に対するショウガ投与の影響について
 ○池田 利恵^{1,2}、佐藤 住美江²、菊池 憲一郎² (¹日歯大東京短大 歯科衛生、²日歯大 生命歯 解剖 2)

【目的】唾液は口腔の健康維持のために重要な役割を果たしている。糖尿病が唾液腺に与える影響を明らかにし、さらに、代謝上昇や血圧低下の効果が報告されているショウガの投与が、糖尿病モデルラットの唾液腺にどのような影響を与えるかを明らかにする目的で、本研究を実施した。【方法】糖尿病モデルラットとして GK ラットを用いた。粉末飼料のみを与えたグループをコントロール、粉末飼料に 3% のショウガ粉末を混合して与えたグループを実験群とし、1 か月間、同一条件下で飼育し、血糖値、体重、水摂取量、飼料摂取量を測定した。さらに大唾液腺のパラフィン切片を作成し、組織学的染色および抗アミラーゼ抗体を用いた免疫組織化学染色を施し、光学顕微鏡で観察した。【結果と考察】血糖値、体重増加率、水摂取量、飼料摂取量に対するショウガ投与の影響は認められなかった。耳下腺に存在する漿液細胞には、多数の空胞が認められた。顎下腺の漿液細胞にもごく少数の空胞がみられたが、舌下腺の漿液および粘液細胞には空胞が見られなかった。ショウガ投与により、耳下腺の漿液細胞では空胞が減少する傾向がみられ、細胞質のエオジン染色性が増加した。また、アミラーゼの免疫染色性が増加したことから、ショウガ投与により耳下腺の漿液細胞におけるアミラーゼ産生が増加したことが示唆された。顎下腺と舌下腺の漿液、漿液および粘液細胞では、ショウガ投与の影響は認められなかった。

P2-72

マウス顎下腺原基の分枝形態形成における Shh の影響
 ○水越 堅詞¹、小山 典子¹、林 徹¹、村上 政隆²、杉谷 博士³、松浦 幸子³、柏俣 正典¹ (¹朝日大 歯 歯科薬理、²生理研 細胞器官、³日大 獣医 生化)

【目的】分枝形態形成は器官形成において重要な現象であり、胎生期における上皮・間葉相互作用やそれらに関連する成長因子によって制御されている。本研究では、hedgehog (HH) ファミリーに属する蛋白質のひとつで、器官形成においてその重要性が報告されている Sonic hedgehog (Shh) に注目し、マウス顎下腺原基の分枝形態形成に対する効果を検討した。【方法】胎生 13 日 ICR 系マウスより顎下腺原基を採取し、Shh (200, 500, 1000, 2500 ng/ml) を添加した DMEM/F12 無血清培地を用い、フィルター上で器官培養を行った。培養開始 24, 48 h 後にそれぞれの濃度での形態変化を観察し Shh の効果を検討した。また、Shh 各濃度で 24, 48 h 培養した後、ErbB1 の特異抗体を用いてイムノプロット解析を行った。さらに、Shh (1000 ng/ml) で刺激した顎下腺を 1, 6, 12 および 24 h 後に回収し、EGF, HB-EGF, NRG1, ErbB1-4 の mRNA 発現レベルの変化をリアルタイム RT-PCR にて解析した。【結果と考察】1) Shh 1000 ng/ml 以上の濃度で刺激した顎下腺では end buds 数の有意な増加を認めた。2) Shh 刺激 1 h 後に EGF mRNA の発現レベルが有意に上昇した。3) イムノプロット解析では Shh 添加群で ErbB1 の発現増加を認めた。以上の結果より、Shh は分枝形態形成に対し促進的に働くと考えられる。この Shh の作用は、EGF/EGFR 系の活性化を介して発現している可能性が示唆された。

P2-73

胎生 12 日齢と胎生 13 日齢のマウス顎下腺原基の違いについて
 ○小山 典子¹、水越 堅詞¹、林 徹¹、柏俣 正典¹ (朝日大 歯 歯科薬理)

唾液腺が形成される過程において、上皮間葉相互作用が重要な役割を演じている。マウスの顎下腺は胎生 11 日目に口腔底の粘膜上皮が顎部方向に陥没することから始まる。胎生 12 日目になると上皮の先端に切れ込み (分枝) が入り、その後 2 方向に分かれ茎部の伸長が起きる。さらにそれぞれの上皮の先端は分枝と伸長反応を繰り返すことで外分泌腺の基本構造が形成される。ところで、胎生 13 日齢のマウスから摘出された顎下腺原基から間葉を除き、上皮組織を培養すると、器官形成は停止してしまう。一方、胎生 13 日齢の顎下腺原基をそのまま培養すると、無血清の条件下で培養しても分枝形態形成が継続して進行する。つまり、顎下腺器官形成メカニズムの本質は顎下腺自体にあると考えられる。しかしながら、胎生 12 日齢のマウスから摘出された顎下腺原基を胎生 13 日齢の顎下腺原基と同様に培養しても分枝形態形成はほとんど進行しない。そこで、われわれは胎生 12 日齢および胎生 13 日齢のマウスから顎下腺を摘出し、上皮と間葉を分離した後に、胎生 12 日齢の上皮組織と胎生 13 日齢の間葉組織をそれぞれ組み合わせて器官培養を行った。その結果、培養後 48 時間後から分岐の形成が認められ、その後継続した分枝形態形成が認められた。以上の結果から、胎生 12 日齢から 13 日齢の間に間葉で生じる何らかの変化が顎下腺の分枝形成の着手と継続に重要な役割を果たすことが示唆された。

P2-75

Rab14 GTPase の CCN2/CTGF 結合因子としての同定、およびこれらの相互作用が軟骨細胞の小胞輸送に及ぼす役割
 ○星島 光博^{1,2}、服部 高子¹、青山 絵理子³、西田 崇¹、滝川 正春^{1,3} (岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 病院 矯正歯科、³岡大 歯 機能系 共同)

CCN2 は軟骨に強い発現を示し、軟骨細胞の増殖・分化だけでなく、線維芽細胞や血管内皮細胞の接着・遊走など多彩な生理機能を発揮する液性因子である。我々は CCN2 の機能を調節する分子を探索し、これらの分子間の相互作用が軟骨細胞に与える影響を調べた。軟骨細胞様細胞株 HCS-2/8 由来の cDNA ライブラリーから、CCN2 と結合する因子として Rab14 を同定した。GFP 融合 CCN2 と Halo 融合 Rab14 蛋白質 (WT)、またはその constitutive active (CA) form あるいは dominant negative (DN) form を COS7 細胞で発現させ、細胞内の局在を調べた。その結果、CCN2 を共発現しない場合、Rab14 WT は細胞質全体に均一な分布を示したが、CCN2 と Rab14 WT または CA form を共発現すると、両者は細胞質全体でドット状に共局在した。一方で、CCN2 と DN form は、主に核周辺の領域に限局してドット状に共局在した。さらに、Rab14 およびその変異体を HCS-2/8 細胞に過剰発現させたところ、プロテオグリカン (PG) の細胞周囲への蓄積は、DN form の Rab14 では野生型と比較して 75% に低下した。今回の結果は、軟骨細胞内で CCN2 と Rab14 が相互作用し、PG を含む小胞の輸送に関与している可能性を示唆している。

P2-74

進行性骨化性線維異形成症から同定された 2 種類の ALK2 変異体は II 型受容体に対する感受性が異なる
 ○藤本 舞^{1,2}、大澤 賢次¹、古株 彰一郎¹、須田 直人²、片桐 岳信¹ (埼玉大 ゲノム 病態生理、²明海大 歯 歯科矯正)

【目的】 進行性骨化性線維異形成症 (FOP) は BMP1 型受容体 ALK2 の遺伝的変異により、全身の骨格筋組織内で異所性骨化を生じる。典型的 FOP 症例 R206H では小児期から成長に伴い骨化が進行し、さらに筋損傷によって急激な異所性骨化が起こる。最近、FOP の非典型的の症例として、筋損傷後も骨化を認めずに成人になって初めて骨化した遅発性の症例から、新規の ALK2 変異 (G325A) が同定された。本研究では、G325A の活性化機構を解析した。【方法・結果】 マウス筋芽細胞株 C2C12 に ALK2 変異体と筋損傷で発現の増加する II 型受容体 (BMPR-II) を共発現させて ALP 活性を測定した。R206H は BMPR-II で活性化されたのに対し、G325A の活性は上昇しなかった。G325A は、別の II 型 BMP 受容体の ActR-IIB により活性化され、キナーゼ活性のない ActR-IIB 変異体では活性化されなかった。ALK2 の細胞内領域には II 型受容体によってリン酸化され得る 9 つの Ser/Thr 残基がある。G325A の 203 番目の Thr を Val に置換すると ActR-IIB による活性化が阻害されたが、Thr203 以外の 8 つの Ser/Thr 残基を置換しても ActR-IIB で活性化された。【考察】 筋損傷後に異所性骨化を認めなかった症例から同定された G325A は、BMPR-II で活性化されずに、ActR-IIB で活性化された。この活性化には、ActR-IIB による ALK2 の Thr203 残基のリン酸化が重要と考えられた。FOP の臨床症状は各 ALK2 変異体の BMP の II 型受容体に対する感受性によって異なる可能性がある。

P2-76

PKR は炎症性骨破壊において重要な役割を果たしている
 ○寺町 順平¹、森本 景之²、羽地 達次¹ (徳大院 HBS 口腔組織、²産医大 医 解剖)

【目的】 PKR は TNF α 、LPS などに応答し、細胞の防御機構やアポトーシスに関与する蛋白質リン酸化酵素である。我々は PKR が RANKL による破骨細胞形成に重要な役割を果たしていることを報告したが、歯周病による炎症局所の微小環境における PKR の役割については不明である。そこで LPS 刺激によるヒト歯肉線維芽細胞 (HGF)、骨髄ストローマ細胞 (BMSC)、破骨細胞に対する PKR の役割を検討した。【方法】 歯周炎を惹起させたラットを作成し PKR の発現を検討した。HGF と BMSC およびマウス骨髄由来破骨細胞に PKR 阻害剤 (2AP) を前処理し、LPS 刺激後の RANKL の発現、細胞内情報伝達系と破骨細胞形成を検討した。【結果と考察】 歯周炎を惹起させたラットの歯周組織での PKR の発現は対照群に比べて上昇していた。HGF、BMSC、破骨前駆細胞において LPS、TNF α により PKR の発現が誘導された。LPS は HGF、BMSC の RANKL の発現を誘導し、2AP 処理により解除された。LPS は単独では破骨細胞形成を誘導しないが、RANKL を前処理することで破骨細胞形成を誘導し、その効果は 2AP 処理により解除された。HGF、BMSC、破骨前駆細胞で 2AP は LPS により活性化される NF- κ B、MAPK シグナルを抑制した。以上の結果から PKR は炎症局所の微小環境において破骨細胞の形成に関与していることが示唆された。

P2-77

臚細胞による骨芽細胞の制御

○和田 悟史¹、島田 明美²、中村 芳樹¹、中島和久²、二藤 彰² (鶴見大 歯 矯正、²鶴見大 歯 薬理)

【目的】歯根膜は形態学的に臚および靭帯と類似した緻密結合組織であり、歯を顎骨に固定するとともに、咬合力などのメカニカルフォースが顎骨に直接加わらないように緩衝する役割を果たしている。従って歯根膜組織内の細胞と骨芽細胞には相互作用があると想定されるが、分子レベルでのメカニズムは明らかになっていない。今回の研究では歯根膜類似組織である臚組織による骨芽細胞への作用に着目し、臚由来細胞が骨芽細胞を制御するか否かを検討した。【資料および方法】マウスの臚由来細胞と骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 細胞の共培養を行い、分化への影響を調べた。さらに、臚細胞由来の可溶性物質が MC3T3-E1 細胞に影響を与えるか調べるために、両者の conditioned medium (CM) を MC3T3-E1 細胞に添加し、アルカリフォスファターゼ (ALP) 染色および免疫蛍光染色を行った。【結果および考察】MC3T3-E1 細胞単独培養に比べて、臚由来細胞との共培養時にオステオカルシンの発現が減少した。CM 添加実験において培養 14 日後、両者の形態に変化が認められ、ALP 活性染色でも異なる染色パターンが認められた。免疫蛍光染色では、臚由来細胞-CM 群で cleaved caspase3 陽性細胞が MC3T3-E1-CM 群に比べて多く認められた。【結論】臚由来細胞の可溶性物質が骨芽細胞の機能および生死を制御している可能性が示唆された。

P2-79

流体剪断応力により重合したアクチンにより CCN2 の発現と骨芽細胞の分化は誘導される

○本城 正¹、久保田 聡²、上岡 寛³、山城 隆⁴、滝川 正春²、山本 照子⁵ (¹ 鳥大 医 附 属 病 院 口 腔 外、² 岡 大 院 医 歯 薬 口 腔 生 化、³ 岡 大 院 医 歯 薬 歯 科 矯 正、⁴ 阪 大 院 歯 顎 顔 面 矯 正、⁵ 北 大 院 歯 顎 口 腔 矯 正)

流体剪断応力 (FSS) は骨のリモデリングを生じる主要なメカニカルストレスである。一方 CCN ファミリープロテイン 2 (CCN2) は近年、骨欠損に対する組織再生因子であることが明らかとなってきた。本研究では骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用いて FSS 負荷による Ccn2 発現に対する作用を評価し、そのメカニズムを調べた。Ccn2 の発現は FSS により劇的に上昇し、その強度は FSS に比例した。FSS による Ccn2 の発現は Rho キナーゼ阻害剤である Y27632 により阻害された。さらにアクチンフィラメント重合阻害剤を用いたところ、FSS による Ccn2 の発現はブロックされた一方で、アクチンフィラメント重合促進剤である cytochalasinD や jasplakinolide は Ccn2 の発現を増強した。これらの結果はアクチンフィラメントの形成が骨芽細胞への分化を誘導することを示唆した。加えて Rho シグナルを阻害する cAMP 依存性キナーゼは Ccn2 に対する FSS の効果を抑制した。以上から FSS による Ccn2 の増大と骨リモデリングにおいてアクチンフィラメント重合と Rho キナーゼが重要な役割を果たすことが示された。

P2-78

エストロゲンの骨芽細胞様 MC3T3-E1 細胞の各種 ATPase に対する作用

○孔 令群¹、鈴木 邦明²、山出 義昭¹、工藤 智也¹、吉村 善隆¹ (¹ 日 出 歯 科 診 療 所、² 北 大 院 歯 口 腔 病 態 細 胞 分 子 薬 理)

【目的】骨芽細胞様 MC3T3-E1 (E1) 細胞を用い、無機イオンの輸送に関与する可能性のある各種 ATPase に対するエストロゲンの作用を明らかにすることを目的とした。【方法】各種濃度の 17β-エストラジオール (17β-E) 存在下で 10、20、30 日間培養した E1 細胞のホモジェネートを使用し、アルカリ性ホスファターゼ (ALP) 活性と ATPase 活性を測定した。【結果と考察】1. ALP 活性は、どの日数でも 10⁻⁹M から 10⁻⁵M の 17β-E で濃度に依存して増加し、10⁻⁵M でその作用は顕著であった。2. Na,K-ATPase 活性を 17β-E は 20 日目に約 2 倍増加したが、17β-E の濃度依存性は認められなかった。3. Ca-ATPase 活性は、10⁻⁵M の 17β-E ではどの日数でも有意に増加した。一方、Ca,Mg-ATPase 活性も 17β-E により増加した。4. Mg-ATPase 活性に対する 17β-E の作用は、20 及び 30 日では ALP に対する作用に類似していたが、20 日での 17β-E 濃度依存性は観察されなかった。以上の結果から、17β-E による E1 細胞の各イオン輸送 ATPase 活性の活性化時期は異なっており、ATPase に対する活性化作用は 10⁻⁵M という高濃度で強いことが示唆された。石灰化部位に存在すると推測される、アルカリ性至適 pH で高濃度の Ca を必要とする ATPase は、10⁻⁵M の 17β-E で顕著に促進されたことから、石灰化部位に Ca を供給する ATPase となる可能性があると考えられた。

P2-80

メカニカルストレスに対する歯槽骨 SOST mRNA の経時的発現変動

○藤原 敦¹、渡邊 竜太²、青木 啓太^{1,3}、矢野 航²、佐藤 和彦²、小萱 康徳²、北井 則行¹、江尻 貞一² (¹ 朝 日 大 院 歯 歯 科 矯 正、² 朝 日 大 院 歯 口 腔 解 剖、³ 朝 日 大 院 歯 科 放 射 線)

【目的】生理的に遠心移動しているラット臼歯を矯正学的に近心移動させ、メカニカルストレスの方向を変化させることで誘導される SOST mRNA (mRNA) の発現変動を検索した。【材料と方法】ラット上顎臼歯部を Waldo 法により近心移動させ、術後 6、12、18、24 時間後に上顎骨を摘出し、*in situ* Hybridization により SOST mRNA の発現を検索した。観察部位は第一臼歯の近心口蓋根 (MP) と遠心口蓋根 (DP) 間の根間中隔歯槽骨とした。通常飼育した動物を対照群とした。【結果と考察】対照群では MP 遠心に面する根間中隔の歯槽骨が圧迫されていた。MP 遠心の歯槽骨中の骨細胞では生理的遠心移動に伴う圧迫により mRNA の発現が抑制されていた。DP 近心の歯槽骨中の骨細胞では mRNA 発現が認められたが、骨形成が生じている骨表面直下の骨細胞では mRNA の発現は認められなかった。また、実験群では DP 近心に接する歯槽骨が圧迫されていた。術後 6 時間、12 時間では対照群と同様の所見であったが、術後 18、24 時間では対照群で認められた DP 近心の歯槽骨中の骨細胞の mRNA の発現が消失していた。従って、矯正力により歯の移動方向を逆転させ骨に強いメカニカルストレスが加わると、18 時間後には骨細胞での SOST mRNA の発現が消失していることが示された。

P2-81

メカニカルストレスによって歯槽骨に生じる応力分布と sclerostin 免疫局在の変化について

○渡邊 竜太¹、青木 啓太^{2,3}、藤原 敦²、矢野航¹、佐藤 和彦¹、小萱 康徳¹、北井 則行²、江尻 貞一¹ (朝日大 歯 口腔解剖、²朝日大 歯 歯科矯正、³朝日大 歯 歯科放射線)

【目的】メカニカルストレスに誘導される骨改造現象調節機構を解明するため、咬合力により臼歯が遠心移動しているラットを用い、生理的および矯正学的歯牙移動時の歯槽骨の反応を生体力学的・組織学的に検索した。【材料と方法】ラット上顎歯槽骨に仮想咬合力で生じる応力分布を μ CT3 次元有限要素法にて解析し、骨標識の観察、TRAP 染色、sclerostin 免疫染色を行った。また歯牙に矯正処置を施し、1、3、5、7日後の sclerostin 陽性反応の局在変化を検索した。【結果】圧縮歪みが分布する領域の歯槽骨表面に骨吸収が認められ、伸展歪み分布領域の歯槽骨表面に骨形成が認められた。sclerostin 免疫反応は歯槽骨全域に認められたが、強い剪断応力が分布する領域の歯槽骨では sclerostin 免疫反応は減弱していた。矯正処置後1、3日目に近心口蓋根-遠心口蓋根間歯槽骨の sclerostin 免疫反応は消失していたが、矯正力が減弱する5、7日目では同部位の骨細胞に sclerostin 免疫反応を認めた。【結論】圧縮歪み領域に骨吸収が、伸展歪み領域に骨形成が誘導される事が示された。また骨細胞が剪断応力を感知し sclerostin 産生を抑制することが示唆された。さらに矯正力によって速やかに sclerostin 産生が停止され、矯正力の減弱とともに産生を再開する可能性が示された。

P2-82

W9 ペプチドの破骨細胞形成抑制作用と骨芽細胞分化促進作用

○中村 美どり^{1,2}、宇田川 信之^{1,2}、青木 和広³、大谷 啓一³ (松歯大 生化、²松歯大 総歯研、³東医歯大 院医歯薬 硬組織薬理)

【目的】我々はこれまでに、W9 ペプチドを正常マウスに投与することにより、骨幹部での石灰化率および骨形成率の上昇が認められ、結果として皮質骨密度が有意に上昇することを報告した。今回、マウス骨髄培養系における破骨細胞形成と骨芽細胞分化に対する W9 ペプチドの効果を検討した。【方法】約8週齢の正常 ddY マウスから骨髄細胞を採取し、RANKL と M-CSF 存在下で7日間培養後、TRAP 染色と ALP 染色を施し、破骨細胞と骨芽細胞の分化に対する W9 ペプチドの効果を検討した。【結果】正常マウス骨髄細胞における RANKL 誘導性の破骨細胞形成に対して W9 は TRAP 陽性多核破骨細胞形成を濃度依存的に抑制した。W9 (100 μ M) 添加群において、TRAP 陽性多核細胞形成が完全に阻害されたが、ALP 陽性の骨芽細胞は多数出現した。W9 (200 μ M) 添加群においては、ALP 陽性骨芽細胞からなる Nodule 形成が著明に認められた。【考察・結論】RANKL に結合する W9 ペプチドは、RANK シグナルを阻害することにより破骨細胞分化を抑制する。さらに、W9 ペプチドは骨芽細胞表面の RANKL に結合し骨芽細胞分化を誘導するものと考えられる。RANKL-RANK シグナルは、骨吸収のみならず、骨芽細胞による骨形成にも重要な役割を有する可能性がある。会員外共同研究者：古屋優里子 保田尚孝 (オリエンタル酵母工業株式会社)

P2-83

p130Cas の破骨細胞における骨吸収能発現のメカニズム

○大澤 賢次^{1,2}、福島 秀文¹、田村 幸彦³、青木和広³、大谷 啓一³、牧 憲司¹、自見 英治郎¹ (九歯大 分子情報生化、²埼玉大 ゲノム 病態生理、³東医歯大 硬組織薬理、⁴九歯大 口腔機能発達)

【目的】p130Cas (Cas) は細胞内のアクチン重合や細胞骨格の再構成に関与する分子で、破骨細胞特異的に Cas を欠損させたマウス (OC-CasKO) では破骨細胞の吸収不全による大理石骨病を呈する。そこで、この細胞を用いて Cas による破骨細胞の骨吸収能調節機構について検討した。【結果と考察】1. 野生型マウス (WT) 由来破骨細胞と比較して、OC-CasKO 由来破骨細胞ではアクチンリング形成が抑制され、波状縁の形成不全を認めた。2. 両群由来の破骨細胞をプレート上に播種すると、細胞接着に重要な β 3 インテグリン、c-Src および Pyk2 のリン酸化に差はなかった。3. OC-CasKO ではアクチン重合に関わる Rac1 の活性が減少しており、Rac1 および下流の Arp3 の細胞内局在が、WT ではアクチンリングと共局在したが、OC-CasKO では細胞内全体に分布していた。4. Rac1 の活性調節因子である Dock5 は、WT では c-Src、Pyk2 と会合するが、OC-CasKO では会合しなかった。さらに OC-CasKO では c-Src と Pyk2 の会合が減弱していた。5. OC-CasKO 由来破骨細胞に野生型 Cas 遺伝子を導入すると Dock5 は Cas と会合し、骨吸収機能が回復したが、Pyk2 との会合ができない変異型 Cas を導入しても Dock5 は Cas と会合せず、骨吸収機能は回復しなかった。以上より、p130Cas は c-Src、Pyk2、Dock5 と複合体を形成し、Rac1-Arp3 シグナルを活性化させることにより破骨細胞の骨吸収能を制御していると考えられた。

P2-84

骨折治癒過程におけるソニックヘッジホッグの役割

○松本 憲一¹、堀切 優¹、志茂 剛¹、栗尾 奈愛¹、奥井 達雄¹、黒田 大雅¹、佐々木 朗¹ (岡大 院医歯薬 口腔顔面外科)

【緒言】ソニックヘッジホッグ (SHH)、Focal adhesion kinase (FAK) 共に骨芽細胞の増殖、分化に重要な役割を担っている。今回我々は、骨折治癒過程における SHH と FAK の発現ならびにそれらの関連性について検討したので報告する。【材料ならびに方法】ICR マウス雄8週齢、第8肋骨骨折モデルを作製した。Short hairpin FAK RNA レンチウイルスを骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞に感染させ、FAK ノックダウン骨芽細胞を作製した。また、破骨細胞形成能の検討は、MC3T3-E1 細胞とマウス骨髄 CD11b+ 細胞との共存培養系を用いた。【結果】骨折後3、5、14日目に皮質骨断端部の TRAP 陽性破骨細胞に隣接した ALP 陽性骨芽細胞に SHH、pFAK-Thy397 発現した。in vitro において、SHH を MC3T3-E1 細胞に添加すると、pFAK-Thy397 の発現上昇を認め、増殖能、分化能、破骨細胞形成能は有意に促進されたが、FAK ノックダウン細胞にはこれらの促進効果は認められなかった。【結論】骨折治癒過程増殖期から仮骨形成期において、骨髄細胞、骨芽細胞から産生される SHH は、骨芽細胞における pFAK-Tyr397 リン酸化を介し、骨芽細胞増殖、分化や破骨細胞形成を促進することが考えられた。

P2-85

骨シアロ蛋白質(BSP)遺伝子の Runx2 による転写調節機構の解明

○山内 雅人¹ (神歯大 院歯 高度先進口腔医学)

【目的】骨シアロ蛋白質(BSP)は骨芽細胞やセメント質等の硬組織特異的発現を特徴とし、それらの石灰化に重要な機能的役割を担う基質蛋白質である。演者はマウス BSP の遺伝子調節領域 9.0 kb をクローニングし、同領域内に存在する 3 か所の Runx2 認識配列(OSE2)の転写調節機構を検討した。【方法】各 Runx2 認識配列(OSE2-1~OSE2-3)の連結断片と転写開始点上流プロモーター領域 0.1 kb を結合したキメラ遺伝子を作製し、リポーターベクターにクローニングした。さらに線維芽細胞株 C3H10T1/2 に一過性にトランスフェクションして、それらの転写活性を検討した。また、各 Runx2 認識配列を含む遺伝子領域のクロマチン活性化状態は前骨芽細胞株 MC3T3E1 細胞によるクロマチン免疫沈降法にて検討した。【結果および考察】3 か所の Runx2 認識配列のうち OSE2-2 の連結ベクターは Runx2 発現ベクターの添加により約 14 倍の転写活性の上昇を示した。また OSE2-3 の連結ベクターは約 3 倍の活性上昇を示したが OSE2-1 は活性抑制を示した。また、Runx2 抗体とアセチル化ヒストン抗体を用いたクロマチン免疫沈降法の結果、Runx2 の結合により OSE2-2 のクロマチン状態は活性化していた。これまでマウス BSP の遺伝子調節領域 9.0 kb が組織特異性を維持することを示してきたが、今回報告した 3 か所の Runx2 認識配列が協調してその転写制御を行っていることが強く示唆された。

P2-87

機械的刺激は DC-STAMP の発現抑制により RAW264.7 細胞の破骨細胞分化誘導を抑制する

○吉村 善隆¹、亀山 純香^{1,2}、長谷川 智一³、出山 義昭¹、鈴木 邦明¹、飯田 順一郎² (北大院歯 細胞分子薬理、²北大院歯 歯科矯正、³徳大病院 小児歯)

機械的刺激は、骨代謝において重要な役割を果たしているが、破骨細胞に機械的刺激を直接作用させた報告は少ない。今回、伸展刺激が破骨細胞分化にどのような影響を与えるのかを検討した。RANKL 添加培養液を用いて RAW264.7 細胞を Bio-Flex plate にて 72 時間培養した後、Flexercell tension system を用い、30 cycle/分、10% 伸展刺激を 6、12、24 時間作用させた。TRAP 染色にて破骨細胞(2 核以上)数および巨大破骨細胞(8 核以上)数を測定し、破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量の変化をリアルタイム PCR 法にて定量し、タンパク質発現量の変化をウェスタンブロット法にて解析した。24 時間伸展刺激群では TRAP 陽性破骨細胞数および巨大破骨細胞数は有意に減少した。破骨細胞マーカー遺伝子群の mRNA 発現量は、6、12、24 時間のいずれの時点でも有意に減少した。また、破骨細胞の融合因子である DC-STAMP および OC-STAMP の mRNA 発現量も伸展刺激によって減少した。DC-STAMP のタンパク質発現量は、24 時間の伸展刺激によって顕著に減少し、接着因子である E-cadherin、Integrin α V および Integrin β 3 のタンパク質発現量も減少した。これらの結果より、伸展刺激は DC-STAMP などの細胞融合に関係する分子の発現を抑制し、細胞融合を抑制することで破骨細胞分化を抑制した可能性が示唆された。

P2-86

Sanguisorba officinalis 由来化学成分の破骨細胞分化に対する影響

○坂井 詠子¹、岩竹 真弓¹、西下 一久¹、福岡裕¹、岡元 邦彰¹、筑波 隆幸¹ (長大院医歯薬 口腔病態薬理)

【目的】バラ科の多年草ワレモコウ(*Sanguisorba officinalis*)の根より抽出精製した化学成分である Sanguin H-6 は、LPS 刺激した腹腔マクロファージにおいて抗酸化作用を示すことが報告されている。酸化ストレスは破骨細胞分化を促進することから、抗酸化作用を持つ Sanguin H-6 による破骨細胞分化への影響を調べた。【方法】マクロファージ系細胞株 RAW-D を RANKL 刺激により破骨細胞へ誘導する系と、マウス骨髄細胞を M-CSF と RANKL で刺激する系を用いた。TRAP 染色による多核破骨細胞数の計測と Osteo Assay Plate を用いた骨吸収活性の比較、及び細胞生存率を Cell Counting Kit-8 を用い評価した。さらにウエスタンブロット法を用いて、破骨細胞のマーカータンパクの発現と RANKL 刺激後のシグナルの活性化を比較した。【結果と考察】Sanguin H-6 は毒性のない濃度で顕著に破骨細胞形成と骨吸収活性を阻害した。また、Sanguin H-6 は RANKL 刺激後の ERK と p38 MAPK のリン酸化を阻害した。第 2 相抗酸化酵素であるヘムオキシゲナーゼの発現を顕著に誘導する一方、NFATc1、カテプシン K、Src のタンパク発現は濃度依存的に抑制した。さらに Sanguin H-6 は NFATc1 と NF- κ B1547:B の核移行を抑制した。以上の結果から、Sanguin H-6 は破骨細胞分化シグナルの NFATc1 と NF κ B の経路を阻害することで分化を阻害するものと思われる。(共同研究者：田中隆 長大院医歯薬天然物化学、北島玲那 長大歯学部)

P2-88

破骨細胞の分化抑制に関するザクロポリフェノールの作用メカニズムの解明

○岩竹 真弓¹、坂井 詠子¹、西下 一久¹、岡元 邦彰¹、筑波 隆幸¹ (長大院医歯薬 口腔病態薬理)

【目的】ザクロの果皮の約 50% を占めるブニカラジンは強力な抗酸化作用を持つポリフェノールで、動脈硬化抑制・抗腫瘍などの効果がある。しかしながら、破骨細胞へのブニカラジンの作用については解明されておらず、本研究に着手することにした。【方法】破骨細胞の分化にはマウス骨髄マクロファージ細胞株 RAW-D およびマウス骨髄細胞を用いた。薬物代謝第 2 相酵素 NQO-1 の発現による抗酸化効果をリアルタイム PCR によって調べた。破骨細胞形成については TRAP 染色法により評価した。また、RANKL によって誘導される p38MAPK や NF κ B などのリン酸化についてウェスタンブロット法により検討した。骨吸収はピットアッセイ法を用いた。【結果と考察】ブニカラジンは RANKL 存在下で濃度依存的に破骨細胞形成を抑制した。また、ブニカラジンの破骨細胞毒性への影響が少ない濃度において、NQO-1 の発現は経時増加した。さらに、ブニカラジンは I κ B、NF- κ B、p38 MAPK、および ERK のリン酸化を抑制した。したがってブニカラジンは、I κ B キナーゼ活性の抑制を介して RANKL 誘導性の I κ B および NF- κ B の依存的経路と ERK、p38 MAPK それぞれの MAPK カスケードの活性化も抑制していることが明らかになった。以上の結果から、破骨細胞形成が阻害されていると考えられる。(共同研究者：田中 隆：長大院医歯薬 天然物化学)

P2-89

骨折治癒過程における TRPV4 チャネルの関与
 ○沖 雄二¹、合島 怜央奈¹、畠山 純子¹、大崎 康吉¹、張 旌旗¹、村田 直久¹、木附 智子¹、城戸 瑞穂¹ (九大 院歯 分子口腔解剖)

【目的】細胞内外のカルシウムにより骨の細胞が調節されることから、カルシウムは骨のホメオスタシスに最も重要なものの一つである。骨のカルシウム維持に関わるチャネルが多く報告されてきたが、TRP (transient receptor potential) チャネルファミリーが骨において大きな役割を果たしていることが解ってきた。中でも TRPV4 は、軟骨細胞や破骨細胞の分化に関わる事が報告されている。本研究では、TRPV4 の機能を明らかにすることを目的として骨折の治癒過程における TRPV4 遺伝子欠失の影響を検討した。【方法】野生型マウスと TRPV4 遺伝子欠損マウス (TRPV4KO) を用いた。マウスの膝蓋骨直下の脛骨近位端中心部より髓内釘を挿入し、骨折作製装置により脛骨遠位部に横骨折を加えた。手術後 2 週間および 4 週間後に脛骨を摘出し、通常に従って固定を施した。高解像度 μ CT 解析および組織学的な解析を行った。【結果と考察】 μ CT 撮影像の三次元解析により、TRPV4KO は野生型と比較して、骨組織量、骨梁大きさ、骨密度の値が有意に小さかった。組織観察において TRPV4KO では野生型より骨化部位が少なく、骨の再生が遅延していることが推測された。また、TRPV4 KO では仮骨部位の細胞成分が野生型よりも粗であり、さらに軟骨の形成が野生型より少なかった。以上より TRPV4 の欠損は、骨折の治癒を遅延させていることが考えられた。

P2-91

ヒト骨肉腫由来 MG-63 細胞培養上清中の破骨細胞分化制御因子
 ○唐木田 丈夫¹、山越 康雄¹、大井田 新一郎¹ (鶴見大 歯 分子生化)

破骨細胞の分化は主に骨芽細胞から発現される膜結合型の破骨細胞分化因子 (RANKL) と分泌型の破骨細胞形成抑制因子 (OPG) によって調節されていることが知られている。【目的】今回我々はヒト骨肉腫由来の MG-63 細胞の培養上清に含まれる破骨細胞分化制御因子を分離精製し同定することを試みた。【方法】MG-63 細胞を 10% FBS 含有 α MEM 培養液中で培養した後、培養液を無血清 α MEM に交換して 3 日間培養した。培養上清をイオン交換クロマトグラフィーにて分離し、素通り画分を溶出した後、5 段階の NaCl 濃度グラジエント (0.1 M, 0.2 M, 0.4 M, 0.8 M, 1.6 M) でタンパク質画分を溶出した。破骨細胞分化に対する効果を調べるために、それぞれの画分を可溶性 RANKL とともにマウス単球由来の RAW264 細胞に添加し、3 日間培養して酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ活性を測定した。【結果】イオン交換クロマトグラフィーで分離した画分のうち、素通り画分及び 0.1 M NaCl 溶出画分には破骨細胞分化を促進する物質が、0.2 M 及び 0.8 M NaCl 溶出画分には抑制する物質が含まれていることが判明した。【結論】MG-63 細胞の培養上清中には破骨細胞分化促進因子と荷電状態の異なる 2 つの抑制因子が共存していることが示唆され、現在それら物質の同定を検討中である。

P2-90

Effect of VCAM-1 on the osteoclast differentiation in RAW264.7 cells
 ○林 寛¹、氏井 庸介¹、合田 征司²、池尾 隆²、松本 尚之¹ (大歯大 院歯 矯正、²大歯大 院歯 生化)

【目的】RANKL 刺激による破骨細胞分化機序について解明することを目的とした。今回、RANKL 刺激による破骨細胞分化における VCAM-1 の役割の詳細を解明するために以下の検討を行う。【方法】VCAM-1 を plate に固層化し RAW264.7 細胞を 24 時間培養後 3 日間 RANKL 刺激を加え、TRAP 染色を行い TRAP 陽性反応かつ多核化してあるものを破骨細胞としその数を測定した。また、VCAM-1 を固層化し RAW264.7 細胞を RANKL にて 30 分刺激を行い FAK および ERK のリン酸化を Western Blotting で確認した。PBS(-)にて洗浄後 sample buffer (0.0625M tris-HCl (pH6.8), 2% SDS, 15% glycerol, 5% 2ME) を加えて、99°C で 3 分間ボイルし泳動用試料とした。等量の試料を 8% SDS-PAGE に供し PVDF メンブレンに転写し、リン酸化特異的 1 次抗体、HRP 標識 2 次抗体を反応させ、X 線フィルムにて感光させ現像した。同一メンブレンを WB stripping solution strong で処理し、1 次抗体を用いて同様に検出した。【結果】VCAM-1 との共刺激は RAW264.7 細胞の破骨細胞分化能を有意に促進した。また、VCAM-1 と RANKL 共刺激において FAK (py397, py576) および ERK のリン酸化が増強されたが、FAK、ERK のタンパク質量に変化は認められなかった。【考察】以上より、RAW264.7 細胞において炎症性サイトカインにより発現される VCAM-1 が破骨細胞分化を促進し、そのシグナル伝達経路には FAK (pY397, pY576)、MAP Kinase の ERK 経路が関与している可能性が示唆された。

P2-92

破骨細胞分化の後期に産生される Wnt1 は破骨細胞機能を促進する
 ○天野 滋¹、大森 喜弘¹ (明海大)

【目的】昨年の本学会で、破骨細胞分化の初期に誘導される Wnt6/ β -catenin シグナルが、DC-STAMP 遺伝子発現を促進し破骨細胞の多核化に関与していることを報告した。今回私共は、破骨細胞分化の後期に誘導されてくる Wnt1 が破骨細胞の骨吸収機能に関与しているか否か破骨細胞前駆細胞株 4B12 細胞を用いて検討したので報告する。【方法・結果】1) 4B12 細胞を M-CSF と sRANKL で刺激したところ、1 日目に Wnt2b と Wnt6 が、3 日目に Wnt5b と Wnt9a が、そして 5 日目に Wnt1 の遺伝子発現が認められた。2) 4B12 細胞を dentin slice 上に 5000 個播種し、まず M-CSF と sRANKL を含有する培地で 5 日間培養した。その後、同様の培地に交換、さらに Wnt1 を添加し 5 日間培養した。その結果、Wnt1 を添加することによって非添加群より骨吸収活性の上昇が認められた。また、Itgb3、Car2、Ctsk、Mmp9 の遺伝子発現の上昇が認められた。3) Wnt1 のシグナル伝達経路のターゲットである β -カテニンを siRNA でノックダウンしたところ、Car2 の遺伝子発現が抑制された。【考察】M-CSF と RANKL 刺激によって破骨細胞分化の後期に誘導されてくる Wnt1 は、破骨細胞の骨吸収機能を正に制御している可能性が示唆された。

P2-93

膜ナノチューブを介する破骨前駆細胞間融合の走査電顕的解析

○張 旌旗¹、高橋 良^{1,3}、久木田 明子²、成松 加奈子^{1,4}、上原 範久¹、山座 孝義¹、城戸 瑞穂¹、久木田 敏夫¹ (¹九大 歯 分子口腔解剖、²佐賀大 医 微生物、³九大 歯 咀嚼機能再建、⁴九大 歯 矯正)

【目的】膜ナノチューブ(TNTs)は極めて細いトンネル状の細胞間橋であり、免疫系細胞間の情報伝達において重要な役割を演ずる。破骨細胞は造血幹細胞に由来する前駆細胞が特異的に認識・融合することによって形成される多核細胞である。RANKL 下流のシグナル伝達機構についてはよく分かってきたが、前駆細胞同士の融合機構については不明な点が多い。我々は破骨前駆細胞間の融合に TNTs が重要な役割を示唆する所見を報告した。今回、前駆細胞間の融合過程で高頻度に出現する TNTs について、走査電顕を用いて観察し、融合過程の詳細な形態学的解析を行った。【方法】破骨前駆細胞株である RAW-D 細胞を RANKL および TNF- α で刺激し、培養破骨前駆細胞の TNTs を走査電顕で解析した。【結果と考察】 TNTs は形態学的に細型、中型、太型の 3 種類に分類することができた。中型 TNTs は遠隔の細胞と連結する傾向が高いことが分かった。TNTs の太さの違いは分子輸送能や情報伝達能と関係していることが示唆された。また、TNTs は 2 個の前駆細胞間の結合のみならず、複数の前駆細胞同士の結合にも使われており、細胞間の融合も観察された。遠くに存在する特定の細胞との間にも TNTs は形成されており、遠隔への迅速な情報伝達が行われている可能性が示唆された。TNTs を介した分子の移動を含む相互作用が前駆細胞間の融合に重要な役割を持つ可能性が示唆された。

P2-95

ケルセチンは膜型エストロゲン受容体 GPR30 を介して破骨細胞の分化を抑制する

○増原 正明¹、塚原 飛央¹、佐藤 友昭¹ (¹鹿大院医歯 歯科薬理)

ケルセチンはタマネギ、ケッパーなどをはじめとする多くの食物に含まれるフラボノイドであり、抗炎症作用や抗酸化作用などが報告されている。さらに骨吸収の減弱作用についても報告されているが、破骨細胞の分化や活性化に対してケルセチンがどのように作用しているかについてはほとんど解明されていない。本研究では骨髄細胞からの *in vitro* 破骨細胞分化系を用いて、10 μ M のケルセチンによって RANKL による破骨細胞が抑制されること、およびこの抑制にエストロゲンの核内受容体 ER α だけでなく膜型エストロゲン受容体 GPR30 が関与していることを見いだした。GPR30 は破骨細胞の分化のすべての時期で発現しており、GPR30 の特異的アゴニストは破骨細胞分化を抑制し、さらに GPR30 のアンタゴニスト添加によってケルセチンの分化抑制からの回復が見られた。また、siRNA 法を用いて GPR30 をノックダウンすることによってもケルセチンの分化抑制からの回復が見られた。ケルセチンによって破骨細胞分化のマスター制御因子 NFATc1 の発現は変わらないこと、Akt や PKC のリン酸化に影響が見られることから、M-CSF と RANKL といったサイトカイン刺激だけでなく G タンパク質共役受容体からのシグナルも破骨細胞分化に大きく影響を与えているものと考えられる。

P2-94

牽引力は CTGF シグナルを介して頭蓋縫合における血管形成を促進する

○竹下 信郎¹、長谷川 正和¹、関 大輔¹、宮下 俊郎¹、山本 照子¹ (¹東北大 院歯 顎口腔矯正)

縫合は頭蓋顔面の骨と骨を結合する線維性組織で、頭蓋顔面骨格の成長中心として知られる。また縫合は、頭蓋顔面に負荷される機械的刺激を受容する役割を持ち、矯正歯科治療では顎整形力を縫合に作用させ、成長期患者の骨格性不調和の改善を図る。しかし、機械的刺激が縫合に及ぼす生物学的影響の全容は明らかではない。本研究では、牽引力に対する縫合の初期反応として、血管形成に着目して解析を行った。6 週齢 ICR マウスの頭頂骨にスプリングを装着し、矢状縫合に 20 g の牽引力を 0、3、および 12 時間負荷した。間葉系幹細胞マーカー発現を解析した結果、矢状縫合で STRO-1 陽性細胞、CD44 および CD73 の発現が認められたが、牽引力負荷後 12 時間にそれらの発現は減少した。VEGF と内皮細胞マーカーの発現は、3 時間で上昇した。CTGF 発現もまた 3 時間で上昇し、さらに CTGF 中和抗体は牽引力による VEGF 発現の上昇を抑制した。また ERK および JNK の阻害剤は、牽引力による CTGF および VEGF 発現の上昇を、それぞれ部分的に抑制した。本研究により、牽引力に対する縫合の初期反応において、血管形成が誘導されることが示された。この血管形成は CTGF により制御され、また MAPK も部分的な制御に関与することが示唆される。さらに、縫合における間葉系幹細胞の存在が初めて示され、牽引力による内皮細胞発現の亢進に関与することが推察される。

P2-96

RANKL により Venus を発現誘導するマクロファージレポーター細胞株の作成と破骨細胞分化の解析

○久木田 明子¹、久木田 敏夫² (¹佐賀大 医 微生物、²九大 院歯 口腔分子細胞)

【目的】破骨細胞の分化は RANKL によって誘導されるが、融合や骨吸収の制御機構はまだ不明の点が多い。本研究においては、カテプシン K プロモーターを用いて蛍光タンパク質を発現するレポーターマクロファージ細胞を樹立することを目的とした。【方法】カテプシン K プロモーターの下流に GFP 改変型である Venus をコードする cDNA を挿入したプラスミドを構築し、マクロファージ RAW-D 細胞に導入した後 G418 を用いて耐性クローン RAW-ctsk-Venus を選択した。RAW-ctsk-Venus に RANKL などの因子を添加し破骨細胞分化能を Venus の発現と TRAP 染色により測定した。Venus の発現強度は共焦点顕微鏡及び蛍光光度計で測定した。【結果】 RAW-ctsk-Venus1 は RANKL の添加により TRAP 陽性の多核細胞を形成し、Venus の発現が単核細胞と多核細胞で検出された。Venus の発現は LPS や IL-1 β によっては上昇しなかったが、RANKL と TNF α によって誘導された。さらに、NFAT 阻害剤は RANKL による RAW-ctsk-Venus1 から形成される Venus 陽性の多核細胞の形成を阻害したが、形成された途中の破骨細胞に NFAT 阻害剤を添加すると Venus の蛍光強度がやや亢進した。【結果と考察】 RAW-ctsk-Venus1 は、破骨細胞の分化における単核細胞と多核細胞の違いや、分化・機能に関わる因子のハイスループットな解析に利用できるレポーター細胞であると考えられた。

P2-97

RAW264.7 細胞の破骨細胞分化に及ぼす IL-17A の影響

○井上 博¹、堂前 英資²、合田 征司²、内橋 賢二¹、西川 泰史¹ (大歯大 生理、²大歯大 生化)

【目的】歯槽骨の骨吸収メカニズムは部分的にしか解明されていない。IL-17A は骨芽細胞上の receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 発現を誘導し、破骨細胞分化に対して間接的に作用することが知られている。しかし、破骨細胞前駆細胞に対する IL-17A の直接的な影響は不明である。そこで今回私たちは、破骨細胞前駆細胞 RAW264.7 細胞に対する IL-17A の直接的な影響について検討した。【方法】1) RAW264.7 細胞上の IL-17 レセプターをフローサイトメーターにて確認した。2) IL-17A の細胞増殖に対する影響について細胞増殖測定用試薬 WST-1 を用いて検討した。3) IL-17A の破骨細胞分化に対する影響を分化実験 (TRAP 染色) にて検討した。4) IL-17A の p38 MAPK リン酸化についてウエスタンブロット法にて検討した。【結果】1) RAW264.7 細胞上に IL-17 レセプターの存在を確認した。2) IL-17A は細胞増殖に影響を与えなかった。3) RANKL と IL-17 で共刺激を加えると RANKL による破骨細胞分化の増強が抑制された。4) RANKL 単独刺激により p38 MAPK のリン酸化が起こった。しかし、RANKL と IL-17A の共刺激では RANKL 単独刺激に比べ、p38 MAPK のリン酸化が抑制された。【考察】以上の結果より、IL-17A による破骨細胞分化抑制は細胞増殖抑制によるものではなく破骨細胞分化シグナルが抑制されたことによる可能性が示唆された。また破骨細胞分化シグナルに p38 MAPK が関与している可能性が示唆された。

