

プログラム

特別講演 (PL-1)

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-3)

日本学術会議シンポジウム (CS-1～CS-4)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS-1～KS-5)

ロッテ基金特別シンポジウム (FS-1～FS-4)

メインシンポジウム (MS1～MS2)

サテライトシンポジウム (SS1～SS15)

ランチョンセミナー (LS1～LS3)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

■ 特別講演（ロツテ基金講演）

PL-1

Sankar Ghosh

(Dept. Microbiol. & Immunol., Coll. Physicians & Surgeons, Columbia Univ.)

「Regulation of NF- κ B in inflammation and immunity」

座長：自見英治郎（九歯大 分子情報生化）

日時：9月26日（金）13：00～14：00

会場：A会場（メインホール）

■ ライオン学術賞受賞講演

L-1

西村 理行

（阪大 院歯 生化）

「骨形成過程における転写制御プログラムの統合的理解の解明」

座長：大浦 清（大歯大 薬理）

日時：9月26日（金）16：30～17：00

会場：A会場（メインホール）

■ 歯科基礎医学会賞受賞講演

第26回歯科基礎医学会賞

日時：9月27日（土）11：15～11：45

会場：A会場（メインホール）

【病理学部門】座長：高田 隆（広大院医歯薬保 口腔顎顔面病理病態）

Y-1：常木 雅之（イェール大 医 病理）

「口腔腫瘍組織構築における腫瘍実質細胞・細胞外基質間相互作用の統合的理解」

受賞対象論文：Podoplanin-mediated cell adhesion through extracellular matrix in oral squamous cell carcinoma. Laboratory Investigation 93 巻 921 頁～932 頁（2013年発行）

【薬理学部門】座長：大浦 清（大歯大 薬理）

Y-2：林 良憲（九大 院歯 口腔機能分子科学）

「BK チャネルを介した疼痛制御機構の解明」

受賞対象論文：Microglial Ca^{2+} -activated K^+ channels are possible molecular targets for the analgesic effects of S-ketamine on neuropathic pain. The Journal of Neuroscience 31 巻 17370 頁～17382 頁（2011 年発行）

【微生物学部門】座長：西原 達次（九歯大 感染分子生物）

Y-3：住友 倫子（阪大 院歯 口腔細菌）

「A 群レンサ球菌の分泌型プロテアーゼによる宿主細胞間接着分子の分解」

受賞対象論文：Group A streptococcal cysteine protease cleaves epithelial junctions and contributes to bacterial translocation. Journal of Biological Chemistry 288 巻 13317 頁～13324 頁（2013 年発行）

■ 日本学術会議シンポジウム

「超高齢社会における歯科基礎医学の役割」

日時：9 月 27 日（土）9：00～11：00

会場：A 会場（メインホール）

オーガナイザー：脇坂 聡

（阪大 院歯 口腔解剖 1、日本学術会議連携会員）

山口 朗

（医科歯科大 院医歯 口腔病理、日本学術会議会員）

CS-1：滝川 正春（岡大 歯 先端領域研究セ）：

「超高齢社会における歯科基礎医学の役割：機能的観点から ～CCN ファミリーメンバー 2 のアンチエイジング作用～」

CS-2：山口 朗（医科歯科大 院医歯 口腔病理）：

「超高齢社会における歯科基礎医学の役割：形態的観点から」

CS-3：遠藤 玉夫（都健康長寿医療セ研）：

「超高齢化社会における基礎老化研究の意義」

CS-4：平田 雅人¹、溝上 顕子¹、川久保-安河内友世¹、竹内 弘²

（¹九大 院歯 口腔細胞工学、²九歯大 応用薬理）：

「超高齢社会における歯科基礎医学の役割：骨-腸-代謝関連シグナルの解明による全身