P2-99

骨芽様培養細胞 MC3T3-E1 のアルカリ性ホスファターゼ活性を増加する血清中因子について

○戸円 智幸¹、深田 哲也¹、橋本 修一¹ (日歯大 生命歯 共同研 アイソトープ研究施設)

【目的】我々は、これまでに骨芽様培養細胞 MC3T3-E1 細胞のアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 活性の増加には、Zn²⁺ と血清 (FCS) 中の高分子量因子が必要であることを報告してきた。今回、この活性増加が遺伝子発現を伴ったものであるかを調べるとともに、FCS 中の誘導因子をゲル濾過により分画し検索した。【方法】実験には、ほとんど ALP を発現していない (ALP 比活性: 5 pmol/min/ μ g) MC3T3-E1 細胞を用いた。この細胞を、キレックス交換樹脂処理により、金属 2 価イオンを除去した 10% FCS 添加培地に置き換え、15 μ M Zn²⁺ を添加して培養した。Zn の細胞への取り込みは、⁶⁵Zn を用い SDS-PAGE 後の ARG により確認した。酵素活性を増加する血清中の因子を検索するため、FCS をゲル濾過により分画し、各分画で細胞培養後 ALP のアッセイを行った。一方、ALP 遺伝子の発現を PCR により調べた。【結果】FCS および Zn²⁺ の両方を添加した培地では、ALP 活性が 10 倍以上増加し、PCR により ALP 遺伝子の発現量が増加していた。一方、⁶⁵Zn の細胞内蛋白質への取り込みも FCS との同時添加によるのみ認められた。FCS をゲル濾過で分離したところ、400 k、150 k、67 k、30 k の分子量に相当する分画に活性増加のピークが認められた。【考察】これらの結果から、Zn²⁺ と血清因子による ALP 活性の誘導は、ALP 遺伝子の発現量増加によるとともに、血清中にはこれに関わる複数の因子が存在することが示唆された。

P2-98

ラッパウニの大型又棘に由来する新規レクチンの精製

○中川 秀幸¹、篠原 光子²、西五辻 理江²、大浦 清² (徳大院 環境共生、²大歯大 薬理)

ラッパウニは体表が短く硬い棘と柔らかい球状の又棘に覆われている。又棘は無毒な小型と有毒な中型及び大型に分類され、刺されると局所に腫れや痛みなどが生じる。今回は大型又棘のタンパク質画分より新規レクチンの精製を試みた。【方法】徳島産ラッパウニ (50 個体) から大型又棘を採取し生理食塩水でタンパク質の抽出を行い、その凍結乾燥粉末を大型又棘標品とした。大型又棘標品からのレクチンの分画・精製は Superdex 200 カラムと Immobilized D-galactose (IDG) カラムの組み合わせにより行った。回収した各画分の生物活性はウサギ赤血球の凝集活性、マウス脾細胞の細胞増殖活性及びモルモット好中球の遊走活性を指標とした。【結果と考察】大型又棘標品を Superdex 200 カラムにより分画し、回収画分を P-I、P-II、P-III 及び P-IV 画分とした。赤血球凝集活性が高く、回収率の高かった P-II 画分を IDG カラムにより分画・精製を行い、非吸着画分を IDG-I 画分、吸着画分を IDG-II 画分として回収した。Native-PAGE では、IDG-I 画分は 24 kDa、IDG-II 画分は 170 kDa の位置にほぼ単一のタンパク質バンドを呈した。一方、SDS-PAGE では、IDG-I 画分は 23 kDa 及び 25 kDa の位置に、IDG-II 画分は 28 kDa の位置にタンパク質バンドを呈した。IDG 画分はともに細胞増殖活性及び遊走活性を示した。以上の結果より、ラッパウニの大型又棘には 6 量体レクチンが存在すると思われた。

P2-100

EGF による PDL 由来 EPC の増殖、分化制御

○木村 仁迪^{1,2}、大久保 直登¹、帖佐 直幸¹、衣斐 美歩¹、客本 斉子¹、加茂 政晴¹、金野 吉晃²、三浦 廣行²、石崎 明¹ (岩医大 生化 細胞情報、²岩医大 歯 矯正)

【目的】人為的な歯の移動に伴い、その歯根周囲の歯周靭帯 (PDL) では、線維組織あるいは血管組織のリモデリングが観察される。これまでに我々は、ラット PDL 由来初代培養細胞から派生した single cell-derived culture 2 (SCDC2) が、血管内皮前駆細胞 (EPC) として働いて三次元培養下で血管様管腔構造を形成することを明らかとした。今回我々は、上皮成長因子 (EGF) により活性化される各 MAPK シグナルが、SCDC2 細胞の増殖ならびに筋線維芽細胞への分化に与える影響について調査した。【材料と方法】EGF が SCDC2 細胞の細胞増殖に与える影響について、WST-1 法により調査した。各 MAPK シグナル伝達物質の活性化について、ウエスタンブロット法にて調査した。またこの細胞への牽引力が誘導する筋線維芽細胞分化に対し EGF がどのように影響するかについて、定量的 RT-PCR 法あるいは蛍光抗体を用いた免疫細胞学的手法により調査した。【結果】EGF は、MAPK に属する ERK、JNK ならびに p38 MAPK 依存的に、SCDC2 細胞の増殖を促進した。また EGF は、牽引力により誘導される各種筋線維芽細胞マーカーの発現を ERK 依存的に抑制したが、ストレスファイバー形成には影響しなかった。【考察及び結論】今回の研究により、EGF が MAPK 依存的に PDL 中に存在する EPC の増殖を促進し、またこの細胞の筋線維芽細胞分化を抑制することで歯周靭帯中のコラーゲン線維含有量を調節し、人為的な歯の移動に影響する可能性が示唆された。

P2-101

D-dopachrome tautomerase のインスリン抵抗性改善機序に関連する分子の探索

○岩田 武男¹、石本 恭子²、水澤 典子¹、吉本 勝彦¹ (1徳大 院 HBS 分子薬理、2徳大 院 HBS 口腔顔面矯正)

【背景・目的】 アディポカインである D-dopachrome tautomerase (DDT) の組換え蛋白質を肥満マウスに投与するとインスリン抵抗性が改善する。DDT のインスリン抵抗性改善の分子機序を明らかにするため、DDT 発現抑制系及び過剰発現系を用いて脂肪細胞で発現が変動する遺伝子の同定を行った。

【方法】 ヒト前駆脂肪細胞株である SGBS 細胞から分化させた脂肪細胞に DDT 遺伝子に対する shRNA を発現させ DDT 発現抑制脂肪細胞を作製した。この細胞で発現が変動する遺伝子をマイクロアレイ解析及び qRT-PCR により検討した。また DDT を脂肪細胞で特異的に発現する遺伝子改変マウス (DDT-TG マウス) を作製し、高脂肪食による肥満誘導を行った際の、体重、耐糖能、脂肪組織及び肝臓の遺伝子・蛋白質発現について検討した。

【結果】 DDT 発現抑制脂肪細胞では血管内皮細胞増殖因子 (VEGF-A) の発現低下、セレノプロテイン P (SEPP-1) の発現上昇が認められた。DDT-TG マウスでは高脂肪食によるインスリン抵抗性発症が抑制され、その脂肪組織では VEGF-A が高発現しており、肝臓では逆に発現が低下していた。

【考察】 脂肪組織での VEGF-A の発現低下はインスリン抵抗性を増悪させる報告があり、DDT は脂肪組織で VEGF-A の発現を上昇させることでインスリン抵抗性発症を抑制している可能性がある。

P2-102

タイプ 1 型と 2 型糖尿病マウスにおける腎リンパ管新生

○内山 貴誠¹、高田 俊輔¹、敦賀 英知²、畠山 雄次²、石川 博之¹、沢 禎彦² (1福歯大 成長発達歯、2福歯大 生体構造)

糖尿病性腎症では、メサンギウムのコラーゲン増生による糸球体硬化と糸球体毛細血管壁の肥厚が見られ、糖尿病マウスの腎は浮腫による肥大化と組織間隙の増大を示す。本研究は糖尿病性腎症の環境下で誘導される腎脈管の形態学的変化について検討した。Streptozotocin 誘発性 1 型糖尿病マウスと KK/Ta2 型糖尿病マウスについて、腎の脈管分布の免疫組織化学的検索を行った。リンパ管は podoplanin、血管は PECAM-1 で鑑別し、単位面積あたりのリンパ管数と血管数について比較した結果、血管数に変化は見られないが、リンパ管に増生の起きていることが明らかとなった。腎リンパ管は腎皮質ではほとんど見られず、髄質に多く分布する。1 型糖尿病マウスでは 50~100 μm の大きさのリンパ管に、また 2 型糖尿病マウスでは 50 μm 以下の微小リンパ管に増生が見られ、糖尿病性腎症では浮腫を解消するため、代償的にリンパ管が増生することが考えられた。1 型糖尿病マウスは Streptozotocin 投与 1ヶ月以内に、また 2 型糖尿病マウスは高カロリー餌による飼育 4ヶ月で糖尿病を発症する。糖尿病の長期経過をたどった腎臓では、髄質に増生したリンパ管が成長するため、2 型糖尿病マウスよりも管腔が大きくなることが考えられた。糖尿病性腎症は腎細胞癌のリンパ節転移に対する助長因子となるかもしれない。

P2-103

睪島からのインスリン分泌におけるアデノシン受容体の役割

○大谷 政博¹、大浦 清¹ (1大歯大 薬理)

我々は糖尿病治療薬の開発のための新たな標的として、アデノシン受容体に着目して本研究を行った。最初に、マウス睪島及び睪β細胞株の両方において、すべてのアデノシン受容体サブタイプ (A₁、A_{2A}、A_{2B}、A₃) の mRNA が発現していることを RT-PCR 法で確かめた。次に、内因性の非選択的アゴニストであるアデノシンが、高濃度グルコース存在下でインスリン分泌を 2~3 倍促進することを明らかにした。このアデノシンの促進作用は、A_{2A}受容体のアンタゴニストによって阻害されたが、他のサブタイプのアンタゴニスト及びヌクレオシドトランスポーターの阻害剤に対しては影響を受けなかった。また、選択的 A_{2A}受容体のアゴニストによっても同様にインスリン分泌が促進されることを確かめた。したがって、アデノシンによるインスリン分泌促進作用に A_{2A}受容体が関与していることが推測された。以上の結果から、A_{2A}受容体の活性化がマウス睪島からのインスリン分泌を刺激することが示唆され、インスリン分泌促進薬の開発のための新たな標的となり得ると考えられた。

P2-104

Regulation of insulin secretion by phospholipase C-related catalytically inactive protein

○浅野 智志¹、兼松 隆¹ (1広大 院医歯薬保細胞分子薬理)

糖尿病と歯周疾患は密接に関連している。インスリン分泌能を回復させる治療法の開発は、患者さんの QOL を向上させるために急務な課題である。我々は、phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) ノックアウトマウスにおいて、血漿のインスリン含量が増加すること、また、PRIP は GABA_A receptor-associated protein (GABARAP) と相互作用し、GABA_A受容体の形質膜への発現を調節している事を報告した。そこで、我々は、PRIP ノックアウトマウス睪島細胞を用いて、グルコース刺激時のインスリン分泌における PRIP の関与を確認したところ、第 2 相のインスリン開口分泌が亢進することが分かった。さらに、mouse insulinoma 細胞 (MIN6) の PRIP をノックダウンして解析を進めたところ、インスリン含有顆粒の移動性が亢進し、顆粒と GABARAP や KIF5 (顆粒輸送に関与するモータータンパク質) との共局在性が増強された。これらの表現型は、PRIP と GABARAP の結合を阻害するペプチドを MIN6 に発現させた場合においても確認できた。以上より、PRIP が、GABARAP が仲介するインスリン顆粒輸送を抑制的に調節し、インスリン開口分泌機構を制御していることが明らかとなった。

P2-105

発育期における塩分制限が顎骨・歯の形成に及ぼす影響

○乾 千珠子¹、上田 甲寅¹、中塚 美智子¹、隈部 俊二¹、安 春英¹、松田 哲史¹、岩井 康智¹
(¹大歯大 口腔解剖)

食生活の急激な変化によって短期間で顎骨や歯の形態は変化するという。顎骨や歯の形成においては、脂質やタンパク質の不足による影響を受けることが報告されている。発育・成長には脂質やタンパク質だけではなく、補酵素となるミネラルも必須である。本研究では、細胞の浸透圧調節、筋収縮などに働き、生命保持に欠かせないミネラルの一つである食塩について、顎骨や歯の形成における塩分の栄養学的な意義を明らかにすることを目的とし、発育期の塩分制限食の摂取が顎骨や歯の形態に及ぼす影響について検討した。実験にはSDラットを用いた。胎生期から出生後2ヶ月後までの間、通常飼料(通常食群)または塩分制限飼料(減塩食群)で飼養された仔ラットの1)下顎骨および下顎頭、白歯歯冠長など諸径の計測、2)下顎頭のCT撮像、3)下顎頭における細胞形態の観察を行い、比較検討を行った。その結果、1)減塩食群の下顎骨のオトガイ近心部から下顎頭遠心突出部までの長さ、下顎頭と下顎頭を合わせた長さおよび白歯近遠心径が通常食群と比較して短かった。2)CT画像所見では、減塩食群の骨髓腔の面積が通常食群と比較して大きかった。3)通常食群と比較して減塩食群の下顎頭の肥大軟骨細胞層が厚く、骨への石灰化の遅延の可能性がみられた。以上の結果から、下顎骨、下顎頭および白歯の形成に塩分が重要な働きを担っている可能性が示唆された。

P2-107

Molecular characterization of PRIP as an adaptor protein of Akt

○杉山 悟郎¹、竹内 弘²、長野 公喜¹、大谷 崇仁¹、平田 雅人¹ (¹九大 院歯 口腔細胞工、²九歯大 院歯 口腔応用薬理)

PLC-related but catalytically inactive protein (PRIP) is a protein with a domain organization similar to PLC- $\delta 1$. We have reported that PRIP interacts with protein phosphatases, PP1 and PP2A, depending on the phosphorylation level of PRIP. We also found that Akt was precipitated along with PRIP from neuronal cells. In this study, we investigated the interaction between PRIP and Akt by mapping the binding site and examine the phospho-regulation. Co-immunoprecipitation assay revealed that both Akt and PP2A were co-precipitated along with PRIP, and the precipitation was up-regulated when the cells were stimulated with insulin. GST-pull down experiments using recombinant GST-Akt and his-tagged PRIP or the deletion mutant of PRIP (74-298) showed the direct binding of Akt to 74-298 residues in RPIP. Pretreatment of PRIP with Akt in the presence of ATP increased this interaction. Akt phosphorylated PRIP, and analyses using PRIP mutants revealed that Ser-96 was important for regulating the interaction with Akt. These results indicate that PRIP modulates Akt signaling by the regulation of complex formation between Akt and protein phosphatases.

P2-106

一口量とBMIとの関係

○塩澤 光一¹、奥村 敏¹ (¹鶴見大 歯 生理)

【目的】近年、肥満傾向は早食いなどの食習慣と密接に関わっていることが示されているが、ヒトの摂食行動のいったい何が肥満と直接関わっているかについては不明な点が多い。そこで本研究は、健康な成人被験者の食品摂取量および咀嚼行動と肥満度との関係について調べた。【方法】37名の成人被験者(男性20名、女性17名、平均23.6歳)に、プリッツ、魚肉ソーセージおよびロールパンをそれぞれ自由に摂取させた後、最終嚥下まで咀嚼させた。各自の一口量は摂取前後の食品の重量および長さを測定して求めた。また咀嚼回数カウンターで最終嚥下までの咀嚼回数を計測した。被験者の咀嚼能率はManlyらの篩分法およびグルコセンサーによるグルコース値で求めた。被験者の肥満度はbody mass index (BMI)で見積もった。【結果および考察】被験者の咀嚼能率とBMIとは有意な相関を示さなかった。プリッツの一口量とBMIは有意な相関を示さなかったが、ソーセージ一口量およびパン一口量とBMIはどちらも有意な正の相関を示した。一方、ソーセージ咀嚼回数およびパン咀嚼回数とBMIではどちらも有意な相関を示さなかった。以上の結果から、自由に噛み取らせた場合、長さよりも量が大きく一口量に関わるソーセージやパンなどの食品咀嚼では、一口量と肥満度とは高い相関を示すが、咀嚼回数は肥満度と直接関わっていないことが示された。

P2-108

ホスホイノシチド代謝と連繋したTRPC3,C6,C7チャンネルにおける自律的制御機構の解明

○今井 裕子¹、吉本 尚平^{1,2} (¹九大 病院 全身管理歯科、²九大 院歯 口腔細胞工)

ホスホイノシチド(PIPs)は、種々のイオンチャンネルの重要な制御因子であることが知られている。我々は、受容体作動型の実選択的陽イオンチャンネルであるTRPC3,C6,C7チャンネルに着目し、PIPsの役割について検討した。これらのチャンネルの活性化には、PI(4,5)P₂の代謝産物であるジアシルグリセロールが必須であるがPIPsの変動そのものにも影響を受けると言われている。そこで、これらのチャンネル群に対するPIPs動態による影響を測るツールとして、電位作動性PIPs脱リン酸化酵素Voltage-Sensing Phosphatase (VSP)を用い検討した。HEK293細胞にTRPC6とVSPを共発現させVSPを活性化させると、TRPC6電流の一過的抑制が記録され、この抑制にはPI(4,5)P₂の急速な脱リン酸化が深く関与していることを見出した。TRPC3,C7においても同様の抑制を示したが、その強度や回復時間はTRPC7>TRPC6>TRPC3の順であった。更に、ムスカリン受容体を過剰発現させ検討した結果、同じ順にTRPC電流が速く不活性化(減衰)すると同時に、VSPによる一過的抑制の程度も減弱した。以上より、PI(4,5)P₂はTRPC3,C6,C7チャンネルにおいて活性化・不活性化の双方に作用し、チャンネルサブタイプ別に異なる親和性による電流の自律的制御を行っていることが示唆された。

P2-109

マウス顔面皮膚の急性炎症疼痛発症に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロン AMPA 受容体サブユニット GluR2 および GluR3 trafficking の関与

○坪井 美行¹、岩田 幸一¹ (1日大 歯 生理)

【目的】三叉神経脊髄路核尾側核 (Vc) ニューロンに発現する AMPA 受容体サブユニット GluR2 と GluR3 の trafficking のマウス顔面へのホルマリン注射により引き起こされる急性炎症性疼痛に対する関与を明らかにすることを目的とした。【方法】それぞれのサブユニットの trafficking に関与するタンパク質 (PICK1 と GRIP1/2) との結合を遺伝子操作 (C 末端への Knock-in) により阻害したマウス (デルタ7KI マウス) と野生型マウスの顔面皮膚に4%のホルマリンを 10 μ l 注入し、顔面皮膚の急性炎症モデルマウスを作製した。侵害性行動として顔面皮膚の引っ掻き時間を計測した。ウレタン (1.5 g/kg、腹腔内注射) で麻酔したマウスの顔面皮膚へ機械および温度刺激を与えた後、pERK および Fos 蛋白陽性ニューロンの分布を、Vc を含む延髄と上部頸髄において検索した。また、Vc から侵害受容ニューロン活動を記録し、ホルマリン注射前後でのスパイク頻度の変化を解析した。【結果】野生型マウスに比べ、両サブユニットのデルタ7KI マウスともに、引っ掻き行動時間の短縮、late phase における Fos タンパク陽性細胞の発現の減少、WDR ニューロンの放電頻度の低下が認められた。【結論】GluR2 および GluR3 の trafficking はホルマリン注射後の late phase における異常感覚発症に重要な役割を担っている可能性が示された。

P2-110

ミエロペルオキシダーゼ-過酸化水素-クロライド系による腭エラスターゼの損傷

○尾西 みほ子¹、小田島 武志² (1北医大 歯 生理、2札幌基礎医学教育研究所)

エラスターゼは、腭臓、動脈壁、好中球、血小板および脾臓に存在し、結合組織のエラスチンを特異的に分解する。ミエロペルオキシダーゼは多形核白血球に存在し、生体防御に関与する。ミエロペルオキシダーゼが好中球中のエラスターゼ作用を増強させるといういくつかの報告がある。ヒト多形核白血球によって生産されたオキシダント種が α_1 -プロテアーゼインヒビターを不活性化し、その結果、好中球エラスターゼによって引き起こされるタンパク質分解を間接的に増強するという報告がある。また、オキシダントが直接、好中球エラスターゼによる細胞外マトリックスのタンパク質分解を増強するという報告がある。本研究は、ミエロペルオキシダーゼがエラスターゼの作用を減少させる可能性を検討する目的で行った。実験には、ブタ腭臓由来エラスターゼ (タイプ I, Sigma) を用い、酢酸緩衝液 (pH 5.5) 中で、ミエロペルオキシダーゼ-過酸化水素-クロライド系とインキュベートした。その結果、エラスターゼの紫外部の吸収スペクトルは変化し、エラスチン・コンゴレッドを用いたエラスチンの分解から評価したエラスターゼ活性は、ミエロペルオキシダーゼ系の処理により減じた。これらの結果から、エラスターゼはミエロペルオキシダーゼ-過酸化水素-クロライド系によって損傷を受けたと結論した。

P2-111

IL-4 による一酸化窒素合成酵素遺伝子 *NOS2* の発現抑制機構

○廣井 美紀¹、山口 花¹、大森 喜弘¹ (1明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物)

【目的】IFN γ と LPS は、マクロファージ (M Φ) の炎症性遺伝子の発現を相乗的に増強し M1 M Φ へ分化誘導する。一方、IL-4 は抗炎症性 M2 M Φ の誘導だけでなく、M1 M Φ の遺伝子発現を抑制することが知られている。今回我々は IL-4 による M1 M Φ の炎症性遺伝子の発現抑制機構について、*NOS2* を標的遺伝子として解析を行なった。【結果】マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 を IL-4 で前処理後、IFN γ と LPS で所定の時間刺激した。*NOS2* 遺伝子、タンパク質発現を検討した結果、IFN γ 、LPS の共刺激により *NOS2* の発現は相乗的に増強したが、IL-4 の前処理によりその発現は抑制された。この IL-4 による発現抑制は、IL-4 により誘導される転写因子 STAT6 のノックダウンにより消失した。*NOS2* 遺伝子プロモーター上の IFN γ 、LPS による制御領域をルシフェラーゼアッセイにより検討した結果、-62~-44 領域に存在する OCT-1 結合配列が必要であった。【考察】IFN γ 、LPS の共刺激による M1 M Φ の *NOS2* 遺伝子の発現に OCT-1 が関与していること、またこの IL-4 による発現抑制に STAT6 が関与していることが明らかとなった。さらに *NOS2* プロモーター上には STAT6 結合配列がないことから、この抑制機構に STAT6 が *NOS2* 転写活性に必要なコアクチベーターを競合している可能性が示唆された。

P2-112

IL-1 β で刺激した歯肉線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞に対する立効散の抗炎症効果の検討

○堀江 憲夫^{1,4}、加藤 崇雄¹、日野 峻輔¹、長尾 隆英²、安達 一典²、金子 忠良^{3,4}、下山 哲夫¹、草間 薫¹、坂上 宏² (1埼玉大 歯 歯口外、2明海大 歯 薬理、3日大 歯 口外、4明海大 歯 病理)

【目的】立効散は幅広く口腔内疼痛に用いられる漢方薬で、口内炎の治療にも用いられる。われわれは今までに立効散の鎮痛効果について、マウス Raw264.7 細胞を用いたアラキドン酸カスケードに対する検討、マウスの仮性疼痛反応による検討を行ってきた。また培養歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞を用い、種々の生薬の抗炎症効果を報告してきた。今回これら細胞を用い立効散の抗炎症効果を検討した。【方法】歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞を培養後、無刺激あるいは IL-1 β 刺激 (1 ng/mL) で立効散 (0 mg/mL から 4 mg/mL) を添加し、24 h 後に生細胞数 (MTT 法) を算定し、産生された培養液中の PGE2 濃度 (EIA 法) を測定した。【結果・考察】未刺激では立効散は歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞の PGE2 産生を促進しなかった。IL-1 β 刺激では立効散は歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞の PGE2 産生を抑制した。しかし両細胞の抑制の態度には差が認められた。現在炎症性サイトカインである IL-8 産生に対する立効散の影響を検討中である。

P2-113

抗原塗布後における舌下粘膜樹状細胞の特徴
 ○張 晨陽¹、大野 建州¹、東 みゆき¹ (東医歯
 大 院医歯 分子免疫)

Though sublingual mucosa (Slm) is utilized as the site for sublingual immunotherapy (SLIT) that induces tolerance against allergens, the involvement of oral mucosal DCs (OMDCs) in tolerance mechanisms has not been elucidated. Here we compared the distribution and dynamics of OMDCs between Slm and buccal mucosa (Bm) after topical antigen painting. Based on histological examination of CD207 and MHC class II expression, we evaluated three types of DCs; a) CD207⁺ (MHCII⁺) epithelial LCs, b) MHCII⁺ submucosal (sm) DCs c) CD207⁺ smDCs. Although distribution of OMDCs was clearly less in the Slm, MHCII⁺ smDCs markedly increased at 6 h after FITC painting, suggesting new recruitment of monocyte-derived DCs. At 24 h, most DCs in Slm disappeared, whereas substantial DCs still existed in Bm. OVA painting onto Slm showed similar but less and slower responses. Repeated antigen painting onto Slm induced a rapid exhaustion of resident OMDCs and recruitment of CD11b⁺DC/Mφ. In a cedar pollen-induced pollinosis model, SLIT also induced disappearance of resident DCs and appearance of CD11b⁺DC/Mφ. Our results suggest that the unique dynamics of sublingual DCs may contribute to tolerance induction of SLIT.

P2-115

カラゲニン誘発局所炎症反応に対するデクスメ
 トミジンの抑制作用
 ○助川 信太郎¹、長塚 仁²、宮脇 卓也¹ (岡大
 院医歯薬 歯科麻酔、²岡大 院医歯薬 口腔病
 理)

$\alpha 2$ アドレナリン受容体の選択的アゴニストであるデクスメトミジン (Dex) は、麻酔臨床では静脈内投与で鎮静薬として使用されている。近年、局所麻酔薬への Dex の添加によって局所麻酔作用が増強することが示され、局所投与の有用性が示唆されている。さらに、Dex には *in vitro* 研究で抗炎症作用があることが報告されている。そこで今回われわれは、Dex を局所投与することによる抗炎症作用について検討を行った。【方法】5%カラゲニンをラットの後肢足蹠に皮下注射することによって局所炎症反応を誘発した。炎症反応の評価として、注射後の後肢足蹠の浮腫、炎症細胞の浸潤、TNF- α および COX-2 の産生レベルを評価した。Dex はカラゲニンと混合し、カラゲニンによる炎症反応への影響を評価した。また、 $\alpha 1$ アドレナリン受容体作動薬であるフェニレフリンの炎症反応への影響、および $\alpha 2$ アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンピンの拮抗作用についても検討を行った。【結果】カラゲニン注射後 4 および 6 時間後肢足蹠の浮腫、炎症細胞浸潤、TNF- α および COX-2 の産生の増加がみられた。Dex はカラゲニンによる炎症反応を抑制したが、フェニレフリンは抑制しなかった。ヨヒンピンは Dex の作用を拮抗した。【結論】Dex の局所投与は $\alpha 2$ アドレナリン受容体を介して局所の炎症反応を抑制することが明らかになった。

P2-114

前癌病変における腫瘍関連マクロファージの局在
 とその分化誘導機構の解析
 ○森 一将¹、廣井 美紀²、嶋田 淳¹、大森 喜
 弘² (明海大 歯 病態診断治療 口腔顎顔面外
 科 1、²明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物)

【緒言】近年、マクロファージ (Mφ) はその機能的役割の違いから免疫系を活性化し抗腫瘍活性を有する M1 Mφ、および免疫系を抑制し癌の浸潤・増殖に関与する M2 Mφ に大別されている。これまでに、口腔扁平上皮癌における Mφ の局在を検討した結果、口腔癌局所では CD163 + M2 Mφ が存在するという知見を得た。そこで今回我々は、前癌病変における Mφ の局在とその分化誘導機構について検討を行なった。【方法】口腔白板症および病理組織学的に正常粘膜を検体とし、各種抗体 (M2 Mφ: CD163, M1 Mφ: CD80, Th 細胞: CD4, Tc 細胞: CD8, Th1 細胞: CXCR3, Th2 細胞: CCR4) を用いた免疫組織学的解析を行った (明海大歯学部倫理委員会承認番号 A0920 号) 【結果】1) CD163 + Mφ の浸潤と上皮性異形成との間に相関関係が認められた。2) 白板症において CXCR3 + 細胞 (Th1) の浸潤が認められたが CCR4 + 細胞 (Th2) は認められなかった。3) 上皮下における IFN γ 誘導性遺伝子である STAT1 の陽性細胞数と CD163 + 細胞との間に相関関係が認められた。4) 上皮内に浸潤している CD163 + Mφ は、STAT1 と共局在していた。【考察】従来 CD163 は抗炎症性 M2 Mφ のマーカーとして用いられてきたが、前癌病変部に存在している CD163 + Mφ は M1 Mφ の表現型を示す可能性が示唆された。

P2-116

マウス扁平上皮癌細胞における IFN γ 耐性機構
 ○山口 花¹、廣井 美紀¹、大森 喜弘¹ (明海大
 歯 微生物)

【目的】インターフェロン (IFN) は抗腫瘍作用を有するサイトカインであるが、腫瘍細胞の中には IFN に耐性を示すものもあり、IFN の臨床応用を阻む一つの障壁となっている。我々はこれまでヒト口腔扁平上皮癌細胞における IFN γ 耐性のメカニズムについて検討を行ってきた。今回マウス腫瘍細胞株で IFN γ 耐性を示す細胞株を探索したところ、細胞増殖抑制作用に耐性を示す SCCVII 細胞を見出したのでその分子機構について検討した。【結果】IFN γ に感受性を示すメラノーマ細胞株 B16F1 を対照として、IFN γ の細胞増殖抑制作用を検討したところ、SCCVII では IFN γ の増殖抑制効果は認められなかった。IFN γ によって活性化される転写因子 STAT1 のチロシン、セリンのリン酸化、IFN γ 誘導性遺伝子 (STAT1, CXCL9, CXCL10, CXCL11) の発現は両細胞で認められた。一方、細胞周期制御因子 cyclinA2, cyclinD1, CDK1 の IFN γ による発現抑制作用は、SCCVII では認められなかった。【考察】SCCVII における IFN γ の耐性機構は、Jak/STAT 経路に異常が認められるものではなく、その下流の細胞周期制御因子の制御に異常があることが示唆された。この限定的な IFN γ 耐性はヒト口腔扁平上皮癌細胞でも認められており、その *in vivo* における生物学的な意義の解明に本細胞は有用であることが示唆された。

P2-117

ユーキノールの口腔内細胞による炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響

○高 泰浩¹、齊藤 嘉大²、村上 幸生¹、片山直^{1,3}、坂上 宏² (明海大 歯 口腔診断、²明海大 歯 薬理、³明海大 歯 保存修復)

【目的】我々は、ユーキノールがヒト口腔正常細胞および腫瘍細胞に同等の細胞傷害性を示すことを報告した。今回、IL-1β 刺激後の口腔正常細胞による IL-8 の産生に及ぼすユーキノールの効果を検討した。【方法】生細胞数は、トリプシン剥離後、血算板を用いて算定した。培養液中の IL-8 は ELISA 法により測定した。【結果】IL-1β 刺激により歯肉線維芽細胞 (HGF)、歯根膜線維芽細胞 (HPLF) は、多量の IL8 を産生し (約 200-300 ng/ml)、以下、歯髄細胞 (HPC) (約 40-50 ng/ml)、皮膚ケラチノサイト (HaCat)、口腔扁平上皮癌細胞 (HSC-2, HSC-4) (15 ng/ml 以下) の順に産生が低下した。IL-8 の産生は成長因子に依存し、培養液からウシ胎仔血清 (FBS) を除去すると IL-8 産生は約 90% 低下した。ユーキノール (5-500 μM) は、HGF 細胞の IL-8 産生を促進したが、HPC 細胞に対しては 2 相性の影響を示し、血清の有無をとわず、低い濃度 (5 μM) では僅かな促進効果を、高い濃度 (500 μM) では阻害効果を示した。ユーキノールは LPS 刺激の HGF、HPC 細胞においても同様の影響を示した。【結論】ユーキノールの抗炎症効果は、HPC 細胞でのみ観察された。ユーキノールの狭い治療域は、歯科での投与量の慎重な検討の重要性を示唆している。

P2-119

ストレス環境下における消化器粘膜での mouse β-defensin-3 の発現

○川嶋 理恵¹、清水 智子²、山本 裕子²、松木千紗²、林 隆司²、東 雅啓²、近藤 裕介^{2,3}、猿田樹里²、槻木 恵一² (自医大 院医 口外、²神歯大 院 環境病理、³東海大 医 病理診断)

【目的】心理的、身体的ストレスは消化器粘膜に悪影響を及ぼすことが知られている。本研究では、ストレス下における糖尿病モデルマウスの消化器粘膜での mouse β-defensin3 (mBD-3) の発現を明らかにした。【方法】2 型糖尿病モデルマウスである NSY/Hos マウスを用いて、拘束ストレス負荷群 (S+群; n=4) と、ストレスを負荷しない群 (S-群; n=4) に分けた。各群において、歯肉、食道、胃での mBD-3 の発現量を Real-time PCR、免疫染色、in situ hybridization を用いて調べた。また、NSY/Hos マウスに糖質コルチコイドとしてデキサメタゾンを全身投与 (n=4) し、食道における mBD-3 の遺伝子発現を調べた。【結果】上部消化管粘膜での mBD-3 の遺伝子発現量は、食道、歯肉、胃の順であった。食道においては、ストレス負荷により mBD-3 の遺伝子発現が有意に低下し (P<0.05)、タンパク発現についても同様の結果が得られた。マウスへのデキサメタゾンの全身投与によって、食道の mBD-3 が有意に低下した (P<0.05)。【結論】ストレス負荷により食道における mBD-3 の発現が低下することから、ストレスマネジメントにより消化器粘膜での抗菌ペプチドによる粘膜防御能が維持される可能性が示唆された。

P2-118

Kaede トランスジェニックマウスを利用した歯髄から所属リンパ節に遊走する樹状細胞の同定

○Bhingare Arundhati¹、大野 建州¹、張 晨陽¹、東 みゆき¹ (東医歯大 院医歯 分子免疫)

Bacterial products diffuse via the dentinal tubule toward the pulp and evoke immune responses. We have previously found that two types of dendritic cells (DCs) exist in murine dental pulp; CD11c⁺F4/80⁻ and CD11c⁻F4/80⁺ cells. After cusp trimming, these cells migrated to the treated side with enhanced expression of CD86. To identify migrating DCs from the dental pulp, we examined phenotypes of regional lymph node cells (rLNC) in comparison with intact LNC. Analysis of rLNC revealed significant increment of two specific subsets; Gr-1⁺CD11b⁺F4/80⁻CD11c^{hi}Ly6c^{hi} (Fr1-1) and Gr-1⁺CD11b⁺F4/80^{dim}CD11c^{med}Ly6c^{lo} (Fr1-2). In this study, to determine actual migrating DC from dental pulp, we used photoconvertible fluorescent protein “Kaede” transgenic mice. Kaede protein changes from green to red upon exposure to violet light. At 2 h after cusp trimming, we exposed the treated cusp to violet light and then analyzed rLNC. The photoconverted Kaede-red positive cells includes mainly CD11b⁺Gr-1⁻F4/80^{lo/+}CD11c^{hi} cells and partly Fr1-1. The use of Kaede transgenic mice allowed us to monitor a minor subset of cell migration. Non-member collaborator; Michio Tomura, Kyoto University

P2-120

ラット炎症惹起歯髄におけるプロスタグランジン E 産生酵素の発現にあたる酸化亜鉛ユーキノール練和物の影響

○深田 哲也¹、戸円 智幸¹、橋本 修一¹ (日歯大 生命歯 共同利用研究センター トープ研究施設)

【緒言】プロスタグランジン (PGE₂) は脂質メディエーターであり炎症の増悪や寛解に関与している。これまで我々はラット歯髄炎症モデルにおいて PG 合成酵素である COX-2 のみならず、膜結合型 PGE 合成酵素 (mPGES-1) の発現が亢進すること、これに対し酸化亜鉛ユーキノール練和物 (ZOE) 中のユーキノールが両酵素の発現と活性を調節し PGE₂ 産生を低下させることを報告してきた。今回、我々はラット歯髄炎症モデルを用い両酵素の発現状態を組織学的に検討した。【方法】7 週齢雌性 Wistar 系ラットの下顎切歯に麻醉下で深さ 5 mm の窩洞を形成し、窩洞形成部を ZOE または酸化亜鉛 - 水練和物 (ZOW; 炎症惹起歯髄) で仮封した。仮封の翌日、下顎切歯を摘出し、通常に従い薄切切片を作成した。切片は特異抗体を用いて染色した。【結果・考察】未処置歯髄では COX-2 および mPGES-1 の発現を検出されなかったが、ZOW 填塞歯髄では窩洞部位近傍に強く発現を認めた。これに対して、ZOE 填塞歯髄では両酵素の発現は歯髄全体に認められたものの、填塞部位付近での発現量は低く抑えられていた。一方、両群いずれの歯髄においても mPGES-1 の発現とマクロファージとの局在が一致する部分が認められた。これらのことより ZOE 填塞により COX-2, mPGES-1 の発現パターンが変化する細胞の一つがマクロファージである可能性が強く示唆された。

P2-121

Effects of Rac1 on the production of MMP-3 by TNF- α

○小正 玲子¹、合田 征司²、吉川 一志¹、池尾 隆²、山本 一世¹ (大歯大 保存、²大歯大 生化)

【目的】歯髓組織では TNF- α などの炎症性サイトカインが産生され歯髓炎が惹起される。また、刺激を受けた歯髓組織では細胞外マトリックス分解酵素である MMPs が産生される。そこで、TNF- α 刺激による MMP-3 産生に対する small G protein の関与について検討した。【方法】本研究に参加同意を得た患者の抜去歯 (大歯医倫 110751 号) より歯髓組織を採取・培養し、3~10 世代目をヒト歯髓由来線維芽細胞として本研究に使用した。ヒト歯髓由来線維芽細胞を 5.0×10^5 cells/well になるよう播種し、24 時間培養後、TNF- α を各種条件下で加え、刺激終了後、上清中の MMPs の産生を Western Blotting, Gelatin Zymography にて検討した。次に、Rac1 Inhibitor を各種条件下で加え、上清中の MMPs の産生を検討した。ヒト歯髓由来線維芽細胞を 5.0×10^5 cells/well になるよう播種し、TNF- α 100 ng/ml を 0, 0.5, 1, 3, 5, 10 分のタイムコースで加え、Rac1 のリン酸化について検討した。【結果】ヒト歯髓由来線維芽細胞への TNF- α 刺激は、MMP-3 の産生を濃度依存的に増強したが、MMP-2 の産生には影響しなかった。TNF- α 刺激時の Rac1 Inhibitor は、MMP-3 の産生を濃度依存的に減弱した。MMP-2 の産生に変化は認められなかった。TNF- α 刺激による Rac1 のリン酸化は経時的に変化した。【結論】以上のことより、ヒト歯髓由来線維芽細胞では TNF- α 刺激による MMP-3 産生に small G protein の Rac1 が関与していることが示唆された。

P2-123

シグナル伝達分子 MyD88 は顎下腺における B-1 細胞浸潤の制御と唾液中の抗体産生の調節に関与する

○引頭 毅¹、滝川 俊也²、柴田 健一郎³ (朝日大 歯 口腔感染医療 口腔微生物、²朝日大 歯 口腔構造機能発育 口腔解剖、³北大 院歯 口腔病態 口腔分子微生物)

MyD88 は自然免疫系の調節に寄与する重要な細胞内シグナル伝達分子であり、Toll 様受容体や IL-1 受容体の下流において様々な免疫応答の開始と制御を行っている。そのような背景から、MyD88 は口腔領域の免疫応答にも関与すると考えられるが、その具体的な役割は明確でない。本研究では Myd88 遺伝子を欠損したマウスを利用し、唾液中の抗体レベルや唾液腺における抗体産生と関連する免疫応答における MyD88 の役割を調査した。MyD88 欠損マウスではコントロールマウスと比較して唾液中の IgA と IgG1 のベースレベルが上昇しているのに対し、IgM と IgG3 のレベルは減少していた。顎下腺から抽出した全 RNA のマイクロアレイ解析により、MyD88 欠損マウスでは、*Cd19*、*Ms4a1*、*Igh-VJ558* や *Igj* などの B 細胞関連遺伝子群の発現の上昇が認められた。組織学的解析では、顎下腺の集合導管の周囲にリンパ球浸潤が認められた。顎下腺から分離した細胞の FACS 解析により、MyD88 欠損マウスでは B220⁺細胞が増加しており、CD5⁺CD23⁻または CD5⁻CD23⁺であることから、B-1 系統の B 細胞であることが分かった。マイクロアレイ解析では *Glycam* や *Cxcl13* の発現が上昇していたため、これらが唾液腺における B 細胞の浸潤を誘導する可能性が示唆された。以上より、唾液腺における B-1 細胞の浸潤の制御や唾液中の抗体産生の調節に MyD88 が関与していることが示唆された。

P2-122

新規アディポカイン apelin による炎症応答に対する影響

○小原 成将¹、秋房 住郎³、白井 通彦¹、笠井 宏記¹、沖永 敏則²、有吉 渉²、西原 達次² (¹九歯大 歯 歯周、²九歯大 歯 感染分子生物、³九歯大 口保 口腔保健管理)

【目的】成熟した脂肪組織が分泌する様々な生理活性物質はアディポカインと総称され、肥満自体が軽度炎症状態であるとする metaflammation を説明する主要な因子とされている。一方、アディポカインの中にはアディポネクチンのように炎症反応を抑制する効果を持つものも報告されており、アディポカインの免疫機能に関する機能は不明な点が多い。今回我々は、新規アディポカインである apelin が免疫機能において果たす役割を解明するために、マクロファージ及び内皮細胞への各種刺激に対する炎症応答に apelin が与える影響を検討した。【方法】マウスマクロファージ様細胞株 J774.1 細胞、マウス血管内皮細胞株 UV η 2 細胞を用い、apelin 受容体である APJ の発現を western blot にて観察した。次に J774.1 細胞を [Pyr1]-apelin-13 (0.1-10 μ M) で 16 時間前培養した後、大腸菌由来 LPS 100 ng/ml 刺激による IL-1 β 、IL-6、UV η 2 細胞には TNF- α 1 ng/ml 刺激による I-CAM1 の遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR にて測定した。【結果と考察】J774.1 細胞では LPS 刺激が誘導する IL-1 β 、IL-6 の遺伝子発現を、UV η 2 細胞では TNF- α 刺激が誘導する I-CAM 遺伝子発現がそれぞれ抑制された。これらのことから、apelin は炎症局所において多角的に炎症応答を抑制している可能性が示唆された。

P2-124

エナメル上皮腫および角化嚢胞性歯原性腫瘍に関する研究

○宮崎 裕司¹、井上 ハルミ¹、菊池 建太郎¹、草間 薫¹ (明海大 歯 病理)

エナメル上皮腫 (AM) や角化嚢胞性歯原性腫瘍 (KCOT) は、局所侵襲性を示す良性歯原性腫瘍である。これらの良性腫瘍における局所侵襲メカニズムの一端としてタンパク質分解酵素である MMP-1、-2、-9 の関与がこれまでに示唆されているが、悪性腫瘍の浸潤メカニズムに比して未知な点が多い。これを明らかにすることを本研究の目的とし、その一環として DNA メチル化による遺伝子発現制御を探ることとした。また、局所侵襲は腫瘍細胞の異常増殖も一因ではないかと考え、MMP や integrin の発現制御にも関与しているとの報告が散見される上皮成長因子受容体 erbB の関与も探ることとした。エピジェネティックな発現制御が行われている可能性を探るためにメチル化シトシン (5-mC) に対する免疫染色を行ったところ、AM では強陽性反応がみられたのに対し、KCOT では強弱の反応性が混在する傾向がみられた。次いで erbB に対する免疫染色を行った結果、AM、KCOT のいずれでも erbB2 の強陽性反応が認められ、また KCOT では erbB3 の弱陽性反応も認められた。これらの結果より、AM と KCOT はともに局所侵襲性を有するがそのメカニズムは異なっており、AM では細胞周期制御因子が高メチル化を受けて不活化されている可能性、KCOT では erbB3 が脱メチル化を受けている可能性が示唆された。

P2-125

口腔顎顔面領域の悪性リンパ腫における BAFF-R の発現についての免疫組織化学的研究
○岡田 康男¹ (1日歯大 新潟生命歯 病理)

B-cell の悪性化には B-cell activating factor of the tumor necrosis factor family (BAFF) が関係していると報告されている。BAFF には、B-cell maturation antigen (BCMA), transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI) および BAFF-receptor (BAFF-R) の 3 つの receptor があり、BAFF-R だけが BAFF のみに結合する。しかし、BAFF-R の免疫組織化学染色結果の報告例は少ない。そこで、口腔顎顔面領域の悪性リンパ腫症例について BAFF-R の免疫組織化学染色を行い、併せて CD5 染色結果と比較検討した。

対象は当教室にファイルされている 31 例で、diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) 20 例、follicular lymphoma (FL) 5 例、plasma cell myeloma (PCM) 1 例、extranasal plasmacytoma (EOP) 1 例、B-lymphoblastic lymphoma (B-LBL) 1 例、Hodgkin lymphoma 3 例である。

BAFF-R は、31 例中 11 例に発現を認めた。DLBCL では 20 例中 6 例に BAFF-R の発現を認め、そのうち GCB type が 1 例、non-GCB type が 5 例であった。FL の 5 例では Grade II の 2 例、Grade IIIA の 3 例はすべてに BAFF-R の発現を認めた。CD5 は DLBCL の 3 例に発現がみられ、それは non-GCB type の BAFF-R(+)DLBCL であった。

以上より、BAFF-R は初期段階の B-cell lymphoma である DLBCL の一部や FL の一部に発現し、tumor cell の増殖に関与している事が示唆された。

P2-127

Pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (HPIP) は口腔扁平上皮癌の浸潤を制御する

○入江 太郎¹、外菌 知恵¹、安原 理佳¹、田中 準一¹、河野 葉子¹、山本 剛¹、美島 健二¹ (1昭大 歯 口腔病態診断 口腔病理)

Pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (HPIP) は転写因子であり微小管のネットワークを介してエストロゲン受容体の機能を制御する。また、赤血球の分化や乳癌細胞の増殖に関与することが明らかにされている。われわれは LC/MS/MS により口腔扁平上皮癌の質量分析を行ったところ初期浸潤癌において HPIP が特徴的に検出されることを見出した。そのためさらに口腔扁平上皮癌における HPIP の発現とその機能的役割について検討を進めたので報告する。

【方法】正常粘膜上皮、異形成と扁平上皮癌を含む手術検体を用いて免疫組織化学的解析を行った。HPIP mRNA の発現量については凍結標本を用いた laser microdissection 法と real-time PCR 法により検討を行った。さらに SCC-9 細胞を使用し HPIP siRNA を用いた invasion assay を行った。

【結果】HPIP は正常粘膜上皮においてはほとんど発現しておらず、正常粘膜上皮に比べて異形成や浸潤癌において高かった。また浸潤癌においては小型化した胞巣にその陽性像が目立った。Invasion assay では HPIP siRNA により癌細胞の浸潤が抑制された。

【考察】HPIP は浸潤様式や浸潤能に直接的に関与することが明らかになったことから、悪性度評価や治療の標的としての有用性が期待し得るものと考えられる。

P2-126

ヒト口腔がん細胞株の side population 細胞における遺伝子発現プロファイル

○野崎 中成¹、西五辻 理江²、大浦 清¹ (1大歯大 薬理、2大歯大 院 薬理)

【目的】口腔由来のがんにおけるがん幹細胞存在の有無とその性状を調べるため、side population (SP) と main population (MP) 細胞を分離し、遺伝子発現の比較を網羅的に行った。【方法】ヒト口腔がん細胞株 SCC-4 を用いた。がん幹細胞は抗がん剤耐性が亢進しているため、Hoechst の排泄とその阻害剤 Reserpine を指標に、フローサイトメーターで SP 細胞を同定、ソーティングにより分離した。SP 細胞と MP 細胞から総 RNA を調製し、GeneChip® Human Gene 2.0 ST Array (Affymetrix) を用いて、網羅的発現解析を行った。【結果】SP 細胞は、全体の約 1.48% 存在した。遺伝子発現プロファイル解析により、MP 細胞を基準にして、SP 細胞で発現が 10% 以上高かったものは、抗がん剤排泄に関わる ABC トランスポーター ABCG2/BCRP, ABCC2/MRP2、乳がん、大腸がん、膵臓がんなどのがん幹細胞マーカー CXCR4, CD44, PROM1/CD133、細胞の自己複製能に関わるサイトカイン IL8 を含む 15.8% であった。発現が 10% 以上低かったものは、抗がん剤取り込みに関わるヌクレオシドトランスポーター SLC29A1/ENT1 を含む 16.6% であった。【考察】がん幹細胞では薬物排泄能が亢進し、抗がん剤耐性を示すという特徴がある。口腔由来のがんに、薬物排泄能が亢進している細胞が存在した。その細胞では、がん幹細胞の特徴を示す遺伝子発現が認められ、がん幹細胞の存在が示唆された。

P2-128

マウス口腔扁平上皮癌 (Sq1979) の進展が脾細胞 IFN- γ 産生能に及ぼす影響

○東 康加¹、神谷 真子²、稲垣 俊弘³、川木 晴美²、高山 英次²、櫻井 学¹、智原 栄一¹、近藤 信夫² (1朝日大 歯 歯科麻酔、2朝日大 歯 口腔生化学、3朝日大 歯 口腔外科)

【目的】口腔癌の悪性化には、患者の免疫応答能や癌組織を取り巻く微小環境の関与が指摘されているが、そのメカニズムは未だ十分に理解されていない。本研究では、口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) 株を同系統マウスに移植し、腫瘍の増殖に伴う免疫能の変化を検討した。【方法】C3H マウス由来頬粘膜扁平上皮癌 Sq1979 (理研 BRC)、あるいはサブクローン L-5 (高増殖型) を同系統マウス (雄/6 週齢) 側腹皮下に移植し、腫瘍の増大を経時的に観察した。コントロール群には生理食塩水のみを投与した。一定期間観察した後、これらの担癌マウスから脾細胞を採取し、抗 CD3 抗体を用いて試験管内で刺激培養した。48 時間後、上清を回収し、その IFN- γ をはじめとするサイトカインの産生能を ELISA 法にて測定した。【結果と考察】OSCC 移植群は、どちらの群もコントロール群に比較して、脾細胞の IFN- γ の産生能は低下しており、腫瘍体積と有意な逆相関が認められた。以上の結果より、口腔癌の増大に伴い宿主の抗腫瘍免疫が抑制されることが示唆された。さらに、現在移植腫瘍の形質と宿主脾細胞のサイトカイン産生能の関係について、IFN- γ 以外のサイトカイン産生能も含め、検討している。

P2-129

エナメル上皮腫に発現する HSP27 の免疫組織化学的検討

○中野 敬介¹、久保 勝俊²、杉田 好彦²、前田 初彦²、長谷川 博雅¹、川上 敏行¹ (¹松歯大 院硬組織疾患病態解析、²愛院大 歯 口腔病理)

【目的】 エナメル上皮腫は菌原性上皮に起因する最も一般的な腫瘍の一つであるが、局所的に侵襲性があり再発の危険性も高く、口腔外科領域では極めて重要な腫瘍である。従って、腫瘍細胞の分化に関する知見の集約は治療の上からも重要な研究課題であると思われる。Heat Shock Proteins (HSPs) は様々な組織の細胞内に広く分布し、熱ストレスに対する細胞の防御のみならず、細胞の分化、増殖および機能維持に重要なタンパクであることが判明しており、近年では腫瘍細胞分化との関連も報告されている。しかし、エナメル上皮腫における HSPs の発現に関しては不明な点が多い。【方法】 本研究ではエナメル上皮腫における HSP27 発現の免疫組織化学的観察を行い、エナメル上皮腫の組織型、部位による発現の違いを検討した。【結果と考察】 濾胞型エナメル上皮腫の腫瘍胞巣では、胞巣中央部の扁平上皮化を生じた腫瘍細胞、実質囊胞辺縁部の腫瘍細胞に強い陽性反応がみられた。胞巣最外層の立方型、高円柱状細胞の多くは陰性であった。一方、叢状型エナメル上皮腫の腫瘍胞巣では、発現状態にばらつきがあるものの、ほぼ全ての腫瘍細胞が陽性を示していた。腫瘍間質では散在性に血管内皮細胞や線維芽細胞に陽性反応が認められた。これらの結果から、HSP27 はエナメル上皮腫の腫瘍細胞に発現し、腫瘍細胞の化生や、腫瘍の組織型の違いに関与していると考えられた。

P2-131

エナメル上皮腫細胞の RANKL および細胞外 Ca²⁺ による奇異な形態変化および形質転換

○森田 浩光¹、吉本 尚平^{1,2}、中村 誠司³、平田 雅人² (¹九大 病院 全身管理歯科、²九大 院歯 口腔細胞工、³九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

エナメル上皮腫は、顎骨内の骨を吸収し、ときに膨大な腫瘍を形成して機能的および審美的障害をもたらす。昨年我々は、充実型エナメル上皮腫由来の細胞株である AM-1 が、直接的骨吸収を引き起こし、細胞外 Ca²⁺ により破骨細胞様に細胞融合・多核化といった形態変化を引き起こすことを報告した。今回は、AM-1 が細胞外 Ca²⁺ による破骨細胞様形態変化のみならず、RANKL により、上皮間葉転換およびマクロファージ様転換といった奇異な形質変化が制御されていることを見出した。1 mM CaCl₂ を添加して培養した AM-1 の lysate を用いてウエスタンブロットを行うと、RANKL、RANK および Cathepsin K の発現が検出された。さらに、破骨細胞の細胞融合に重要な役割を果たす DC-STAMP の発現も観察された。しかしながら、TRAP 染色には陰性であった。次に、培養下に RANKL (50 ng/mL) を追加投与すると、上皮のマーカーである keratin および E-cadherin の発現とともに、悪性腫瘍の転移時にみられる上皮間葉転換の指標である N-cadherin および vimentin の発現も観察された。破骨細胞 (マクロファージ) 様形態変化を伴うことから、マクロファージのマーカーである CD68 についても検討を行うと、RANKL 投与下のみが発現が観察された。以上の結果から、AM-1 は細胞外 Ca²⁺ および RANKL により、破骨細胞様および悪性腫瘍様に奇異な形態変化および形質転換を起こしながら骨溶解および増殖することが示唆された。

P2-130

WISP1/CCN4: 前立腺癌の増殖・骨転移に対する新規標的因子

○大野 充昭^{1,2}、窪木 拓男¹、Young Marian² (¹岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、²アメリカ国立衛生研究所)

欧米において、前立腺癌は男性において最も高頻度に診断される癌であり、男性の癌死の原因の第 2 位に挙げられるが、未だ前立腺癌の増殖や骨転移の詳細なメカニズムは明らかでない。我々は CCN4 遺伝子が前立腺癌の増殖・骨転移に関与していることを明らかにしたので報告する。初めに、ヒト前立腺癌の組織切片を用い、CCN4 の発現量を免疫組織化学的に評価した。その結果、Gleason 分類が低いほど CCN4 が高発現することが明らかとなった。また、前立腺癌患者の血清 CCN4 を ELISA 法を用い定量した。その結果、早期癌の患者の血清中から CCN4 が多く検出された。以上の結果から、CCN4 と前立腺癌の関与が予測される。そこで次に CCN4 が前立腺癌の増殖・骨転移に及ぼす影響を明らかにするため、ヒト前立腺癌細胞にルシフェラーゼベクターを遺伝子導入した PC-3-Luc 細胞 (以下 PC-3) をヌードマウスの背部皮下移植、もしくは心腔内投与した。腫瘍移植後、抗 CCN4 抗体を腹腔内投与し、その効果を調べた。その結果、抗 CCN4 抗体投与群では腫瘍の増殖および転移は有意に抑制された。さらに CCN4 が細胞遊走に与える影響を Boyden chamber 法にて検討した。その結果、CCN4 は PC-3 の細胞遊走を有意に促進した。一方、抗 CCN4 抗体にて前処理した PC-3 は細胞遊走能が有意に低下した。以上の結果より、CCN4 は前立腺癌の診断ツールになる可能性のみならず、抗 CCN4 抗体を用いた前立腺癌治療への応用の可能性が示唆された。

P2-132

口腔扁平上皮癌におけるソニックヘッジホッグの血管新生因子としての役割

○黒田 大雅¹、栗尾 奈愛¹、志茂 剛¹、伊原木 聡一郎¹、奥井 達雄¹、堀切 優¹、松本 憲一¹、佐々木 朗¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)

【緒言】 ヘッジホッグシグナルは腫瘍増殖に関与することが報告されているが、口腔扁平上皮癌におけるその役割はまだ明らかとされていない。本研究では、口腔扁平上皮癌におけるソニックヘッジホッグ (SHH) の血管新生因子としての役割に関して検討を行ったので報告する。【方法】 血管新生能の検討は、6 週齢 Wistar Rat aorta ring assay を使用した。SHH のヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に対する遺伝子発現は、クロンテック社 cDNA アレイメンブレンを用い解析した。【結果】 SHH、Gli-2 高発現、低発現口腔扁平上皮癌細胞株共に cyclopamine による細胞増殖能、遊走能に有意差は認められなかった。マウス背部皮下移植モデルにおいて、cyclopamine 投与群はコントロール群と比較して有意に腫瘍増大とともに CD31 陽性新生血管は抑制された。SHH は Rat aorta ring の増殖・管腔形成を促進し、その効果は cyclopamine によって抑制された。cDNA アレイの結果、SHH 添加により HUVEC における、血管新生因子 (5)、増殖因子 (9)、MMP 群 (3) に関わる遺伝子群が上昇することが明らかとなった。【結論】 口腔癌細胞から産生される SHH は、血管内皮細胞に作用して血管新生因子を誘導し、腫瘍増大を促進することが示唆された。

P2-133

2型糖尿病治療薬メトホルミン塩酸塩の口腔扁平上皮癌に対する腫瘍増殖抑制効果

○栗尾 奈愛¹、志茂 剛¹、黒田 大雅¹、松本 憲一¹、佐々木 朗¹ (岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科)

【目的】一般に糖尿病患者では発癌率が高く、糖尿病治療薬、メトホルミン塩酸塩の内服患者では発癌率が有意に低いことが報告されている。近年メトホルミンの抗腫瘍効果が注目されており、その作用機序として AMPK キナーゼの活性化による mTOR シグナルの抑制による抗腫瘍効果が報告されている。口腔癌では細胞増殖因子 IGF-1 とその下流の mTOR の高発現が報告されており、本研究では口腔扁平上皮癌におけるメトホルミンの腫瘍増殖抑制効果に関して検討をおこなったので報告する。【方法】in vivo 腫瘍モデルは、口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-2 細胞をヌードマウス背部皮下へ移植し作製した。in vitro における解析は HSC-2 細胞を用い MTT アッセイ、Tunnel アッセイを用いて検討した。タンパク発現は免疫染色、ウエスタンブロット法を用いた。【結果】口腔癌切除標本において IGF-1、IGF-1R、mTOR の高発現が認められた。IGF-1 により HSC-2 細胞の細胞増殖が促進され、メトホルミン濃度依存的に抑制された。シグナル伝達では IGF-1 により AMPK のリン酸化が抑制されたがメトホルミン投与群では抑制効果を認めなかった。メトホルミン投与群で Tunnel 陽性細胞の増加を認め、腫瘍細胞のアポトーシスが示唆された。マウス腫瘍移植モデルにおいて、メトホルミン投与群では腫瘍増殖が有意に抑制された。【結論】メトホルミンは口腔扁平上皮癌における腫瘍増殖を抑制し、口腔癌の新たな治療戦略となりうる事が示唆された。

P2-135

ユージオール暴露後の口腔内細胞における代謝変動

○齊藤 嘉大¹、高 泰浩²、村上 幸生²、田中 庄二²、片山 直²、坂上 宏¹、杉本 昌弘³ (1明海大 歯 薬理、2明海大 歯 口腔診断、3慶大 政策・メディア研究科)

【目的】ユージオールは、歯髄鎮静に使用されているが、その口腔細胞に対する傷害性のメカニズムに関する報告は少ない。我々は、前回、ユージオールが、アポトーシスを誘導せずに、ヒト口腔正常細胞および扁平上皮癌細胞に、同程度に細胞傷害活性を誘導することを報告した。今回、その細胞傷害活性の分子メカニズムを探る一環として、細胞内代謝産物の変動を追跡した。【方法】ヒト口腔扁平上皮癌細胞 HSC-2 と口腔正常細胞 (歯肉線維芽細胞、歯髄細胞、歯根膜線維芽細胞) は、DMEM + 10% FBS 中で培養した。生細胞数は、トリプシン剥離後、血算板を用いて算定した。5% D-マンニトールで洗浄後、内部標準物質を含むメタノール液で、細胞内代謝産物を抽出し、メタボローム解析に供した。細胞内微細構造は、透過型電子顕微鏡で観察した。【結果と考察】ユージオールを HSC-2 細胞に添加した場合、初期過程で、ATP の利用 (AMP/ATP 比) の減少、ポリアミン (プトレッシン) 濃度の上昇、それに続き、酸化ストレスマーカー (酸化型グルタチオン、システイン-グルタミンジスルフィド、メチオニンスルホキシド) の上昇が観察された。ユージオールは、HSC-2 細胞に非アポトーシスを誘導する可能性を示唆した。現在、口腔正常細胞につき、同様な解析を行っている。

P2-134

Significance of podoplanin expressing stromal fibroblasts in oral squamous cell carcinoma

○井上 ハルミ¹、菊池 建太郎¹、宮崎 裕司¹、草間 薫¹ (1明海大 歯 病理)

Podoplanin is a mucin-type glycoprotein and a lymphatic endothelial marker. It is also well known that podoplanin expresses in various cancer cells including oral squamous cell carcinoma (OSCC). Apart from podoplanin expression in cancer cells, recent studies have suggested that podoplanin expression in stromal fibroblasts may predict poor prognosis in various cancers. In order to clarify the significance of podoplanin expressing fibroblasts in OSCC, we performed immunohistochemistry for podoplanin and SMA. Results showed that podoplanin positive stromal fibroblasts were detected in 73.9% of OSCCs and in 82.8% of those in metastatic lymph nodes. SMA immunoreactivity was observed in 56.5% of OSCCs and in 82.8% of the metastatic tissues. As a result of further examination, podoplanin positive fibroblasts were also positive for SMA in 74.5% of OSCCs and in 95.8% of those in the metastatic lymph nodes. In addition, the intensity of reactivity for SMA was enhanced as that of podoplanin positivity is stronger. In conclusion, these findings indicate that podoplanin expressing stromal fibroblasts are considered as myofibroblasts that may contribute to cancer progression of the oral cavity.

P2-136

がん性疼痛緩和治療における血小板活性化因子 (PAF) 阻害薬の有用性

○本山 直世¹、森田 克也²、北山 友也³、兼松 隆³、栗原 英見⁴、土肥 敏博⁵ (1広大院医歯薬保 健康増進歯学、2広島文化学園大 院看護薬理、3広大院医歯薬保 細胞分子薬理、4広大院医歯薬保 歯周病態、5日薬大 薬物治療)

がん性疼痛は従来の鎮痛薬が奏功しないため、オピオイド類や、抗うつ薬、抗てんかん薬等鎮痛補助薬が用いられているが、それらの有効性、使用には限界があり、新しい治療法・治療薬の開発が待たれている。私達は、血小板活性化因子 (PAF) 阻害薬が原因の異なる各種難治性疼痛モデル動物で強力で長期間持続性の鎮痛作用を有することを報告してきた。本研究では、PAF 阻害薬のがん性疼痛緩和作用について検討を加えた。実験は、C3H/HeN マウスの大腿骨髄内に NCTC2472 細胞を移植し、骨がんモデル (FBC) マウスを作製した。がん性疼痛はアロディニアスコア、アロディニア閾値、Guarding behavior (安静時に患肢を持ち上げる行動)、Limb-use abnormality (体動時に患肢を不自然に使う行動) で評価した。FBC マウスにおいて PAF 阻害薬は長期間持続する鎮痛作用を示した。さらに脊髄 PAF 受容体ノックダウンにより同様の鎮痛作用を認めた。PAF 阻害薬とモルヒネの併用はモルヒネの鎮痛作用を著しく増強した。この併用により、モルヒネの副作用 (便秘) がもはや問題とならない程にモルヒネ投与量を軽減できた。以上、PAF 阻害薬はがん性疼痛を強力に抑制し、その機序に脊髄 PAF 受容体の特異的阻害が含まれること、PAF 阻害薬とオピオイド類との併用はがん性疼痛の緩和治療に有益である可能性を示した。

P2-137

Zoledronate の細胞障害におけるミトコンドリアの変化について

○田島 雅道¹、坂上 宏¹ (明海大 歯 病態診断治療 薬理)

【目的】骨転移癌の治療に zoledronate (ZD) を投与されている患者が、口腔外科の治療後に顎骨壊死を発症する機序は明らかでなく、有効な治療法も確立されていない。ZD による細胞障害時に起こるミトコンドリアの変化について解析を行った。【方法】マウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 に対する ZD の反応性を調べた。細胞増殖活性測定は WST-8 を用い、細胞内の極性変化を POLARIC にて観察した。ミトコンドリア膜電位を JC-1 の蛍光変動で測定した。Caspase 活性は CellEvent で評価し、細胞内活性酸素種 (ROS) 生成は CM-H₂DCFDA を用い、励起光反復照射による ROS 生成を蛍光量から評価した。【結果】MC3T3-E1 に対する ZD の細胞増殖阻害は濃度依存的で、アスコルビン酸と β -グリセロリン酸添加でその細胞障害性は増強された。ZD はミトコンドリアの極性を変化させ、膜電位を上昇させた。細胞内 ROS 生成は抑制されているが、アポトーシスを誘導した。【考察】Zoledronate は細胞にアポトーシスを誘導するが、むしろミトコンドリア機能は抵抗性を示している可能性が示唆された。

P2-139

ホルマリン刺激に対するキトサンオリゴ糖の鎮痛作用

○寺澤 理恵¹、小磯 和夫¹、米原 典史¹ (奥羽大 歯 歯科薬理)

【目的】天然多糖類の一種であるキチン・キトサンは創傷治癒促進作用や抗腫瘍作用など様々な薬理作用を有することが知られている。また、これらは毒性が低く、安全性が高い。今回は高分子多糖であるキトサンを加水分解し、水溶性としたキトサンオリゴ糖 (CHS) を用いて、ホルマリン刺激に対する CHS の鎮痛作用を検討した。【方法】実験には ICR 雄性マウスを用い、鎮痛試験はホルマリンテストを行った。マウスの後肢右足趾に 2.5%ホルマリンを皮下注射し、その注入足に対する licking 行動の時間を 5 分間ごとに 30 分間測定し、これを疼痛反応として評価した。実験薬物はホルマリン投与 30 分前に腹腔内 (i.p.) または経口投与 (p.o.) した。【結果と考察】ホルマリンの投与による疼痛反応は 0~5 分 (第一相) と 15~30 分 (第二相) の 2 つのピークを示した。i.p. においては 50 mg/kg CHS はいずれの相も licking 反応を抑制しなかったが、250 mg/kg CHS は第一相を抑制せず第二相のみ有意に licking 反応を抑制した。50 mg/kg アスピリンにおいても第二相のみ有意に licking 反応を抑制した。5 mg/kg モルヒネは第一相、第二相いずれも有意に licking 反応を抑制した。p.o. においては 250 mg/kg CHS と 50 mg/kg アスピリンは第二相のみ有意に licking 反応を抑制し、その効果は類似していた。これらのことから、CHS はアスピリンと同様に主に炎症によって引き起こされる疼痛を抑制する作用を持つことが明らかになった。

P2-138

ヒト口腔癌細胞に傷害活性を有する新規イソキノリン誘導体類のデザイン (その 3)

○石原 真理子¹、山内 雅司² (明海大 歯 口腔生物再生医工 基礎化学、²明海大 歯 社会健康科学 医療情報)

【目的】前回、イソキノリン類 (TQ) の構造とヒト口腔扁平上皮癌細胞および白血病細胞の細胞傷害活性に有意な相関関係があることから、ヒト口腔癌細胞により高い活性を持つ新規イソキノリン化合物の分子設計に関して発表した。今回、更に新たな知見を得たので報告する。【方法】分子記述子は CONFLEX で最安定配座を決定後、MOPAC/PM5 法で計算した。新規化合物の分子設計は ACD/Structure Design Suite ソフトを用いた。【結果と考察】ACD/Structure Design Suite を用いてイソキノリン骨格の 2 位に付いた置換基変換により想定された対象化合物は 3984 種類にのぼった。そこで実験結果から、TQ 化合物のオクタノール-水分配係数 (Log P) は 2.2 付近に活性があったので、Log P 値 2.0~2.3 が予想される化合物に絞り込み (313 種類)、更に合成のし易さを考慮して 40 種類の化合物を想定し、そのうちの 30 種類の分子記述子を得た (生成熱、水和の安定性、HOMO エネルギー、LUMO エネルギー、絶対ハードネス、絶対電気陰性度、反応指数、分子の表面積、体積等)。これらの分子記述子から細胞傷害活性が期待される新規化合物の検索を行っている。

P2-140

フッ化ナトリウム暴露後の口腔内細胞における代謝変動

○坂上 宏¹、田中 庄二²、片山 直^{2,3}、Garcia Contreras Rene^{1,4}、杉本 昌弘⁵ (明海大 歯 薬理、²明海大 歯 口腔診断、³明海大 歯 保存修復、⁴メキシコ州立自治大、⁵慶大 先端生命科学研)

【目的】フッ化ナトリウム (NaF) は、齲蝕予防、再石灰化の改善、抗菌活性を示し、歯磨剤や洗口液の成分として利用されている。しかし、NaF は、フッ素沈着や、胸腺細胞には壊死、肺や腎の上皮細胞、象牙芽細胞、骨芽細胞にはアポトーシスを誘導することが報告され、高濃度での傷害性が問題になっている。我々は、NaF が、歯肉線維芽細胞と比較し、口腔扁平上皮癌細胞 HSC-2 に強くアポトーシスを誘導することを報告した。今回、その細胞傷害活性の分子メカニズムを探る一環として、細胞内代謝産物の変動を調べた。【方法】アポトーシスの誘導は、カスパーゼ-3 の活性化により測定した。生細胞数は、トリプシン剥離後、血算板を用いて算定した。5% D-マンニトールで洗浄後、内部標準物質を含むメタノール液で、細胞内代謝産物を抽出し、メタボローム解析に供した。【結果と考察】NaF は HSC-2 細胞に添加後、30 分以内に、解糖系の 2-phosphoglycerate から phosphoenolpyruvate への反応、TCA 回路の 2-oxoglutarate から succinate の生成に至る反応阻害された。2 時間後に、ATP の利用 (AMP/ATP 比) が増加し、酸化ストレスマーカー (GSSG, cysteine-glutathione disulphide, methionine sulfoxide) が上昇し、4 時間以降でカスパーゼ-3 が活性化した。NaF のアポトーシス誘導に先立ち、エノラーゼ反応および TCA 回路が阻害された可能性が示唆された。

P2-141

ユーキノールの TRPV1 チャンネルに対する抑制機構解明

○吉田 卓史¹、高橋 かおり²、若森 実¹ (¹東北大院歯 歯科薬理、²東北大 歯)

Eugenol, the major component of essential oil of clove, has been used in dental practice to relieve pain. It has been reported that eugenol activates TRP (transient receptor potential) V1 channel in a heterologous expression system and rat trigeminal ganglion (TG) neurons. On the other hand, it has also been reported that eugenol exert their antinociceptive effects *via* the TRPV1 located on sensory terminals in the spinal cord. In this study, to elucidate the molecular mechanisms underlying pharmacological actions of eugenol on TRPV1 channel, we investigated the channel properties of TRPV1 using mouse TRPV1 expressing HEK293 cells. Eugenol inhibited the capsaicin- or proton-induced inward currents in a concentration-dependent manner. The inhibitory effect of eugenol (1 mM) was larger in the case of inward current (ca. 45%) than that of outward current (ca. 20%). It suggests that eugenol may function as a channel pore blocker. Moreover, it found eugenol reduce the cell surface expression level of TRPV1 proteins in western blotting. These results suggest eugenol attenuates TRPV1 channel activity and may cause antinociceptive effects.

P2-142

漢方薬、漢方成分及びグリチルリチンの紫外線に対する細胞保護作用

○加藤 崇雄¹、日野 峻輔¹、堀江 憲夫^{1,2}、金子忠良^{2,4}、下山 哲夫¹、草間 薫²、坂上 宏^{3,5} (¹埼玉大 総セ 歯口外、²明海大 歯 病理、³明海大 歯 MPL、⁴日大 歯 口外、⁵明海大 薬理)

【目的】漢方薬は様々な口腔疾患の治療に使用されている。前大会でヒト口腔扁平上皮癌細胞 HSC-2 による漢方薬及び漢方成分の紫外線の細胞に対する保護効果を報告した。今回、ヒト皮膚ケラチノサイト細胞 HaCaT による漢方薬および漢方成分の抗 UV 活性と HSC-2 細胞で得られたデータとの相関について検討した。【方法】HaCaT を播種後、DMEM 培地中で 24 時間培養し、プレートに付着させた。種々の濃度の試料を含むリン酸緩衝液 100 μl に置換後、20.5 cm 離れた距離で 10-480 秒間 UV 照射した。照射時間を 90 秒とした。培地を置換し、24 時間培養後、MTT 法により相対的生細胞数を測定した。照射時間を 90 秒として種々の濃度の漢方薬および漢方成分の抗 UV 活性を測定した。濃度依存性曲線から、50%細胞傷害濃度 (CC50) および UV 照射細胞の生存率を 50% まで上昇させる濃度 (EC50) を求めた。有効係数 (SI) は、次式で求めた。SI = CC50/EC50。【結果・考察】HaCaT は UV の照射時間 10 秒から死滅し始め、90 秒で 30% 以下になった。HaCaT を用いた場合の方が、全体的に高い SI 値を示した。HSC-2 を用いて抗 UV 活性が検出されないものは、HaCaT でも同様であったが、両細胞間では明確な相関関係は認められなかった。抗 UV 活性が比較的高いものは、沢瀉、細辛、黄耆、黄連、山梔子、竜胆、竜胆であった。

P2-143

過酸化水素を担持した殺菌性歯科用レジンに対するメラノイジンの効果

○井上 貴一郎¹、水野 守道²、高橋 茂¹、牛島夏未³、中島 利徳¹、松村 馨¹、土門 卓文¹ (¹北大 院歯 口腔機能解剖、²北大 院歯 口腔分子生化学、³北大 院歯 学術支援)

【目的】感染脱灰象牙質でも、無菌化できれば、残存コラーゲン・ネットワークの再石灰化が可能となるため、感染象牙質の無菌化は MI に基づく齲蝕治療に極めて有用である。過酸化水素は、分解により発生するヒドロキシラジカルに強い殺菌能があり感染象牙質の無菌化も可能であるが、高分子化合物に含有できなかった。そこで過酸化水素を担持した歯科用レジンを作製し、消失の速いヒドロキシラジカルに対し、スピントラップ剤としてのメラノイジンの殺菌能長期保持に対する効果を検討した。【方法】過酸化水素を担持させる各種歯科材料の検討結果より充填用光重合レジンを採用し、各種メラノイジンをスピントラップ剤として過酸化水素と結合させ、保持効果を peroxide test、FOX 法で、殺菌効果を S.mutans を用いたハローテストで評価した。【結果と考察】スピントラップ効果は、グルコースとヒスチジンから成るメラノイジンが 45 日後でも良い結果を示した。そこでグルコースとヒスチジンからなるメラノイジンを結合させ 37℃湿度 100% で保管した結果、メラノイジン結合試料では 70 日まで溶解斑の形成が認められたのに対し、対照群では 1 週で確認できなくなった。以上より過酸化水素を担持した充填用光重合レジンに、グルコースとヒスチジンより合成したメラノイジンを混合すると過酸化水素による殺菌活性を長期間安定的に保持できることが明らかになった。

P2-144

密度勾配遠心法で精製された *Porphyromonas gingivalis* 外膜ヴェシクルとその構造と機能

○中尾 龍馬¹、泉福 英信¹ (¹感染研 細菌 1)

Porphyromonas gingivalis の外膜ヴェシクル (OMV) には高い粘膜炎誘導能があり、歯周病のワクチン原に応用できる可能性が示唆されている。しかし、一般的な精製法で得られた OMV は大きさが様々で、線毛も含まれる。本研究の目的は、OMV をさらに精製することで、その構造や機能の詳細を明らかにすることである。*P. gingivalis* の培養上清を膜濾過した後の濾液を超速心し、得られた沈渣を Iodixanol 密度勾配遠心に供した。上層から 11 分画したものを (# 1-11) を、電子顕微鏡 (EM)、各種 OMV 構成タンパク、LPS、線毛抗体の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。EM により、軽い分画 #4 に粒子径の大きな OMV (58.2 ± 52.9 nm) が、やや重い分画 #8 には小さな OMV (33.2 ± 7.2 nm) が観察された。最も重い分画 #11 には線毛が多く OMV は乏しかった。各分画に含まれる構造の違いは、各種抗体のウエスタンブロットによっても確認された。また、OMV の認められた分画には高い細胞脱離活性が認められたが、線毛の多い分画にその活性はほとんど認められなかった。以上、密度勾配遠心法により、線毛の除去、および OMV の大きさの違いによる分取が可能であった。また、OMV は大きさの違いに関わらず、細胞に対する高い脱離活性があることが明らかとなった。

P2-145

P. gingivalis ジンジバインによる PI3K/Akt 経路の抑制機序

○中山 真彰¹、井上 哲圭¹、中山 浩次²、大原直也¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔微生物、²長大 院医歯薬 口腔病原微生物)

Porphyromonas gingivalis (*Pg*) の持続感染は、歯周組織に影響を及ぼし、口腔機能の低下を招く。本研究では、細胞の生存・増殖、代謝などに重要な機能を持つ PI3K/Akt 経路へ与える *Pg* 感染の影響とその作用機序を解析した。*Pg* を歯肉上皮細胞に感染させ、Akt の活性化および Akt 下流因子について *in vitro* kinase assay, Western blotting, 免疫染色法にて解析を行った。また Akt 上流因子 PDK1, PTEN や protein phosphatase (PP) の役割についても解析した。次に *Pg* の病原因子ジンジバインの関与について検討するために、ジンジバイン完全欠損変異株 (MT 株) を用いた感染実験を行ない、野生株 (WT 株) を用いた場合と比較した。*Pg*-WT 株は Akt を抑制し、Akt 下流因子へのリン酸化レベルを変化させていた。Akt 上流因子に関しては、PTEN および PP は *Pg*-WT 株による Akt の脱リン酸化に関与しないことが示唆されたが、PDK1 は細胞膜に局在しないことが示された。*Pg*-MT 株では、Akt の抑制や PDK1 の細胞膜局在に変化は認められなかった。従って、ジンジバインが細胞膜タンパク質に影響を与え、PI3K 活性の低下による PDK1 の細胞膜局在に変化を起し、PDK1/Akt 伝達遮断により Akt 制御系の攪乱に繋がっていると考えられた。

P2-147

マルトオリゴ糖の分解に関与する *S. mutans* *malQ* 遺伝子の特徴付け

○佐藤 裕¹、柴山 和子²、東 俊文^{1,3} (¹東歯大 生化学、²東歯大 微生物、³東歯大 口科研セ)

【目的】 昨年の本学会において、本菌の *glgP*, *malQ* 遺伝子は菌体内グリコーゲン様多糖分解よりも、唾液存在下のデンプン代謝に関与する意義が大であることを報告した。また *malQ* 遺伝子産物はグルコース遊離活性があり、 α 1,4-glucosidase ではないかと推察したが、ゲノムプロジェクトで annotate されている glucanotransferase 活性について検討した。【方法】 昨年度報告した *malQ*, *glgP* 遺伝子の大腸菌クローンより分離精製した His-Tag MalQ および GlgP 精製タンパク質を用い単独および両者共存下の反応を解析した。マルトースの MalQ 反応産物を薄層クロマトグラフィー (TLC) により解析した。【結果と考察】 TLC の結果から、MalQ タンパク質によるマルトース反応産物はグルコースのみが生じるのではなく、グルコースとマルトリオースより大きいマルトオリゴ糖が生成することが分かった。これは MalQ が glucosidase ではなく、glucanotransferase であることを示唆していた。GlgP 単独での反応と異なり、GlgP は MalQ 共存下で見かけ上マルトースに対しホスホリラーゼ活性を示した。これはマルトースに対する MalQ による glucanotransferase 反応で生じたマルトオリゴ糖に対し同活性を示した結果と考えられた。従って MalQ タンパク質は 4- α -glucanotransferase の一種である Disproportionating Enzyme であることが強く示唆された。

P2-146

A 群レンサ球菌は宿主カルパインの活性化を介して上皮バリアを突破する

○住友 倫子¹、中田 匡宣¹、寺尾 豊²、川端重忠¹ (¹阪大 院歯 口腔細菌、²新大 院医歯微生物)

【目的】 A 群レンサ球菌 (Group A *Streptococcus*; GAS) は、物理バリアである咽頭や皮膚の上皮細胞層を突破した後、組織内への侵入と増殖により、劇症型レンサ球菌感染症を引き起こすと推測されている。我々はこれまでに、GAS が細胞間接着分子の分解により上皮バリアを突破すること、ならびに、その突破機構には溶血毒素の一つである Streptolysin S (SLS) が関与することを明らかにした。本研究では、SLS が誘導する宿主細胞間相互作用に着目し、GAS の上皮バリア突破機構への宿主プロテアーゼの関与について検討した。

【方法】 各種阻害剤で処理したヒト腸管上皮細胞 Caco-2 の上皮バリアモデルに、劇症型 GAS 感染症由来の NIH35 株 (M28 型) および SLS 欠失株を感染させ、菌体の上皮バリア通過能を評価した。また、GAS 感染が誘導する宿主細胞間相互作用は、免疫蛍光抗体法およびウエスタンブロット法により解析した。

【結果と考察】 野生株の上皮バリア通過能は、カルパイン阻害剤の添加により著しく低下した。野生株感染細胞では、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に伴い、細胞内プロテアーゼであるカルパインの細胞膜部位への移行が認められた。また、カルパイン局在部位における細胞間接着分子の分解は SLS の変異や BAPTA-AM の添加により抑制された。以上の結果から、SLS は宿主上皮細胞にカルシウムイオン依存的なカルパインの活性化を誘導し、GAS の上皮バリア通過に寄与することが示唆された。

P2-148

口腔における *Rothia aeria* の分布と薬剤耐性

○續橋 治¹、内堀 聡史²、福本 雅彦¹ (¹日大 松戸歯 歯科臨床検査医学、²日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)

【目的】 近年、膿瘍、敗血症および呼吸器感染患者から *Rothia aeria* (*R. aeria*) が分離されたという報告がなされており、これら疾患の起原菌と考えられている。しかし、口腔における本菌の分布に関する報告は見られない。そこで歯垢検体における本菌の検出状況を検索するとともに、同分離菌株の薬剤感受性を調べた。【方法】 本研究において、開発した *R. aeria* 用選択培地は高い回収率と選択性を示したことから、本選択培地を用いて 10 名の歯垢試料から通常に従い *R. aeria* の検出を試みた。菌種同定は、16S rRNA 遺伝子を基に設計した検出用プライマーを用いた PCR 法により行なった。また、4 名から得られた各 5 菌株について希釈法を用い各種抗菌剤に対する MIC を検査した。【結果および考察】 *R. aeria* は、全被験者の歯垢試料から検出され、総菌数に対する検出比率は平均 1.1% であった。薬剤感受性については、1 名の被験者の分離 5 菌株すべてが MLS 系薬剤に高度耐性、他の 1 名の分離 5 菌株すべてが GM に耐性を認めた。これらの結果から、本選択培地は口腔試料からの *R. aeria* の分離に有用であり、また *R. aeria* の総菌数に占める割合は比較的低率であるが、口腔に常在しているものと判断された。さらに口腔分離菌株は *R. aeria* type strain JCM11412 と異なり、薬剤耐性傾向を示したことから、今後も引き続きモニタリングすることが重要であるものと考えられる。

P2-149

ゾウ口腔から分離した *Streptococcus salivarius* 様菌について

○齋藤 真規¹、高田 和子¹、平澤 正知¹ (¹日大 松戸歯 口腔微生物)

【目的】当研究室ではヒトに常在する齧蝕原因菌 mutans streptococci の由来を研究する一環として、動物口腔から同菌を分離し、その解析を行っている。今回、ゾウ口腔から採取した試料を mitis salivarius 平板培地上で培養した際に見られた菌体外多糖合成集落形成菌株のうち、*S. mutans* group に属さなかった分離株について、その性状解析を試みた。【方法】ゾウ口腔から分離した菌体外多糖形成が認められた菌株について通法に従いその性状解析を行った。【結果】分離した2菌株を NUM 6304 および NUM 6306 として rapid ID 32 STREP にて菌種同定したところ、前者は *Streptococcus* sp.、後者は 92.4% の相同性で *S. salivarius* と同定された。16S rRNA 遺伝子配列の相同性では前者が *S. salivarius* subsp. *salivarius* に、後者が *S. vestibularis* に最も近縁でそれぞれ 96.8% および 97.0% を示した。rpoB 遺伝子配列の相同性は両菌株とも *S. vestibularis* に 93% であった。両菌株とも既知の *S. salivarius* group との DNA-DNA ハイブリダイゼーションの結果は 50~70% の相同性であった。また、両菌株とも *S. salivarius* 固有の *gtf-L* 遺伝子断片を保有していたが、蔗糖からの非水溶性多糖合成能およびガラス管付着能は NUM 6306 で強く認められた。【結論】NUM 6304 および NUM 6306 は *S. salivarius* group に属する新菌種である可能性が示唆された。

P2-151

環境ストレスに応答する *Porphyromonas gingivalis* non-coding RNA の検索

○平塚 浩一¹ (¹日大 松戸歯 生化学・分子生物学)

【目的】近年、多くの細菌で相当数の non-coding RNA が同定され、様々な病原性タンパク質やストレス応答タンパク質をコードする mRNA の翻訳や安定性を調整することがわかってきた。本研究は、*P. gingivalis* の non-coding RNAs を次世代シーケンサーを用いて網羅的に同定・解析し、*in silico* で既に予測されているものと照合するとともに、新規の non-coding RNA の候補を見いだす事を目的とする。【方法】様々なストレス負荷を菌体にかけて後、経時的にサンプルから全 RNA を抽出した。次世代高速シーケンサーを用いて、発現する全ての RNA を網羅的に解析し、ゲノム塩基配列上にマッピングした。遺伝子 (rRNA, tRNA 含む) 間領域で RNA の発現が認められるものを抽出し、Los Alamos で予測された 649 種の non-coding RNA 領域と重複するかを確認した。【結果と考察】*in silico* 予測された全 649 種類の non-coding RNA 候補のうち、発現が認められたのは、388 種 (59.8%) であり、FPKM 値の大小の差は 10^5 に及んだ。逆に予測されながら発現が全く認められなかったのは 261 種 (40.2%) であった。また一方で予測領域でない場所からの発現が認められた領域は 56 か所存在し、新規 non-coding RNA の領域の可能性が疑われた。

P2-150

ヒト・ブランクの糖アルコール代謝：メタボロミクス的アプローチ

○鷲尾 純平¹、高橋 信博¹ (¹東北大 院歯 口腔生化学)

【目的】Sorbitol (Sor) は Xylitol (Xyl) と同様に糖アルコールであるが、一部の口腔細菌は代謝し酸を産生する。そこでヒトブランク (HP) の Sor と Xyl 代謝についてメタボロミクス的に比較検討した。

【方法】被験者 6 名より、Glu、Sor 及び Xyl 溶液洗口の前後に HP を採取し、糖代謝経路 (解糖系、ペントースリン酸回路 [PPP]、TCA 回路) の代謝中間体・代謝産物および各種アミノ酸を対象とし、CE-TOFMS によるメタボローム解析を行った。【結果及び考察】Sor 洗口時には、Sor 6-リン酸や各種糖代謝関連中間体が確認され、HP によって Sor が代謝されることが示されたが、乳酸産生量は Glu 洗口時の 9.7% と僅かであった。一方、Pyruvate (Pyr) は 25%、acetyl CoA (Ac) は 65% であったことから、Sor から解糖系を経て産生される Pyr の大部分は乳酸へ代謝されるのではなく、Ac を経由して代謝されることが示唆された。Glu 洗口時にはほとんどのアミノ酸が減少 (平均 25%) したのに対し、Sor 洗口時には増加 (平均 46%) した。Xyl 洗口時では Xyl 5-リン酸の産生以外は糖代謝経路がほぼ機能しておらず、アミノ酸は Glu 洗口時と同様の減少傾向を示した。Sor ば Xyl と同様に HP による酸産生は少ないが、アミノ酸産生を促進する可能性が考えられた。

P2-152

咽頭における *Rothia aeria* の分布および口腔分離株との遺伝子型の比較

○内堀 聡史¹、續橋 治² (¹日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴、²日大 松戸歯 歯科臨床検査医学)

【目的】*Rothia* 属の中でヒトの口腔から分離されるのは、*R. dentocariosa* と *R. mucilaginosa* があり、口腔常在菌と考えられている。これらの菌は日和見感染起因菌と考えられており、咽頭においても常在しているとの報告もある。しかし我々の研究において、*R. aeria* も口腔常在菌であると判断されるが、本菌の咽頭における分布等の詳細な報告はない。そこで我々は咽頭における本菌の分布状況を検索した。また、唾液および咽頭試料から得られた *R. aeria* 分離株の遺伝学的タイピングを行った。【材料と方法】健康者 5 名の唾液、そして咽頭から滅菌綿棒により採取したものを試料とし、*R. aeria* 用選択培地を用いて *R. aeria* の検出比率を算定した。菌種同定は 16S rRNA 遺伝子を基に設計した検出用プライマーを用いた PCR 法により行った。また唾液と咽頭試料から得られた分離株は OPA-03 プライマーを用いた AP-PCR 法により、遺伝学的に共通であるかを検討した。【結果と考察】全被験者の唾液と咽頭から *R. aeria* が検出され、総菌数に相違はあるものの、その検出比率はどちらの試料も平均 2% 程度であった。また、唾液と咽頭試料から得られた分離株は、AP-PCR 法により同一被験者間で同じ型別を示した。これらの結果から本菌の総菌数に占める割合は比較的低率であるが、口腔および咽頭の常在菌であるものと判断された。また口腔と咽頭においては、同一の型別を有する *R. aeria* が常在していると考えられる。

P2-153

Candida albicans による IL-1 β 産生誘導のメカニズム

○長谷部 晃¹、佐伯 歩¹、杉山 正博¹、柴田 健一郎¹ (北大 院歯 口腔分子微生物)

【目的】インフラマソームは多くの炎症性疾患の発症と進行において中心的な役割を果たしており、その活性化により炎症誘導性のサイトカインである IL-1 β の産生が誘導される。本研究では、*C. albicans* (Ca) によるインフラマソーム活性化のメカニズムを調べることを目的とし、Ca による IL-1 β 産生誘導のメカニズムを調べた。

【材料と方法】GFP を発現する Ca pACT-GFP (アバディーン大学 A. J. Brown 教授より分与) を用いて、ヒト単球・マクロファージ系細胞 THP-1、マウス樹状細胞系細胞 DC2.4 ならびに XS106 を刺激した。細胞の培養上清中の IL-1 β は ELISA で測定し、培養上清中の成熟型 IL-1 β はウェスタンブロッティングで確認した。THP-1 の活性化は PMA 処理により行い、THP-1 による Ca の取り込みはフローサイトメーターで測定した。また、抗真菌薬としてアンホテリシン B、THP-1 による取り込み阻害剤としてサイトカラシン D を使用した。

【結果と考察】Ca は THP-1 細胞には IL-1 β の産生を誘導したが、DC2.4 ならびに XS106 細胞には誘導しなかった。すべてのこれらの細胞は Ca を取り込んだことから、樹状細胞系の細胞にとって、IL-1 β の産生誘導と Ca の取り込みとは無関係であった。THP-1 を PMA により活性化すると Ca による IL-1 β 産生誘導が増強され、産生された IL-1 β は成熟型であることが確認された。さらに IL-1 β 産生誘導には、生きている Ca が取り込まれることが重要であることがわかった。

P2-155

口腔癌に対する BCG 生菌療法による抗腫瘍、延命効果の検討

○村上 純¹、大原 直也²、中山 真彰²、辻極 秀次³、長塚 仁³、此内 浩信¹、柳 文修¹、畦坪 輝寿¹、浅海 淳一⁴ (岡大 病院 歯放、²岡大 院歯 口腔微生物、³岡大 院歯 口腔病理、⁴岡大 院歯 口腔放射線)

【目的】BCG (Bacillus Calmette-Guerin) 生菌療法は、現在その副作用が少ない点などから、表在性膀胱癌に限られ利用されている。口腔癌においても、BCG 療法の効果が認められれば、臨床上的利点は大きい。そこで今回われわれは、口腔癌に対する BCG 生菌を効果的かつ安全な抗腫瘍併用治療薬としての可能性を検討した。【材料および方法】C3H:HeN マウスに対して、同マウス由来頬部扁平上皮癌 sq-1979 株を背部皮下もしくは尾静脈より播種、担癌させ、モデルマウスを作製、実験に供した。モデルマウスに対して、BCG 菌株と 5-FU の単独、併用投与を行い、抗腫瘍効果を解析した。【結果】BCG・5-FU 併用群では他群と比して背部皮下腫瘍の増大が抑制された。この腫瘍抑制は 5-FU 単独投与より効果的であり、BCG 併用による抗腫瘍剤投与量の低減の可能性を示唆できた。さらに転移モデルでは、非投与群と比較して、5-FU 群、BCG・5-FU 併用群、BCG 群に高い生存率を認め、転移の抑制、延命効果が期待できた。また、背部腫瘍を摘出した後に投薬を開始する再発モデルでは、BCG・5-FU 併用群で他群と比して背部腫瘍再発の抑制が見られた。また、実験を通じて BCG 投与による体重の減少はなく、副作用の軽減も期待できた。【結論】今回の結果より、口腔癌治療においても、BCG 療法の利用の可能性が見込まれ、臨床上的利点は大きいと考えられた。

P2-154

プロタミン派生ペプチドの抗真菌活性と応用に向けた機能改変

○長 環¹、永尾 潤一¹、今吉 理恵子¹ (福歯大 機能生物 感染生物)

【目的】我々は、サケ由来プロタミンから派生するペプチド (プロタミンペプチド: VSRRRRRRGGRRRR) が *Candida albicans* をはじめとする *Candida* spp. に対して抗真菌活性を示すことを明らかにしている。本研究では、*Candida albicans* に対する抗真菌活性の作用機作と応用を目指したペプチドの機能改変について報告する。【結果と考察】1. Spider 培地は 37℃ で *Candida albicans* の酵母形から菌糸形への形態変換を誘導する培地である。10 μ M プロタミンペプチドを作用させると、ペプチドは細胞内に透過し、ATP 流出や活性酸素産生を経て殺菌的效果を示す。抗真菌活性を示さない 1 μ M プロタミンペプチドでは *Candida albicans* の細胞内に浸透せず、細胞表面に付着して形態変換能を抑制した。すなわち、プロタミンペプチドは *Candida albicans* に対して濃度依存的に殺菌作用と形態変化抑制作用を示すことが明らかとなった。2. プロタミンペプチドはアルギニンリッチな塩基性ペプチドであるため高塩濃度下では活性が低下する。そこでプロタミンペプチドをジスルフィド結合により環状化する試みを行った。環状化プロタミンペプチドの抗真菌活性は直鎖型プロタミンペプチド以上に高いことが判明した。塩感受性に関しても環状化により高塩濃度下でも活性が維持され、応用への可能性が期待できる。(学会外共同研究者: マルハニチロホールディングス 庵原啓司)

P2-156

Porphyromonas gingivalis HtrA タンパク質の性質

○雪竹 英治¹、佐藤 啓子¹、中山 浩次¹ (長大院歯 口腔病原微生物)

グラム陰性菌の菌体表面タンパク質は細胞質内で翻訳された後、内膜、ペリプラズム、外膜と輸送される。輸送されるタンパク質が、各々の局在で相応しいカタチをとらない場合、ペリプラズム内の品質管理タンパク質 HtrA プロテアーゼによって処理される。菌周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* においても、上記の現象は観察され、unfold な分泌タンパク質は HtrA によって分解される。*P. gingivalis* の HtrA タンパク質は、1 つのセリンプロテアーゼドメインと 2 つの PDZ ドメインをもつ。*P. gingivalis* HtrA タンパク質を His タグ融合タンパク質として、大腸菌で発現させた。これまでに他の菌の HtrA family proteins で報告されているのと同様に、精製した *P. gingivalis* HtrA タンパク質は、多量体を形成しており、unfolding タンパク質のみを基質として、タンパク質分解活性を有することが分かった。*P. gingivalis* HtrA タンパク質も *P. gingivalis* 菌体内でタンパク質品質管理に関わることを示唆される。(会員外共同研究者: 柴田雅敏)

P2-157

歯周病菌におけるタンパク質分泌装置関連分子 PorU の解析

○成田 由香¹、佐藤 啓子¹、雪竹 英治¹、中山 浩次¹ (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)

Porphyromonas gingivalis は phylum *Bacteroidetes* に属するグラム陰性偏性嫌気性細菌であり、*Treponema denticola* や *Tannerella forsythia* とともに重度歯周炎に関わる red complex の構成菌である。*P. gingivalis* の菌体表層タンパク質の多くは C 末端に保存されたドメイン (CTD) を有し病原性や抗原性に関与している。これまでに我々は、強力な歯周病原因子であるジンジパインをはじめとする CTD 含有タンパク質分泌機構 (PorSS) を報告している。PorSS の構成タンパク質の 1 つである PorU は CTD ドメインを持ち、アミノ酸配列からジンジパインと同様に C25 システインプロテアーゼファミリーに分類されるプロテアーゼであることが予測された。*porU* 欠損株では PorSS が正常に機能せず、ジンジパインが菌体内に蓄積していること、そして PorU のプロテアーゼドメインの活性中心をアミノ酸置換した変異体の解析から、ジンジパインの成熟に PorU がプロテアーゼとして関与することが示唆されている。今回、複数の PorSS 関連遺伝子変異株における PorU の局在の比較解析を行ったので報告する。

P2-159

カイク感染モデルによる病原真菌 *Candida albicans* の形態と病原性の関連性の評価

○松本 晴仁¹、永尾 潤一¹、今吉 理恵子¹、長環¹ (福歯大 機能生物 感染生物)

【目的】*C. albicans* は口腔、膣、皮膚、腸管に常在し、日和見感染を引き起こす病原真菌である。本菌は二形性を示し、酵母形から菌糸形への形態変換を起こす。本研究では、カイク感染モデルを構築し、*C. albicans* の形態と病原性の関連性を評価した。【結果と考察】我々が開発した菌糸形誘導培地 (GlcNAc 培地) は cAMP-PKA 経路を介して形態変換を誘導する。GlcNAc 培地に酵母形細胞を接種後 0 分 (酵母形; Y0 cells)、60 分 (酵母形; Y60 cells)、120 分 (菌糸形; H120 cells) の各細胞を調製し、カイク感染での病原性を評価した。30°C において Y60 cells は他の細胞と比べ生存率の低下が顕著であり、接種 24 時間後において Y60 cells は他の細胞と比べカイク内で菌数が増加していた。*In vitro* におけるカイク体液中での形態変換能を調べた結果、Y60 cells は 30°C、2 時間で菌糸形への形態変換が起こったが、Y0 cells は酵母形のままであった。一方、37°C では細胞間でカイク生存率に顕著な差はなく、*in vitro* において Y0 cells と Y60 cells 共に 37°C、2 時間で菌糸形に形態変換した。以上の結果から、*C. albicans* の酵母形、菌糸形の形態ではなく、酵母形から菌糸形への形態変換能そのものが病原性発現に関与することが示唆された。

P2-158

口腔細菌のインフルエンザウイルス感染促進作用
○神尾 宜昌¹、今井 健一¹、田村 宗明¹、Cueno Marni¹、落合 邦康¹ (日大 歯 細菌)

【目的】インフルエンザウイルス (IFV) は、新たに合成された virus 粒子と感染細胞のレセプターが結合しているため、細胞外に放出されない。そこで、virus 表面の neuraminidase (NA) により結合が切断され、細胞から出芽した virus 粒子が細胞外へ放出される。口腔からは、NA 産生細菌が検出されており、virus 放出を促進し、感染を重症化する可能性がある。本研究では、口腔の NA 産生細菌のスクリーニングおよび口腔細菌由来 NA が virus の放出に及ぼす影響について検討した。【方法】NA 産生株のスクリーニングは、NA 産生陽性菌として、*S. pneumoniae* を用い、*A. naeslundii*、*P. gingivalis* および代表的なレンサ球菌の計 19 菌株を用いて行った。培養上清 (Sup) 中の NA 活性は 4-MUNANA 法で測定した。NA 活性を示す Sup 存在下で A 型 IFV (H3N2) を MDCK 細胞に MOI=0.01 で感染させた。その後、培養液中に放出された virus 量をブランク法により測定した。【結果と考察】全供試菌株で NA 活性が検出されたが、*S. orali* と *S. mitis* が特に活性が高かった。NA 活性が高い両菌株の Sup 存在下で感染を行ったところ、形成ブランク数は *S. mitis* で 28 倍、*S. oralis* で 21 倍と著しく増加した。NA 活性が高い口腔細菌 Sup により virus の放出が促進されることから、IFV 感染および重症化に口腔細菌が関与する可能性が示唆された。会員外共同研究者：清水一史 (神戸大 院医 微生物) (平成 25 年度日大長特別研究、私立大学戦略的研究基盤形成事業)

P2-160

離乳前後および成熟マウスの口腔内ブランク常在菌叢の網羅的解析

○松山 順子¹、佐藤 拓一²、Quispe-Salcedo Angela³、高橋 信博²、大島 勇人³ (新大 院医歯 小児歯、²東北大 院歯 口腔生化学、³新大院医歯 硬組織形態)

【目的】げっ歯類は口腔内疾患モデルとして利用されているが、その口腔内ブランク常在菌叢についての報告はあまり多くない。そこで、生後 3・6 週齢および 9ヶ月齢マウス口腔内からブランクを採取し、常在菌叢の網羅的解析を行った。

【方法】ICR マウスを用いて、深麻酔下にて上顎第一臼歯を抜去し、緩衝液に浸漬し、試料とした。分散均一化後、同緩衝液にて希釈し、CDC 血液寒天平板に接種した。嫌気培養 (7 日間) 後、生育したコロニーから細菌量 (CFU) を求め、16S rRNA PCR シークエンス法によって細菌種を同定し、細菌構成について解析した。

【結果と考察】3 週齢、6 週齢および 9ヶ月齢マウスブランク試料の CFU は、それぞれ平均 $(8.9 \pm 11.4) \times 10^5$ 、 $(1.7 \pm 3.2) \times 10^5$ および $(4.7 \pm 4.7) \times 10^3$ であった。3 週齢および 6 週齢の優勢菌は、それぞれ *Enterococcus* (53%、31%)、*Escherichia* (19%、26%)、*Lactobacillus* (17%、21%)、*Lactococcus* (8.5%、8.3%) であった。一方、9ヶ月齢では、*Lactobacillus* (83%)、*Lactococcus* (8.6%) が優勢であった。本研究で離乳前後および成熟したマウスブランクの細菌構成が、培養とシークエンス解析を組み合わせた分子生物学的手法によって、明らかになった。また、ヒトでは小児、成人とも、*Streptococcus*、*Actinomyces*、*Veillonella* が優勢菌と報告されており、マウスは食性が異なり、ブランク細菌構成が大きく異なることが判明した。

P2-161

歯周病関連細菌 *Porphyromonas gingivalis* に存在するリン酸化蛋白質の分離と修飾様式の検討
 ○出水川 雅司¹、井貝 亮太¹、堀江 俊¹、長谷川 義明²、川端 淳司¹、北井 則行¹、村上 幸孝² (¹朝日大 歯 歯科矯正、²朝日大 歯 口腔微生物)

【目的】蛋白質のリン酸化修飾はさまざまな生命現象を支える翻訳後修飾の一つである。これまで、歯周病関連細菌 *P.gingivalis* では、二成分制御系などを除いて、リン酸化蛋白質についてはよく分かっていない。そこで、*P.gingivalis* の菌体成分から主なりん酸化蛋白質を分離し、それらの修飾様式を検討した。【方法】*P.gingivalis* ATCC 33277 株を通常に従って嫌気培養した。回収した菌体を破砕した後に界面活性剤により可溶化した。菌体成分に存在するリン酸化蛋白質はリン酸基アフィニティークロマトグラフィーにより分離した。得られた吸着画分を濃縮し、電気泳動で展開した後、質量分析による同定を行った。また、PVDF 膜に転写した後、抗リン酸化 Tyr 抗体を用いたウェスタンブロットによりリン酸化修飾様式の検討を行った。【結果と考察】吸着画分を電気泳動で展開すると、CBB 染色により 6 本の主なバンドが検出され、質量分析により新奇のリン酸化蛋白質が同定された。これらのバンドはリン酸化蛋白質に特異的な Pro-Q Diamond で強く染色された。一方、ウェスタンブロットにおいても特異的な 2 本のバンドが検出できたため、Tyr がリン酸化修飾された蛋白質の存在が示唆された。現在、質量分析によるリン酸化修飾部位の詳細な検討も進めている。

P2-163

Prevotella intermedia の熱ショックタンパクとバイオフィーム形成
 ○山中 武志¹、山根 一芳¹、南部 隆之¹、真下 千穂¹、福島 久典¹ (¹大歯大 細菌)

Prevotella intermedia が菌体外多糖を産生してバイオフィームを形成する際、熱ショックタンパク (HSPs) 遺伝子の転写レベルが上昇していることを報告した。今回、リコンビナント GroEL, DnaK (rGroEL, rDnaK) を用いて、これら HSPs とバイオフィーム形成の関わりを crystal violet microplate assay で検討した。*P. intermedia* のバイオフィーム形成株と非形成株間で、次世代シーケンサーによるパイロシーケンシングとゲノムマッピングによる変異解析も行った。供試菌には既に全ゲノム配列が明らかにされている strain 17 と、strain 17 から得たバイオフィームを形成しない strain 17-2、ならびに標準菌株である ATCC 25611 を用いた。バイオフィームアッセイの結果、培地に加えた rGroEL, rDnaK は strain 17 のバイオフィーム形成を完全に抑制し、strain 17-2, ATCC 25611 株のバイオフィーム形成を増強した。プレート上に固相化した rGroEL, rDnaK は strain 17-2 のバイオフィーム形成のみ促進した。Strain 17-2 のゲノム配列の変異解析を行った結果、chromosome I 上の TaqI-like C-terminal specificity domain protein 遺伝子 (PIN17_0430) と chromosome II 上の glucose/galactose transporter (PINA1569) 遺伝子に明らかな変異が認められた。今回の研究結果から、2つの HSPs は *P. intermedia* 菌体と外部環境との接着に関与していると考えられるが、菌株の性状によって作用が異なることが示唆された。

P2-162

Candida albicans の二形成変換に関与する細胞表層タンパク質コード遺伝子
 ○柴山 和子¹、菊池 有一郎¹、国分 栄仁¹、佐藤 裕²、石原 和幸¹ (¹東歯大 歯 微生物、²東歯大 歯 生化)

【目的】*C. albicans* の病原性は、未同定因子を含め複数の病原因子が複合的に作用して発揮されるものと推察されている。本菌は環境の変化に対応したユニークな二形成発育 (酵母形・菌糸形) を特徴とし、カンジダ症成立には菌糸形成とそれに続く組織侵襲が重要となる。二形成変換への関与の可能性を有する細胞表層分子に焦点を当て、菌糸形での増殖能と菌糸形成能について検討した。【方法】*C. albicans* 野生株 SC5314、細胞表層タンパク質コード遺伝子の欠失変異株および親株、補完株を供試した。補完株は *URA3* 選択マーカー利用し作製した。菌糸形菌体の増殖には 2.5% FCS 添加 RPMI1640 培地を用い、クリスタルバイオレット染色法により評価した。菌糸形成誘導には 10% FCS 添加 YPD 培地上を用いて観察を行った。【結果と考察】野生株および親株に比べ、*C. albicans* 細胞表層タンパク質コード遺伝子の欠失変異株では菌糸形増殖が抑制された。また、血清誘導条件下での菌糸形成能に減弱がみられ、菌糸は不完全な形態を呈した。補完株では、菌糸形増殖と菌糸形成ともに野生型および親株と同程度の回復が確認された。この細胞表層分子が *C. albicans* の二形成変換に関与することが示唆された。

P2-164

ジンジバインにおける Ig-like domain
 ○佐藤 啓子¹、雪竹 英治¹、成田 由香¹、中山 浩次¹ (¹長大 院医歯薬 口腔病原微生物、²学習院大 理 物理)

歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* が分泌する、ジンジバインは自身も病原因子となるだけでなく、そのプロテアーゼ活性でもって、本菌の持つ凝集素、線毛などの他の病原因子の成熟にも関わる。ジンジバインには、シグナルペプチド領域、プロ配列領域、プロテアーゼドメイン、Ig-like domain、C 末端領域 (CTD) がコードされている。ジンジバインは細胞質内で前駆体として翻訳されたのち、細胞膜 (内膜) を通過し、外膜に移行する段階でプロセスを受け、菌体表層付近で成熟型になると考えられている。ジンジバインの菌体表層への輸送において、ジンジバインの CTD に隣接する Ig-like domain がどのような役割をもつのか、Ig-like domain を欠失した Kgp (KgpΔIg) を *P. gingivalis* 内で発現させたところ、KgpΔIg は菌体内で HtrA プロテアーゼにより分解を受けていた。プロテアーゼは unfold なタンパク質をターゲットとすることから、プロ型 KgpΔIg は輸送型をとることができず、HtrA により分解を受けていると考えられる。(会員外共同研究者: 中根大介)

P2-165

口腔癌における *Streptococcus anginosus* 感染と AID 異所性発現

○佐々木 実¹、古玉 芳豊¹、下山 佑¹、木村 重信¹ (¹岩医大 分子微生物)

【緒言】B細胞の遺伝子変異を誘導する活性化誘導シチジン脱アミノ酵素 (AID) は通常、抗原刺激を受けたB細胞にのみ存在するが、*Helicobacter pylori* 感染でマウス胃粘膜上皮細胞に異所性に発現することが明らかにされて以来、感染発癌との関連が強く示唆されている。本研究では *Streptococcus anginosus* の口腔癌発症機序の解明を目的に、口腔癌組織への *S. anginosus* 感染と AID 発現について検討した。さらに株化上皮細胞を用いて、*S. anginosus* 菌体およびその生理活性物質による AID 発現誘導についても検討を行った。【材料と方法】本研究は岩医大歯学部倫理委員会の承認を得て行った (#01177)。本学附属病院歯科医療センターを受診した口腔癌患者を対象に口腔癌組織を採取し、*S. anginosus* 感染および AID 発現をリアルタイム PCR で検討した。*S. anginosus* NCTC 10713 株の菌体および SAA (Sasaki ら、2001) 刺激による種々の株化上皮細胞での AID 発現誘導はリアルタイム PCR で検討した。【結果】口腔癌組織 9 例中 6 例で *S. anginosus* のゲノム DNA が検出され、そのうち 5 例では AID 発現誘導が観察された。一つのサンプルで病変中心部と周辺域を比較した結果、中心部での AID 発現が高かった。株化上皮細胞を用いた検討では *S. anginosus* 菌体、SAA のいずれの刺激によっても AID 発現が誘導された。【結論】*S. anginosus* は粘膜上皮細胞に AID の異所性発現を誘導し、本菌による発癌機序に関与している可能性が示唆された。

P2-166

HIV 唾液検査の科学的検証と HIV 検査相談機会の拡大に関する取り組み

○今井 健一¹、落合 邦康¹ (¹日大 歯 細菌)

わが国は、先進国の中で唯一 HIV 感染者とエイズ患者数が増え続けている。その最も大きな理由は、HIV 検査数の減少にある。その結果、感染に気付かずエイズ発症後に感染を知るケースが多い。HIV の感染拡大を防ぐ最も有効な手段は、感染者の早期発見であるが、現行の血液検査は、採血の専門スタッフと判定までの時間が問題となるばかりではなく、針刺し事故等の 2 次感染の危険性、採血困難な被検者への対応等の問題がある。検査キットの性能は向上しているものの、検査者数の増加にはつながっていない。従って、検査数増加が期待される、新たな検査法の導入が必須となっている。

我々は、簡便な検査法として唾液を用いた HIV スクリーニング検査キット (OraQuick;Orasure 社) の本邦への導入を検討している。OraQuick は、2004 年に米国 FDA 認可を得た、歯茎を拭うだけで 20 分で感染の有無判定ができる簡便かつ血液検査と同程度 (99.3%) の性能を有する検査キットである。現在、米国で行われている検査の約 8 割で使用されているが、昨年末には薬局等での発売も認可され自己検査が行えるようになった。しかし、わが国ではまだ未承認のため、唾液検査の有用性を検討したデータはない。我々は、唾液検査を日本における HIV 検査相談機会の拡大に繋がる可能性のある方法として、その実施の可能性と日本人における有用性を検討している。本学会ではその取り組みを紹介する。

P2-167

レッサパンダ口腔由来 *Streptococcus mutans* 株のゲノム解析

○桑原 紀子¹、内藤 真理子²、岡本 公彰³、齋藤 真規¹、平澤 正知¹、高田 和子¹ (¹日大 松戸歯 口腔微生物、²長大 院医歯薬 口腔微生物、³鶴見大 歯 口腔微生物)

【目的】ヒト口腔に常在する mutans streptococci の系統発生的研究の一環として、当研究室では様々な動物の口腔から同菌を分離し、その解析を行っている。今回レッサパンダ口腔から分離した *Streptococcus mutans* 株 P13 株をヒト口腔由来 *S. mutans* と比較することを目的として P13 株のゲノム配列を決定した。【方法】P13 株のゲノム配列は GS-FLX system を用いてパイロシーケンスした。得られたデータをアセンブルし、contig を構築した。Primer walking 法によりゲノム配列を取得し、すでに解析されている *S. mutans* UA159 および GS5 株と比較した。【結果】P13 株のゲノムをパイロシーケンスした結果、冗長度 20.0 で配列が得られ、42 個の contig を構築することが出来た。取得したゲノムサイズは 2.09 Mb であり、UA159 および GS5 両株より長かった。MiGap アノテーションパイプライン等によるアノテーションを行ったところ、GC 含量は 36.7% であり、1,978 個の CDS が予測された。また 5 コピーの *rrn* オペロン、59 個の tRNA がコードされていた。P13 株と *S. mutans* UA159 株および GS5 株と比較解析したところ、頻繁なゲノム再構成は認められなかった。ヒト齲蝕の主要な病原因子であるグルコシルトランスフェラーゼをコードする *gtf* 遺伝子も遺伝子構造、構成ともに保存されており、今回レッサパンダ口腔から分離した P13 株はヒト口腔由来 *S. mutans* と同一菌種であると考えられた。

P2-168

Porphyromonas gingivalis における遺伝的組換えと CRISPR による相反的な種内多様性制御

○丸山 史人^{1,2}、渡辺 孝康¹、野澤 孝志¹、中川 一路¹ (¹東医歯大 院医歯 細菌感染制御、²東医歯大 院医歯 環境遺伝生態)

細菌にとって種内多様性を制御することは進化上重要であり、同一菌体でのゲノム再構成や種内の菌株間での組換えなどがこれに関与する。一方で核酸の移動抑制機構として近年 clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) が注目されている。我々は、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* 60 株の系統解析で、種内多様性が高いことを示してきた。そこで今回、本菌の種内多様性制御機構を解明する目的で、ゲノム再構成と組換えを詳細に調べた。3 株間のゲノム配列比較においてゲノム再構成発生点に insertion sequence (IS) が高頻度に認められることから、頻繁な IS 移動が再構成に関わっていることが推察された。また、MLST に用いられる 7 遺伝子の塩基配列をアラインメントして作成した 60 株のスプリット系統樹で網目構造が顕著であり、本菌では菌体間での組換えも頻繁におきていることがわかった。CRISPR スペーサー配列の相同性検索の結果、97% は相同な配列がなかった一方、残り 3% のうち 6 割以上は本菌のゲノム配列の一部と相同で、その多くが IS 上またはその近傍に位置していた。よって本菌の CRISPR は、菌体内の IS や他の *P. gingivalis* 菌体由来の DNA を標的として、IS の移動や外来 DNA 取込みを抑制していると考えられる。以上から、本菌は細胞内ゲノム再構成や細胞間組換えで多様性を創出する一方、CRISPR でそれらを抑制していると考えられる。

P2-169

Streptococcus troglodytae グルコシルトランスフェラーゼの系統学的解析
 ○岡本 公彰¹、今井 奨²、花田 信弘² (1鶴見大 歯 口腔微生物、²鶴見大 歯 探索歯)

【目的】 *Streptococcus troglodytae* はチンパンジーから分離された *S. mutans* に最も近縁の菌種である。今回、*S. troglodytae* の GTF 遺伝子を解析し、他のレンサ球菌との関連を比較した。
 【方法】 Roche454 シーケンサーを用いたピロシーケンシング法により *S. troglodytae* TKU31 株のドラフト scaffold を得た。MiGAP(DDBJ)により GTF 遺伝子を抽出し、Clustal W により他のレンサ球菌 GTF と比較した。【結果と考察】 *S. mutans* は非水溶性グルカンを作る GTF-I、水溶性グルカンを作る GTF-S および中間の性質を持つ GTF-SI の 3 種類の酵素があり、各々 *gtf-b*、*gtf-d* および *gtf-c* 遺伝子によりコードされている。Scaffold の解析により *S. troglodytae* は *S. mutans* と同様、*gtf-b*、*gtf-c* および *gtf-d* の 3 種類の類似した GTF 遺伝子を持ち、推定アミノ酸配列も類似していた。さらに既知のレンサ球菌 GTF と共に系統関係を調べると、GTF 遺伝子は 16S rRNA 遺伝子を基にした進化程度と一致した。種々の動物から得られたレンサ球菌 GTF-B および GTF-C は単一のクラスターを形成し monophyletic であった。GTF-D、GTF-S および GTF-T はそれぞれ独立したクラスターを形成し monophyletic を示した。これらのことから *S. troglodytae* は *S. mutans* と同様のう蝕病原性を有すること、および GTF 遺伝子は 16S rRNA 遺伝子を基にした進化程度と一致することが考えられた。

P2-171

Candida albicans の Hsp70 タンパク質 Msi3p はアゾール系抗真菌薬耐性を制御する
 ○永尾 潤一¹、長 環¹、今吉 理恵子¹ (1福歯大 機能生物 感染生物)

We investigated the cellular function of Msi3p, belonging to the heat shock protein 70 family, in *C. albicans*. The mutant strain tetMSI3 was generated, in which *MSI3* was controlled by a tetracycline-repressive promoter. We controlled the *MSI3* expression level by doxycycline (DOX) and compared its phenotype with that of a control strain with a wild-type copy *MSI3*. *MSI3* was essential for cell growth *in vitro* and all the tetMSI3-infected mice survived after DOX administration. Drug susceptibility tests indicated that repression of *MSI3* expression resulted in hypersensitivity to fluconazole and conferred fungicidal action to fluconazole. RT-PCR analysis showed that the upregulation of *MSI3* expression in response to fluconazole was required for the induction of the calcineurin-dependent gene expression which confers fluconazole tolerance. These data suggest that Msi3p governs fluconazole tolerance by partially influencing the calcineurin signaling pathway and also other tolerance mechanisms.

P2-170

過酸化水素は口腔レンサ球菌の隠れた病原因子かもしれない
 ○岡橋 暢夫¹、沖永 敏則²、桜井 敦朗³、寺尾 豊⁴、中田 匡宣⁵、川端 重忠⁵、西原 達次² (1阪大 院歯 フロンティア、²九歯大 感染、³東歯大 小児、⁴新大 院医歯 微生物、⁵阪大 院歯 細菌)

【目的】 マクロファージに口腔レンサ球菌を感染させると細胞死が誘導される。ここでは、これに関与する細菌側の病原因子を探索した。

【結果】 ヒトマクロファージ細胞株 THP-1 に口腔レンサ球菌 *Streptococcus sanguinis* を感染させると細胞死が誘導される。加熱死菌では細胞死は認められず、生菌が産生する何らかの病原因子が細胞死を誘導していると考えられた。ファゴサイトーシスを阻害する cytochalasin D を添加しても細胞死は起こることから、貪食された菌が細胞内で細胞死を引き起こす可能性は否定された。菌の感染によって IL-1 β の産生が促進されるが caspase-1 の活性化は認められず、inflammasome も細胞死には関与していないと考えられた。他の口腔レンサ球菌を感染させたところ、*S. mutans* や *S. salivarius* は細胞毒性を示さず、mitis group に属する口腔レンサ球菌が細胞死を誘導することが分かった。mitis group レンサ球菌が過酸化水素を産生することに着目して調べたところ、過酸化水素分解酵素 catalase が細胞死を抑制することが判明した。これらの結果は、口腔レンサ球菌の産生する過酸化水素がマクロファージの細胞死を誘導することを示唆している。

【結論】 口腔レンサ球菌が産生する過酸化水素に細胞傷害性があることは従来報告されておらず、これまで見過ごされていた病原因子としてその役割を考え直す必要があると思われる。

P2-172

Porphyromonas gingivalis Mfa1 線毛に付随する Mfa3 の局在化に関する研究
 ○井貝 亮太¹、長谷川 義明²、出水川 雅司¹、堀江 俊¹、川端 淳司¹、北井 則行¹、吉村 文信³、村上 幸孝² (1朝日大 歯 歯科矯正、²朝日大 歯 口腔微生物、³愛院大 歯 微生物)

【目的】 歯周病関連細菌 *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株 (33277 株) は、FimA および Mfa1 線毛を菌体表面に発現している。近年、Mfa1 線毛の付随成分として PGN0289 (Mfa3)、PGN0290 (Mfa4) および PGN0291 タンパク質が同定されたが、付随成分の構築機序は不明である。本研究では、Mfa1 線毛の構築機序を明らかにするための一助として、Mfa4 が Mfa3 の局在化に及ぼす影響を検討した。

【方法】 33277 株由来の *fimA* 欠損株および *fimA* 欠損株を親株として作製した *mfa4* 欠損株から全菌体抽出液を調製した。また、*fimA* 欠損株および *mfa4* 欠損株 (*delta fimA*) から Mfa1 線毛を精製した。得られた試料を用いて抗 Mfa3 抗血清によるウェスタンブロットを行った。

【結果と考察】 Mfa3 は、*fimA* 欠損株の全菌体抽出液では 2 つのタンパク質 (43 kDa および 40 kDa) バンドとして認められた。しかし、精製線毛には、40 kDa のみが検出された。一方、*mfa4* 欠損株の全菌体抽出液では、43 kDa のみが検出され、精製線毛には、いずれも検出されなかった。以上の結果から、Mfa1 線毛中には 40 kDa の Mfa3 のみが存在し、Mfa1 線毛への Mfa3 の局在化には、Mfa4 の関わる Mfa3 の成熟化が関与する可能性が示唆された。

P2-173

Cytotoxicity and antibacterial activity of roselle ethanol extract on oral bacteria in vitro

○Sulistiyani Herastuti¹, Fujita Mari¹, Mashima Izumi¹, Miyakawa Hiroshi¹, Kamaguchi Arihide¹, Nakazawa Futoshi¹ (¹Dept. of Oral Microbiol., Health Sci. Univ. of Hokkaido Sch. of Dent.)

Objective: The purpose of this study is to examine cytotoxicity and antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) extract on oral bacteria in vitro. **Methods:** Roselle calyces powder was soaked with ethanol. After centrifugation, the extract was dried to remove the ethanol. Then, the extract was soluble in PBS and filtered aseptically. Cells of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *S. mutans* and *A. naeslundii* were treated with the extract for 5 min at room temperature to examine antibacterial activity. Cytotoxicity of the extract was also studied by using WST-1 on HGF and Ca 9-22 cells. **Results:** Roselle extract showed strong antibacterial activity against *P. gingivalis*. The activity on Gram-negative bacteria was higher than it's on Gram-positive bacteria. The extract had no cytotoxicity on HGF and Ca 9-22 cells. **Conclusion:** Roselle extract would be considered for antibacterial agent and safe to human oral cells.

P2-174

Porphyromonas gingivalis strains have varying sialic acid-binding positively-charged amino acid residues found in the sialidase domain

○Cueno Marni¹, 神尾 宜昌^{1,2}, 今井 健一^{1,2}, 田村 宗明^{1,2}, 落合 邦康^{1,2} (¹日大 歯 細菌, ²日大 総歯研 生体防御)

Porphyromonas gingivalis sialidase activity is associated with regulating virulence factors and pathogenesis. However, not all *P. gingivalis* strains are pathogenic which would insinuate that the sialidase domain may vary among strains. Throughout this study, we made use of *P. gingivalis* ATCC 33277 and W50. Generated sialidase homology models were validated through superimposition with known sialidase domain crystal structures, predicted sialic acid (SA) docking to each sialidase domain was performed, and SA-binding sites were determined and differentiated between the two *P. gingivalis* strains. We found that the *P. gingivalis* sialidase domain homology models are structurally accurate compared with those determined in crystal structures. In addition, molecular docking of SA to the *P. gingivalis* sialidase domain showed a difference in the number of positively-charged amino acid residues binding with SA. We propose that *P. gingivalis* sialidase activity is influenced by the number of positively-charged amino acid residues found in the *P. gingivalis* sialidase domain.

P2-175

侵襲性歯周炎原因菌のキノールペルオキシダーゼに対する阻害剤

○河原井 武人¹, 古西 清司¹ (¹日歯大 生命歯微生物)

【目的】我々は以前、侵襲性歯周炎原因菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa 菌) を用いた解析から、呼吸鎖のメンバーであり過酸化水素を代謝する膜結合性キノールペルオキシダーゼ (QPO) を見出し、本酵素が Aa 菌の毒性因子の一つであるロイコトキシンの産生に寄与することを明らかにした。今回、薬剤スクリーニングにより見出した QPO 阻害剤の阻害様式を動力学的手法により解析した結果を報告する。**【方法】**精製 QPO 試料は、Aa 菌 *qpo* をクローン化した大腸菌に過剰発現させ、QPO 過剰発現株の膜画分から抽出精製することにより調製した。ユビキノール-1 を基質として、各種濃度の阻害剤存在下での精製 QPO におけるペルオキシダーゼ活性を分光学的に測定した。**【結果と考察】**我々は本酵素に対する強力な阻害剤としてアスコフラノン (mixed-type 阻害、 $K_i=9.557$ nM) を過去に報告している。このアスコフラノンの類似体であるイリシコリン B にも強いキノールペルオキシダーゼ阻害活性が認められ、その阻害様式は mixed-type であり、 $K_i=565.9$ nM であった。一方、呼吸阻害剤に対する IC_{50} は、 $ZnCl_2=4.9$ μ M、 $HQNO=1.4$ μ M、 $KCN=85$ μ M、 NaN_3 は阻害しなかった。(会員外共同研究者：北里大・生命研・生物機能：塩見和朗、大村智)

P2-176

Streptococcus mutans のバイオフィームにおける精油由来 terpene alcohol の抑制効果

○藤田 真理¹, 宮川 博史¹, 鎌口 有秀¹, 中澤 太一¹ (¹北医大 歯 微生物)

【目的】これまで我々は、天然精油 Tea Tree Oil の主要抗菌成分である terpene alcohol が口腔バイオフィーム内の細菌に対する優れた抗菌効果を有することを報告してきた。本研究では、他の精油由来 terpene alcohol のバイオフィームにおける抑制効果を比較した。**【方法】**供試菌株として *Streptococcus mutans* Ingbritt 株を用いた。全ての terpene alcohol は同条件で可溶化し、抗菌実験に用いた。菌体に対する抗菌効果は terpene alcohol 処理後の生菌数で評価した。バイオフィーム形成過程における抗菌効果は各種条件下で形成されたバイオフィーム量を定量し、バイオフィーム形成後の細菌に対する抗菌効果は、処理後の生菌数ならびに WST-1 活性を測定することにより評価した。**【結果】**全ての terpene alcohol の抗菌作用が確認されたが、monoterpene alcohol はバイオフィーム形成後の細菌に対して、一方 sesquiterpene alcohol はバイオフィーム形成過程において顕著な抑制効果を示した。**【結論】**Terpinen-4-ol を含む monoterpene alcohol はバイオフィーム形成後の細菌に対して有効であり、sesquiterpene alcohol は顕著なバイオフィーム形成抑制効果が認められたがバイオフィーム形成後の細菌に対しては無効であることが確認された。以上の結果より、それらのバイオフィームに対する抑制作用機構の差異を考慮した口腔内応用が期待される。

P2-177

口腔ケアジェルによる口腔内カンジダ症および消化管移行抑制効果

○田村 宗明^{1,2}、大屋 学¹、阿部 和正¹、落合 邦康^{1,2} (1日大 歯 細菌、2日大 総歯研 生体防衛)

【目的】口腔常在菌の増加と遷移は、口腔感染症の発症のみならず全身疾患の誘因となる。また、口腔フローラ形成菌の一部が消化器疾患の発症に関わる可能性が示唆されている。今回、ラット口腔感染実験モデルを用い、口腔内に定着・増殖した *Candida albicans* の消化管への移行、および口腔ケア用カテキンジェルの発症抑制効果について検討した。【方法】実験動物としてSD系ラット、供試菌株は *C. albicans* NUD202株を用いた。免疫抑制剤を接種後、被験菌を口腔へ1日1回で3日間接種した。菌接種終了後、3日毎に唾液および糞便を、day 17および31にラットを屠殺して舌、胃、小腸および大腸を採取した。サンプル処理後、CHROMagar *Candida* 培地にてCFUを算定した。一方、感染ラットにカテキンジェルを連日口腔内に塗布し、上記CFUへの影響と舌に定着した菌の形態および組織侵入性について検討した。【結果および考察】 *C. albicans* 接種群ではすべての試料から被験菌が検出され、菌の口腔内定着と消化器官への移行が確認された。カテキンジェル塗布群ではCFUが著しく減少した。菌接種群の舌で菌糸形変換が見られ、菌糸は顆粒層まで侵入していた。一方、カテキンジェル塗布群では舌表層の皮質層に酵母形が散在するのみであった。以上の結果から、口腔フローラ形成菌の一部は消化管へ移行する可能性が認められるとともに、カテキンジェルによる抗菌効果と消化管移行が抑制されることが確認された。

P2-179

Candida dubliniensis および *Candida albicans* に対する薬剤感受性試験結果の比較

○仲村 健二郎¹ (1日歯大 新潟生命歯 先端研究セ)

【目的】病原性真菌 *Candida dubliniensis* (*C. dub*) は1995年にSullivanらによって新菌種とされた。当初は主にHIV陽性患者での分離報告が多かったが、近年、健常者からの分離が多く報告されている。その形態や生物学的性状は *C. albicans* (*C. alb*) に酷似するが、ストレス応答性等が異なっている。今回、抗真菌剤Fluconazole (FLCZ)、Miconazole (MICZ)、Itraconazole (ITCZ) (アゾール系)、Flucytosine (5-FC) およびAmphotericin B (AMPH) の薬剤感受性試験を両菌で行い比較した。【方法】菌株は本学付属病院中央検査科の臨床分離株と健常者由来分離株及び標準株を用いた。薬剤感受性試験は、CLSI法に準拠して行い各菌株のMICを求めMIC値毎の分布を調べた。【結果と考察】アゾール系3剤では、いずれも *C. dub* が *C. alb* に比べ低感受性を示す菌株が多かった。特にFLCZで著明であった。5-FCでは *C. alb* で低感受性を示す菌株が多かった。またAMPHでは、各MICに対する分布は両菌ではほぼ同じであった。FLCZの結果から *C. dub* がHIV陽性患者で多く分離された背景にはFLCZの予防投与とFLCZに対する低感受性が関与している可能性が示唆された。共同研究者：久和 彰江、日歯大、先端研、菅原芳秋、同、中検

P2-178

Streptococcus criceti デキストラン結合レクチンB遺伝子の *Streptococcus mutans* における解析

○田村 晴希¹、山田 ありさ¹、加藤 裕久¹ (1岩医大 薬理 病態制御)

【目的】我々はこれまでに *Streptococcus criceti* においてデキストラン依存性凝集を示す菌株(ATCC 19642, OMZ 61)と示さない菌株(E49, HS-1)を同定した。*S. sobrinus*6715株ではデキストラン結合レクチンBがその凝集と関与することが分かっている。本研究の目的は *S. mutans* を用いて、*S. criceti* デキストラン結合レクチンB遺伝子によるデキストラン依存性凝集とバイオフィーム形成に及ぼす影響を調べることにする。

【方法】シャトルベクターにE49株のデキストラン結合レクチンB遺伝子(*dblB*)を入れ、*gbpC*の変異によって自らはデキストラン依存性凝集を示さない *S. mutans* GS-5株に形質導入した。デキストラン依存性の凝集は菌懸濁液にデキストランを添加し、混和後の変化を観察した。バイオフィーム形成はポリスチレンプレートを用い、brain heart infusionのみと1%グルコース、スクロース、マルトースを添加した場合について評価した。

【結果と考察】 *S. criceti* *dblB* 遺伝子をもつ菌株はデキストラン依存性凝集を示した。また同株はグルコースとマルトースを添加した場合、プレートに付着したバイオフィーム量の増加がみられた。一方、スクロース添加ではバイオフィーム量の増加は認められなかった。本研究の結果から、*S. criceti* *dblB* 遺伝子は *S. criceti* においてもデキストラン依存性の凝集とバイオフィーム形成に関与していることが示唆された。

P2-180

口腔 *Actinomyces* の酸産生能および増殖能に対する窒素源の効果

○則松 佑佳^{1,2}、川嶋 順子^{2,3}、山本 照子¹、高橋 信博² (1東北大院歯 顎口腔矯正、2東北大院歯 口腔生化学、3東北大院歯 歯内歯周治療)

【目的】口腔常在菌の一つ *Actinomyces* は健全部のみならず、齲蝕や歯周疾患病巣からも検出される。本菌は糖を代謝し酸を産生するが、その代謝過程でクエン酸回路の一部を利用しており、アミノ酸代謝との関連が示唆される。本研究では、*Actinomyces* の酸産生および増殖に対する窒素源(N)の影響について検討した。【方法】 *Actinomyces naeslundii* (*An*) ATCC12104、*A. oris* (*Ao*) WVU627、*A. odontolyticus* (*Aod*) ATCC17929を用い、実験は全て嫌気条件下で行った。*An*、*Ao*のGlucose(G)からの酸産生速度をNの有無でpH-statにて測定した。さらに、3菌種を唾液、血清、ゼラチン存在下、Gの有無で培養し、培地の濁度(OD at 660 nm)とpHを測定した。【結果】 *An*、*Ao*にNを加えると酸産生量が1.88±0.30倍になった。3菌種ともG非添加、G添加で血清存在下での増殖が高かった(OD=4.37±2.72、4.71±1.40)。*Ao*、*Aod*は唾液存在下でGの有無に関わらず増殖は低かったが、*An*は唾液にGを添加すると増殖が見られた(OD=0.62±0.07)。ゼラチンでは3菌種ともG添加で増殖が見られた(OD=1.29±0.34)。*【考察】* N存在下で酸産生が促進されたことから、口腔 *Actinomyces* はNの取込系とそのクエン酸回路への流入経路を持つことが示唆される。G共存下、血清およびゼラチンで増殖したことから、*Actinomyces* は糖代謝と共役して、歯肉溝浸出液、歯周組織、象牙質有機質といったNを利用することが考えられる。

P2-181

PRIPは *Staphylococcus aureus* を包含するオートファゴソームの成熟を制御する
 ○原田 佳枝¹、兼松 隆¹ (¹廣大 院医歯薬保健 細胞分子薬理)

【目的】我々は、PRIP (PLC-related catalytically inactive protein) が GABARAP に結合することから、そのホモログである LC3 (オートファジー調節分子) に結合する事を明らかにし、PRIP が LC3 を介した新たなオートファジー調節分子であると報告した。ここでは、オートファジーを介する感染防御機構に PRIP が関与するか、*S. aureus* の感染モデルを用いて検討した。【方法と結果】PRIP ノックアウト (PRIP-KO) マウスから MEF (mouse embryonic fibroblast) を調製し、*S. aureus* を感染させ、細菌を包含する GFP-LC3 陽性 autophagosome-like vacuole を観察した。PRIP-KO 細胞では野生型に比べ巨大化した vacuole 形成みられ、細胞内で *S. aureus* が増殖することが分かった。タイムラプス観察では、野生型細胞で出現した GFP-LC3 陽性 autophagosome-like vacuole が lysosome と融合して消失する過程が観察できたのに対し、PRIP-KO 細胞では lysosome との融合が障害された vacuole が観察され、*S. aureus* が vacuole から漏出する像も観察できた。また、酸性オルガネラ染色実験においては、PRIP-KO 細胞では、リソソームと融合した autophagosome-like vacuole の数が減少していることが明らかとなった。【結論】PRIP は、LC3 などのオートファジー関連分子を制御することで、オートファゴソームの成熟段階を促進的に調節し、*S. aureus* などの細菌感染に対する感染防御機構に関与する分子であることが明らかとなった。

P2-183

Capnocytophaga ochracea のバイオフィーム形成への Por 分泌機構の関与
 ○喜田 大智¹、菊池 有一郎²、国分 栄仁²、柴山 和子²、齋藤 淳¹、石原 和幸² (¹東歯大 歯 歯周病、²東歯大 歯 微生物)

【目的】*Capnocytophaga ochracea* はデンタルプラーク中に認められるグラム陰性桿菌で、培地平面上での滑走能をもつ。本菌は歯周病巣局所だけでなく、易感染性患者の敗血症や骨髄炎等の病巣からの検出も報告されている。*C. ochracea* が含まれる phylum には、蛋白質分泌に関わる Por 分泌機構を持つものがあり、本菌にもそれを司る遺伝子群のオルソログが存在する。本研究では、その一つである *porT* オルソログの変異株を作製し、バイオフィーム形成への影響を検討した。【方法】*C. ochracea* ATCC 27872 株の *porT* に *ermF-ermAM* cassette を挿入した fragment を overlapping PCR により作製し、electroporation にて変異株を作製した。培地平面上での滑走運動は 3% 寒天含有 Tryptic soy blood agar 上で観察した。バイオフィーム形成量測定のため、TS broth にて前培養した *C. ochracea* を 96 well polystyrene plate に 100 μl ずつ接種し、37℃、嫌気条件下で 6 ~ 24 時間培養した。培地除去後、バイオフィーム形成量をクリスタルバイオレット染色により測定した。【結果】*porT* オルソログ変異株は滑走能を失っていた。バイオフィーム形成量は野生株と比較して、培養後 6 時間で 45%、8 時間で 57%、24 時間で 45% 程度の減少を認めた。以上の結果から、*C. ochracea* のバイオフィーム形成に Por 分泌機構により輸送される蛋白質が関与する事が示唆された。

P2-182

バイオフィーム形成における *Porphyromonas gingivalis* ECF シグマ因子の役割
 ○菊池 有一郎^{1,2}、柴山 和子²、国分 栄仁^{1,2}、大原 直也³、中山 浩次⁴、石原 和幸² (¹東歯大 口科研、²東歯大 微生物、³岡大 口腔細菌、⁴長大 病原微生物)

【目的】細菌の ECF シグマ因子は、細胞外の生活環境変化に応答し、環境ストレスを回避している。歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は 6 種の ECF シグマ因子を保有しており、一部の ECF シグマ因子について DNA 修復や酸化ストレス消去、ジンジパイン産生能に関与するとの報告がある。しかし、ECF シグマ因子とバイオフィーム形成能との関連については、現時点では未報告である。本研究では、それぞれの ECF シグマ因子について遺伝子挿入変異株を作製し、そのバイオフィーム形成能について検討した。【方法】*P. gingivalis* 33277 株を親株とし、各々の ECF シグマ因子遺伝子内にエリスロマイシン耐性遺伝子カセットが挿入された変異株を電気穿孔法にて作製した。また、PGN_0274 と PGN_1740 変異株については相補株を作製した。バイオフィーム形成能は、クリスタルバイオレット染色法にて測定した。【結果と考察】野生株と比較し、PGN_0274, PGN_0319, PGN_1740 変異株はバイオフィーム形成能の増加を認めた。その中でも、PGN_0274 と PGN_1740 変異株にて顕著な増加を認めた。また、PGN_0274 と PGN_1740 変異株におけるバイオフィーム形成量の増加は、相補株にて野生株と同程度に回復した。以上の結果より、ECF シグマ因子 PGN_0274 と PGN_1740 は、*P. gingivalis* のバイオフィーム形成を抑制するタンパク質の遺伝子発現を調整している可能性が示唆された。

P2-184

口腔細菌間での contact dependent activation の可能性について
 ○鎌口 有秀¹、長田 和実²、澁井 徹³、新岡 丈治⁴、岡本 公彰⁵、高田 和子⁶、藤田 真理¹、石井 久淑²、坂倉 康則³、中澤 太¹ (¹北医大 歯 微生物、²北医大 歯 生理、³北医大 歯 解剖、⁴北医大 薬 教育開発、⁵鶴見大 歯 口腔細菌、⁶日大松戸 歯 口腔細菌)

【目的】口腔細菌による biofilm 形成の要因として coaggregation も大きな役割を持つと考えられている。これまで、有機物存在下での coaggregation を検討してきた中で、*Fusobacterium nucleatum* subsp. *polymorphum* (FNP) と *Propionibacterium acnes* (PA) とは coaggregation することに加え、PA は FNP の発育を促進した。今回は PA の FNP の発育促進作用について検討を行った。【方法】FNP AK 株、PA KT 株、*Actinomyces neslundii* (AN) ATCC 12014 株を hemin, menadione 添加 Tryptic soy broth にて嫌気培養した。【結果と考察】FNP は PA と共培養することにより FNP の発育の促進と悪臭の増加がみられた。PA の培養上清を FNP に添加し培養しても完全には共培養の現象を再現できなかった。共培養液の Gram 染色像より両菌は結合している像が多くみられたことより、contact dependent activation (仮称) が作用している可能性が示唆された。悪臭の増加は GC-MS 解析より、Methanethiol 等の新たな産生が原因であった。これは FNP の methionine gamma-lyase 遺伝子の新たな発現によるものと考えられた。また、AN を anchor cell として用いたプレートに FNP と PA を接種し、これらの菌が biofilm 形成にも関与することを confocal laser scanning microscope にて確認した。

P2-185

Porphyromonas gingivalis の薬剤排出ポンプ様分子をコードする遺伝子
 ○井上 哲圭¹、田口 裕子²、加野 小奈美³、中山 真彰¹、大原 直也¹ (岡大 院医歯薬 口腔微生物、²岡大 院医歯薬 歯周病態、³岡大 院医歯薬 歯科矯正)

薬剤排出系はこれまで種々の菌種で様々なタイプが見いだされてきた。近年、薬剤排出機能以外に病原性に関わることも示唆されている。歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) ATCC 33277 株のゲノムデータベース検索の結果、本菌ではマルチコンポーネント型薬剤排出ポンプ様分子をコードする遺伝子クラスターが7個見いだされた。これらの遺伝子クラスターは基本的に内膜蛋白質(CMP)、ペリプラズム蛋白質(MFP)、外膜蛋白質(OEP)をコードする遺伝子から構成されていたが、中にはCMPを複数含むもの、OEPを含まないものが存在した。遺伝子クラスターのうち6個は、その遺伝子構成を保持した形で、他のPgゲノム解析株W83株及びTDC60株に保存されていたが、1個はW83株で欠失していた。ATCC 33277株のMFP遺伝子はいずれのクラスターにも1個ずつ存在し、これらを相同置換えにより破壊した株(MFD株)を作製した。各MFD株について、各種薬剤に対するMICを微量液体希釈法及び寒天平板希釈法により野生株と比較したところ、薬剤感受性の上昇を示したMFD株が存在し、本菌は薬剤排出活性により薬剤低感受性となっていることが示唆された。現在、薬剤排出ポンプ様分子の病原性との関連性についても解析を進めている。<会員外協力者：小野美優、清水由梨香(岡大・歯・学生)>

P2-187

ウシ骨由来移植材の吸収過程の解析
 ○新井 宏¹、柳澤 伸彰¹、鈴木 治²、中村 雅典¹ (昭大 歯 口腔解剖、²東北大 院歯 顎口腔機能創建)

ウシ骨由来移植材(XDBBM)は歯周疾患による骨欠損部に対して使用される非吸収性骨補填材で、安定した歯周組織の再生が報告されている。しかしながら、XDBBM周囲の組織構築、特に吸収の有無に関しては明らかにされていない。本研究では、XDBBMの構造解析と骨髓腔内へのXDBBM及びカルシウム欠損アパタイト(Ca-d HA)埋入後の組織学的変化を経時的に解析した。XDBBMの解析はX線回折と赤外分光法で定性的に分析した。8週齢オスBALB/cマウス脛骨に1.0mm径の孔を開け、骨髓腔にXDBBMあるいはCa-d HAを埋入した。術後2、4、12週で試料採取・固定後、マイクロX線CT撮影し3次元の構築の解析を行った。その後、試料はH-E染色及びacid phosphatase染色(ACP染色)を行い、さらに、一部の試料は透過型電子顕微鏡による解析を行った。X線回折と赤外分光法の結果、XDBBMは炭酸含有ハイドロキシアパタイトであった。マイクロX線CTと組織学的解析の結果、処置後全ての段階でXDBBM及びCa-d HA周囲に新生骨が見られた。また、ACP陽性多核巨細胞が新生骨及び各補填材に直接接し、刷子縁を有することから破骨細胞であることが確認された。今回の結果から、XDBBMは炭酸含有ハイドロキシアパタイトであり、化学量論的なHAと異なっていることと、破骨細胞により吸収されることが明らかとなり、XDBBMは吸収性骨補填材であることが示唆された。

P2-186

天然アパタイトの生体応用の可能性
 ○見明 康雄¹、三島 弘幸²、下田 信治³ (東歯大 超微構造、²高知学園短大 医療衛生 歯科衛生、³鶴見大 歯 口腔解剖)

【目的】色調の違う天然アパタイトを解析して生体アパタイトとの組成や構造の違いを探求し、新たな歯科材料や硬組織の標準試料を開発するための情報を得ることを目的とした。【方法】天然アパタイトの分析は、EPMAとX線回折装置を用いて成分の定性分析と定量分析を行った。また、ラマン分光分析および大型放射光施設(Spring8)での測定を行った。【結果】EPMAおよびX線回折では、天然アパタイトの断面に多くの空洞ないし他結晶のインクルージョンが観察された。EDSおよびWDSによる分析では、全てのサンプルからFが検出され、Fluorapatiteであることが示された。また他の含有元素としてSi、O、Cl、S、Ca、P、Na、Mn、Mg、Al、K、Fe、Th、Baが検出され、色の違いにより含有元素および元素比が異なっていた。また、インクルージョン結晶としてThSiO₄、CaSO₄、SiO₂、Ca₂MgSi₂O₇、BaSO₄、CaCO₃等が考えられた。ラマン分光分析法でもFluorapatiteであることが示され、リン酸基PO₄³⁻のピーク値は964~967cm⁻¹でありFによるピークシフトと考えられた。大型放射光(Spring8)観察では、結晶の色の違いによりラインプロファイルがかなり異なっていた。【考察】天然アパタイトの色の変化はインクルージョンによると考えられたが、元素が結晶格子中に入っている可能性も否定できない。また大きな単結晶なので、生体石灰化組織の密度、結晶成長や結晶化などの測定のための標準試料として利用できる可能性が示唆された。

The 55th Annual Meeting of
Japanese Association for Oral Biology
September 20 – September 22, 2013
Okayama University
School of Dentistry
Okayama, JAPAN



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

Plenary Lectures

PL-1

Stem and progenitor cells for tooth renewal

Irma Thesleff

Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki

PL-2

Vascular endothelial growth factor controls formation and homeostasis of bone

Bjorn R. Olsen

Harvard Sch. of Dent. Med.

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L-1

Infection control research developed from bio-imaging

Yutaka Terao

Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. Dent.

JAOB/Rising Members Award Winner

Y-1

Ex-vivo imaging of autonomous intracellular calcium oscillations of osteoblasts and osteocytes

Yoshihito Ishihara

Dept. of Orthod., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. Sci.

Y-2

Regulation of the BMP signaling pathway by SUMOylation

Akira Yukita¹, Akihiro Hosoya², Takenobu Katagiri³, Hiroaki Nakamura²

¹Dept. of Education (Sciences), Shizuoka Univ.

²Dept. of Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ.

³Div. of Pathophysiol., RCGM, Saitama Med. Univ.

Y-3

E2f1-deficient NOD/SCID mice have dry mouth due to a change of acinar/duct structure and the down-regulation of AQP5 in the salivary gland

Keitaro Satoh

Dept. of Regul. Physiol., Dokkyo Med. Univ. Sch. of Med.

Y-4

Monocarboxylate transporter-1 is required for cell death in mouse chondrocytic ATDC5 cells exposed to interleukin-1 β via late phase activation of nuclear factor κ B and expression of phagocyte-type NADPH oxidase

Kentaro Yoshimura

Dept. of Biochem. Showa Univ. Sch. of Dent.

Y-5

Signaling pathway and physiological role of alpha1-adrenergic receptor in human osteoblasts

Daisuke Kodama

Dept. Pharmacol., Sch. of Dent., Aichi-Gakuin Univ.

Mini Lectures (3rd ISMDPER in Okayama Joint Lectures)

ML-1

Research at the Faculty of Dentistry, University of Toronto

Daniel Haas

Fac. of Dent., Univ. of Toronto

ML-2

The effect of CXCR4 over-expression on the cell proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells

Jae il Lee

Dept. of Oral Pathol., Sch. of Dent., Seoul National Univ.

ML-3

Exploring functional tissue-organ from human embryonic stem cells

Tong Cao

National Univ. Health System and National Univ. of Singapore

Gender Equality Seminar

DS-1

Towards gender equality in academia

Irma Thesleff

Inst. of Biotechnol., Univ. of Helsinki

DS-2

Present situation of gender equality in Academia of Japan

Teruko Takano-Yamamoto

Div. of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.

Symposium (Science Council of Japan; SCJ)

CS-1

Expectation and consideration for incretin treatment in type 2 diabetes

Yutaka Seino

Kansai Electric Power Hosp.

CS-2

Molecular basis of oral-systemic medicine revealed from the close association between periodontal disease and diabetes mellitus

Fusanori Nishimura

Sec. of Periodontol., Kyushu Univ. Fac. of Dent. Sci.

CS-3

Bone tissue as systemic organ supporting a life —Correlation between periodontitis and osteoporosis—

Nobuyuki Udagawa

Dept. of Biochem., Matsumoto Dent. Univ.

JAOB Symposium

KS-1

Next-generation of bone research using in vivo fluorescent imaging

Takeshi Imamura

Dept. of Mol. Med. for Pathogenesis, Ehime Univ. Grad. Sch. of Med.

KS-2

Bioimaging of the osteocyte and its nano-model analysis

Hiroshi Kamioka

Dept. of Orthod., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. & Pharm.

KS-3

Challenge for promoting understand of tooth developmental mechanisms using imaging technology

Hidemitsu Harada, Keishi Otsu, Naoki Fujiwara, Mika Sakano

Div. of Dev. Biol. & Regen. Med. Dept. of Anat. Iwate Med. Univ.

KS-4

Intravital imaging of salivary gland function and regulation of fluid secretion

Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura

Dept. of Pharmacol., Sch. of Dent., Health Sci. Univ. of Hokkaido

KS-5

From fluorescence to chemiluminescence —new trend of bioimaging—

Takeharu Nagai

ISIR, Osaka Univ., PRESTO, JST

Main Symposium 1: Biodental Engineering—Integration of Biology and Material Science

MS1-1

Regeneration of organs in oral and craniofacial regions by the reproduction of the developmental morphogenesis

Takashi Tsuji

Res. Inst. of Sci. Tech., Tokyo Univ. of Sci.

MS1-2

In vitro modulation of gland tissue morphogenesis using hydrogel material

Takuya Matsumoto

Dept. of Biomater., Okayama Univ. Grad. Sch of Med. Dent. & Pharm.

MS1-3

Characterization of stem cell populations using antibody arrays

Koichi Kato

Dept. of Biomater., Inst. of Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.

MS1-4

Scaffold-free bone tissue engineering using iPS cells

Hiroshi Egusa

Dept. of Fixed Prosthodont., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.

Main Symposium 2: Carving a Disease by Omics

MS2-1

New aspects of periodontal bacteria revealed by genomics

Mariko Naito

Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.

MS2-2

Bacterial survival and evolutionary strategies by CRISPR

Ichiro Nakagawa

Sec. of Bacterial Pathogenesis, Tokyo Med. and Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci.

MS2-3

CCN2 functions revealed by metabolomics and interactomics

Satoshi Kubota, Aya Maeda, Takashi Nishida, Masaharu Takigawa

Dept. Biochem. & Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm. Sci.

MS2-4

Regulation of endochondral ossification by transcriptional network

Riko Nishimura

Dept. of Molecular and Cellular Biochem., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.

MS2-5

Identification of normal tension glaucoma-specific genome markers by genome wide association study (GWAS) and its meaning

Kei Tashiro

Dept. of Genomic Med. Sci., Kyoto Prefectural Univ. of Med.

Main Symposium 3: Clinical Insight into the Study of Orofacial Pain

MS3-1

Central mechanism of extraterritorial pain abnormality in the orofacial region

Koichi Iwata

Dept. of Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.

MS3-2

Mechanisms of orofacial nociception and neuropathic pain

Ryuji Terayama, Tomosada Sugimoto

Dept. of Oral Funct. & Anat., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.

MS3-3

What is required to dentists in managing chronic orofacial pain?

Yoshiki Imamura

Dept. of Oral Diagnostic Sci., Nihon Univ. Sch. of Dent.

MS3-4

Basic mechanisms of orofacial pain transmission and development of new treatment procedure

—Neurotransmitter release from somata of sensory ganglion—

Yoshizo Matsuka

Dept. of Fixed Prosthodontics, Inst. of Health Biosci., The Univ. of Tokushima Grad. Sch.

Satellite Symposium 1: Regenerative Therapy Aimed at the Harmonization through Biological Network

SS1-1

Understanding mechanisms of skeletal development for regenerative medicine

Shinsuke Ohba

Dept. of Bioengineering, Univ. of Tokyo Grad. Sch. of Eng.

SS1-2

Periodontal regeneration with autologous periodontal ligament cell sheets

Takanori Iwata

Insti. of Adv. Biomed. Eng. & Sci., Tokyo Women's Med. Univ.

SS1-3

Novel insights in bone metabolism regulated by sex steroid hormones and its possible application for bone regeneration

Yuuki Imai

Div. of Integ. Pathophysiol., Proteo-Sci. Cent., Ehime Univ.

SS1-4

Neuronal control of bone remodeling

Shu Takeda

Dept. of Physiol. & Cell. Biol., Sch. of Med., Tokyo Med. & Dent. Univ.

Satellite Symposium 2: Novel Challenge for Bone Formation and Bone Resorption

SS2-1

Murine osteoblast-like cells MLO-A5 regulates differentiation of murine mesenchymal stem cells C3H10T1/2 through gap junctions

Mikami Yoshikazu

Dept. of Anat., Nihon Univ. Sch. of Dent.

SS2-2

Functional roles of Pannexin3 in bone and cartilage development

Tsutomu Iwamoto

Dept. of Ped. Dent., Inst. of Health Biosci., Univ. of Tokushima Grad. Sch.

SS2-3

Immune-related molecule regulates osteoblast differentiation

Hiroyuki Morimoto

Dept. Anat., Sch. of Med., Univ. Occup. Environ. Health

SS2-4

Circadian rhythms of bone metabolism and clock genes

Hisataka Kondo

Dept. of Pharmacol., Aichi Univ. Sch. Dent.

SS2-5

The role of NF- κ B activation in bone formation

Kenji Osawa

Div. of Mol. Signal and Biochem., Kyushu Dent. Univ.

Satellite Symposium 3: Frontiers of Oral Physiology

SS3-1

Role of the cortical masticatory area in salivation

Naoto Maeda¹, Ryuji Matsuo²

¹Dept. of Occlusal and Oral Functional Rehabil., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. and Pharma. Sci.

²Dept. of Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. and Pharma. Sci.

SS3-2

Effect of chemical inputs in the oral cavity and pharynx on human swallowing

Yuki Nakamura

Dept. Oral Biol. Sci., Div. of Dysphagia Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.

SS3-3

Physiological and pathological mechanism during physiological root resorption in human deciduous teeth

Hidefumi Fukushima

Sec. of Cell Physiol., Dept. of Physiol. Sci. and Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.

SS3-4

Peripheral mechanisms for ectopic orofacial pain

Masamichi Shinoda

Dept. of Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.

Satellite Symposium 4: Translational Dental Research over the CCN Family

SS4-1

Role of CTGF/CCN2 on osteocyte-induced apoptosis under compressive mechanical force

Teruko Takano-Yamamoto

Div. of Orthod. & Dentofacial Orthop., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.

SS4-2

Metalloproteases and CTGF/CCN2 expression in human dentin-pulp complex

Koichiro Muromachi¹, Naoto Kamio¹, Kiyoshi Matsushima^{1, 2}

Dept. of Endod.¹, and Res. Inst. of Oral Sci.², Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo

SS4-3

The effects of low-intensity pulsed ultrasound exposure on gingival cells

Chihiro Masaki, Taro Mukaibo, Yusuke Kondo, Tetsuji Nakamoto, Ryuji Hosokawa

Dept. of Oral Reconstruction and Rehabil., Kyushu Dent. Univ.

SS4-4

Effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on the gene expression and protein production of CCN2 in cultured chondrocytes

Takashi Nishida¹, Satoshi Kubota¹, Eriko Aoyama², Nobuyasu Yamanaka³, Masaharu Takigawa¹

¹Dept. Biochem. Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., ²Biodent. Res. Ctr. Okayama Univ. Dent. Sch., ³Ito Co., Ltd.

SS4-5

The role of CCN4/WISP-1 in bone formation

Mitsuaki Ono¹, Azusa Maeda^{1, 2}, Asuka Masaki¹, Yuya Yoshioka¹, Wataru Sonoyama¹, Takuo Kuboki¹, Marian F. Young²

¹Dept. of Oral Rehabil. & Regen. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. Sci., ²NIDCR/NIH

Satellite Symposium 5: A Future Intension of Human Orofacial Stem Cells—A Clinical Potential of Human Dental Pulp-derived Stem Cells

SS5-1

Possible implementation of clinical endodontics of pulp/dentin regeneration using dental pulp stem cells

Misako Nakashima

Dept. of Dent. Regenerative Med., Center of Advanced Med. for Dent. and Oral Diseases

National Center for Geriatrics and Gerontology, Res. Inst.

SS5-2

Dental pulp cells as a source for regenerative medicine

Ken-ichi Tezuka

Dept. of Tissue and Organ Development, Gifu Univ. Grad. Sch. of Med.

SS5-3

Development of the novel regenerative therapies for systemic intractable diseases using serum-free conditioned media from dental pulp stem cells

Akihito Yamamoto

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery of Nagoya Univ. Grad. Sch. of Med.

SS5-4

Therapeutic potential of cryopreserved human dental pulp tissue

Takayoshi Yamaza

Dept. of Molecular Cell Biol. and Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci.

Satellite Symposium 6: The 27th Meeting of Salivary Glands

SS6-1

MicroRNA transport between tissues in fetal mouse submandibular gland

Toru Hayashi

Dent. Pharmacol., Asahi Univ.

SS6-2

How does the V-ATPase work in the mouse salivary gland?

Yoshinori Sahara¹, Sawa Horie^{1,2}, Asami Ohmiya^{1,3}, Yuto Umeki^{1,3}, Naomi Goto³, Mayumi Nakanishi-Matsui³

¹) Dept. Physiol., Iwate Med. Univ. Sch. Dent., ²) Dept. Tumor Biol., Inst. Biomed. Sci., Iwate Med. Univ., ³) Dept. Biochem., Fac. Pharm. Sci., Iwate Med. Univ.

SS6-3

Sorting mechanism of salivary proteins to secretory granules in parotid glands

Junko Fujita-Yoshigaki, Miwako Matsuki-Fukushima, Megumi Yokoyama, Osamu Katsumata-Kato

Dept. Physiol., Nihon Univ. Dent. Sch. at Matsudo

SS6-4

Salivary exosomes and disease diagnosis—Focusing around water channel, aquaporin-5—

Ishikawa Yasuko, Pieczonka Tomasz, Bragiel Aneta

Dept. of Pharm., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Dent.

SS6-5

Viral vector-mediated gene expression and intravital imaging of salivary glands

Akihiko Tanimura, Akihiro Nezu, Takao Morita

Dept. of Pharmacol., Sch. of Dent., Health Sci. Univ. of Hokkaido

SS6-6

The new vistas to the function of GABAA receptor in the salivary gland

Mitsuru Kawaguchi

Dept. of Pharmacol., Tokyo Dent. Coll.

Satellite Symposium 7: Microcirculation of a Head and Neck Cancer—A Point of Chemotherapy—

SS7-1

Microvascular architecture of oral mucosa in the type 2 diabetes mellitus

Mamoru Uemura, Fumihiko Suwa

Dept. of Anat., Osaka Dent. Univ.

SS7-2

Analysis of the factor involved in microvessel network formation during muscle development

Masataka Sunohara, Iwao Sato

Dept. of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, The Nippon Dent. Univ.

SS7-3

Lymphatic vessels as a drug delivery route on the cancer chemotherapy

Yoshinori Ando, Akira Fujimura

Div. of Functional Morphol. Dept. of Anat., Iwate Med. Univ.

SS7-4

Vasohibin-2 regulates tumor onset in the gastrointestinal tract by normalizing tumor angiogenesis

Shuji Kitahara

Dept. of Anat. and Dev. Biol., Sch. of Med., Tokyo Women's Med. Univ.

Satellite Symposium 8: The Front Line of Research on Oral Microbiota: The Challenge Report by Young Investigators

SS8-1

Anaerobic culture to detect periodontal and caries pathogens

Anne C. R. Tanner

Dept. of Microbiol., The Forsyth Inst.

SS8-2

Interaction between *Fusobacterium nucleatum* and the erythrocyte: Impacts on the host immune system

Saori Yoneda, Riyoko Tamai, J. Merritt, Yusuke Kiyoura

Dept. of Oral Med. Sci., Ohu Univ., Sch. of Dent.

SS8-3

Cell surface coaggregation receptor polysaccharide in *Streptococcus sanguinis*

Yasuo Yoshida¹, Jinhua Yang², Keiji Nagano, Yuki Abiko¹, Fuminobu Yoshimura¹, John O. Cisar²

¹Dept. of Microbiol., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ., ²Oral Microbiol. and Immunol. Branch, NIDCR, NIH

SS8-4

Microbiota profiling of bronchial fluids of elderly patients

Noriko Ishida¹, Takuichi Sato¹, Yasushi Hoshikawa³, Naoko Tanda², Takashi Kondo³, Nobuhiro Takahashi¹

¹Div. of Oral Ecol. and Biochem., and ²Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging, and Cancer, Tohoku Univ.

SS8-5

Hydrogen sulfide, methyl mercaptan, and acetaldehyde in oral health care for perioperative patients with pulmonary carcinoma

Naoko Tanda¹, Naoko Ishida², Yasushi Hoshikawa³, Takuichi Sato², Nobuhiro Takahashi², Ryoichi Hosokawa⁴, Takeyoshi Koseki⁴

¹Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Hosp., ²Div. of Oral Ecol. and Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Thoracic Surgery, Inst. of Dev., Aging and Cancer, Tohoku Univ., ⁴Div. of Preventive Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.

SS8-6

Ameriolating effects of a Kampo Medicine, Juzentaihoto on restraint stress and *P. gingivalis*-induced alveolar bone loss

Orie Takeda¹, Toshizo Toyama², Kiyoko Watanabe², Takenori Sato², Kenichi Sasaguri¹, Susumu Akimoto¹, Sadao Sato¹, Toshitsugu Kawata¹ and Nobushiro Hamada²

Div. Oral Sci., Dept. Ortho, Kanagawa Dent. Univ.¹, Dept. of Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.²

SS8-7

Basic helix-loop-helix transcription factors DEC1 and DEC2 in *P. gingivalis*-induced inflammation

Cintia Yuki Fukuoka¹, Ujjal K Bhawal¹, Ryoki Kobayashi¹, Toshizo Toyama², Takenori Sato², Hidefumi Kumada², Yoshimitsu Abiko¹, Nobushiro Hamada²

¹Dept. of Biochem. and Molecular Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo,

²Dept. of Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.

Satellite Symposium 9: Melting Pot of CCN Family Research

SS9-1

Role of CCN3 in osteoblast differentiation and bone regeneration

Akira Yamaguchi

Dept. of Oral Pathol., Grad. Sch. of Med. Dent. Sci., Tokyo Med. and Dent. Univ.

SS9-2

Modification of endochondral ossification by cartilage-specific overexpression of CCN3

Takako Hattori¹, Mitsuaki Ono², Mitsuhiro Hoshijima¹, Koichi Kadoya³, Miho Kuwahara³, Yoshiko Miyake¹, Takuo Kuboki², Masaharu Takigawa¹

¹Dept. of Biochem. & Mol. Dent., ²Dept. of Oral Rehabil. & Regen. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. Sci., ³Okayama Univ. Dent. Sch.

SS9-3

ERK1/2 pathway-mediated effects of CCN3 protein during early chondrocyte differentiation

Harumi Kawaki¹, Satoshi Kubota², Ipppei Onoe^{1,3}, Yuzo Kondo^{1,3}, Jun Takahashi^{1,3}, Masako Kamiya¹, Eiji Takayama¹, Nobuo Kondoh¹, Masaharu Takigawa²

¹Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent.

²Dept. of Biochem. & Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. Sci.

³Dept. of Oral Implantol., Asahi Univ. Sch. of Dent.

SS9-4

Tensile force induces vascular formation in cranial sutures via CTGF signaling

Nobuo Takeshita, Masakazu Hasegawa, Kiyoko Sasaki, Daisuke Seki, Shunrou Miyashita, Ikuko Takano, Yuuki Miyajima, Teruko Takano-Yamamoto

Div. of Orthod. & Dentofacial Orthop., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.

SS9-5

CCN2 is important in chondrocytic energy metabolism

Aya Maeda^{1,2}, Satoshi Kubota¹, Harumi Kawaki¹, Kazumi Kawata¹, Yoshiaki Miyake³, Takako Hattori¹, Takashi Nishida¹, Norifumi Moritani², Seiji Iida², Masaharu Takigawa¹

¹Dept. Biochem. Mol. Dent., ²Dept. Oral Maxillofac. Reconst. Surgery, ³Dept. of Orthopaedics, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. Sci.

SS9-6

The effect of connective tissue growth factor on osteoblast-like differentiation of an undifferentiated human periodontal ligament cell line

Asuka Yuda¹, Hidefumi Maeda², Shinsuke Fujii³, Satoshi Monnouchi¹, Naohide Yamamoto¹, Naohisa Wada², Atusi Tomokiyo⁴, Katsuaki Koori², Sayuri Hamano¹, Akifumi Akamine^{1,2}

¹Dept. of Endo. & Operat. Dent., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent., ²Dept. of Endo., Kyushu Univ. Hosp., ³Dept. of Mol. Biol. & Biochem. Osaka Univ. Grad. Sch. of Med., ⁴Colgate Australian Clinical Dent. Res. Centre, Sch. of Dent., Univ. of Adelaide

SS9-7

Systemic deletion of CCN2 ameliorates anti-glomerular basement membrane nephritis

Hideki Yokoi¹, Naohiro Toda¹, Masato Kasahara¹, Kiyoshi Mori^{1,2}, Takashige Kuwabara¹, Hiroataka Imamaki¹, Akira Ishii¹, Kenichi Koga¹, Keita P. Mori¹, Yukiko Kato¹, Shoko Ohno¹, Akira Sugawara³, Taiji Matsusaka⁴, Kazuwa Nakao^{1,2}, Masashi Mukoyama¹

¹Dept. of Med. and Clin. Sci., ²Med. Innovation Center, Kyoto Univ. Grad. Sch. of Med., ³Dept. of Nephrol., Osaka Red Cross Hosp., ⁴Dept. of Nephrol. and Endocrinol., Tokai Univ.

Satellite Symposium 10: Mechanisms of Tissue Destruction by Periodontal Pathogens: Current Status and Future View

SS10-1

Strategy of periodontal destruction by *P. gingivalis* — Transfiguration of periodontal etiology —

Atsuo Amano

Dept. of Preventive Dent., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.

SS10-2

Bacterial proteases: versatile virulence factors

Takahisa Imamura

Dept. of Med. Pathol., Fac. of Life Sci., Kumamoto Univ.

SS10-3

Machinery for post-translational modifications required for secretion of gingipains

Keitarou Saiki, Kiyoshi Konishi

Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Tokyo

SS10-4

Mechanism of bone resorption by gingipains

Yoichi Miyamoto

Dept. of Biochem., Showa Univ. Sch. of Dent.

SS10-5

Recent findings on structure and assembly mechanism of Mfa1 fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* —

Role of the downstream gene products of mfa1 —

Yoshiaki Hasegawa, Yukitaka Murakami

Dept. of Oral Microbiol., Div. of Oral Infect. and Health Sci., Asahi Univ. Sch. of Dent.

Satellite Symposium 11: Intraoral Pain—Bench to Bedside—

SS11-1

Expression of pain receptor channels in oral mucosa

Mizuho Kido

Dept. Mol. Cell Biol. Oral Anat., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.

SS11-2

Characteristics of intra-oral painful disease

Osamu Komiyama

Dept. of Clin. Oral Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo

SS11-3

Artemin signaling contributes tongue pain in burning mouth syndrome

Masamichi Shinoda

Dept. of Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.

SS11-4

Management for disease causing a pain in oral region

Noboru Noma

Dept. of Oral Diagnostic Sci., Nihon Univ. Sch. of Dent.

SS11-5

Mechanism of the oral ulcer-induced intraoral pain in rats

Suzuro Hitomi

Div. of Physiol., Kyushu Dent. Univ.

Satellite Symposium 12: Osteocyte Biology

SS12-1

Overview: Osteocyte, a conductor of bone cells

Norio Amizuka, Yukina Miyamoto, Hiromi Hongo, Muneteru Sasaki, Tomoka Hasegawa

Dept. of Develop Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ.

SS12-2

Bone mass regulation by mechanical stress through osteocyte network

Toshihisa Komori

Dept. of Cell Biol. Nagasaki Univ.

SS12-3

Osteocytic osteolysis

Koichi Matsuo

Lab. of Cell & Tissue Biol., Keio Univ. Sch. of Med.

SS12-4

Regulation of bone destruction by osteocytes

Tomoki Nakashima

Dept. of Cell Signal, Tokyo Med. and Dent. Univ.

Lunchon Seminar

L-1

Potential and mysterious actions of bone-modifying agent bisphosphonate

Toshiyuki Yoneda

Div. of Hematology/Oncology, Indiana Univ. Sch. of Med.

L-2

Impact of mechanobiology on oral biology

Keiji Naruse

Dept. of Cardiovascular Physiol. Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. and Pharma. Sci.

L-3

Mechanism of inhibitory effects of oolong tea polyphenols on dental caries

Michiyo Matsumoto-Nakano

Dept. of Pediatric Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. and Pharma. Sci.

L-4

Author workshop for young researchers supported by Elsevier: How to make and submit a scientific paper for Journal of Oral Biosciences using EES

Hayato Ohshima

Div. of Anat. & Cell Biol., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci.

Editor-in-Chief of Journal of Oral Biosciences

■ Oral Presentation

O-1	Smad8 negatively regulates BMP signaling ○Katagiri T ¹ , Fujimoto M ¹ , Miyamoto A ¹ , Kokabu S ¹ , Jimi E ² , Osawa K ¹ (¹ Div. of Pathophysiol., Saitama Med. Univ. RCGM, ² Dept. of Health Improvement, Kyushu Dent. Univ.)
O-2	Histochemical examination on bone tissue in ovariectomized leptin receptor-mutated (db/db) mice ○Tanaka Y ^{1,2} , Hasegawa T ¹ , Yamada T ¹ , Oda K ³ , Tei K ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Hard. Tissue, Grad. Sch. Dent. Hokkaido. Univ., ² Dept. Oral and Maxillo, Grad. Hokkaido. Univ., ³ Dev. Biochem., Grad. Niigata. Univ.)
O-3	Co-repressor, TLE3 suppresses osteoblast differentiation via recruiting HDAC ○Kokabu S ^{1,2} , Sato T ¹ , Enoki Y ¹ , Okubo M ¹ , Katagiri T ³ , Yoda T ¹ (¹ Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Fac. of Med., Saitama Med. Univ., ² Dept. of Dev. Biol., Harvard Sch. of Dent. Med., ³ Dev. Pathophysiol. of Genomic Med, Saitama Med. Univ.)
O-4	PP2A Calpha regulates osteoblast differentiation through the expression of bone-related genes including Osterix. ○Okamura H ¹ , Haneji T ¹ (¹ Dept. of Histo. & Oral Histo., Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
O-5	Osteocytes negatively modulate osteoclastogenesis through their production of interferon-beta ○Hayashida C ¹ , Ito J ¹ , Nakayachi M ² , Okayasu M ² , Oyama Y ³ , Hakeda Y ¹ , Sato T ¹ (¹ Div. of Oral Anat., Dept. of Human Development & Fostering, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. of Orthodontol., Dept. of Human Development & Fostering, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ 1st Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Diagnostic and Therapeutic Sci, Meikai Univ. Sch. Dent.)
O-6	Response of osteoclasts and RANKL expression in the regenerating scales of goldfish under simulated microgravity ○Ikegame M ¹ , Hattori A ² , Yamamoto T ¹ , Suzuki N ³ (¹ Dept. of Oral Morphol., Okayama Univ., Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ² Dept. of Biol., Coll. of Liberal Arts & Sci., Tokyo Med. Dent. Univ., ³ Inst. of Nat. & Environ. Technol., Kanazawa Univ.)
O-7	Immunoelectron microscopic localization of E-FABP in septoclasts of the epiphyseal plates of mice and influence of dietary vitamin-A or retinoic acid ○Bando Y ¹ , Takizawa S ¹ , Sakiyama K ¹ , Amano O ¹ (¹ Div. of Anat. Meikai Univ. of Dent.)
O-8	Novel mechanisms involved in regulation of osteoclastogenesis via curdlan-dectin-1 signaling ○Yamasaki T ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Hosokawa R ² , Nishihara T ¹ (¹ Dept. of Infections & Molecular Biol., Kyushu Dent. Univ. , ² Dept. of Oral Reconstruction & Rehabilitation, Kyushu Dent. Univ.)
O-9	Involvement of acetylcholinesterase in osteoclast differentiation ○Sato T ¹ , Enoki Y ¹ , Kokabu S ¹ , Okubo M ¹ , Usui M ² , Yoda T ¹ (¹ Dept. of Oral & Maxillofac Surg., Saitama Med. Univ., ² Div. of Periodontol., Kyushu Dent. Univ.)
O-10	Cyclic compressive force induces osteoclast differentiation via prostaglandin E ₂ production in rat gingival fibroblasts. ○Araki D ¹ , Hara T ¹ , Ishimine C ¹ , Minagi S ¹ (¹ Dept. of Occlusal & Oral Functional Rehabil., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
O-11	Ultrastructural examination on osteoclast-like cell in RANKL-deficient mice ○Miyamoto Y ^{1,2} , Hasegawa T ² , Sasaki M ² , Oda K ³ , Udagawa N ¹ , Yamamoto T ² , Amizuka N ² (¹ Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent. Med. Hokkaido. Univ., ³ Dept. of Oral Biochem. Grad. Sch. of Med and Dent. Sci. Niigata. Univ., ⁴ Dept. of Oral Biochem. Matsumoto Dent. Univ.)
O-12	Wnt5a-Ror2 signals regulate osteoclastic bone-resorbing activity through Rho activation ○Uehara S ¹ , Udagawa N ¹ , Takahashi N ² , Kobayashi Y ² (¹ Dept. of Biochem., Matsumoto Dent. Univ., ² Inst. for Oral Sci. Matsumoto Dent. Univ.)
O-13	Anatomical study on structure of maxillary incisive canal structure with three-dimensional reconstruction of microCT images ○Fukuda M ¹ , Noguchi T ¹ , Omine Y ¹ , Kinoshita H ¹ , Matsunaga S ¹ , Ide Y ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. of Anat. Tokyo Dent. Coll.)
O-14	Three-dimensional reconstruction and interactive Virtual-Reality viewing of vascular architecture ○Shimazu Y ¹ , Taya Y ¹ , Soeno Y ¹ , Shirako Y ¹ , Fujita K ¹ , Sato K ¹ , Aoba T ¹ (¹ Dept. of Pathol., Sch. of Life Dent., Nippon Dent. Univ.)
O-15	Education of oral anatomy using 3D-CT image -relations between volume of paranasal sinuses and tooth- ○Takahashi T ¹ , Maeda S ¹ , Ichijo Y ¹ , Takahashi Y ¹ , Moriyama H ² , Kumasaka S ³ , Kobahashi S ⁴ (¹ Dept. of 3D Imaging Anat. Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Anat. Showa Univ. Sch. of Med., ³ Dept. of Radiological Sci. Fac. of Health Sci. Komazawa Univ., ⁴ Dept. of Anat. Kyushu Dent. Univ.)
O-16	Morphological analysis of cranial base synchondrosis in cartilage calcification insufficient rat ○Takeuchi A ¹ , Nagayama M ² , Kuzushima K ¹ , Watabe H ¹ , Ehara M ² , Amano H ³ , Tanaka M ⁴ , Watanabe M ⁵ , Tanuma J ² , Kitai N ¹ (¹ Dept. of Orthodont., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Pathol., Asahi Univ. Sch. of Dent., ³ Dept. of Pharmacol., Sch. of Dent. Showa Univ. , ⁴ Dept. of Nutr., Jr. Col. Div. Univ. of Aizu, ⁵ Inst. for Animal Exp., St. Marianna Univ. Grad. Sch. of Med.)
O-17	A morphological variation of the foramen spinosum in <i>Pan troglodytes</i> ○Kondo S ¹ , Naitoh M ² , Matsuno M ¹ (¹ Dept. of Anat. I, Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo, ² Dept. of Maxillofacial Radiol., Aichi-Gakuin Univ. Sch. of Dent.)
O-18	Effects of soft diet on temporomandibular joint of growing rats ○Kato T ^{1,2,3} , Takahashi S ² , Uekita H ¹ , Domon T ² (¹ Dept. of Oral Rehabil., Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Oral Functional Anat., Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ³ Sapporo Hokuyu Hosp.)
O-19	Differences in healing patterns of the bone-implant interface between immediately and delayed placed titanium implants into the mouse maxilla ○Watanabe T ¹ , Saito K ¹ , Ohshima H ¹ (¹ Div. of Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci.)
O-20	Biological effects of occlusal loading on bone tissue around titanium implants immediately placed into extraction sockets ○Ikeda Y ¹ , Hasegawa T ² , Amizuka N ² , Yokoyama A ¹ (¹ Dept. of Oral Func. Pros. Div. of Oral Func. Sci. Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med. , ² Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent., Hokkaido Univ.)
O-21	Effect of surface morphology of zirconia on osteoblastic differentiation ○Taniguchi Y ^{1,2} , Kido H ¹ , Yamazaki J ² (¹ Dept. of Oral Implantol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. of Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)

O-22	Effect of silk fibroin on primary osteoinductivity ○Uchida R ¹ , Kiba H ² , Bhawal U ³ , Arai K ⁴ , Kuboyama N ⁵ , Nishiyama N ¹ (¹ Dept. of Dent. Biomaterials, Nihon Univ. Sch. ² Dept. of Oral Pathol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo. ³ Dept. of Biochem. and Molecular Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo. ⁴ Dept. of Pediatric Dent., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo. ⁵ Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
O-23	Sintering temperature-dependent effects of carbonate apatite on the proliferation and differentiation of rat bone marrow derived cells ○Onoe I ^{1,2} , Kawaki H ¹ , Kondo Y ^{1,2} , Takahashi J ^{1,2} , Kamiya M ¹ , Takayama E ¹ , Nagahara K ² , Kondoh N ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent. ² Dept. of Oral & Maxillofacial Implantol., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
O-24	The effects of <i>V. parvula</i> 's supernatant for the biofilm formation of <i>S. sanguinis</i> ○Mashima I ¹ , Kamaguchi A ¹ , Miyakawa H ¹ , Fujita M ¹ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Sch. of Dent., Heal. Sci. Univ. Hokkaido)
O-25	Oral actinobacteria kills <i>P. gingivalis</i> dependently on NO ₃ ○Nambu T ¹ , Mashimo C ¹ , Yamane K ¹ , Yamanaka T ¹ , Fukushima H ¹ (¹ Dept. Bacteriol., Fac. Dent., Osaka Dent. Univ.)
O-26	Effects of extract from potherb mustard on the biofilm formation of <i>Actinomyces naeslundii</i> ○Arai T ^{1,2} , Ochiai K ³ , Mohri S ⁴ , Saeki Y ⁴ , Senpuku H ¹ (¹ Dept. of Bac I., NIID. ² Dept. of Maxillofacial Surgery., Nihon Univ. Sch. of Dent at Matsudo. ³ Dept. of Microbiol., Nihon Univ. Sch. of Dent. ⁴ Dept, Lotte Co., Ltd. Oral Sci. Section Basic Res.)
O-27	Analysis of the major outer membrane protein of <i>Treponema denticola</i> ○Abiko Y ¹ , Nagano K ¹ , Yoshida Y ¹ , Yoshimura F ¹ (¹ Dept. of Microbiol. Sch. of Dent. Aichi Gakuin Univ.)
O-28	Construction of a plasmid vector for electrotransformation of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Tagawa J ¹ , Inoue T ² , Sato K ³ , Naito M ³ , Nakayama M ² , Nakayama K ² , Yamashiro T ⁴ , Ohara N ² (¹ Dept. of Ortho., Okayama Univ. Hosp. ² Dept. of Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm. ³ Dept. of Microbiol. & Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci. ⁴ Dept. of Ortho. & Dent. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-29	Involvement of the novel two-component NsrRS and LcrRS systems in distinct resistance pathways against lantibiotics in <i>Streptococcus mutans</i> ○Matsuo M ¹ , Komatsuzawa H ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent.)
O-30	Different evolutionary strategies among the Red-complex bacteria ○Endo A ¹ , Watanabe T ² , Maruyama F ^{2,3} , Izumi Y ¹ , Nakagawa I ² (¹ Dept. of Perio. Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. ² Dept. of Bac. & Phatho. Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. ³ Dept. of Micro. Gen. & Eco. Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
O-31	Genetic and serologic analyses of FimA fimbriae of <i>Porphyromonas gingivalis</i> strains ○Nagano K ¹ , Abiko Y ¹ , Yoshida Y ¹ , Yoshimura F ¹ (¹ Dept. of Microbiol., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ.)
O-32	Identification of integrin $\alpha 3$ as a molecular marker of cells undergoing epithelial mesenchymal transition and of cancer cells with aggressive phenotypes ○Saitoh M ¹ (¹ Dept. of Biochem. Grad. Sch. of Med. & Eng. Univ. of Yamanashi)
O-33	Immunohistochemical study of Dkk-3 and b-catenin expressions in head and neck squamous cell carcinoma ○Fujii M ¹ , Ito S ¹ , Yu S ¹ , Takebe Y ¹ , Kawai H ¹ , Tsujigiwa H ¹ , Nagatsuka H ¹ (¹ Dept. of Oralpathol. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
O-34	Expression and role of High mobility group box 1 (HMGB1) in the adjacent tissue of the tongue cancer ○Takizawa S ¹ , Sakiyama K ¹ , Inoue K ² , Bando Y ¹ , Sakasita H ² , Amano O ¹ (¹ Meikai Univ. Sch. of Dent. Anat. Lecture. ² Second Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Diagnostic and Therapeutic Sci, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
O-35	Regulation of EGFR by GLUT1 in squamous cell carcinoma cells ○Yoshimoto S ¹ , Nagano K ¹ , Sugiyama G ¹ , Morita H ² , Nakamura S ³ , Hirata M ¹ (¹ Lab. of Mol. & Biochem., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ. ² Special Patient Oral Care Unit of Kyushu Univ. Hosp. ³ Sect. of Oral and Maxillofac. Oncol., Div. of Maxillofac. Diag. Surg. Sci., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-36	The expression of integral membrane protein 2a (itm2a) during the tooth germ development ○Kihara M ^{1,2} , Kiyoshima T ¹ , Nagata K ¹ , Wada H ¹ , Fujiwara H ¹ , Hasegawa K ^{1,3} , Someya H ^{1,4} , Takahashi I ² , Sakai H ¹ (¹ Lab of Oral Patho, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ. ² Dept. of Ortho, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ. ³ Dept. of Endo. and Ope. Dent., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ. ⁴ Dept. of Remov Prosthodont, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-37	Characterization of human dental pulp cells-derived spheroids in serum-free medium: stem cell distribution and neuronal/osteogenic potency ○Xiao L ¹ , Tsutsui T ¹ (¹ Dept. of Pharm., Nippon Dent Univ. Sch of Life Sci.)
O-38	Mechanism of discrepancy between upper and lower dentition ○Kozawa Y ¹ (¹ Nihon Univ.)
O-39	Epigenetic mechanisms in the development of mouse tooth germ ○Yoshioka H ¹ , Minamizaki T ¹ , Yoshiko Y ¹ (¹ Dept. of Calif. Tissue Biol., Hiroshima Univ. Inst. of Biomed. & Hlth. Sci.)
O-40	The anti-inflammatory effects of matrix metalloproteinase-3 on irreversible pulpitis of mature erupted teeth ○Nakamura H ¹ (¹ Dept. of Oral Surg., Kanazawa Univ., Grad. Sch. of Med.)
O-41	Functional effects of hypotonic sensitivity TRP channels and Na ⁺ -Ca ²⁺ exchanger in mouse odontoblasts cultured cells ○Sato M ¹ , Tsumura M ¹ , Sobhan U ¹ , Kodama S ¹ , Shimada M ² , Nishiyama A ³ , Mochizuki H ¹ , Ogura K ¹ , Tazaki M ¹ , Shibukawa Y ¹ (¹ Dept. of Physiol., Tokyo Dent. Coll. ² Dept. of Clin. Oral Health Sci., Tokyo Dent. Coll. ³ Dept. of Oral Med., Tokyo Dent. Coll.)
O-42	Histology and elemental composition of the mantle dentin in the human deciduous teeth ○Takahashi M ¹ , Goto S ² (¹ Dept. of Dent. Hygiene, Nippon Dent. Univ. Coll. at Dent. Hygiene, Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata. ² Dept. of Dent. Material Sci., Sch. of Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ.)

O-43	Functional analysis of intraflagellar transport protein 88 in odontoblast ○Kawata K ¹ , Takeda S ¹ (¹ Dept. of Anat. & Cell Biol., Yamanashi Univ. Grad. Sch. of Med. & Engin.)
O-44	In-office bleaching therapy – a potential expanded use for remineralization of enamel subsurface lesions ○Iizuka J ¹ , Taniguchi M ² , Teranaka T ¹ , Takagaki Y ² , Mukai Y ¹ (¹ Dept. of Cario. & Resto., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Mol. & Cell. Bio. of Miner. Tissue., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-45	The role of <i>Msx2</i> for the maintenance of ameloblast polarization in mice ○Nakatomi M ¹ , Ida-Yonemochi H ¹ , Ohshima H ¹ (¹ Div. of Anat. & Cell Biol. of the Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci.)
O-46	Functional role of Rho signaling in ameloblast differentiation ○Otsu K ¹ , Fujiwara N ¹ , Harada H ¹ (¹ Dev. of Dev. Biol. & Regen. Med., Dept of Anat., Iwate Med. Univ)
O-47	MMP20 and KLK4 activation and inactivation interactions ○Yamakoshi Y ¹ , Karakida T ¹ , Oida S ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ., Sch. of Dent. Med.)
O-48	Alterations of bone matrix surrounding osteocytes and thier lacunae after administration of parathroid hormone in mice ○Hongo H ¹ , Yamada T ¹ , Udagawa N ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad., ² Dept. of Biochem., Matsumoto Dent. Univ.)
O-49	Biological effects of the frequency of intermittent PTH administration on bone cells ○Yamamoto T ¹ , Sasaki M ¹ , Hongo H ¹ , Hasegawa T ¹ , Yamada T ¹ , Yamamoto T ¹ , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. Hard Tissue., Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
O-50	Opposing effects of FGF18 and FGF2 on osteogenesis of developing mouse fetal skull ○Iseki S ¹ , Okuhara S ¹ , Ota MS ¹ , Kasugai S ² (¹ Dept. of Mol. Craniofac. Emb. Tokyo Med. and Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. Sci., ² Dept. of Oral Implant. & Regen. Med. Tokyo Med. and Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. Sci.)
O-51	The Rhyolite ceramics radiating far infrared ray (FIR) energy promotes the formation of bone ○Aldartsogt D ¹ , Yamashita K ¹ , Sumida K ¹ , Seki S ¹ , Masui T ¹ , Kitamura S ¹ (¹ Dept. of Oral Anat., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-52	Klf4 regulates expression of MMP and aggrecanase in chondrocytic cells ○Fujikawa J ^{1,2} , Abe M ¹ , Miura J ³ , Wakisaka S ¹ (¹ Dept. of Anat. & Dev. Bio., Osaka Univ. Grad. Sch., ² Div. of Special Care Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp., ³ Div. for interdisciplinary Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp.)
O-53	DMP1 mRNA and protein expression during osteoblast-to-osteocyte transition ○Oya K ^{1,2} , Sato S ¹ , Noda Y ¹ , Ishida K ¹ , Usami U ³ , Kishino M ¹ , Ogawa Y ¹ , Komori T ⁴ , Toyosawa S ¹ (¹ Dept. of Oral Path., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. for Interdiscip. Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp., ³ Labo. for Clinic. Investigation Osaka Univ. Dent. Hosp., ⁴ Dept. of Cell Biol. Unit of Basic Med. Sci, Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci)
O-54	Ultrastructural analysis of osteocyte in the mineralization front ○Miura J ¹ , Oya K ^{1,2} , Sato S ² , Toyosawa S ² (¹ Div. for Interdisciplinary Dent. Osaka Univ. Dent. Hosp., ² Dept. Oral Pathol. Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
O-55	A participation of the cells derive from bone marrow in bone healing ○Kawai H ¹ , Tsujigiwa H ¹ , Itou S ¹ , Nakano K ² , Yu S ¹ , Kawakami T ³ , Nagatsuka H ¹ (¹ Dept. Oralpatho. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. and Pharm., ² Oral Path, Matsumoto Univ., ³ Analysis of Hard Tissue Disorder, Matsumoto Univ.)
O-56	Effects of beta2-adrenoceptor agonists on function and phenotype of rat masseter muscle ○Ohnuki Y ¹ , Okumura S ¹ (¹ Dept. of Physiol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
O-57	CCN2 inhibits the osteoblastic phenotypes induced by BMP2 in mouse myoblasts. ○Nishida T ¹ , Kubota S ¹ , Takigawa M ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
O-58	The free fatty acids potentiate contraction via FFAR1 in airway smooth muscle ○Mizuta K ^{1,2} , Kudo T ³ (¹ Dept. of Dento-oral Anesthesiol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Anesthesiol. Columbia Univ. Coll. of Physicians & Surgeons, ³ Dept. of Oral Physiol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-59	Expression of thyroid hormone receptor and negative regulator of skeletal muscle growth mRNAs in mouse masseter and quadriceps femoris muscles after birth ○Sato I ¹ , Miwa Y ¹ , Sunohara M ¹ (¹ Dept of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
O-60	Expression of erythropoietin receptor on stem cells from exfoliated deciduous teeth ○Ma L ^{1,2} , Yamaza T ² , Hoshino Y ¹ , Yamaza H ¹ , Nonaka K ¹ , Kukita T ² (¹ Dept. of Pediatr. Dent., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci., ² Dept. of Mol. Cell Biol. & Oral Anat.)
O-61	Therapeutic benefits of the engrafted dopaminergic neurons induced from human dental pulp stem cells ○Fujii H ¹ , Yamamoto A ¹ , Matsubara K ¹ , Ueda M ¹ (¹ Dept. of Oral and Maxi. Surgery, Nagoya Univ. Grad. Sch. of Med.)
O-62	Establishment of method of primary tenocyte in 3D culture ○Shimada A ¹ , Wada S ² , Komatsu K ¹ , Nakashima K ¹ , Nifuji A ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Orthodont., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
O-63	Expression of cytoskeleton protein in engineered epithelial-mesenchymal hybrid cell sheet ○Yamane S ¹ , Umezawa T ¹ , Ide Y ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. of Anat., Tokyo Dent. Coll.)
O-64	Effects of simvastatin on osteogenic differentiation of mouse gingival fibroblast-derived iPS cells ○Okawa H ¹ , Egusa H ¹ , Yatani H ¹ (¹ Dept. of Fixed Prosthodontics, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-65	Effectiveness of Enzymatically Synthesized Glycogen (ESG) on the healing process following intentionally-delayed tooth replantation in mice ○Quispe-Salcedo A ¹ , Ida-Yonemochi H ¹ , Ohshima H ¹ (¹ Div. of Anat. and Cell Biol. of the Hard Tissue, Dept. of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci)

O-66	Evaluating the regenerative effect of CCN2 independent modules on chondrocytes in vitro and OA models in vivo ○Abd El Kader T ^{1,2} , Kubota S ¹ , Nishida T ¹ , Hattori T ¹ , Aoyama E ³ , Janune D ¹ , Kuboki T ² , Takigawa M ^{1,3} (Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., Oral Rehabil. Regen. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., Biodent. Res. Ctr., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
O-67	The root bark extracts of <i>J. effusus</i> and <i>P. suffruticosa</i> protect salivary gland acinar cells from apoptotic cell death induced by CDDP ○Mukudai Y ¹ (Dept. of Oral Surg., Sch. of Dent., Showa Univ.)
O-68	The circadian rhythm of clock genes, clock controlled gene and functional molecules in submandibular gland <i>in vitro</i> ○Uchida H ^{1,2,3} , Sakai T ² , Nakamura W ¹ (Lab of Oral Chronobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., Dept. of Oral-Facial Disorders, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., JSPS Res. Fellow)
O-69	FACS isolation of intercalated duct cells from the adult salivary gland ○Takeyama A ¹ , Yoshikawa Y ² , Ikeo T ² , Morita S ¹ , Hieda Y ³ (First Dept. of the Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ., Dept. of Biochem., Grad. Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ., Biol., Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ.)
O-70	Oxidization of salivary proteins – a possible measure of stress among the model evacuees staying in a shelter ○Taniguchi M ¹ , Iizuka J ² , Mukai Y ² , Takagaki Y ¹ (Dept. of Mol. & Cell. Bio. of Miner. Tissue., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., Dept. of Cario. & Resto., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-71	Relationship between sexual cycle and saliva BDNF, estrogen, and progesterone ○Matsuki C ¹ , Kondo Y ^{1,2} , Saruta J ¹ , To M ¹ , Hayashi T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Shimizu T ¹ , Tsukinoki K ¹ (Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
O-72	Influence of various luminacoid intake on increase of saliva IgA and salivary gland intratissue IgA ○Yamamoto Y ¹ , Hayashi T ¹ , Tou M ¹ , Shimizu T ¹ , Saruta J ¹ , Kondo Y ^{1,2} , Tsukinoki K ¹ (Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
O-73	The role of acyltransferase in tumor associated macrophage ○Taniguchi K ^{1,3} , Hikiji H ² , Okinaga T ³ , Nishihara T ³ (Div. of Oral and Max. Surg., Kyushu Dent. Univ., Dept. of Oral Functional Management, Kyushu Dent. Univ., Div. of Infections and Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
O-74	New selective inhibitor of NF- κ B inhibits bone invasion by oral squamous cell carcinoma ○Tada Y ^{1,2} , Fukushima H ² , Osawa K ³ , Jimi E ² (Div. of Dent. Anesthesiol., Kyushu Dent. Univ., Div. of Molecular Signaling and Biochem., Kyushu Dent. Univ., Div. of Pathophysiol., Res. Center for Genomic Med., Saitama Med. Univ.)
O-75	Histochemical study on osteocyte-derived factors in osteolytic bone metastases of MDA-MB-231 human breast cancer cells ○Yamada T ¹ , Tsuboi K ¹ , Hiraga T ³ , Yamamoto T ¹ , Tanaka Y ¹ , Hasegawa T ¹ , Oda K ² , Amizuka N ¹ (Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., Dept. of Biol, Niigata Univ. Sch. of Dent., Dept. of Histol. & Cell Biol., Matsumoto Dent. Univ.)
O-76	Defense mechanism of carcinogenesis on reactive oxidative stress via cellular senescence in normal human epidermal keratinocytes ○Sasaki M ^{1,2} , Kajiya H ¹ , Nagaoka Y ^{1,2} , Tsutsumi T ¹ , Fukawa T ^{1,2} , Okamoto F ¹ , Okabe K ¹ (Dept. of Physiological Sci. and Molecular Biol., Fukuoka Dent. Coll., Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Fukuoka Dent. Coll.)
O-77	Anti-fibrotic CCN3 effect accompanied by altered gene expression profile of CCN the family ○Janune D ¹ , Abd El Kader T ^{1,2} , Kubota S ¹ , Nishida T ¹ , Hattori T ¹ , Aoyama E ³ , Kuboki T ² , Takigawa M ^{1,3} (Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., Dept. of Dent. Rehabil. & Regen. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., Biodent. Res. Cntr, Okayama Univ. Dent. Sch.)
O-78	Osteocalcin triggers the secretion of incretin GLP-1, thereby inducing insulin secretion ○Mizokami A ¹ , Yasutake Y ¹ , Hirata M ¹ (Lab. of Mol. & Cell. Biochem., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-79	Disrupted function of FGF23/klotho axis induces vascular ossification– Histochemical examination on aorta of <i>kl/kl</i> mice – ○Hasegawa T ¹ , Yamada T ¹ , Sasaki M ¹ , Sasano Y ² , Amizuka N ¹ (Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent., Hokkaido Univ., Div. of Cranio. Dev. and Reg., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-80	Listone 3 lysine 9 methyltransferases are predominantly expressed in the prehypertrophic chondrocytes during the skeletal development ○Nifuji A ¹ , Shimada A ¹ , Nakashima K ¹ (Dept. of Pharm, Tsurumi Univ., Sch. of Dent. Med.)
O-81	Calcification in the bone matrix of rat calvaria during development ○Henmi A ¹ , Okata H ² , Mikami Y ¹ , Suzuki O ³ , Sasano Y ¹ (Div. of Craniofacial Development and Regeneration, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., Div. Periodontol. and Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., Div. of Craniofacial Function Engineering, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-82	SP6 positively regulates Rock1 promoter activity in dental epithelial cells ○Yanuaryska RD ¹ , Miyoshi K ² , Horiguchi T ² , Tanimura A ² , Arya A ¹ , Noma T ² (Grad. Sch. Oral Sci., Univ. Tokushima, Dept. Mol. Biol., HBS, Univ. Tokushima Grad. Sch.)
O-83	CXCL3 positively regulates adipogenic differentiation ○Kusuyama J ^{1,2} , Bandow K ¹ , Kakimoto K ¹ , Ohnishi T ¹ , Matsuguchi T ¹ (Dept. of Oral Biochem, Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med & Dent., Res. Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science)
O-84	Lymphangiogenesis and its molecular regulation during mouse tongue development ○Taya Y ¹ , Fujita K ¹ , Soeno Y ¹ , Shimazu Y ¹ , Sato K ¹ , Aoba T ¹ (Dept. of Pathol., Nippon Dent. Univ.)
O-85	Chemokine CXCL14/BRAK is a multifunctional tumor suppressor ○Hata R ¹ , Izukuri K ² , Kato Y ³ (Oral Health Sci. Res. Cent., Grad. Sch. of Dent. Kanagawa Dent. Univ., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ., Dept. Oral Func. Mol. Biol., Ohu Univ. Sch. Dent.)
O-86	Expression of TLR2 and TLR4 in glomerular endothelial cells under diabetic conditions ○Takata S ¹ , Uchiyama T ¹ , Turuga E ² , Hatakeyama Y ² , Ishikawa H ¹ , Sawa Y ² (Dept. of Oral Growth Dev., Fukuoka Dent. Coll., Dept. of Morphol. Bio., Fukuoka Dent. Coll.)
O-87	<i>Candida albicans</i> upregulates galectin-3 secretion by Ca9-22 cells ○Tamai R ¹ , Kiyoura Y ¹ (Dept. of Oral Med. Sci., Ohu Univ. Sch. Dent.)

O-88	Inhibitory effect of CL peptide derived from rice proteins on endotoxic activity ○Kato T ¹ , Kokubu E ² , Taniguchi M ³ , Saito A ⁴ , Saitoh E ⁵ , Ishihara K ² (¹ Lab. of Chem., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ³ Grad. Sch. of Sci. and Technol., Niigata Univ., ⁴ Dept. of Periodontol., Tokyo Dent. Coll., ⁵ Dept. of Env. Sci., Niigata Inst. Technol.)
O-89	Rapid decay of DUSP mRNAs is involved in cellular stress responses ○Matsuguchi T ¹ , Kusuyama J ¹ , Bandow K ¹ , Kakimoto K ¹ , Ohnishi T ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Kagoshima Univ. Grad Sch. of Med. Dent. Sci)
O-90	Development of intractable liver disease treatment using serum-free conditioned medium derived from stem cells from human deciduous teeth ○Matsushita Y ¹ , Yamamoto A ¹ , Matsubara K ¹ , Ueda M ¹ (¹ Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery Nagoya Univ. Grad. Sch. of Med.)
O-91	Inflammasome activity in periodontopathic bacterium-infected macrophage ○Okinaga T ¹ , Ariyoshi W ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
O-92	Immunological response of NK cells stimulated by renin ○Shimada E ¹ , Endo M ¹ , Ogasawara K ¹ (¹ Dept. of Immunobiol., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ.)
O-93	Finding of NK cell activation induced cell death ○Ogasawara K ¹ , Shimada E ¹ , Endo M ¹ (¹ Dept. of Immunobiol., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ.)
O-94	Development of metal ion visualization technology in metal allergy ○Endo M ¹ , Shimada E ¹ , Ogasawara K ¹ (¹ Dept. of Immunobiol., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ.)
O-95	The protective effect of Igusa extract for dental caries and periodontitis ○Murakami K ¹ , Hoshino Y ² , Hirota K ¹ , Miyake Y ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Health Biosci., ² Dept. of Hygiene and Oral Health Sci., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Health Biosci.)
O-96	A transcriptional roadmap to the differentiation and senescence of human oral keratinocytes ○Bhawal U ¹ , Kobayashi R ² , Fukuoka CY ¹ , Abiko Y ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo, ² Dept. of Oral Immunol., Nihon Uni. Sch. of Dent. at Matsudo)
O-97	Effect of nicotine induction of CCN2/CTGF on fibrosis in human periodontal tissue cells ○Igarashi H ^{1,4} , Kubota S ² , Tachibana T ³ , Murakashi E ¹ , Okabe M ⁴ , Takigawa M ² , Numabe Y ¹ (¹ Dept. of Perio., Nippon Dent. Univ., ² Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Core Res., Jikei Univ., ⁴ Dept. of Anat., Jikei Univ.)
O-98	Masseter muscle activity during awake state, non-REM sleep and REM sleep in mice ○Katayama K ^{1,2} , Mochizuki A ¹ , Kato T ³ , Ikeda M ² , Nogawa Y ^{1,2,4} , Nakamura S ¹ , Nakayama K ¹ , Yazawa I ¹ , Baba K ² , Inoue T ¹ (¹ Dept. of Oralphys., Showa Univ. Sch. of Dent, ² Dept. of Prosth., Showa Univ. Sch. of Dent, ³ Dept. of Anat and Neurobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ⁴ Dept. of Partial Prosth., Tokyo. Med. and Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent.)
O-99	Effects of alterations of occlusal vertical dimension on the neuronal regulation of isometric contraction of masseter muscles during clenching ○Fujinami Y ¹ , Tanaka Y ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
O-100	Experimentally induced rhythmic jaw movements in naturally sleeping animals ○Kato T ¹ , Yamada K ² , Higashiyama M ³ , Fatema A ¹ , Haque T ¹ , Kogo M ² , Yoshida A ¹ (¹ Dept. of Oral Anat. & Neurobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral & Maxillofac. Surg. 1, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ³ Dept. of Fixed Prosthodont. 1, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-101	Modification of synaptic strength through the microglial cathepsin S rhythmicity ○Hayashi Y ¹ , Okada R ¹ , Wu Z ¹ , Nakanishi H ¹ (¹ Dept. of Aging Sci & Pharmacol, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-102	Chromogranin A (CGA) induces the IL-1beta production by microglia in the novel cathepsin B-dependent manner ○Wu Z ¹ , Nakanishi H ¹ (¹ Dept. Aging Sci. Pharmacol., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-103	Nerve injury activated microglia engulf myelinated axons in a P2Y12 signaling-dependent manner in the dorsal horn ○Naeda M ¹ , Uemura M ¹ , Toda I ¹ , Takemura A ¹ , Suwa F ¹ (¹ Dept. of Anat., Osaka Dent. Univ.)
O-104	Social jet-lag, a disturbance of the biological clock ○Nakamura W ¹ , Takasu N ^{1,3} (¹ Lab. of Oral Chronobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² JST PRESTO, ³ Res. Fellow of JSPS (PD))
O-105	Spatial distribution profile of excitatory inputs in the insular cortex revealed by a laser scanning photostimulation technique ○Kobayashi M ¹ , Koshikawa N ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
O-106	Projections from the dorsal peduncular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus in rats ○Akhter F ¹ , Haque T ¹ , Sato F ¹ , Kato T ¹ , Yoshida A ¹ (¹ Dept. of Oral Anat. and Neurobiol., Grad. Sch. of Dent., Osaka Univ.)
O-107	Identification of myogenic-lineage committed cells in primary cultures derived from rat molar periodontal ligament ○Tominaga N ¹ , Nakahara T ^{1,2} , Ishikawa H ^{1,2} (¹ Dept. of Dev. & Regenerative Dent. Sch. of life Dent. Tokyo. Nippon Dent. Univ., ² Dept. of NDU Life Sci. Sch. of life Dentist. Tokyo. Nippon Dent. Univ.)
O-108	Mechanisms of allergy-induced external root resorption during orthodontic tooth movement ○Murata N ¹ , Ioi H ¹ , Ouchi M ¹ , Aijima R ² , Oki Y ² , Yamaza T ² , Takahashi I ¹ , Kido M ² (¹ Dept. of Orthodontics, Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Molecular Cell Biol. and Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O-109	Distribution and stem cell marker expression of bone marrow derived cells in PDL ○Kaku M ¹ , Kitami M ¹ , Ida T ¹ , Akiba Y ^{1,2} , Uoshima K ^{1,2} (¹ Div. of Bioprosthodontics Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci., ² Niigata Univ. Med & Dent. Hosp.)

O-110	Histochemical assessment on bone cells after the discontinuation of bisphosphonates ○Tsuboi K ^{1,2} , Sasaki M ¹ , Hasegawa T ¹ , Kitagawa Y ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biom. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Dev. Oral Med. & Diag, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
O-111	Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit cell fusion during osteoclastogenesis ○Nagaoka Y ^{1,2} , Kajiya H ¹ , Sasaki M ^{1,2} , Naganuma K ² , Tutumi T ¹ , Fukawa T ^{1,2} , Okamoto F ¹ , Okabe K ¹ (¹ Dept. of Physiological Sci. and Molecular Biol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. of Oral Maxillofacial Surgery, Fukuoka Dent. Coll.)
O-112	Histological mapping of minodronate by isotope microscopy and its biological effects on osteoclasts ○Sasaki M ¹ , Hongo H ¹ , Kobayashi S ² , Yurimoto H ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Cre. Res. Ins. Hokkaido Univ)
O-113	Bone-independent analgesic effects of non-nitrogen-containing bisphosphonates: involvement of phosphate transporters ○Shima K ¹ , Yamamoto T ¹ , Sugawara S ² , Endo Y ² (¹ Div. Orthod. Dentofacial Orthopedics, Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., ² Div. Oral Immu., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ.)
O-114	Alendronate promotes osteoblast differentiation by direct effects ○Komatsu K ¹ , Shimada A ¹ , Shibata T ¹ , Nakashima K ¹ , Amizuka N ² , Nifuji A ³ (¹ Dept. of Pharmacol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Nat. Inst. of Radiol. Sci.)
O-115	Uptake of zoledronate within soft-tissue cells: possible involvement of phosphate transporters ○Okada S ^{1,2} , Kiyama T ^{1,3} , Oizumi T ² , Sasaki K ³ , Takahashi T ² , Sugawara S ¹ , Endo Y ¹ (¹ Div. of Oral Immunol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. of Oral Maxillofacial Surgery, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³ Div. of Adv. Prosthetic Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
O-116	Tbx1 regulates oral epithelial adhesion and palatal development ○Funato N ¹ (¹ Tokyo Med. & Dent. Univ., Hum. Gene Sci. Center)
O-117	Thermosensitive TRP channel promotes wound repair in oral epithelia ○Aijima R ^{1,2,3} , Ohsaki Y ¹ , Zhang J ¹ , Kitsuki T ¹ , Murata N ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. of Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Fac. of Med., Saga Univ., ³ Div. of Hist. & Neuro Anat., Dept. of Anat. & Physiol., Fac. of Med., Saga Univ.)
O-118	Mash1 regulates the expression of GAD67 in type III cell of mouse taste bud ○Kito A ^{1,2} , Seta Y ¹ , Toyono T ¹ , Kataoka S ³ , Kakinoki Y ² , Toyoshima K ¹ (¹ Dept. of Histol. and Neurobiol., Kyushu Dent. Univ., ² Dept. of Special Needs and Geriatric Dent., Kyushu Dent. Univ., ³ Dept. of Oral Anat., Kyushu Dent. Univ.)

■ Poster Presentation

P1-1	Calcification in mandibular bone during development ○Hayashi R ¹ , Kozuka M ¹ , Shishido S ¹ , Kakiuchi Y ¹ , Henmi A ¹ , Okata H ² , Sasano Y ¹ (¹ Div. of Craniofacial Development and Regeneration, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. of Periodontol. and Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-2	Unique characteristics of Dipeptidyl–Peptidase (DPP) V and DPP7 from <i>Porphyrromonas endodontalis</i> ○Yanase A ¹ , Ohara–Nemoto Y ¹ , Shimoyama Y ² , Kimura S ² , Baba TT ¹ , Nemoto TK ¹ (¹ Dept. of Mol. Biol., Nagasaki Univ. Sch. of Med. & Dent. Sci., ² Dept. of Microbiol. & Oral Infect., Iwate Med. Univ.)
P1-3	Effects of liquiritigenin on RANKL–induced osteoclastogenesis ○Uchino K ¹ , Okamoto K ¹ , Sakai E ¹ , Fukuma Y ¹ , Iwatake M ¹ , Nishishita K ¹ , Tsykuba T ¹ (¹ Dept. of Oral Pathopharmacol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed Sci.)
P1-4	Dendritic active properties in the trigeminal motoneurons ○Nakai K ¹ , Nakamura S ² , Mochizuki A ² , Nakayama K ² , Yazawa I ² , Inoue T ² (¹ Showa Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Physiol., Showa Univ. Sch. of Dent.)
P1-5	Inhivision of angiogenesis in bone graft materials ○Seki Y ¹ , Takahashi M ¹ , Shimizu Y ¹ , Oikawa M ¹ , Kumamoto H ¹ (¹ Div. Oral Pathol. Tohoku Univ.)
P1-6	Histological aspects on the resorption of posterior region of mouse Meckel’s cartilage ○Kamaguchi M ¹ , Inoue K ² , Takahashi S ² , Kato T ² , Uekita H ² , Ushijima N ³ , Domon T ² (¹ Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Dept. of Oral Functional Anat., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Lab. EM, Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P1-7	Overexpression of CCN3 in cartilage negatively regulates endochondral ossification ○Kadoya K ¹ , Hattori T ² , Kuwahara M ¹ , Ono M ³ , Hoshijima M ² , Kuboki T ³ , Takigawa M ² (¹ Okayama Univ. Dent. Sch., ² Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Dept. of Oral Rehabil. & Regener. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P1-8	CBCT analysis of lingual foramen in the molar region of Japanese monkey mandible ○Hatanai K ¹ , Shimada K ² , Sato I ² (¹ Dept of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ., ² Dept of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ., ³ Dept. of Neurol., Gross Anat. Sec. Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med.)
P1-9	Epithelial barrier impairment of oral mucosa in xerostomia patients ○Utsunomiya R ¹ , Aijima R ^{1,3} , Yoshizumi J ² , Kitsuki T ² , Danjo A ³ , Yamashita Y ³ , Kido M ¹ (¹ Dept. of Molecular Cell Biol. and Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ³ Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Saga Med. Sch.)
P1-10	Retinoic acid relates with wnt5a signaling to induce abnormal myogenic development of tongue in fetal mice ○Liu B ¹ , Liu H ¹ , Xiao J ¹ (¹ Dept. of Oral Biol., Colg. of Stomatol., Dalian Med. Univ.)
P1-11	Retinoic acid induces myogenic differentiation in C2C12 cell line ○Liu B ¹ , Liu H ¹ , Xiao J ¹ (¹ Dept. of Oral Biol., Colg. of Stomatol., Dalian Med. Univ.)
P1-12	Expression of neuropeptide receptors the during differentiation process from mouse iPS cells to osteoblasts ○Nagao S ¹ , Goto T ² , Egusa H ³ , Yatani H ³ , Kobayashi S ² , Maki K ¹ (¹ Dipt. of Stomatognathic Function Sci., Kyushu Dent.Univ., ² Dept. of Anat., Kyushu Dent. Univ., ³ Dept. of Fixed Prosthodont., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-13	Histochemical study on osteocyte–derived factors in osteolytic bone metastases by MDA–MB–231 human breast cancer cells ○Yamada T ¹ , Tsuboi K ¹ , Hiraga T ³ , Yamamoto T ¹ , Tanaka Y ¹ , Hasegawa T ¹ , Oda K ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Biol., Niigata Univ. Sch. of Dent., ³ Dept. of Histol. & Cell Biol., Matsumoto Dent. Univ.)
P1-14	Disrupted function of FGF23/klotho axis induces vascular ossification – Histochemical examination on aorta of <i>kl/kl</i> mice – ○Hasegawa T ¹ , Yamada T ¹ , Sasaki M ¹ , Sasano Y ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent., Hokkaido Univ., ² Divi. of Cranio. Dev. and Reg., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-15	Histochemical assessment on bone cells after the discontinuation of bisphosphonates ○Tsuboi K ^{1,2} , Sasaki M ¹ , Hasegawa T ¹ , Kitagawa Y ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biom. of Hard Tissue, Hokkaido.Univ.Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Dev. Oral Med. & Diag, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
P1-16	Immunohistochemical study of Nox in mice lingual papillae ○Kashiwabara Y ¹ , Ambe K ² , Kikuchi R ³ , Nakagawa T ² , Watanabe H ² (¹ Dept. of Cell Biol. Oral Histol., Ohu Univ., Grad. Sch. of Dent., ² Div. of Oral Histol., Dept. of Morphological Biol., Ohu Univ., Sch. of Dent., ³ Dept. of Oral Maxillofacial Surgery, Ohu Univ., Grad. Sch. of Dent.)
P1-17	Distribution patterns of tight junction and its associated proteins, occludin and claudins in mouse palatal epithelium ○Shiotsu N ^{1,2} , Kawamoto T ³ , Kawai M ¹ , Torii Y ² , Yamamoto T ¹ (¹ Dept. of Oral Morphol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent & Pharma. Sci., ² Dept. of Comprehen. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharma. Sci., ³ Radioisotope Res. Inst., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P1-18	Alterations of bone matrix surrounding osteocytes and thier lacunae after administration of parathiroid hormone in mice ○Hongo H ¹ , Yamada T ¹ , Udagawa N ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue Hokkaido Univ. Grad., ² Dept. of Biochem., Matsumoto Dent. Univ.)
P1-19	Histochemical examination on bone tissue in ovariectomized leptin receptor–mutated (db/db) mice ○Tanaka Y ^{1,2} , Hasegawa T ¹ , Yamada T ¹ , Oda K ² , Tei K ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Hard. Tissue, Grad. Sch. Dent. Hokkaido. Univ., ² Dept. Oral and Maxillo, Grad. Hokkaido Univ., ³ Dev. Biochem., Grad. Niigata. Univ.)
P1-20	Regulation of osteoclastogenesis by galectin–9, a suppressor of inflammation, through membrane surface receptor Tim–3 ○Moriyama K ^{1,2} , Kukita A ³ , Uehara N ¹ , Zhang J ¹ , Takahashi I ² , Kukita T ¹ (¹ Dept. of Mol. Cell Biol. & Oral Anat. Kyushu Univ.Fac. of Dent. Sci., ² Dept. of Orthod. Kyushu Univ. Fac. of Dent. Sci., ³ Dept. of Microbiol. Saga Univ. Fac. of Med.)
P1-21	Influence of osteopontin deficiency on pulpal healing process following tooth injuries in mice ○Saito K ^{1,2} , Ohshima H ¹ (¹ Div. of Anat. and Cell Biol. of the Hard Tissue, Dept. of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci., ² JSPS Res. Fellow)

P1-22	Vesicular secretion of ATP in the rat odontoblasts ○Iwanabe E ¹ , Goto T ² , Gunjigake K ¹ , Kataoka S ² , Kuroishi K ¹ , Ueda M ¹ , Kobayashi S ² (Dept. of Orthodontics, Kyushu Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Anat., Kyushu Dent. Univ.)
P1-23	Expression and release of asporin and sclerostin in human periodontal ligament cells under the mechanical compressive force ○Ueda M ¹ , Goto T ² , Kuroishi K ¹ , Gunjigake K ¹ , Iwanabe E ¹ , Kobayashi S ² (Dept. of Orthodontics, Kyushu Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Anat., Kyushu Dent. Univ.)
P1-24	Detection of primary cilium in periodontal ligament at normal and excessive occlusal loading state ○Ida T ¹ , Kaku M ¹ , Kitami M ^{1,2} , Uoshima K ^{1,3} (Div. of Bioprosthodontics Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci., ² JSPS Res. Fellow, ³ Niigata Univ., Med. and Dent. Hosp.)
P1-25	Biological effects of occlusal loading on bone tissue around titanium implants immediately placed into extraction sockets ○Ikeda Y ¹ , Hasegawa T ² , Amizuka N ² , Yokoyama A ¹ (Dept. of Oral Func. Pros. Div. of Oral Func. Sci. Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. of Dent., Hokkaido Univ.)
P1-26	The role of miR-29 in the proliferation of C2C12 myogenic cell line ○Chikenji A ¹ , Yamane A ² , Ando H ² , Gomi K ¹ (Dept. of Periodontol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Biophysics, Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P1-27	Calcification in the bone matrix of rat calvaria during development ○Henmi A ¹ , Okata H ² , Mikami Y ¹ , Suzuki O ³ , Sasano Y ¹ (Div. of Craniofacial Development and Regeneration, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. of Periodontol. and Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³ Div. of Craniofacial Function Engineering, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-28	Influence of the mesenchymal cell to a skeletal muscle myoblast-cells sheet ○Umezawa T ¹ , Yamane S ¹ , Ide Y ¹ , Abe S ¹ (Dept. of Anat., Tokyo Dent. Coll.)
P1-29	Localization of Tie2 and Angiopoietin1 in tooth development ○Nakajima K ¹ , Shibata Y ² , Sawase T ¹ , Ikeda T ² (Dept. of Oral Implantol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Oral Pathol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P1-30	FACS isolation of intercalated duct cells from the adult salivary gland ○Takeyama A ¹ , Yoshikawa Y ² , Ikeo T ² , Morita S ¹ , Hieda Y ³ (First Dept. of the Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Biochem., Grad. Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ., ³ Biol., Sch. of Dent., Osaka Dent. Univ.)
P1-31	Mechanisms of allergy-induced external root resorption during orthodontic tooth movement ○Murata N ¹ , Ioi H ¹ , Ouchi M ¹ , Aijima R ² , Oki Y ² , Yamaza T ² , Takahshi I ¹ , Kido M ² (Dept. of Orthodontics, Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Molecular Cell Biol. and Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-32	Differentiation potential of osteoblast from cultured C2C12 cells on zirconia disc ○Saito M ¹ , Karakida T ² , Yamamoto R ² , Nagano T ¹ , Gomi K ^{1,2} , Oida S ² (Dept. of Periodontol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Biochem. and Mol. Biol. Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P1-33	Mechanism of osteoblast differentiation by Sp7 and autoregulation of Sp7 promoter ○Komori H ¹ , Miyazaki T ¹ , Moriishi T ¹ (Dept. of Cell Biol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P1-34	Regeneration of tooth germ structure using iPS cells ○Sakano M ¹ , Otsu K ¹ , Fujiwara N ¹ , Harada H ¹ (Dept. of Dev. Biol. & Regen. Med., Dept of Anat., Iwate Med. Univ.)
P1-35	The roles and distribution of Steroid hormone during the development of neocortex ○Komada M ¹ , Ikeda Y ¹ (Dept. of Anat., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ.)
P1-36	Functional analysis of intraflagellar transport protein 88 in odontoblast ○Kawata K ¹ , Takeda S ¹ (Dept. of Anat. & Cell Biol., Yamanashi Univ. Grad. Sch. of Med. & Engin.)
P1-37	Runx/Cbfb signaling regulates androgen-mediated sexual dimorphism in salivary gland ○Itoh S ¹ , Yanagita T ² , Yamashiro T ³ (Dept. of Orthod., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Orthod., Okayama Univ. Hosp., ³ Dept. of Orthod. & Dentofac. Orthop., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-38	Effects of simvastatin on osteogenic differentiation of mouse gingival fibroblast-derived iPS cells ○Okawa H ¹ , Egusa H ¹ , Yatani H ¹ (Dept. of Fixed Prosthodontics, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-39	Histological mapping of minodronate by isotope microscopy and its biological effects on osteoclasts ○Sasaki M ¹ , Hongo H ¹ , Kobayashi S ² , Yurimoto H ² , Amizuka N ¹ (Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue Hokkaido Univ Grad. Sch. of Dent., ² Cre. Res. Ins. Hokkaido Univ.)
P1-40	Osteocytes negatively modulate osteoclastogenesis through their production of interferon-beta ○Hayashida C ¹ , Ito J ¹ , Nakayachi M ² , Okayasu M ² , Oyama Y ³ , Hakeda Y ¹ , Sato T ¹ (Div. of Oral Anat., Dept. of Human Development and Fostering, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. of Orthodontol., Dept. of Human Dev. and Fostering, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ First Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Diagnostic and Therapeutic Sci, Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-41	Role of lectin-like oxidized low-density of lipoprotein receptor-1 in regulating osteoclastogenesis and inflammatory bone destruction ○Ito J ¹ , Nakayachi M ^{1,2} , Hayashida C ¹ , Okayasu M ^{1,3} , Oyama Y ^{1,4} , Sato T ¹ , Hakeda Y ¹ (Div. of Oral Anat., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. of Orthodontics, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Dept. of Oral-Maxillofac. Surg., Dent. and Orthodontics, Univ. of Tokyo, ⁴ Div. of Oral Maxillofac. Surg., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-42	Powdery diet makes a skeletal change in mouse mandibular; Analysis with Micro-3DCT imaging ○Yanagita T ¹ , Kubota S ² , Takigawa M ² , Yamashiro T ³ (Dept. of Orthod., Okayama Univ. Hosp., ² Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Dept. of Orthod. & Dentofac Orthop., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-43	Immunohistochemical detection of endomorphin-1 in the rat trigeminal ganglion ○Yajima T ¹ , Sato T ² , Saito M ¹ , Ichikawa H ² (Div. of Operative Dent., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ., ² Div. of Oral & Craniofacial Anat., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ.)

P1-44	Observation of greater palatine canal in human maxillary bone ○Omeyne Y ¹ , Fukuda M ¹ , Noguchi T ¹ , Kinoshita H ¹ , Mastunaga S ¹ , Ide Y ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. of Anat., Tokyo Dent. Coll. Grad. Sch.)
P1-45	Bilateral, asymmetric anomalies of the anterior bellies of digastric ○Yamazaki Y ¹ , Isokawa K ^{1,2} (¹ Dept. of Anat., Nihon Univ. Sch. of Dent., ² Div. of Func. Morpho., Dent. Res. Cent., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
P1-46	The uptake and axonal transport of Botulinum neurotoxin type A by primary afferent neurons. ○Maruhama K ¹ , Matsuka Y ² , Terayama R ¹ , Kuboki T ³ , Sugimoto T ¹ (¹ Dept. of Oral Function & Anat., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Fixed Prosth., Inst. of Health Biosci, Tokushima Univ. Grad. Sch., ³ Dept. of Oral Rehabil. & Regenerative Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P1-47	Analysis of biological apatite crystal orientation in posterior cortical bone of human maxilla ○Kasahara M ¹ , Matsunaga S ¹ , Ide Y ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. of Anat., Tokyo Dent. Coll., ² Tokyo Dent. Coll. Oral Health Sci. Center)
P1-48	Thermosensitive TRP channel promotes wound repair in oral epithelia ○Aijima R ^{1,2,3} , Ohsaki Y ¹ , Zhang J ¹ , Kitsuki T ¹ , Murata N ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. of Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Fac. of Med., Saga Univ., ³ Div. of Hist. & NeuroAnat., Dept. of Anat. & Physiol., Fac. of Med., Saga Univ.)
P1-49	Evaluation of oral ulcer-induced intraoral pain hypersensitivity using newly developed behavioral assays in rats ○Hitomi S ¹ , Ono K ¹ , Inenaga K ¹ (¹ Div. of Physiol., Kyushu Dent. Univ.)
P1-50	Neural responses to tannic acid applied to the tongue recorded from the lingual and chorda tympani nerves in rats ○Mikamo S ¹ , Kodama N ² , Mitoh Y ¹ , Kobashi M ¹ , Minagi S ² , Matsuo R ¹ (¹ Dept. of Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent and Pharm., ² Dept. of Occlusal and Oral Functional Rehabilitation, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. and Pharm.)
P1-51	Age-related change in the initial component of somatosensory evoked magnetic fields by stimulation of lips ○Hihara H ¹ , Kanataka H ² , Koeda S ³ , Goto S ⁴ , Takahashi T ⁴ , Saito M ¹ (¹ Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent. Operative, ² Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent. Liai. Cent. for Innov. Dent., ³ Grad. Sch. of Tokyo Med. and Dent. Univ. Oral and Maxillofac. Surg., ⁴ Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent. Oral and Maxillofac. Surg.)
P1-52	A regulatory mechanism for the excitability of the area postrema neurons via presynaptic CCK receptors ○Sugeta S ¹ , Hirai Y ¹ , Maezawa H ¹ , Funahashi M ¹ (¹ Dept. of Oral Physiol. Dent., Hokaido Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-53	Effect of GLP-1 on the reflex swallowing of the rat ○Mizutani S ¹ , Kobashi M ¹ , Fujita M ¹ , Mitoh Y ¹ , Matsuo R ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P1-54	Effects of autonomic activity on jaw opening reflex responses in anesthetized rabbits ○Sakai S ¹ , Tsuji K ¹ , Magara J ¹ , Tsujimura T ¹ , Inoue M ¹ (¹ Div. of Dysph Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent.)
P1-55	The swallowing reflex is facilitated by bilateral electrical stimulation of the SLNs ○Takahashi K ^{1,2} , Kitagawa J ² , Yamamura K ² , Saito I ¹ (¹ Div. Orthodontics, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ² Div. Oral Physiol., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.)
P1-56	The secretion of GLP-1 from mice taste bud in response to sweet taste stimuli ○Takai S ¹ , Yasumatsu K ¹ , Yoshida R ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Sect. of Oral NeuroSci., Kyushu Univ., Grad. Sch. of Dent. Sci.)
P1-57	Iontophoretic application of A-type potassium channel blocker enhances the trigeminal ganglion neuronal excitability ○Hara N ¹ , Takeda M ¹ , Takahashi M ¹ , Matsumoto S ¹ (¹ Dept. of Physiol. Sch. of Life Dent. Nippon Dent. Univ.)
P1-58	Expression of TRPV1 and ANO1 in rat trigeminal ganglion neurons innervating the tongue ○Kanazawa T ¹ , Matsumoto S ¹ (¹ Dept. of Physiol., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P1-59	The relationship anorectic effects of intraperitoneally administered L-histidine and neural activity on brain stem ○Okusha Y ^{1,2} , Hirai Y ¹ , Funahashi M ¹ (¹ Dept. of Oral Physiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. of Gerodontology, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent)
P1-60	The circadian rhythm of clock genes, clock controlled gene and functional molecules in submandibular gland ○Uchida H ^{1,2,3} , Sakai T ² , Nakamura W ¹ (¹ Lab. of Oral Chronobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral-Facial Disorders, Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ³ JSPS Res. Fellow)
P1-61	Effect of dexmedetomidine intraperitoneal administration on the cardiorespiratory function in neonatal rats ○Tamiya J ¹ , Saiki C ¹ , Ide R ¹ , Matsumoto S ¹ (¹ Dept. of Physiol., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent.)
P1-62	Alkaline sensitivity in rat odontoblasts ○Tsumura M ¹ , Sato M ¹ , Sobhan U ¹ , Kodama S ¹ , Shimada M ² , Nishiyama A ³ , Tazaki M ¹ , Shibukawa Y ¹ (¹ Dept. of Physiol., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Clin. Oral Health Sci., Tokyo Dent. Coll., ³ Dept. of Oral Med., Tokyo Dent. Coll.)
P1-63	Electrophysiological and morphological characteristics of gamma motor neurons in the rat trigeminal motor nucleus ○Nishimura K ^{1,2} , Isogai Y ^{1,2} , Saito M ¹ , Sato H ¹ , Toyoda H ¹ , Yamashiro T ² , Kang Y ¹ (¹ Dept. of Neurosci. & Oral. Phys., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Orthod. & Dentofacial Orthop., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-64	The effect of endogenous leptin and endocannabinoids on sweet taste sensitivity in mice with different circulating leptin levels ○Niki M ¹ , Jyotaki M ¹ , Yoshida R ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Sect. of Oral Neurosci., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-65	The regulative effect of gastric-acid inhibitor Nizatidine in salivary secretion ○Ueda H ¹ , Suga M ² , Yagi T ¹ , Miyawaki S ² (¹ Dept. of Orthodontics, Kagoshima Univ. Hosp., ² Dept. of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics, Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci)

P1-66	Effects of ethanol and acetaldehyde on neurons of the thirst center in rat ○Ujihara I ^{1,2} , Hitomi S ² , Ono K ² , Kakinoki Y ¹ , Inenaga K ² (¹ Kyushu Dent. Univ. Div. of Special Needs and Gerodont., ² Kyushu Dent. Univ. Div. of Physiol.,)
P1-67	The localization of parasympathetic vasodilator fibers related to hemodynamics in rat salivary gland ○Sato T ¹ , Iishii H ¹ (¹ Div. of Physiol., Dept. of Oral Biol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-68	Somatostatin facilitate the excitability of nociceptive cervical dorsal horn neuron via disinhibition of GABAergic interneuron. ○Takahashi M ¹ , Takeda M ¹ , Matsumoto S ¹ (Dept. of Physiol, Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P1-69	Property of voluntary control of lip-closing force using visual-feedback ○Miyamoto T ¹ , Sasayama C ² , Kato T ³ , Yamada K ¹ , Masuda Y ² (Dept. of Hard Tissue Res., Grad. Sch. of Oral Med. Matsumoto Dent. Univ., ² Dept. of Oral and Maxillofacial Biol., Grad. Sch. of Oral Med., Matsumoto Dent. Univ., ³ Dept. of Oral Anat. and Neurobiol., Grad. Sch. of Dent., Osaka Univ.)
P1-70	Involvement of Connexin43 in facial ectopic hyperalgesia following inferior alveolar nerve injury ○Kaji K ^{1,2} , Shinoda M ² , Shimizu N ¹ , Iwata K ² (¹ Dept. of Orthodontics., Nihon Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
P1-71	Size distribution of alpha and gamma motor neuron in the rat trigeminal motor nucleus ○Isogai Y ^{1,2} , Yamashiro T ² , Kang Y ¹ (Dept. of Neurosci & Oral Phys., Osaka Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Orthod. & Dentofacial Orthop., Osaka Univ. Grad. of Dent.)
P1-72	Effect of nicotine induction of CCN2/CTGF on fibrosis in human periodontal tissue cells ○Igarashi H ^{1,4} , Kubota S ² , Tachibana T ³ , Murakashi E ¹ , Okabe M ⁴ , Takigawa M ² , Numabe Y ¹ (Dept. of Perio., Nippon Dent. Univ., ² Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³ Core Res., Jikei Univ., ⁴ Dept. of Anat., Jikei Univ.)
P1-73	Early behaviors of transplanted cells and the effect of HSP27 over expression on osteoblasts ○Kitami M ^{1,3} , Kaku M ¹ , Ida T ¹ , Akiba Y ^{1,2} , Uoshima K ^{1,2} (Div. of Bioprosthodontics Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci., ² Med. and Dent. Hospital, Niigata Univ., ³ JSPS Res. Fellow)
P1-74	miRNA-720 regulates stem cell phenotype, proliferation and differentiation of dental pulp cells ○Hara ES ¹ , Ono M ¹ , Pham HT ¹ , Kuboki T ¹ (Dept. of Oral Rehab. & Reg. Med, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
P1-75	Roles of osteocalcin in the differentiation and maturation of adipocytes ○Otani T ¹ (¹ Div. of Biochem., Inst. of Dent. Sci., Univ. of Kyushu)
P1-76	CXCL3 positively regulates adipogenic differentiation ○Kusuyama J ¹ , Bandow K ¹ , Kakimoto K ¹ , Ohnishi T ¹ , Matsuguchi T ¹ (Dept. of Oral Biochem, Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med & Dent., ² Res. Fellow of the Japan Society for the Promotion of Sci.)
P1-77	Involvement of the cerebral pericytes and the subsequent infiltration of peripheral immune cells in the neuropathological changes of cathepsin D-deficient mice ○Okada R ¹ , Wu Z ¹ , Nakanishi H ¹ (Dept. Aging Sci. Pharmacol., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-78	Ameloblastin inhibits the cell proliferation of oral epithelial cells ○Saito N ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Washio A ² , Kitamura T ² , Nishihara T ¹ (Div. of Infections and Molecular Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Endodontics and Restorative Dent., Kyushu Dent. Univ.)
P1-79	RelB restored the inhibitory effects of osteoclast differentiation in NIK <i>aly/aly</i> mutation via RelB induced processing of NF- κ B2 ○Taniguchi R ^{1,2} , Fukushima H ² , Maki K ¹ , Jimi E ² (Div. of Developmental Stomatognathic Function Sci., Dept. of Health Improvement, Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Molecular Signaling and Biochem., Kyushu Dent. Univ.)
P1-80	Change of the expression of incretin receptors in MC3T3-E1 cells ○Aoyama E ¹ , Watari I ¹ , Inoue KA ² , Yanagishita M ² , Ono T ¹ (Orthod. Sci., Dept. of Oral Health Sci, Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci., ² Biochem. Dept. of Bio-Matrix, Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci.)
P1-81	Novel RNA molecules that are associated with hypertrophic differentiation of growth plate chondrocytes ○Hara C ¹ , Kubota S ¹ , Aoyama E ¹ , Takigawa M ¹ (Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
P1-82	LAMP2 is involved in the intracellular transport of RANKL ○Rajapakse A ¹ , Podyma-Inoue K ¹ , Yanagishita M ¹ , Yokoyama M ¹ (Dept. Biochem., Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
P1-83	Bioactive substances and low molecular weight of enamelin in porcine immature enamel ○Kinoshita S ¹ , Karakida T ² , Oida S ² , Asada Y ¹ , Yamakoshi Y ² (Dept. of Pediatric Dent., Tsurumi Univ., Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ., Sch. of Dent. Med.)
P1-84	Function of CXCL12 in periodontal ligament fibroblasts ○Yashiro Y ¹ , Nomura Y ² , Ishikawa M ¹ , Arai C ¹ , Noda K ¹ , Hanada N ² , Nakamura Y ¹ (Dept. of Orthodontics, Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. of Translational Res., Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ.)
P1-85	Roles of gap junctional intercellular communication in human periodontal ligament cells ○Kato R ¹ , Ishihara Y ² , Kawanabe N ² , Kamioka H ² , Takano-Yamamoto T ¹ , Yamashiro T ³ (Div. of Orthod. and Dentofacial Orthop., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. of Orthod., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., ³ Dept. of Orthod. and Dentofacial Orthop., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-86	Characterization of energy metabolism and identification of biomarkers in oral squamous cell carcinoma by metabolome analysis ○Ogawa T ^{1,2} , Washio J ² , Takahashi T ¹ , Takahashi N ² (Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Ecol. & Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-87	Regulation of EGFR by GLUT1 in squamous cell carcinoma cells ○Yoshimoto S ^{1,2} , Nagano K ¹ , Sugiyama G ¹ , Morita H ² , Nakamura S ³ , Hirata M ¹ (Lab. of Mol. & Biochem., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Special Patient Oral Care Unit of Kyushu Univ. Hosp., ³ Sect. of Oral and Maxillofac. Oncol., Div. of Maxillofac. Diag. Surg. Sci., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)

P1-88	Effect of hyaluronic acid in osteoclast differentiation ○Hirota S ¹ , Kawamoto A ¹ , Yoshikawa Y ² , Takahashi K ¹ , Ikeo T ² , Komasa Y ¹ (¹ Dept. of Geriatric Dent. Osaka Dent. Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Biochem., Osaka Dent. Univ.)
P1-89	Cdc42 is essential gene for cartilage development ○Suzuki W ^{1,2} , Yamada A ¹ , Aizawa R ^{1,3} , Suzuki D ¹ , Nakayama M ^{1,4} , Yamamoto M ³ , Maki K ⁴ , Baba K ² , Kamijo R ¹ (¹ Dept. of Biochem. Showa Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Prostho. Showa Univ. Sch. of Dent., ³ Dept. of Perio. Showa Univ. Sch. of Dent., ⁴ Dept. of Ortho. Showa Univ. Sch. of Dent.)
P1-90	Cell adhesion signaling induces expression of RANK in osteoclast precursors ○Mochizuki A ¹ , Takami M ² , Miyamoto Y ² , Inoue T ¹ , Kamijo R ² (¹ Dept. of Oral Physiol. Showa Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Biochem. Showa Univ. Sch. of Dent.)
P1-91	Application of dentin-stem cell complex to bone regeneration ○Tanaka M ^{1,2} , Kawaki H ¹ , Oguri K ^{1,2} , Mori H ² , Kamiya M ¹ , Takayama E ¹ , Yoshida T ² , Kondoh N ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Endodont., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P1-92	Effect of tomosyn phosphorylation by Akt on GLUT4 translocation ○Nagano K ¹ , Takeuchi H ² , Sugiyama G ¹ , Otani T ¹ , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Div. Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ.)
P1-93	The 3'-UTR-mediated gene regulation of CCN1 that controls inflammatory and tissue regeneration processes ○Murase Y ^{1,2} , Kubota S ¹ , Maeda A ¹ , Hara C ¹ , Sumiyoshi K ¹ , Nishida T ¹ , Sasaki A ² , Takigawa M ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ² Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
P1-94	Adhesion of periodontitis-associated bacteria on PMMA and its modification by saliva ○Ishiguro K ^{1,2} , Washio J ² , Sakuma Y ¹ , Takeuchi Y ¹ , Fukushima S ³ , Sasaki K ¹ , Takahashi N ² (¹ Div. Adv. Prost. Dent. Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Oral Ecol. Biochem. Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. of Next-gener. Dent. Mater. Res.)
P1-95	Wnt5a-Ror2 signals regulate osteoclastic bone-resorbing activity through Rho activation ○Uehara S ¹ , Udagawa N ¹ , Takahashi N ² , Kobayashi Y ² (¹ Dept. of Biochem. Matsumoto Dent. Univ., ² Inst. for Oral Sci. Matsumoto Dent. Univ.)
P1-96	Possible roles of dentin particles on the stem cell activities ○Oguri K ^{1,2} , Kawaki H ¹ , Tanaka M ^{1,2} , Mori H ² , Kamiya M ¹ , Takayama E ¹ , Yoshida T ² , Kondoh N ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Endodont., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P1-97	Effects of carbonate apatite on the adhesion and proliferation of rat bone marrow derived stromal cells ○Takahashi J ^{1,2} , Kawaki H ¹ , Onoe I ^{1,2} , Kondo Y ^{1,2} , Kamiya M ¹ , Takayama E ¹ , Nagahara K ² , Kondoh N ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral & Maxillofacial Implantol., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P1-98	Effects of carbonate apatite on osteoblast proliferation and differentiation ○Kondo Y ^{1,2} , Kawaki H ¹ , Onoe I ^{1,2} , Takahashi J ^{1,2} , Kamiya M ¹ , Takayama E ¹ , Nagahara K ² , Kondoh N ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral & Maxillofacial Implantol., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P1-99	Dexamethasone increases the phosphate content in and hardness of mineralized nodules formed by osteoblasts ○Miyamoto S ^{1,2} , Miyamoto Y ¹ , Maki K ² , Kamijo R ¹ (¹ Dept. of Biochem, Sch. of Dent, Showa Univ., ² Dept. of Orthodont, Sch. of Dent., Showa Univ.)
P1-100	Sphingomyelin synthase of osteoblasts (SMS) 2 effect of osteoclast differentiation ○Kayama T ¹ , Yoshikawa Y ² , Ikeo T ² , Okazaki J ¹ (¹ Dept. of Removable Prosthodontics., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Biochem., Osaka Dent. Univ.)
P1-101	Suppressive effects of mouse OSCC cell lines on IFN-gamma producing capability of host spleens cells ○Inagaki T ¹ , Kamiya M ² , Kawaki H ² , Kawaki H ² , Takayama E ² , Muramatsu Y ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. of Oral Maxillofacial Surg., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. of Anesthesiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-102	Relationship between migraine and malocclusion ○Saruta J ¹ , To M ¹ , Hayashi T ¹ , Shimizu T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Matsuki C ¹ , Kawashima R ² , Kondo Y ^{1,3} , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. of Environ. Pathol., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch., ² Dept. of Oral & Maxillo., Jichi Med. Univ., ³ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
P1-103	Role of TrkB expression in rat adrenal gland during acute immobilization stress ○Kondo Y ^{1,2} , To M ² , Saruta J ² , Hayashi T ² , Matsuki C ² , Yamamoto Y ² , Shimizu T ² , Kawashima R ³ , Tsukinoki K ² (¹ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med., ² Dept. of Environmental Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. of Dent., Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. of Jichi Med. Univ.)
P1-104	Analysis of hBD-2-induced expression in human periodontal gingiva ○To M ¹ , Shimizu T ¹ , Saruta J ¹ , Sato T ² , Kondo Y ^{1,3} , Hayashi T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Matsuki C ¹ , Hamada N ² , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. Microbiol. & Infect., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
P1-105	Roles of IL-1 in prolonged murine masseter muscle activity ○Chiba K ¹ , Yoneda H ² , Sugawara S ³ , Endo Y ³ (¹ Div. Aging Geriatr. Dent., Tohoku Univ. Sch. Dent., ² Div. of Adv. Prostho. Dent., Tohoku Univ. Sch. Dent., ³ Div. of Oral Mol. Regul., Tohoku Univ. Sch. Dent.)
P1-106	HBD-2 or IL-1beta expression level as a response to challenge with <i>Porphyromonas gingivalis</i> using <i>in vivo</i> experimental model of human gingiva with periodontitis ○Shimizu T ¹ , Tou M ¹ , Kawashima R ² , Hayashi T ¹ , Saruta J ¹ , Sato T ³ , Kondo Y ⁴ , Yamamoto Y ¹ , Hamada N ³ , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. of Dent. Oral. & Maxillofac. Surg., Grad. Sch. of Jichi Med. Univ., ³ Dept. Microbiol. & Infect., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ⁴ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
P1-107	CCN3 is an inhibitory factor in bone regeneration ○Matsushita Y ^{1,2,3} , Sakamoto K ¹ , Minamizato T ^{1,4} , Haada K ² , Yamaguchi A ¹ (¹ Oral Pathol., Grad. Sch. of Med. Dent., Tokyo Med. and Dent. Univ., ² Maxillofac. Surg., Grad. Sch. of Med. Dent., Tokyo Med. and Dent. Univ., ³ Clinic. Oral Oncol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci., ⁴ Regen. Oral Surg., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.)
P1-108	Wound healing of the rat salivary gland using collagen gel ○Kobayashi F ^{1,2} , Inoue T ^{1,2} (¹ Dept. of Oral Health Sci. Center, Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Clinical Pathophygiol., Tokyo Dent. Coll.)

P1-109	The effect of bisphosphonate on the bone formation after extraction in ovariectomized rats. ○Yamazaki T ¹ , Hiruma N ¹ , Miake Y ¹ , Moriguti M ¹ , Sawada T ¹ , Yamamoto H ¹ , Yanagisawa T ¹ (¹ Dept. of Ultrastructure Sci., Tokyo Dent. Coll.)
P1-110	Resin monomers promote allergies induced by dental materials-contained allergens in mice ○Bando K ^{1,2} , Tanaka Y ^{1,3} , Kuroishi T ¹ , Yamamoto T ² , Sugawara S ¹ , Endo Y ¹ (¹ Dept. of Molecular Regulation, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. Orthod. Dentofacial Orthopedics, Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ., ³ Liaison Cent. for Inno. Dent., Grad. Sch. Dent, Tohoku. Univ.)
P1-111	Profiling of DNA methylation in periodontal fibroblasts stimulated with LPS ○Takai R ¹ , Uehara O ² , Chujo T ¹ , Satoh H ¹ , Yoshida K ¹ , Sato J ¹ , Nishimura M ¹ , Arakawa T ³ , Takuma T ³ , Abiko Y ¹ (¹ Div. of Oral Med. and Pathol. HSUH. Sch. Dent., ² Div. of Disease Cont. and Mol. Epidemiol. HSUH. Sch. Dent., ³ Div. of Oral Biochem. HSUH. Sch. Dent.)
P1-112	Understanding the system of tumor immunity by using mouse models of autoimmune disease ○Kondo T ¹ , Yamada A ¹ , Arakaki R ¹ , Kudo Y ¹ , Ishimaru N ¹ (¹ Dept. of Oral Mol. Path. Inst. of Health Biosci. The Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P1-113	Nuclear long non-coding RNA -And its role in salivary gland tumors- ○Hokazono C ¹ , Irie T ¹ , Yasuhara R ¹ , Tnaka T ¹ , Mishima K ¹ (¹ Div. of Pathol., Dept. of Oral. Diag. Sci., Sch. of Dent., Showa Univ.)
P1-114	The possibility that human papillomavirus (HPV) infection participates in malignant transformation of oral lichen planus (OLP) ○Kato S ¹ , Kawai R ¹ , Torii R ¹ , Honda Y ¹ , Kato I ¹ , Yoshida W ^{1,2} , Sugita Y ^{1,2} , Sato E ^{1,2} , Kubo K ^{1,2} , Maeda H ^{1,2} (¹ Dept. of Oral Pathol., Aichi-Gakuin Univ. Sch. of Dent., ² Center of Adv. Oral Sci., Aichi-Gakuin Univ.)
P1-115	Comparison of in vitro invasion between squamous cell carcinoma cell lines with different metastatic potential in the tongue ○Liu H ¹ , Liu B ¹ , Xiao J ¹ (¹ Dept. of Oral Biol., Colg. of Stomatol., Dalian Med. Univ.)
P1-116	Analysis the role of secreted growth factors on stromal tissue in ameloblastoma ○Takebe Y ¹ , Tsujigiwa H ¹ , Yu S ¹ , Fujii M ¹ , Kawai H ¹ , Tamamura R ² , Sasaki A ³ , Nagatsuka H ¹ (¹ Dept. of Oral Path., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Oral Maxillofacial Surg., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Dept. of Hist., Cyt. and Dev. Anat. Nihon Univ. Sch. of Dent. Matsudo)
P1-117	Examination of relationship between brain transition and antioxidant activity in hypoglossal absorption of lactoferrin ○Hayashi T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Yoshino F ² , Yoshida A ² , Saruta J ¹ , To M ¹ , Kondo Y ^{1,3} , Kawashima R ⁴ , Lee MC ² , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. of Oral Sci., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med., ⁴ Dept. of Dent. Oral. & Maxillofac. Surg., Grad. Sch. of Jichi Med. Univ.)
P1-118	F-spondin protects periodontal hard tissue from resorption ○Oka H ¹ , Kitagawa M ² , Takata T ^{1,3} (¹ Dept. of ICDD, Hiroshima Univ. Inst. of Biomed. & Health Sci., ² Center of Oral Clinical Exam., Hiroshima Univ. Hosp., ³ Dept. of Oral and Maxillofacial Pathobio., Hiroshima Univ. Inst. of Biomed. & Health Sci.)
P1-119	Expression of PTEN and Smad4 signaling in salivary gland tumors ○Liu H ¹ , Liu B ¹ , Xiao J ¹ (¹ Dept. of Oral Biol., Colg. of Stomatol., Dalian Med. Univ.)
P1-120	Analysis of effect of MDP for LPS-induced osteoclast formation ○Ishida M ¹ , Kitaura H ¹ , Kimura K ¹ , Takada H ² , Takano-Yamamoto T ¹ (¹ Dept. of Ortho & Dent Orthop, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Biol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-121	Novel mechanisms involved in regulation of osteoclastogenesis via curdlan-dectin-1 signaling ○Yamasaki T ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Hosokawa R ² , Nishihara T ¹ (¹ Dept. of Infections & Molecular Biol., Kyushu Dent. Univ. , ² Dept. of Oral Reconstruction & Rehabilitation, Kyushu Dent. Univ.)
P1-122	The effects of <i>V. parvula</i> 's supernatant for the biofilm formation of <i>S. sanguinis</i> ○Mashima I ¹ , Kamaguchi A ¹ , Miyakawa H ¹ , Fujita M ¹ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Sch. of Dent., Health. Sci. Univ. Hokkaido)
P1-123	Participation on quorum sensing on coaggregation of <i>Streptococcus mutans</i> and <i>Fusobacterium nucleatum</i> ○Ryu Y ¹ , Mikami M ² , Katsuragi H ² , Shimomura-Kuroki J ¹ (¹ Dept. of Pediatric Dent., Nippon Dent. Univ. Sch. Life. Dent. at Niigata., ² Dept. of Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life. Dent. at Niigata.)
P1-124	Construction of a plasmid vector for electrotransformation of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Tagawa J ¹ , Inoue T ² , Sato K ³ , Naito M ³ , Nakayama M ² , Nakayama K ² , Yamashiro T ¹ , Ohara N ² (¹ Dept. of Ortho., Okayama Univ. Hosp., ² Dept. of Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³ Dept. of Microbiol. & Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci., ⁴ Dept. of Ortho. & Dent. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-125	<i>Porphyromonas gingivalis</i> PGN_1796 is involved in drug sensitivity ○Taguchi Y ¹ , Sato K ⁴ , Inoue T ² , Kano K ³ , Nakayama M ² , Maeda H ¹ , Nakayama K ⁴ , Ohara N ² (¹ Dept. Pathophysiol. Periodontal Sci. Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ² Dept. of Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³ Dept. of Orthodont., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ⁴ Dept. of Microbiol. & Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.)
P1-126	Inhibitory effects of new plant extract component on oral microorganisms ○Ohya M ¹ , Tamura M ^{1,2} , Imai K ^{1,2} , Ochiai K ^{1,2} (¹ Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Div. Immunol. Pathobiol., Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-127	Analysis of bacterial flora in dental calculus by next-generation sequencer ○Jo R ¹ , Kumata N ¹ , Ishimaru H ¹ , Morishima S ² , Kon R ¹ (¹ Analytical Technol. Res. Center, Lion Corporation, ² The Lion Foundation for Dental Health)
P1-128	Extracellular nuclease from <i>Streptococcus sanguinis</i> contributes to evasion of innate immunity ○Sumioka R ¹ , Morita C ¹ , Nakata M ¹ , Okahashi N ² , Sumitomo T ¹ , Kawabata S ¹ (¹ Dept. of Oral and Mol. Microbiol., Grad. Sch. of Dent., Osaka Univ., ² Oral Frontier Center, Grad. Sch. of Dent., Osaka Univ.)

P1-129	<p>PGN₁₂₀₂ (<i>rhoN</i>) is an essential gene in <i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>○Kano K¹, Inoue T², Taguchi Y³, Tagawa J⁴, Nakayama M², Yamashiro T⁵, Ohara N² (¹Dept. of Ortho, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ²Dept. of Oral Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³Dept. of Periodontal Sci., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ⁴Dept. of Ortho., Okayama Univ. Hosp., ⁵Dept. of Ortho. & Dent. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)</p>
P1-130	<p>Activation of inflammasome by <i>Streptococcus sanguinis</i></p> <p>○Saeki A¹, Sugiyama M¹, Hasebe A¹, Nakazawa F², Shibata K¹ (¹Lab. Oral Mol. Microbiol., Dept of Oral Pathbiol. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med. , ²Dept. of Oral Microbiol. Sch. Dent. Health Sci. Univ. of Hokkaido)</p>
P1-131	<p>Analysis of the major outer membrane protein of <i>Treponema denticola</i></p> <p>○Abiko Y¹, Nagano K¹, Yoshida Y¹, Yoshimura F¹ (¹Dept. of Microbiol. Sch. of Dent. Aichi Gakuin Univ.)</p>
P1-132	<p>Analgesic effect of GABA transporter inhibitor on neuropathic pain in mice</p> <p>○Jinzenji A^{1,2}, Sogawa C², Miyawaki T¹, Morita K³, Sogawa N², Kitayama S² (¹Dept. of Dent. Anesh. & Spec. Care. Dentist., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ²Dept. of Dent. Pharmacol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³Dept. of Pharmacol., Fac. of Nursing, Hiroshima Bunka Gakuen Univ.)</p>
P1-133	<p>Function of Na,K-ATPase in osteoblasts</p> <p>○Yamada J¹, Deyama Y², Yoshimura Y², Suzuki K², Yawaka Y¹ (¹Dept. of Dent. for Children and Disabled, Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ²Dept. of Mol. Cell Pharmacol, Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ.)</p>
P1-134	<p>PICK1 regulates osteoclastogenesis by binding to calcineurin B</p> <p>○Kamano Y^{1,2}, Egusa H¹, Saeki M², Okawa H¹, Yatani H¹ (¹Dept. of Fixed Prosthodontics., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ²Dept. of Pharmacol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)</p>
P1-135	<p>Effects of phenytoin on the calcium responses in human gingival fibroblast</p> <p>○Hayashi Y¹, Murata K¹, Kurasige Y¹, Saitoh M¹, Tanimura A² (¹Dept. of Pedodontics, Sch. of Dent., Health Sci. Univ. of Hokkaido, ²Dept. of Pharmacol., Sch. of Dent., Health Sci. Univ. of Hokkaido)</p>
P1-136	<p>Anti-aging effects of ubiquinol on periodontal tissue</p> <p>○Yoneda T¹, Tomofuji T¹, Ekuni D¹, Azuma T¹, Endou Y¹, Kasuyama K¹, Machida T¹, Morita M¹ (¹Dept. of Preventive Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)</p>
P1-137	<p>Analysis of miRNA expression in pituitary adenomas</p> <p>○Ono S¹, Iwata T², Mizusawa N², Yoshimoto K² (¹Dept. of Med. Pharmacol., Univ. of Tokushima Grad. Sch. of Oral Sci., ²Dept. of Med. Pharmacol., Inst. of Health Biosci. Univ. of Tokushima Grad. Sch.)</p>
P1-138	<p>Cathepsin S-dependent antigen presentation is essential for the maintenance of neuropathic pain</p> <p>○Zhang X¹, Wu Z¹, Hayashi Y¹, Nakanishi H¹ (¹Dept. of Aging Sci. & Pharmacol., Fac of Dent. Sci., Kyushu Univ.)</p>
P1-139	<p>Effect of whey on age-dependent atrophy and gene expression changes of salivary glands</p> <p>○Pieczonka T¹, Bragiel A¹, Ishikawa Y¹ (¹Dept. of Pharm, Tokushima Univ. Grad. Sch. of Dent.)</p>
P1-140	<p>Inflammatory and necrotic reactions of nitrogen-containing bisphosphonates (N-BPs): effects of phosphate transporter inhibitors</p> <p>○Kiyama T^{1,2}, Okada S^{1,3}, Sato E¹, Sasaki K², Sugawara S¹, Endo Y¹ (¹Dept. of Oral Imm., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ²Dept. of Adv. Prosth Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Dept. of Oral and Maxillofacial Surg., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)</p>
P1-141	<p>Shear stress induced Ca²⁺ elevation is mediated by glutamate in MC3T3-E1</p> <p>○Tsuchiya N^{1,2}, Kodama D¹, Goto S², Togari A¹ (¹Dept. of Pharmacol. Aichi-Gakuin Univ. Sch. of Dent., ²Dept. of Ortho. Aichi-gakuin Univ. Sch. of Dent.)</p>
P1-142	<p>RANKL binding peptides promote chondrocyte differentiation and inhibit cartilage destruction.</p> <p>○Sugamori Y¹, Kato G¹, Tamura Y¹, Ohya K¹, Aoki K¹ (¹Dept. of Bio-matrix (Sec. of Pharmacol.), Grad. Sch., Tokyo Med. and Dent. Univ.)</p>
P1-143	<p>Effect of DMX sheet against radiation mucositis</p> <p>○Shinomiya T¹, Yoshikawa M^{1,2}, Kawaguchi M¹, Okumura S³, Okubo M¹ (¹Dept. of Pharmacol., Tokyo Dent. Coll., ²Dept. of Pharmacol., Sch. of Med., Tokai Univ., ³ROHTO Pharmaceutical Co.,Ltd.)</p>
P1-144	<p>Effect of fluorine on Na,K-ATPase activity and its phosphorylated intermediate</p> <p>○Okino Y¹, Deyama Y², Yoshimura Y², Suzuki K² (¹Dept. Oral Health Sci. Dev. Prevent. Dent. Grad. Sch. Dent. Med. Hokkaido Univ., ²Dept. Oral Pathobiol. Dev. Mol. Cell Pharmacol. Grad. Sch. Dent. Med. Hokkaido Univ.)</p>
P1-145	<p>Keratin13 gene silencing in oral squamous cell carcinoma cells by epigenetic dysregulation</p> <p>○Naganuma K^{1,2}, Hatta M², Ohkubo T², Yamazaki J² (¹Dept. of Oral Maxillofac. Surg., Fukuoka Dent. Coll., ²Dept. of Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)</p>
P1-146	<p>Salivary ion channels as biomarkers of salt-sensitive hypertension</p> <p>○Bragiel A¹, Pieczonka T¹, Ishikawa Y¹ (¹Dept. of Pharm., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Dent.)</p>
P1-147	<p>Electrophysiological responses of the rabbit thalamic neurons receiving the maxillofacial sensory input</p> <p>○Suzuki T¹, Wakamori M², Tabata T¹, Tsuboi A^{1,3} (¹Div. of Aging & Geriat. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ²Div. of Mol. Pharmacol. & Cell Biophys., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³Tohoku Med. Megabank Org.)</p>
P1-148	<p>The function of <i>Poxn</i> Poxn-expressing taste neurons in ingestion behavior of drosophila</p> <p>○Huruyama A, Ohsuga K, Munakata Y (¹Dept. Oral Func. Molecular Biol. Ohu Univ. Sch. Dent.)</p>
P1-149	<p>Functional analysis of umami taste receptors in the chorda tympani and the glossopharyngeal nerves of mGluR4 knockout mice</p> <p>○Yasumatsu K¹, Shigemura N¹, Ninomiya Y¹ (¹Sect. of Oral NeuroSci., Kyushu Univ.)</p>
P1-150	<p>How do humans detect the intensity and palatability of mixed taste solutions?</p> <p>○Katagawa Y¹, Yasuo T², Suwabe T², Gen K¹, Sako N² (¹Dept. Dent. for the Disability and Oral Health, Asahi Univ. Sch. Dent., ²Dept. Oral Physiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)</p>

P1-151	Axonal projection profile of fast-spiking interneurons in the agranular insular cortex ○Fukuda S ¹ , Kobayashi M ¹ , K N ¹ (¹ Dept of Pharmacol., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
P1-152	CCK modulates activities of the mouse chorda tympani nerve ○Yasaka M ¹ , Yasumatsu K ¹ , Niki M ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Dept. of Oral Neurosci., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-153	Analysis of TASK3 currents that control the gating of excitatory synaptic transmissions onto jaw-closing motoneurons in expression systems ○Tanaka C ^{1,2} , Saito M ¹ , Sato H ¹ , Toyoda H ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. of Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. of Remov. Prosthodont., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-154	Stress on ovariectomized mice induced abnormal behavior and decrease of KCC2 expression, however, 17 α -estradiol reversed the effect ○Tsukahara T ¹ , Masuhara M ¹ , Sonomura T ² , Uemura N ¹ , Sato T ¹ (¹ Dept. of Applied Pharm., ² Dept. of Oral Anat.)
P1-155	Evaluation of the masking of dimethyl sulfide odors by 3,7-dimethyl terpenes through the use of trained odor sensor mice ○Osada K ¹ (¹ Dev. of Physiol., Health Sci Univ. of Hokkaido)
P1-156	Role of trigeminally mediated parasympathetic reflex vasodilation and its modulation by GABAergic system in the regulation of cerebral hemodynamics in the rats ○Ishii H ¹ , Sato T ¹ (¹ Div. of Physiol., Dept. of Oral Biol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-157	Effect of jaw-neck cooperated movement on human jaw-opening reaction time ○Munakata Y ¹ , Ohsuga K ¹ , Furuyama A ¹ (¹ Div. of Oral Physiol., Ohu Univ. Sch. of Dent.)
P1-158	Effects of Osmanthus odor on mastication and feeding behavior ○Yamamoto T ¹ (¹ Dept. of Health Nutri., Kio Univ.)
P1-159	Effects of olfactory bulb stimulation on the excitatory propagation in the insular cortex responding to the stimulation of the gustatory thalamic nucleus ○Mizoguchi N ^{1,2} , Kobayashi M ² , Muramoto K ¹ (¹ Div. of Physiol., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Pharmacol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-160	Genetic variation of Capsaicin receptor and oral pain perception ○Yoshizumi J ¹ , Utsunomiya R ² , Aijima R ^{2,3} , Kitsuki T ^{1,2} , Kido M ² (¹ Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. of Dent.Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Molecular Cell Biol. and Oral Anat., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ³ Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Saga Med. Sch.)
P1-161	Mice lacking GLP-1 receptor show selective reduction for sweet compounds ○Iwata S ¹ , Yasumatsu K ¹ , Takai S ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Oral Neurosci., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-162	Glial response within the nucleus of solitary tract after inferior alveolar nerve injury ○Kakihara R ¹ , Suwabe T ³ , Nishikawa Y ² , Morita S ¹ (¹ First Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Physiol. Osaka Dent. Univ., ³ Dept. of Oral Physiol. Oral Functional Sci. and Rehabilitation Sch. of Dent., Asahi Univ.)
P1-163	Neuronal responses in the primary somatosensory cortex to thermal stimuli in behaving monkeys ○Unno S ¹ , Iwata K ¹ (¹ Dept. of Physiol., Sch. of Dent., Nihon Univ.)
P1-164	Induction mechanism of thirst sensation in hangover ○Inenaga K ¹ , Ujihara I ^{1,2} , Hitomi S ¹ , Ono K ¹ , Kakinoki Y ² (¹ Div. of Physiol. Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Special Needs & Gerodont. Kyushu Dent. Univ.)
P1-165	Chorda tympani nerve responses to 5 basic tastes in vitamin C deficient rats ○Yasuo T ¹ , Suwabe T ¹ , Sako N ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-166	Capsaicin induces theta-band synchronization between gustatory and autonomic insular cortices ○Saito M ¹ , Toyoda H ¹ , Sato H ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. of Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-167	Expression of pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) in the periodontal ligament after invasive stress ○Kitaura H ¹ , Kimura K ¹ , Ishida M ¹ , Takano-Yamamoto T ¹ (¹ Dept.of Ortho & Dent Orthop, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-168	The food deprivation increase the expression levels of sweet/umami receptors, T1R family in mouse circumvallate taste buds ○Toyono T ¹ , Seta Y ¹ , Kataoka S ² , Kito A ³ , Toyoshima K ¹ (¹ Div. Oral Histol. & Neurobiol., Dept. Health Improv., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Oral Histol. & Neurobiol., Dept. Health Improv., Kyushu Dent. Univ., ³ Div. Oral Oral Care & Rehabil., Dept. Physical Functions, Kyushu Dent. Univ.)
P1-169	Phospholipase C-related inactive protein (PRIP) is involved in the regulation of phasic inhibition in the barrel cortex ○Toyoda H ¹ , Saito M ¹ , Sato H ¹ , Kanematsu T ² , Hirata M ³ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Dent. Pharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ., ³ Lab. Mol. Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-170	Analgesic effect of oxidized galectin-1 in a neuropathic pain model ○Yonehara N ¹ , Terasawa R ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Ohu Univ. Sch. Dent.)
P1-171	Excitatory effect of orexin on the superior salivatory nucleus neurons innervating the submandibular and sublingual salivary glands in rats ○Mitoh Y ¹ , Sato T ² , Fujita M ¹ , Kobashi M ¹ , Ichikawa H ^{1,2} , Matsuo R ¹ (¹ Dept. of Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dev. Oral Craniofacial Anat. Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-172	The dryness of corneal epithelial cell elicit further dryness sensation ○Hatta A ^{1,2} , Kurose M ¹ , Fujii N ² , Yamamura K ¹ (¹ Div. of Oral Physio., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. Dent., ² General Dent. Unit., Niigata Univ. Med. Dent. Hospital)

P1-173	Analysis of reflex excitability during sleep in rats ○Hino S ¹ , Kato T ¹ , Horie N ¹ , Shimoyama T ¹ , Sakagami H ² , Adachi K ² (Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery., Saitama Med. Center. Saitama Med. Univ., ² Dept. of Dent. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P1-174	Analysis of odor-related behaviors in the endocrine disruptor exposure rats ○Fujimoto T ¹ , Nishikawa Y ¹ (Dept. Physiol., Osaka Dent. Univ.)
P1-175	Effects of cold stimuli on taste sensitivities: Sex differences ○Fujiyama R ¹ , Okada Y ¹ , Toda K ¹ (Integrative Sensory Physiol., Grad. Sch. of Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P1-176	How is swallowing reflex desensitized by continuous electrical stimulation of the superior laryngeal nerve? ○Tsuji K ¹ , Tsujimura T ¹ , Inoue M ¹ (Div. of Dysphagia Rehabilitation, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. and Dent. Sci.)
P1-177	Morphology and physiology of rat supratrigeminal premotor neurons ○Nakamura S ¹ , Nakayama K ¹ , Mochizuki A ¹ , Yoshida A ² , Inoue T ¹ (Dept. of Oral Physiol., Showa Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Anat. Neurobiol., Fac. of Dent., Osaka Univ.)
P1-178	Evaluation of lip sensory disturbance using somatosensory evoked magnetic fields ○Maezawa H ^{1,2} , Yoshida K ² , Mima T ² , Hirai Y ¹ , Funahashi M ¹ , Nagamine T ^{2,4} , Fukuyama H ² (Dept. of Oral Physiol., Hokkaido Univ. Sch. Dent., ² Human Brain Res. Center., Kyoto Univ. Sch. Med., ³ Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery., Kyoto Med. Center., ⁴ Dept. of System Neurosci., Sapporo Med. Univ. Sch. Med.)
P1-179	Responses of the neurons in the rostral part of the nucleus tractus solitarius to stimulation of the aortic depressor and lingual-trigeminal nerves ○Ishizuka K ¹ , Satoh Y ¹ (Dept. of Physiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Niigata)
P1-180	Learning-dependent AMPA receptor delivery into the CA3-CA1 synapses occurs in dorsal, but not ventral hippocampus ○Mizuno J ¹ , Mitsushima D ^{1,2} (Dept. of Oralsci, Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. of Systems Neurosci., Yamaguchi Univ. Grad. Sch. Med.)
P1-181	Involvement of the lateral reticular nucleus in the modulation of the jaw-opening reflex by stimulation of the red nucleus ○Satoh Y ¹ , Ishizuka K ¹ , Iwasaki S ¹ (Dept. of Physiol., Nippon Dent. Univ., Niigata)
P1-182	The distribution of TRPV1 and TRPV2 in the rat pharynx ○Sato T ¹ , Yajima T ² , Kano M ¹ , Suzuki T ¹ , Ichikawa H ¹ (Div. of Oral & Craniofacial Anat., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ., ² Div. of Operative Dent., Grad. Sch. of Dent., Tohoku Univ.)
P1-183	The network oscillation in the barrel cortex observed by a voltage-sensitive dye imaging method ○Sato H ¹ , Toyoda H ¹ , Saito M ¹ , Kang Y ¹ (Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-184	Activity of parietal somatosensory neurons during sequential tongue movements ○Toda T ¹ , Kudo T ¹ , Hayashi H ¹ (Div. of Physiol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P1-185	Leptin selectively suppresses sweet taste responses of mouse fungiform taste cells ○Yoshida R ¹ , Niki M ¹ , Jyotaki M ¹ , Takai S ¹ , Ninomiya Y ¹ (Sect. of Oral Neurosci., Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-186	Effects of chronic Akt/mTOR inhibition by rapamycin on mechanical overload-induced hypertrophy and myosin heavy chain transition in masseter muscle ○Umeki D ¹ , Ohnuki Y ² , Arai C ¹ , Okumura S ² , Nakamura Y ¹ (Dept. of Orthodontics, Tsurumi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Physiol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent.)
P1-187	3D-visualization of muscles arrangement of mouse tongue by using micro-CT ○Iwasaki S ¹ , Aoyagi H ² (Dept. of Physiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata, ² Adv. Res. Cent., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata)
P1-188	Improvement of 5P system of team-based learning (TBL) on basic dental medicine instead of teacher-centered lecture ○Katsuragi H ¹ (Dept. of Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata)
P2-1	Re-realization of anatomical structure of oral region using multi viewpoint 3D anatomy system ○Yamaai Y ¹ , Ono M ² , Ibaragi S ³ , Kuboki T ² (Dept. of Oral Function and Anat., Okayama Univ. Grad. Sch., ² Oral Rehabil. Regenerative Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Oral Maxillofacial Surg. Biopathol., Okayama Univ. Hosp.)
P2-2	Improvement of acrylic resin injection method for blood vessel ○Suwa F ¹ , Uemura M ¹ , Takemura A ¹ , Toda I ¹ , Fang YR ² (Dept. of Anat., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Oriental Med., Osaka Dent. Univ.)
P2-3	The hypothesis on the origin of the torus mandibularis ○Sakiyama K ¹ , Bando Y ¹ , Takizawa S ^{1,2} , Amano O ¹ (Div. of Anat, Meikai Univ. Sch. of Dent., ² Div. Oral Surg 2, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-4	TMEM16E exhibits protein instability and distinct characteristics in chloride channel/pore forming ability ○Tobiume K ¹ , Hirono C ¹ , Sugita M ¹ (Program of Dent. Sci., Hiroshima Univ. Grad. Sch. of BioMed. and Health Sci. Sci.)
P2-5	Pharmacological improvement of the cleft palate phenotype in TGF-beta3 knockout mouse fetuses by Iressa administration ○Takigawa T ¹ , Into T ² , Takagi S ¹ , Imaida C ¹ (Dept. of Oral Anat., Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P2-6	Critical regulators on angiogenesis during tooth development ○Sunohara M ¹ , SATO I ¹ (Dept. of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, The Nippon Dent. Univ.)
P2-7	Fgfr1 conditional knock out mice derived ectopic chondrogenesis and osteogenesis in the cranial bone formation ○Kawai M ¹ , Yamamoto T ¹ (Dept. of Oral Morphol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)

P2-8	Immunohistochemical localization of Mn-SOD in mouse femur during endochondral ossification ○Ambe K ¹ , Kashiwabara Y ² , Kikuchi R ³ , Nakagawa T ¹ , Watanabe H ¹ (¹ Div. of Oral Histol., Dept. of Morphological Biol., Ohu Univ., Sch. of Dent., ² Dept. of Cell Biol. Oral Histol., Ohu Univ., Grad. Sch. of Dent., ³ Dept. of Oral Maxillofacial Surgery, Ohu Univ., Grad. Sch. of Dent.)
P2-9	Identification, characterization and expression analysis of DMP1 (dentin matrix protein 1) gene in amphibian, <i>Xenopus laevis</i> . ○Yonekura T ¹ , Homma H ¹ , Sakurai A ¹ , Moriguchi M ² , Miake Y ² , Toyosawa S ³ , Shintani S ¹ (¹ Tokyo Dent. Coll. Dept. of Pediatric Dent., ² Tokyo Dent. Coll. Dept. of Ultrastructural Sci., ³ Osaka Univ. Dept. of Oral Pathol.)
P2-10	Gene expression profile analysis of clonal human dental pulp cells with respect to multipotency ○Kobayashi T ¹ , Torii D ¹ , Tsutsui TW ¹ , Tsutsui T ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent. at Tokyo)
P2-11	The evolution of myomiR targets on striated muscle genes ○Ando H ¹ , Yamane A ¹ (¹ Dept. of Biophysics, Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P2-12	Cytokines-induce matrix metalloproteinase (MMP)-3 regulated cell proliferation in odontoblast-like cell derived from mouse embryonic stem (ES) cells ○Hiyama T ¹ , Ozeki N ¹ , Yamaguchi H ¹ , Nakata K ¹ , Mogi M ² , Nakamura H ¹ (¹ Dept. of Endo., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ., ² Dept. of Med. Biochem., Sch. of Pharmacy, Aichi Gakuin Univ.)
P2-13	Alpha 7 integrin-positive human skeletal muscle stem cells differentiate into odontoblast-like cells with induction of altered adhesive and migratory phenotype ○Ozeki N ¹ , Mogi M ² , Yamaguchi H ¹ , Hiyama T ¹ , Nakata K ¹ , Nakamura H ¹ (¹ Dept. of Endo., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ., ² Dept. of Med. Biochem., Sch. of Pharmacy, Aichi Gakuin Univ.)
P2-14	Induction of odontogenic epithelial cell by Thymosin beta 4 transfection ○Fujiwara H ¹ , Kiyoshima T ¹ , Nagata K ¹ , Wada H ¹ , Kihara M ^{1,2} , Hasegawa K ^{1,3} , Someya H ^{1,4} , Sakai H ¹ (¹ Labo. of Oral Path., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dev. of Orthodontics, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ³ Dept. of Endo. and Operative Dent., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ⁴ Dept. of Removable Prosthodontics, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-15	Characteristics and hard tissue-forming potency of cultured human periodontal ligament cells ○Torii D ¹ , Konishi K ² , Goto S ³ , Tsutsui T ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Tokyo, ² Dept. of Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Tokyo, ³ Dept. of Dent. Material Sci., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata)
P2-16	Induction of odontogenic epithelial cells by transfection of Thymosin beta 4 into keratinocytes isolated from mouse gingival epithelium ○Someya H ^{1,2} , Kiyoshima T ¹ , Nagata K ¹ , Wada H ¹ , Fujiwara H ¹ , Kihara M ^{1,3} , Hasegawa K ^{1,4} , Koyano K ² , Sakai H ¹ (¹ Lab of Patho., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Sec. of Imp. and Rehab., Dent. Div. of O Rehab., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ³ Dept. of Ortho., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ⁴ Dept. of Endo. and Ope., Dent. Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-17	Immortalized pulp cells derived from deciduous teeth have a capacity to differentiate into osteoblasts and adipocytes <i>in vitro</i> ○Akazawa Y ¹ , Hasegawa T ¹ , Chosa N ² , Yosimura Y ³ , Asakawa T ⁴ , Ishizaki A ² , Iwamoto T ^{1,5} (¹ Dept. of Ped. Dent., Tokushima Univ. Hosp., ² Div. of Cellular Biosignal Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Dept. of Mol. Cell Pharm., Div. of Oral Pathological Sci., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ⁴ Dept. of Special Needs Dent., Div. of Dent. for Persons with Disabilities, Showa Univ. Sch. of Dent., ⁵ Dept. of Ped. Dent., Subdiv. of Soc. and Env. Med., Div. of Integrated Sci. of Translational Res., Inst. of Health Biosci., The Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P2-18	Cytokine-like peptide, SCRG1 from mesenchymal stem cells has an ability to suppress the osteogenic differentiation ○Aomatsu E ¹ , Chosa N ² , Ibi M ² , Kyakumoto S ² , Kamo M ² , Hasegawa T ³ , Satoh K ¹ , Miura H ¹ , Ishisaki A ² (¹ Div. of Orthodont., Iwate Med. Univ. Sch. of Dent., ² Div. of Cell. Biosig. Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Inst. of Health Biosci., Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P2-19	Expression of thyroid hormone receptor in the regeneration of amphibian alveolar ○MIWA Y ¹ , Sunohara M ¹ , Yamaguchi T ² , Sato I ¹ (¹ Dept. of Anat., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ., ² Dept. of Prevent., Field of Dev. Med., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P2-20	Participation of bone marrow-derived cells in tooth extraction wound healing ○Sato H ¹ (¹ Dept. of Anat. & Cellul. Pathol., Iwate Med. Univ.)
P2-21	Evaluation of bone augmentation using HDACi treated cell transplantation. ○Eguchi K ¹ , Akiba Y ^{1,2} , Akiba N ^{1,2} , Kitami M ^{1,3} , Kaku M ¹ , Uoshima K ^{1,2} (¹ Div. of Bio-Prosthodontics, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent., ² Niigata Univ. Med. & Dent. Hosp., ³ Res. Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science)
P2-22	Combination of TGF- β and other cytokines such as IGF-I, PDGF, or VEGF enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. ○Yokota J ¹ , Chosa N ² , Takahashi N ² , Ibi M ² , Kyakumoto S ² , Kamo M ² , Hasegawa T ³ , Kondo H ¹ , Ishisaki A ² (¹ Dept. of Imp., Iwate Med. Univ. Sch. of Dent., ² Div. of Cell. Biosig. Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Inst. of Health Biosci., Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P2-23	Effects of platelet rich plasma on odontoblast-like cells ○Yeom KH ^{1,2} , Washio A ¹ , Ariyoshi W ² , Kitamura C ¹ , Nishihara T ² (¹ Div. of Endodontics and Restorative Dent., Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Infections and Molecular Biol., Kyushu Dent. Univ.)
P2-24	Gene expression and immunolocalization of prostanoid receptors in rat molar pulp during orthodontic tooth movement ○Ohkura N ¹ , Ohkura M ² , Shigetani Y ¹ , Yoshida N ¹ , Yoshida K ¹ , Saitoh I ² , Okiji T ¹ (¹ Div. of Cariol., Operative Dent. and Endodontics, Dept. of Oral Health Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci., ² Div. of Orthodontics, Dept. of Oral Biological Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci.)
P2-25	Influence of bilirubin on human dental pulp-derived stem cells ○Hoshino Y ¹ , Yamaza T ² , Ma L ¹ , Yamaza H ¹ , Nonaka K ¹ (¹ Dept. of Pediatric Dent., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci., ² Dept. of Mol.Cell Bio. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci.)
P2-26	Expression and role of CCN2 in primary dental epithelial cells ○Shimo T ¹ , Kurio N ¹ , Okui T ¹ , Kuroda H ¹ , Matsumoto K ¹ , Horikiri Y ¹ , Ibaragi S ¹ , Yoshioka N ¹ , Sasaki A ¹ (¹ Dept. Oral and Maxillofac. Surg., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)

P2-27	Cusp formation of the upper molars in shrews ○Yamanaka A ¹ , Iwai H ¹ (¹ Dept. of Oral Anat., Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
P2-28	Comparative study on teeth and ganoid scales in Lepisosteus, actinopterygian, bony fish ○Sasagawa I ¹ , Ishiyama M ² , Yokosuka H ² , Mikami M ³ , Uchida T ⁴ (¹ Adv. Res. Center, Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. Niigata, ² Dept. of Histol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. Niigata, ³ Dept. of Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. Niigata, ⁴ Dept. of Oral Biol., Hiroshima Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.)
P2-29	Origin of bone-like tissues in dental pulp after tooth transplantation ○Hosoya A ¹ , Yukita A ² , Yoshiba K ³ , Yoshiba N ³ , Kasahara E ⁴ (¹ Dept. of Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ., ² Dept. of Education Sci, Shizuoka Univ., ³ Div. of Cariol., Operative Dent. and Endodontics, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci., ⁴ Dept. of Endodontics and Operative Dent., Matsumoto Dent. Univ.)
P2-30	Analysis of dental caries and genetic risk factors in children ○Shimomura-Kuroki J ¹ , Ryu Y ¹ , Nashida T ² (¹ Dept. of Pediat. Dent., The Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. Niigata, ² Dept. of Biochem., The Nippon Dent. Sch. Life Dent. Niigata)
P2-31	Akt signaling regulates glycogen metabolism to promote ameloblast differentiation ○Ida-Yonemochi H ¹ , Ohshima H ¹ , Harada H ² (¹ Div. of Anat. Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ² Div. of Dev. Biol. & Regener. Med., Dept. of Anat., Iwate Med. Univ.)
P2-32	Study of the preventive effect of initial enamel caries by carbon dioxide laser irradiation ○Kanri Y ¹ , Okada Y ¹ (¹ Dept. of Pathol., The Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent., Niigata)
P2-33	Inhibition of in vitro calcification by synthetic peptides ○Fujisawa R ¹ , Tamura M ¹ (¹ Dept. of Oral Biochem. & Mol. Bio., Sch. of Dent., Hokkaido Univ.)
P2-34	Guaiaicol activates TRPV3 channels in mouse odontoblast-lineage cells ○Shimada M ¹ , Tsumura M ² , Sato M ² , Sobhan U ² , Tazaki M ² , Shibukawa Y ² (¹ Div. of Pediatr. Dent., Dept. Clin. Oral Health Sci., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-35	Role of SDF-1 in pulp cells derived from deciduous teeth in vitro ○Hasegawa T ¹ , Akazawa Y ¹ , Chosa N ² , Yoshimura Y ³ , Asakawa T ⁴ , Ishisaki A ² , Iwamoto T ^{1,5} (¹ Dept. of Ped. Dent., Tokushima Univ. Hosp., ² Div. of Cellular Biosignal Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Dept. of Mol. Cell Pharm., Div. of Oral Pathological Sci., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ⁴ Dept. of Special Needs Dent., Div. of Dent. for Persons with Disabilities, Showa Univ. Sch. of Dent., ⁵ Dept. of Ped. Dent., Subdiv. of Soc. and Env. Med., Div. of Integrated Sci. of Translational Res., Inst. of Health Biosci., The Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P2-36	Localization of prickle in the rat incisor ameloblasts ○Nishikawa S ¹ , Kawamoto T ² (¹ Dept. of Biol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med., ² Radioisotope Res. Inst., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P2-37	Geometric morphometric analysis of enamel-dentin junction and outer-enamel surface in human maxillary first permanent molar and second deciduous molar ○Morita W ¹ (¹ Lab. of Phys. Anthro. Fac. of Sci. Kyoto Univ.)
P2-38	Ubiquitination of LEF1 in the odontoblast of rat tooth germ ○Moriguchi M ¹ , Miake Y ¹ , Yamaguchi Y ² , Fujizeki M ¹ , Yamamoto H ¹ (¹ Dept. of Ultrastructur. Sci., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Physi. Thera., Niigata Univ. Health Wel., Fac. Med. Tech.)
P2-39	An in vitro analysis for tissue regeneration by outgrowth cells from human dental pulp ○Yoshiba N ¹ , Yoshiba K ¹ , Ohkura N ¹ , Hosoya A ² , Nakamura H ² , Okiji T ¹ (¹ Operative Dent. & Endod., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. Dent., ² Dept. of Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ.)
P2-40	Micro CT image versus transparent specimen findings of extracted Japanese mandibular incisors' root canal formation ○Kamemoto H ¹ , Katsumata A ¹ , Kita K ¹ (¹ Dept. of Oral Radiol., Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P2-41	Histochemical analysis of hypermineralized petrodentine formation, and glycogen storage of the odontoblast in the tooth plate of extant lungfish ○Oka S ¹ , Mikami M ² , Ishiyama M ³ (¹ Dept. of Biol., Sch. Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ., ² Dept. of Microbiol., Nippon Dent. Univ., ³ Dept. of Histol., Nippon Dent. Univ.)
P2-42	Morphological differences by area of the epithelial papillae and microvascular architecture in the cat filiform papillae ○Takemura A ¹ , Hikida K ¹ , Suwa F ¹ (¹ Dept. of Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-43	Expression of cadherins in mouse taste buds ○Seta Y ¹ , Kito A ¹ , Toyono T ¹ , Kataoka S ¹ , Toyoshima K ¹ (¹ Div. of Oral Histol. Neurobiol., Kyushu Dent. Univ.)
P2-44	Change in expression of cell adhesion molecules by calcium-induced differentiation in mouse keratinocyte ○Miyazaki A ^{1,2} , Ohkubo T ² , Hatta M ² , Ishikawa H ¹ , Yamazaki J ² (¹ Dept. of Oral Growth Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. of Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-45	Desmosomal gene expression in oral epithelial hyperplasia ○Ochiai T ¹ , Nakano K ¹ , Hasegawa H ¹ (¹ Dept. of Oral Pathol., Matsumoto Dent. Univ.)
P2-46	Study on an anti-inflammatory effect by F-spondin of cementoblast ○Kitagawa M ¹ , Miyauchi M ² , Oka H ³ , Sotomaru Y ⁴ , Takata T ^{2,3} (¹ Center of Oral Clinical Examination, Hiroshima Univ. Hosp., ² Dept. of Oral and Maxillofacial Pathobiol., Hiroshima Univ. Inst. of BioMed. & Health Sci., ³ Dept. of International Collaboration Development for Dent., Hiroshima Univ. Inst. of BioMed. & Health Sci., ⁴ Natural Sci. Center for Basic Res. and Dev., Hiroshima Univ.)
P2-47	The influence on periodontal cell growth factor by the stress-related material ○Sadaoka S., Kawahara I., Yagami K., Maki S. (¹ Dept. of Oral Health, Matsumoto Dent. Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Social Dent., Matsumoto Dent. Univ. Sch. of Dent.)

P2-48	Effects of erythropoietin on stem cells from human periodontal ligament with periodontitis ○Masuda K ¹ , Yamaza T ² , Ma L ³ , Hoshino Y ³ , Higuchi Y ¹ , Kukita T ² (¹ General Oral Care, Kyushu Univ. Hosp., ² Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci., ³ Dept. Pediatric Dent., Kyushu Univ. Grad. Sch. of Dent. Sci.)
P2-49	Microcirculation changes of peri-implant tissue with plaque control ○Matsuo M ^{1,2} , Iimura A ^{1,2} (¹ Dept. of Oral Sci. Kanagawa Dent. Univ., ² Inst. for Res. of Disaster Dent. Med. in Yokosuka and Shonan. Kanagawa Dent. Univ.)
P2-50	The behavior of epithelial sheath cells and dental follicle cells in the initial cementogenesis ○Yamamoto T ¹ , Hasegawa T ¹ , Yamamoto T ¹ , Hongo H ¹ , Yamada T ¹ , Oda K ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. of Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med., ² Dept. of Oral Biochem., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. Dent.)
P2-51	Induction of hard tissue from rat gingival mesenchymal stem cells ○Takahashi T ¹ , Ushijima N ¹ , Takita H ¹ , Iizuka T ¹ (¹ Support Sec. for Education and Res. Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
P2-52	Changes of peri-implant tissue with ultraviolet photo-activation incident to the experimental inflammation ○Takahashi SS ¹ , Takahashi-W S ¹ , Matsuo M ¹ (¹ Dept. of Oral Sci., Kanagawa Dent Univ.)
P2-53	Quantitative evaluation of orthodontic treatment-related pain: Animal model study ○Adachi K ¹ , Sasaki A ² , Suda N ² , Sakagami H ¹ (¹ Div. Pharmacol. Meikai Univ. Sch. of Dent., ² Div. Orthodontol. Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-54	Localization change of HSP47 in the mouse periodontal ligament cells due to orthodontic mechanical stress ○Muraoka R ¹ , Nakano K ² , Yamada K ¹ , Kawakami T ² (¹ Dept. of Orthodont., Matsumoto Dent. Univ., ² Hard Tissue Pathol. Unit, Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. of Oral Med.)
P2-55	Experimental tooth movement-activated sensory system stimulates osteoclast activity via central sympathetic nervous system ○Kondo H ¹ , Kondo M ^{1,2} , Miyazawa K ² , Goto S ² , Togari A ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Aichi-Gakuin Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Orthod., Aichi-Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P2-56	Development of the oxytalan fiber system in the labial and lingual periodontal space of rat incisors ○Inoue K ¹ , Hara Y ² , Sato T ² (¹ Res. Cent. of Elec. Micros. Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. of Anat. and Hist. Sch. of Dent. Med. Tsurumi Univ.)
P2-57	Synthesis and application of secretory granule-specific pH indicator in rat parotid acinar cells ○Matsuki-Fukushima Mi ¹ , Katsumata-Kato O ¹ , Yokoyama M ¹ , Fujita-Yoshigaki J ¹ (¹ Dept. of Physiol. Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo)
P2-58	Methamphetamine-withdrawal stress activates PACAP-DBI pathway in rat salivary gland, resulting in inhibition of salivary secretion ○Okubo M ¹ , Shinomiya T ¹ , Tsukagoshi E ¹ , Kawaguchi M ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-59	Expression of antibacterial proteins in parotid acinar cells of non-obese diabetic mouse ○Nashida T ¹ , Yoshie S ² , Sato R ³ , Imai A ¹ , Shimomura H ¹ (¹ Dpt. of Biochem., Sch. of Life Dent. at Niigata, The Nippon Dent. Univ. , ² Dept. of Histol., ³ Dept. of Dent. Hygiene, The Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata)
P2-60	The ratio of glycine and proline in saliva shows constant ratio independent of age and periodontal diseases. ○Tanaka S ¹ , Akita S ¹ , Katayama T ^{1,2} , Sakagami H ³ , Sugimoto M ⁴ (¹ Div. Oral Diagnosis, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Operative Dent., Meikai Univ. Sch. , ³ Dent. Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ⁴ Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)
P2-61	Constitutive internalization of AQP5 in human salivary gland HSG cell ○Hasegawa T ¹ , Yao C ¹ , Akamatsu T ¹ , Yoshimura H ¹ (¹ Dept. of Mol. Oral Physiol., Inst. of Health Biosci., Univ. of Tokushima)
P2-62	Involvement of subtilisin-like proprotein convertase PACE4 in regeneration of salivary gland ○Akamatsu T ¹ , Yao C ¹ , Hasegawa T ¹ , Yoshimura H ¹ (¹ Dept. Mol. Oral Physiol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.)
P2-63	Transduction and functional analyses of luminescent and fluorescent probes to the salivary cells using viral vectors ○Morita T ¹ , Nezu A ¹ , Tojyo Y ² , Tanimura A ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Sch. of Dent., Health Sci Univ. of Hokkaido, ² Dept. of Biophys., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-64	Relation of mRNA level of histatins in saliva to oral hygiene ○Sato R ¹ , Nashida T ² , Mikami M ³ , Imai A ² (¹ Dept. of Dent. Hygiene, Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata, ² Dept. of Biochem. Sch. of Life Dent. at Niigata, ³ Dept. of Microbiol. Sch. of Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ.)
P2-65	Inhibitory mechanisms of toll-like receptor ligand efficacy of heat shock protein by salivary histatin ○Imamura Y ^{1,2} , Wang PL ³ (¹ Dept. of Pharmacol., Matsumoto Dent. Univ., ² Div. of Mol. Eng. & Drug Dev. Sci., Grad. Sch. of Oral Med., Matsumoto Dent. Univ., ³ Dept. of Dent. Educ. Innov., Osaka Dent. Univ.)
P2-66	Study on the red fluorescence over-expression of salivary cells in tdTomato transgenic mice ○Furukawa S ¹ , Hatakeyama S ¹ , Hori T ¹ , Ishisaki A ² , Ohtsuka M ³ , Fujimura A ⁴ , Kinno Y ¹ , Seino Y ¹ , Miura H ¹ (¹ Divi. of Orthodontics, Dept. of Developmental Oral Health Sci., Sch. of Dent., Iwate Med. Univ., ² Div. of Cellular Biosignal Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Dept. of Mol. Life Sci., Div. of Basic Mol. Sci. and Mol. Med., Sch. of Med., Tokai Univ., ⁴ Div. of Functional Morphol., Dept. of Anat., Iwate Med. Univ.)
P2-67	Immunohistochemical study of ABCG2 and CD133 in adenoid cystic carcinoma ○Tamamura R ¹ , Tsujigiwa H ² , Okada H ¹ , Sakae T ¹ , Nagatsuka H ² (¹ Dept. of Histol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo, ² Dept. of Oral Pathol. & Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm.)
P2-68	Metabolic DNA chip analysis of salivary glands from the mice raised with different chewing load ○Kawahara K ¹ , Morita K ² , Shimizu Y ³ , Nikawa H ¹ (¹ Dept. of Oral Biol. & Engineering, Hiroshima Univ. Inst. of Biomed. & Health Sci., ² Dept. Pharmacol., Hiroshima Bunka Gakuen Univ., ³ Dept. of Dent. Anesthesiol., Hiroshima Univ. Inst. of Biomed & Health Sci.)
P2-69	Immunohistochemical localization of PACAP receptor in developing mouse salivary glands ○Nonaka N ¹ , Nakamura M ¹ (¹ Dept. of Oral Anat. & Dev. Biol., Showa Univ. Sch. of Dent.)
P2-70	Effects of aminothioli radioprotectors on X-ray irradiated mice fetal submandibular glands ○Nasu M ¹ , Nakahara T ² , Ide Y ² (¹ Res. Cent. for Odontol., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ. , ² Dept. of Dev. & Reg., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)

P2-71	Effects of administration of ginger on major salivary glands of diabetic rats ○Ikeda R ^{1,2} , Sato S ² , Kikuchi K ² (¹ Dept. of Dent. Hygiene, Nippon Dent. Univ. Coll. at Tokyo, ² Dept. of Histol., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-72	Effect of Shh on branching morphogenesis of mouse submandibular gland rudiment ○Mizukoshi K ¹ , Koyama N ¹ , Hayashi T ¹ , Murakami M ² , Sugiya H ³ , Matsuura S ³ , Kashimata M ¹ (¹ Asahi Univ., Sch. of Dent., Dept. of Dent. Pharmacol., ² NIPS, Dept. of Mol. Physiol., ³ Nihon Univ., Sch. of Veter. Med., Dept. of Biochem.)
P2-73	What is the difference between embryonic day 12 and 13 submandibular glands of mice ○Koyama N ¹ , Mizukoshi K ¹ , Hayashi T ¹ , Kashimata M ¹ (¹ Dept. of Dent. Pharmacol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-74	Mutant ALK2 receptors identified in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva show different sensitivities to type II receptors ○Fujimoto M ^{1,2} , Osawa K ¹ , Kokabu S ¹ , Suda N ² , Katagiri T ¹ (¹ Div. of Pathophysiol., Res. Cent. for Genomic Med., Saitama Med. Univ., ² Div. of Orthodontics., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-75	Identification of Rab14 GTPase as a CCN2/CTGF binding protein and the role of this interaction in vesicle trafficking in chondrocytes ○Hoshijima M ^{1,2} , Hattori T ¹ , Aoyama E ³ , Nishida T ¹ , Takigawa M ^{1,3} (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Bent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Ortho., Okayama Univ. Hosp., ³ Okayama Univ. Dent. Sch., Biodent. Res.)
P2-76	PKR plays an important role in the inflammatory bone destruction ○Teramachi J ¹ , Morimoto H ² , Haneji T ¹ (¹ Dept. of Oral Histol., The Univ. of Tokushima. Inst. of HBS, ² Dept. of Histol., Univ. of Occupational and Environmental Health. Grad. Sch. of Med.)
P2-77	Tenocytes regulation of osteoblast survival ○Wada S ¹ , Shimada A ² , Nakamura Y ¹ , Nakashima K ² , Nifuji A ² (¹ Dept. of Orthod., Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. of Pharm., Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ.)
P2-78	The effects of estrogen on various ATPases in osteoblastic MC3T3-E1 cells ○Kong L ¹ , Suzuki K ² , Deyama Y ¹ , Kudo T ¹ , Yoshimura Y ¹ (¹ Hinode Dent. Hosp., ² Div. of Mol. Cell Pharm., Dept. of Oral Pathobiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
P2-79	Promotion of Ccn2 expression and osteoblastic differentiation by actin polymerization, which is induced by laminar fluid flow stress ○Honjo T ¹ , Kubota S ² , Kamioka H ³ , Yamashiro T ⁴ , Takigawa M ² , Takano-Yamamoto T ⁵ (¹ Dept. of Oral & Maxillofac. Surg., Tottori Univ. Hosp., ² Dept. of Biochem. & Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ³ Dept. of Ortho., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ⁴ Dept. of Ortho. & Dentfa. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ⁵ Div. of Ortho. & Dentfa. Othoped., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P2-80	Changes of SOST mRNA expression in the alveolar bone induced by mechanical stress ○Fujiwara A ¹ , Watanabe R ² , Aoki K ^{1,3} , Yano W ² , Satoh K ² , Kogaya Y ² , Kitai N ¹ , Ejiri S ² (¹ Dept. of Orthod. Sch. of Dent. Asahi Univ., ² Dept. of Oral Anat. Sch. of Dent. Asahi Univ., ³ Dept. of Oral Radiol. Sch. of Dent. Asahi Univ.)
P2-81	Distribution of mechanical stress and sclerostin localization in alveolar bones induced by mechanical loading ○Watanabe R ¹ , Aoki K ^{2,3} , Fujiwara A ² , Yano W ¹ , Satoh K ¹ , Kogaya Y ¹ , Kitai N ² , Ejiri S ¹ (¹ Dept. of Oral Anat. Asahi Univ. Sch. of Dent., ² Dept. of Orthod. Asahi Univ. Sch. of Dent., ³ Dept. of Oral Radiol. Asahi Univ. Sch. of Dent.)
P2-82	Effects of W9 peptide in osteoblast and osteoclast differentiation ○Nakamura M ^{1,2} , Udagawa N ^{1,2} , Aoki K ³ , Ohya K ³ (¹ Dept. of Biochem., Matsumoto Dent. Univ., ² Div. of Hard Tissue Res., Inst. of Oral Sci., Matsumoto Dent. Univ., ³ Pharmacol., Dept. of Hard Tissue Engineering Div. of Bio-Matrix, Grad. Sch., Tokyo Med. and Dent. Univ.)
P2-83	The role of p130Cas in osteoclastic bone resorption ○Osawa K ^{1,2} , Fukushima H ¹ , Tamura Y ³ , Aoki K ³ , Ohya K ³ , Maki K ⁴ , Jimi E ¹ (¹ Div of Molecular Signaling and Biochem., Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Pathophysiol., Res. Cent. For Genomic Med., Saitama Med. Univ., ³ Sec. of Pharmacol., Dept. of Hard Tissue Engineering, Tokyo Med. And Dent. Univ., ⁴ Div. of Growth and Dev. for Function, Kyushu Dent. Univ.)
P2-84	The role of sonic hedgehog in fracture repair ○Matsumoto K ¹ , Horikiri Y ¹ , Shimo T ¹ , Kurio N ¹ , Okui T ¹ , Kuroda M ¹ , Sasaki A ¹ (¹ Dep. Oral and Maxillofac Surg., Okayama Univ.)
P2-85	Transcriptional regulation of bone sialoprotein (BSP) gene mediated by Runx2 ○Yamauchi M ¹ (¹ Dept. of Orthodontics, Kanagawa Dent. Univ.)
P2-86	Effects of chemical constituents from <i>Sanguisorba officinalis</i> on osteoclastogenesis ○Sakai E ¹ , Iwatake M ¹ , Nishishita K ¹ , Fukuma Y ¹ , Okamoto K ¹ , Tsukuba T ¹ (¹ Div. Oral Pathopharmacol., Dept. Development. Reconstruct. Med., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.)
P2-87	Mechanical stress suppresses osteoclastogenesis via suppression of DC-STAMP in RAW264.7 cells ○Yoshimura Y ¹ , Kameyama S ^{1,2} , Hasegawa T ³ , Deyama Y ¹ , Suzuki K ¹ , Iida J ² (¹ Dept. Mol. Cell Pharmacol., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Dept. Orthodont., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Dept. Pediatric Dent., Tokushima Univ. Hosp.)
P2-88	Clarification of the inhibitory mechanisms of the pomegranate polyphenol in osteoclastogenesis ○Iwatake M ¹ , Sakai E ¹ , Nishishita K ¹ , Okamoto K ¹ , Tsukuba T ¹ (¹ Dept. Oral Pathopharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P2-89	The effects of TRPV4 channel on bone fracture healing ○Okii Y ¹ , Aijima R ¹ , Hatakeyama J ¹ , Oosaki Y ¹ , Cho S ¹ , Murata N ¹ , Kituki T ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. of Mol. Cell Biol. and Oral Anat. Grad. Sch. of Dent. Sci., Kyushu Univ)
P2-90	Effect of VCAM-1 on the osteoclast differentiation in RAW264.7 cells ○Hayashi H ¹ , Uji Y ¹ , Goda S ² , Ikeo T ² , Matsumoto N ¹ (¹ Dept. of Ortho. Osaka Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. of Biochem. Osaka Dent. Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-91	Osteoclast differentiators regulators in the conditioned medium of human osteosarcoma-derived MG-63 cells ○Karakida T ¹ , Yamakoshi Y ¹ , Oida S ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)

P2-92	Wnt1 produced in the late stage of osteoclast differentiation enhances osteoclast function ○Amano S ¹ , Ohmori Y ¹ (¹ Dept. of Oral Biol. and Tissue Engr., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-93	Scanning electron microscopic observation of the tunneling nanotubes in cell fusion among osteoclast precursors ○Zhang JQ ¹ , Takahashi A ^{1,3} , Kukita A ² , Narimatsu K ^{1,4} , Uehara N ¹ , Yamaza T ¹ , Kido M ¹ , Kukita T ¹ (¹ Dept. of Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. of Microbiol., Fac. of Med., Saga Univ., ³ Dept. of Oral Rehabilitation, Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ⁴ Dept. of Orthodont., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-94	Tensile force induces vascular formation in cranial sutures via CTGF signaling ○Takeshita N ¹ , Hasegawa M ¹ , Seki D ¹ , Miyashita S ¹ , Takano-Yamamoto T ¹ (¹ Div. of Orthod. & Dentofacial Orthop., Dept. of Oral Health & Dev., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P2-95	Quercetin inhibits osteoclastogenesis via membrane-type estrogen receptor GPR30 ○Masuhara M ¹ , Tsukahara T ¹ , Sato T ¹ (¹ Dept. of Appl. Pharm., Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. Sci.)
P2-96	Preparation of mouse macrophage reporter cell lines which express fluorescent protein by RANKL and analysis of osteoclast differentiation ○Kukita A ¹ , Kukita T ² (¹ Dept. of Microbiol. Fac. of Med. Saga Univ., ² Dept. of Mo. Cell & Oral Anat. Fac. of Dent. Kyushu Univ.)
P2-97	Effects of IL-17A on the osteoclast differentiation of RAW264.7 cells ○Inoue H ¹ , Domae E ² , Goda S ² , Uchihashi K ¹ , Nishikawa Y ¹ (¹ Dept. of Physiol., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Biol. Chem., Osaka Dent. Univ.)
P2-98	Isolation of a novel lectin from the globiferous pedicellariae of the toxopneustid sea urchin, <i>Toxopneustes pileolus</i> ○Nakagawa H ¹ , Shinohara M ² , Nishiitsutsuji R ² , Ohura K ² (¹ Dept. of Environmental Symbiosis, Inst. of Socio-Arts and Sci., Univ. of Tokushima Grad. Sch., ² Dept. of Pharmacol., Osaka Dent. Univ.)
P2-99	Effect of serum factors on increment of alkaline phosphatase activity in osteoblastic-like cells MC3T3-E1 ○Toen T ¹ , Fukada T ¹ , Hashimoto S ¹ (¹ Sect. of Radioisotopes Res., Res. Center for Odontol., The Nippon Dent. Univ.)
P2-100	Effects of EGF on the proliferation and myofibroblast differentiation of periodontal ligament-derived endothelial progenitor cell-like fibroblastic cells ○Kimura H ^{1,2} , Okubo N ¹ , Chosa N ¹ , Ibi M ¹ , Kyakumoto S ¹ , Kamo M ¹ , Kinno Y ² , Miura H ² , Isisaki A ¹ (¹ Div. of Cell. Biopsig. Sci., Dept. of Biochem., Iwate Med. Univ., ² Div. of Orthodont., Dept. of Oral Health Sci., Iwate Med. Univ. Sch. of Dent.)
P2-101	Identification of molecules involved in improvement of insulin resistance by D-dopachrome tautomerase ○Iwata T ¹ , Ishimoto K ² , Mizusawa N ¹ , Yoshimoto K ¹ (¹ Dept. of Med. Pharmacol., Inst. of Health Biosci, Univ. of Tokushima Grad. Sch., ² Dept. of Orthodontics & Dentofacial Othropedics, Inst. of Health Biosci, Univ. of Tokushima Grad. Sch.)
P2-102	The renal lymphangiogenesis of type 1 and type 2 diabetic mice ○Uchiyama T ¹ , Takata S ¹ , Turuga E ² , Hatakeyama Y ² , Ishikawa H ¹ , Sawa Y ² (¹ Fukuoka Dent. Coll. Dept. of Oral Growth & Dev., ² Fukuoka Dent. Coll. Dept. of Morp Biol.)
P2-103	Functional role of adenosine receptors in insulin secretion by pancreatic islets ○Ohtani M ¹ , Ohura K ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Osaka Dent. Univ.)
P2-104	Regulation of insulin secretion by phospholipase C-related catalytically inactive protein ○Asano S ¹ , Kanematsu T ¹ (¹ Dept. of Cell. & Mol. Pharm., Hiroshima Univ.)
P2-105	The effects of dietary sodium-restriction in developing stage on the morphology of mandible and teeth ○Inui-Yamamoto C ¹ , Ueda K ¹ , Nakatsuka M ¹ , Kumabe S ¹ , An C ¹ , Matsuda Y ¹ , Iwai Y ¹ (¹ Dept. of Oral Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-106	Relationship between natural bite size and body mass index (BMI) ○Shiozawa K ¹ , Okumura S ¹ (¹ Dept. of Physiol. Tsurumi Univ. Sch. of Dent. Med.)
P2-107	Molecular characterization of PRIP as an adaptor protein of Akt ○Sugiyama G ¹ , Takeuchi H ² , Nagano K ¹ , Otani T ¹ , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Div. of Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ.)
P2-108	A self-limiting regulation of TRPC3,C6,C7 channels linked with PI(4,5)P ₂ -DAG signaling ○Imai Y ¹ , Yoshimoto S ^{1,2} (¹ Special Patient Oral Care Unit of Kyushu Univ. Hosp., ² Lab. of Mol. Cell. Biochem., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-109	Involvement of AMPA receptor (GluR2 and GluR3) trafficking in trigeminal spinal subnucleus caudalis neurons in face acute-inflammatory pain ○Tsuboi Y ¹ , Iwata K ¹ (¹ Dept. of Physiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
P2-110	Injury of pancreas elastase by a system composed of myeloperoxidase, hydrogen peroxide and chloride ○Onishi M ¹ , Odajima T ² (¹ Div. of Biochem., Sch. of Dent., Health Sci. Univ. of Hokkaido, ² Sapporo Res. Inst. of Basic Med. & Pedagogy)
P2-111	Mechanism of inhibition of nitric oxide synthase gene <i>NOS2</i> expression by interleukin-4 ○Hiroi M ¹ , Yamaguchi H ¹ , Ohmori Y ¹ (¹ Div. of Microbiol. and Immunol., Dept. of Oral Biol. and Tissue Engineering, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-112	Anti-inflammatory effect of rikkosan on IL-1B-induced gingival fibroblast and periodontal ligament fibroblast ○Horie N ^{1,4} , Kato T ¹ , Hino S ¹ , Nagao T ² , Adachi K ² , Kaneko T ^{3,4} , Shimoyama T ¹ , Kusama K ⁴ , Sakagami H ² (¹ Dept. Oral Surg. Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., ² Dept. of Phalmacol., Meikai Univ. Sch. of Dent., ³ Dept. of Oral and Maxillofac. Surg. Nihon Univ. Sch. of Dent., ⁴ Dept. of Pathol, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-113	Unique features of sublingual mucosal dendritic cells after antigen application ○Zhang C ¹ , Ohno T ¹ , Azuma M ¹ (¹ Dept. Mol. Immunol., Grad. Sch., Tokyo Med. Dent. Univ.)

P2-114	Localization of tumor associated macrophages in precancerous lesion and mechanism of the macrophage differentiation ○Mori K ¹ , Hiroi M ² , Shimada J ¹ , Ohmori Y ² (¹ Div. of First Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Diagnosis and Therapeutics Sci, Meikai Univ. Sch. of Dent., ² Div. of Microbiol. and Immunol., Dept. of Oral Biol. and Tissue Engineering, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-115	Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory responses in injected region ○Sukegawa S ¹ , Nagatsuka H ² , Miyawaki T ¹ (¹ Dept. of Dent. Anesth. & Special Care Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med., Dent. & Pharm., ² Dept. of Oral Path. & Med., Okayama Univ., Grad. Sch. of Med., Dent. & Pharm.)
P2-116	Mechanisms of resistance to interferon gamma in mouse squamous carcinoma cells ○Yamaguchi H ¹ , Hiroi M ¹ , Ohmori Y ¹ (Meikai Univ. Sch. of Dent., Dept. of Oral Biol. & Tissue Eng., Div. of Microbio. & Immun.)
P2-117	Effect of eugenol on the pro-inflammatory cytokine production by normal oral cells ○Koh T ¹ , Saito Y ² , Murakami Y ¹ , Katayama T ^{1,3} , Sakagami H ² (¹ Div. Oral Diagnosis, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Operative Dent., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-118	Determination of migratory dental pulp dendritic cells in regional lymph nodes using Kaede transgenic mice ○Bhingare A ¹ , Ohno T ¹ , Zhang C ¹ , Azuma M ¹ (¹ Dept. Mol. Immunol., Grad. Sch., Tokyo Med. Dent. Univ.)
P2-119	Expression of mouse B-defensin-3 in the upper digestive mucosa under stress conditions ○Kawashima R ¹ , Shimizu T ² , Yamamoto Y ² , Matsuki T ² , Hayashi T ² , To M ² , Kondo Y ^{2,3} , Saruta J ² , Tsukinoki K ² (¹ Dept. of Oral & Maxillofacial Surg., Jichi Med. Univ., ² Dept. of Environ. Pathol., Grad. Sch. of Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. of Pathol., Tokai Univ. Sch. of Med.)
P2-120	Effects of zinc-oxide eugenol mixture on expression of prostaglandin E synthases in inflamed pulps of rats ○Fukada T ¹ , Toen T ¹ , Hashimoto S ¹ (¹ Sect. of Radioisotopes Res., Res. Center for Odontol., Sect. of Life Dent. at Tokyo, The Nippon Dent. Univ.)
P2-121	Effects of Rac1 on the production of MMP-3 by TNF- α ○Komasa R ¹ , Goda S ² , Yoshikawa K ¹ , Ikee T ² , Yamamoto K ¹ (¹ Dept. of Operative., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Biochem., Osaka Dent. Univ.)
P2-122	Effect of apelin on inflammatory response in macrophage ○Obara N ¹ , Akifusa S ³ , Usui M ¹ , Kasai H ¹ , Okinaga T ² , Ariyoshi W ² , Nishihara T ² (¹ Div. of Periodontol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Infect. & Molecul. Biol., Kyushu Dent. Univ., ³ Dept. of Oral Health Manage, Kyushu Dent. Univ.)
P2-123	Mice MyD88 deficiency promotes B-1 cell accumulation in submandibular glands and basal production of salivary immunoglobulins ○Into T ¹ , Takigawa T ² , Shibata K ³ (¹ Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Anat., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Lab. Oral Mol. Microbiol., Dept. Oral Pathobiol. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
P2-124	Study of ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumor ○Miyazaki Y ¹ , Inoue H ¹ , Kikuchi K ¹ , Kusama K ¹ (¹ Div. of Pathol., Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-125	Immunohistochemical study of BAFF-R in malignant lymphomas of oral and maxillofacial regions ○Okada O ¹ (¹ Dept. of Pathol., The Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata)
P2-126	Gene expression profile of side population cells in human oral cancer cell line ○Nozaki T ¹ , Nishiitsutsuji R ² , Ohura K ¹ (¹ Dept. of Pharmacol., Osaka Dent. Univ., ² Dept. of Pharmacol., Osaka Dent. Univ., Grad. Sch. of Dent.)
P2-127	Pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (HPIP) regulates invasion of oral squamous cell carcinoma ○Irie T ¹ , Hokazono C ¹ , Yasuhara R ¹ , Tanaka J ¹ , Kohno Y ¹ , Yamamoto G ¹ , Mishima K ¹ (¹ Div. of Pathol., Dept. of Oral. Diag. Sci., Sch. of Dent., Showa Univ.)
P2-128	Malignancy of mouse OSCC cell line, Sq1979, affects IFN-gamma producing capability of host spleens cells ○Azuma Y ¹ , Kamiya M ² , Inagaki T ³ , Kawaki H ² , Takayama E ² , Sakurai S ¹ , Chihara E ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. of Anesthesiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. of Oral Maxillofacial Surg., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-129	Immunohistochemical examination of HSP27 in ameloblastomas ○Nakano K ¹ , Kubo K ² , Sugita Y ² , Maeda H ² , Hasegawa H ¹ , Kawakami T ¹ (¹ Hard Tissue Pathol. Unit, Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. of Oral Med., ² Dept. of Oral Pathol., Sch. of Dent., Aichi Gakuin Univ.)
P2-130	WISP1/CCN4: A potential target for inhibiting prostate cancer growth and metastasis to bone ○Ono M ^{1,2} , Kuboki T ¹ , Young M ² (¹ Dept. of Oral Rehab. & Reg. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² NIDCR, NIH)
P2-131	Curious morphological change and transformation by extracellular Ca ²⁺ and RANKL in ameloblastoma cells ○Morita H ¹ , Yoshimoto S ^{1,2} , Nakamura S ³ , Hirata M ² (¹ Special Patient Oral Care Unit of Kyushu Univ. Hosp., ² Lab. of Mol. Cell. Biochem., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ., ³ Sect. of Oral Maxillofac. Oncol., Div. of Maxillofac. Diag. Surg. Sci., Fac. of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-132	The role of sonic hedgehog as an angiogenic factor in oral squamous cell carcinoma ○Kuroda M ¹ , Kurio N ¹ , Shimo T ¹ , Ibaragi S ¹ , Okui T ¹ , Horikiri Y ¹ , Matsumoto K ¹ , Sasaki A ¹ (¹ Dept. Oral and Maxillofac Surg., Okayama Univ.)
P2-133	The antidiabetic drug metformin inhibits IGF-1 induced oral squamous cell proliferation in vitro and in vivo ○Kurio N ¹ , Shimo T ¹ , Kuroda H ¹ , Matsumoto K ¹ , Sasaki A ¹ (¹ Dept. of Oral and Maxillo. Surg., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. Pharm.)
P2-134	Significance of podoplanin expressing stromal fibroblasts in oral squamous cell carcinoma ○Inoue H ¹ , Kikuchi K ¹ , Miyazaki Y ¹ , Kusama K ¹ (¹ Div. of Pathol., Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-135	Metabolite profiling in oral cells after exposure to eugenol ○Saito Y ¹ , Koh T ² , Murakami Y ² , Tanaka S ² , Katayama T ² , Sakagami H ¹ , Sugimoto M ³ (¹ Dev. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Oral Diagnosis, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Grad. Sch. Media Govern., Keio Univ.)

P2-136	Potent analgesic effects of platelet-activating factor (PAF) antagonists in a bone cancer pain model ○Motoyama N ¹ , Morita K ² , Kitayama T ³ , Kanematsu T ³ , Kurihara H ⁴ , Dohi T ⁵ (¹ Dept. Dent. Sci. Health Promot., Hiroshima Univ., ² Dept. Pharmacol., Hiroshima Bunka Gakuen Univ., ³ Dept. Cell & Mol. Pharmacol., Hiroshima Univ., ⁴ Dept. Periodontal Med., Hiroshima Univ., ⁵ Dept. Clinical Pharmacol., Nihon Pharmaceutical Univ.)
P2-137	Change of mitochondria on the zoledronate-induced cytotoxicity ○Tajima M ¹ , Sakagami H ¹ (¹ Div. of Pharmacol., Dept. of Diagnostic and Therapeutic Sci, Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-138	Designing of new cytotoxic isoquinolines against human oral squamous cell carcinoma (Part3) ○Ishihara M ¹ , Yamauthi M ² (¹ Div. of Basic Chemistry Oral Biol. and Tissue Engineering, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Med. Informatics Dept. of Community Health Sci.)
P2-139	Analgesic action of chitosan oligosaccharides on formalin-induced pain ○Terasawa R ¹ , Koiso K ¹ , Yonehara N ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Ohu Univ. Sch. Dent.)
P2-140	Metabolite profiling in oral cells after exposure to sodium fluoride ○Sakagami H ¹ , Tanaka S ² , Katayama T ^{2,3} , Garcia Contreras R ^{1,4} , Sugimoto M ⁵ (¹ Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Oral Diagnostics, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Operative Dent., Meikai Univ. Sch. Dent., ⁴ Autonomous Univ. State Mexico, ⁵ Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)
P2-141	The inhibitory mechanism of eugenol on TRPV1 channel activated by proton ○Yoshida T ¹ , Takahashi K ² , Wakamori M ¹ (¹ Div. Mol. Pharmacol. and Cell Biophys., Dept. Oral Biol. Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Tohoku Univ. Sch. of Dent.)
P2-142	Anti-UV activity of Kampo medicines, constituent plant extracts and glycyrrhizin ○Kato T ¹ , Hino S ¹ , Horie N ^{1,2} , Kaneko T ^{2,4} , Shimoyama T ¹ , Kusama K ² , Sakagami H ^{3,5} (¹ Dept. of Oral Surg., Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., ² Div. of Patho. Dept. of Diag. and Thera. Sci., Meikai Univ. Sch. of Dent., ³ MPL., Meikai Univ. Sch. of Dent., ⁴ Dept. of Oral and Maxillo. Surg., Nihon Univ. Sch. of Dent., ⁵ Div. of Pharm. Dept. of Diag. and Thera. Sci., Meikai Univ. Sch. of Dent.)
P2-143	The effect of melanoidins on the stability of bactericidal dental resin binding hydrogen peroxide molecule ○Inoue K ¹ , Mizuno M ² , Takahashi S ¹ , Ushijima N ³ , Nakajima T ¹ , Matsumura K ¹ , Domon T ¹ (¹ Dept. of Oral Functional Anat., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Dept. of Oral Biochem., Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Lab. EM, Grad. Sch. of Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P2-144	Structure and function of <i>Porphyromonas gingivalis</i> outer membrane vesicles purified by density gradient centrifugation ○Nakao R ¹ , Senpuku H ¹ (¹ Dept. of Bacteriol. I, National Inst. Infect. Dis.)
P2-145	The inhibition of PI3K/Akt pathway by <i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains ○Nakayama M ¹ , Inoue T ¹ , Nakayama K ² , Ohara N ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent & Pharm., ² Dept. of Microbiol. and Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.)
P2-146	Group A <i>Streptococcus</i> translocates across an epithelial barrier via calpain activation ○Sumitomo T ¹ , Nakata M ¹ , Terao Y ² , Kawabata S ¹ (¹ Dept. Oral and Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ² Div. Microbiol. Infect. Dis., Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Niigata Univ.)
P2-147	Characterization of the <i>S. mutans malQ</i> gene involved in maltooligosaccharide catabolism ○Sato Y ¹ , Okamoto-Shibayama K ² , Azuma T ^{1,3} (¹ Dept. of Biochem., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ³ Oral Health Sci. Center, Tokyo Dent. Coll.)
P2-148	Distribution of <i>Rothia aeria</i> in the oral cavities ○Tsuchikubashi O ¹ , Uchibori S ² , Fukumoto M ¹ (¹ Dept. of Depart. of Labo. Med. for Dent., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ² Dept. of Dept. of Cr. Br. Prosthodont., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-149	<i>Streptococcus salivarius</i> like strains from elephant oral cavity ○Saito M ¹ , Takada K ¹ , Hirasawa M ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol. Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo)
P2-150	Metabolomics approach on sugar alcohols metabolism of human dental plaque <i>in vivo</i> ○Washio J ¹ , Takahashi N ¹ (¹ Div. of Oral Ecol. and Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-151	A study of <i>Porphyromonas gingivalis</i> non-coding RNA in response to an environmental stress ○Hiratsuka K ¹ (¹ Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo)
P2-152	Distribution of <i>Rothia aeria</i> in pharynx ○Uchibori S ¹ , Tsuchikubashi O ² (¹ Dept. of Dept. of Cr. Br. Prosthodont., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ² Dept. of Depart. of Labo. Med for Dent., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-153	Mechanism of <i>Candida albicans</i> induced IL-1 beta production ○Hasebe A ¹ , Saeki A ¹ , Sugiyama M ¹ , Shibata K ¹ (¹ Div. of Oral Mol. Microbiol., Dept. of Oral Pathobiol. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Dent. Med.)
P2-154	Antifungal activity and engineering of protamine-derived peptide ○Cho T ¹ , Nagao J ¹ , Imayoshi R ¹ (¹ Dept. of Functional Biosci., Sec. of Infection Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-155	Role of Bacillus Calmette-Guerin on the anti-tumor activity in oral cancer ○Murakami J ¹ , Ohara N ² , Nakayama M ² , Tsujigiwa H ³ , Nagatsuka H ³ , Konouchi H ¹ , Yanagi Y ¹ , Unetsubo T ⁴ , Asaumi J ⁴ (¹ Dept. Oral Rad, Okayama Univ. Hosp., ² Dept. Oral Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³ Dept. Oral Pathol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ⁴ Dept. Oral Rad., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
P2-156	Characterization of <i>Porphyromonas gingivalis</i> HtrA protein ○Yukitake H ¹ , Sato K ¹ , Nakayama K ¹ (¹ Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Grad. Sch. BioMed. Sci., Nagasaki Univ.)

P2-157	Analysis of PorSS PorU in periodontal bacteria ○Narita Y ¹ , Sato K ¹ , Yukitake H ¹ , Nakayama K ¹ (¹ Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Grad. Sch. BioMed. Sci., Nagasaki Univ.)
P2-158	Oral bacteria-related enhancement of influenza virus infections ○Kamio N ¹ , Imai K ¹ , Tamura M ¹ , Cueno M ¹ , Ochiai K ¹ (¹ Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. of Dent.)
P2-159	Evaluation of pathogenicity of <i>Candida albicans</i> in germination-ready states using a silkworm infection model ○Matsumoto H ¹ , Nagao J ¹ , Imayoshi R ¹ , Cho T ¹ (¹ Dept. of Functional Biosci., Sec. of Infection Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-160	Comprehensive analysis of indigenous plaque microbiota of pre- and post-weanling, and grown-up mice ○Matsuyama J ¹ , Sato T ² , Quispe-Salcedo A ³ , Takahashi N ² , Ohshima H ³ (¹ Div. of Pediatr. Dent., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ² Div. of Oral Ecol. Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Div. of Anat. Cell Biol. Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.)
P2-161	Isolation and characterization of phosphoproteins from <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Izumigawa M ¹ , Ikai Y ¹ , Horie T ¹ , Hasegawa Y ² , Kawabata A ¹ , Kitai N ¹ , Murakami Y ² (¹ Dept. of Orthod., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-162	Cell surface protein of <i>Candida albicans</i> involved in its dimorphic transition ○Shibayama K ¹ , Kikuchi Y ¹ , Kokubu E ¹ , Sato Y ² , Ishihara K ¹ (¹ Dept. of Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Biochem., Tokyo Dent. Coll.)
P2-163	Effect of <i>Prevotella intermedia</i> heat shock proteins on biofilm formation ○Yamanaka T ¹ , Yamane K ¹ , Nambu T ¹ , Mashimo C ¹ , Fukushima H ¹ (¹ Dept. of Bacteriol., Osaka Dent. Univ.)
P2-164	Ig-like domain of gingipain ○Sato K ¹ , Yukitake H ¹ , Narita Y ¹ , Nakayama K ¹ (¹ Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Univ. of Nagasaki, ² Dept. Physics, Gakushuin Univ.)
P2-165	<i>Streptococcus anginosus</i> infection and aberrant AID expression in oral cancer ○Sasaki M ¹ , Kodama Y ¹ , Shimoyama Y ¹ , Kimura S ¹ (¹ Div. Mol. Microbiol., Iwate Med. Univ.)
P2-166	Introduction of a new HIV test system using OraSure [®] to identify HIV positive people ○Imai K ¹ , Ochiai K ¹ (¹ Dept. of Microbiol., Nihon Univ. Sch. of Dent,)
P2-167	Genome analysis of <i>Streptococcus mutans</i> -like strain isolated from lesser panda oral cavity ○Kuwahara N ¹ , Nito M ² , Okamoto M ³ , Saito M ¹ , Hirasawa M ¹ , Takada K ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo, ² Dept. of Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., ³ Dept. Oral Microbiol. Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
P2-168	Regulation of intraspecies diversification by genetic recombination and CRISPR in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Maruyama F ^{1,2} , Watanabe T ¹ , Nozawa T ¹ , Nakagawa I ¹ (¹ Dept. of Bac. & Phatho. Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent., ² Dept. of Micro. Gen. & Eco. Tokyo Med. & Dent. Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
P2-169	Phylogenetic analysis of <i>Streptococcus troglodytae</i> glucosyltransferase ○Okamoto M ¹ , Imai S ² , Hanada N ² (¹ Dept. of Oral Microbiol., Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. of Translational Res., Sch. of Dent. Med., Tsurumi Univ.)
P2-170	Hydrogen peroxide is a hidden virulence factor of oral streptococci ○Okahashi N ¹ , Okinaga T ² , Sakurai A ³ , Terao Y ⁴ , Nakata M ⁵ , Kawabata S ⁵ , Nishihara T ² (¹ Oral Frontier Center, Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ² Div. Infect. Mol. Biol., Kyushu Dent. Coll., ³ Dept. Pediatric Dent., Tokyo Dent. Coll., ⁴ Div. Microbiol. Infect. Dis., Grad. Sch. Med. Dent., Niigata Univ., ⁵ Dept. Oral Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ.)
P2-171	<i>Candida albicans</i> Msi3p, a homolog of the <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Sse1p of the Hsp70 family, is involved in cell growth and fluconazole tolerance ○Nagao J ¹ , Cho T ¹ , Imayoshi R ¹ (¹ Dept. of Functional Biosci., Sec. of Infection Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-172	Study for localization of Mfa3 in <i>Porphyromonas gingivalis</i> Mfa1 fimbriae ○Ikai R ¹ , Hasegawa Y ² , Izumigawa M ¹ , Horie T ¹ , Kawabata A ¹ , Kitai N ¹ , Yoshimura F ³ , Murakami Y ² (¹ Dept. of Orthod., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. of Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. of Microbiol., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P2-173	Cytotoxicity and antibacterial activity of roselle ethanol extract on oral bacteria in vitro ○Sulistiyani H ¹ , Fujita M ¹ , Mashima I ¹ , Miyakawa H ¹ , Kamaguchi A ¹ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Health Sci. Univ. of Hokkaido Sch. of Dent.)
P2-174	<i>Porphyromonas gingivalis</i> strains have varying sialic acid-binding positively-charged amino acid residues found in the sialidase domain ○Cueno M ¹ , Kamio N ^{1,2} , Imai K ^{1,2} , Tamura M ^{1,2} , Ochiai K ^{1,2} (¹ Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Div. Immunol. Pathobiol., Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-175	Inhibitor of quinol peroxidase of aggressive periodontopathic bacterium ○Kawarai T ¹ , Konishi K ¹ (¹ Dept. of Microbiol., Sch. of Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-176	Inhibitory effect of terpene alcohol derived from essential oils on <i>Streptococcus mutans</i> biofilm ○Fujita M ¹ , Miyakawa H ¹ , Kamaguchi A ¹ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Health Sci. Univ. of Hokkaido, Sch. Dent.)
P2-177	Inhibitory effects on oral candidiasis and migration using oral care gel ○Tamura M ^{1,2} , Ohya M ¹ , Abe K ¹ , Ochiai K ^{1,2} (¹ Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Div. Immunol. Pathobiol., Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-178	Characterization of <i>Streptococcus criceti</i> dextran-binding lectin B gene in <i>Streptococcus mutans</i> ○Tamura H ¹ , Yamada A ¹ , Kato H ¹ (¹ Div. of Bioregulatory Pharmacol., Dept. of Pharmacol., Iwate Med. Univ.)

P2-179	Comparative study on drug susceptibility of <i>Candida albicans</i> and <i>Candida dubliniensis</i> ○Nakamura K ¹ (¹ Adv. Res. Center, The Nippon Dent. Univ. Sch. of Life Dent. at Niigata)
P2-180	The effect of nitrogen sources on the acid production and the growth of oral <i>Actinomyces</i> ○Norimatsu Y ^{1,2} , Kawashima J ^{2,3} , Yamamoto T ¹ , Takahashi N ² (¹ Div. of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Div. of Oral Ecol. and Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent., ³ Div. of Periodontol. and Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)
P2-181	PRIP controls autophagosomal maturation containing <i>Staphylococcus aureus</i> ○Harada K ¹ , Kanematsu T ¹ (¹ Div. of Cellular and Molecular Pharmacol., Grad. Sch. of Biomed. Sci, Hiroshima Univ.)
P2-182	Role of putative ECF sigma factor on biofilm formation of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Kikuchi Y ^{1,2} , Shibayama K ² , Kokubu E ^{1,2} , Ohara N ³ , Nakayama K ⁴ , Ishihara K ² (¹ Oral Health Sci. Center., Tokyo Dent. Coll. , ² Dept. Microbiol., Tokyo Dent. Coll. , ³ Dept. Oral Microbiol., Okayama Univ. Sch. Dent. , ⁴ Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ.)
P2-183	Involvement of Por secretion system in biofilm formation by <i>Capnocytophaga ochracea</i> ○Kita D ¹ , Kikuchi Y ² , Kokubu E ² , Shibayama K ² , Saito A ¹ , Ishihara K ² (¹ Dept. of Periodontol., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Microbiol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-184	Possibility of contact dependent activation by oral bacteria ○Kamaguti A ¹ , Osada K ² , Shibui T ³ , Niioka T ⁴ , Okamoto M ⁵ , Takada K ⁶ , Fujita M ¹ , Ishii H ² , Sakakura Y ³ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol. Sch. Dent. Health. Sci. Univ. Hokkaido, ² Dept. Oral Phy. Sch. Dent. Health. Sci. Univ. Hokkaido, ³ Dept. Anat. Sch. Dent. Health. Sci. Univ. Hokkaido, ⁴ Sch. Pha. Sci./Cen. Dev. Hig. Edu. Health Sci. Univ. Hokkaido, ⁵ Dept. Oral Microbiol. Sch. Med. Tsurumi Univ., ⁶ Dept. Oral Microbiol. Nihon Univ. Sch. Dent. Matsudo)
P2-185	Genes encoding multi-component type drug efflux pumps in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Inoue T ¹ , Taguchi Y ² , Kano K ³ , Nakayama M ¹ , Ohara N ¹ (¹ Dept. of Oral Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ² Dept. of Periodontal Sci., Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm., ³ Dept. of Orthodontics, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent. & Pharm.)
P2-186	A possible application of the natural apatite crystal for biomedical field ○Miake Y ¹ , Mishima H ² , Shimoda S ³ (¹ Dept. of Ultrastructural Sci., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. of Med. Hygiene, Dent. Hygiene, Kochi Gakuen Coll., ³ Dept. of Oral Anat., Tsurumi Univ., Sch. of Dent. Med.)
P2-187	Resorption analysis of xenograft deproteinized bovine bone mineral ○Arai H ¹ , Yanagisawa N ¹ , Suzuki O ² , Nakamura M ¹ (¹ Oral Anat. & Dev. Biol., Showa Univ. Sch. of Dent., ² Div. of Craniofacial Function Engineering, Tohoku Univ. Grad. Sch. of Dent.)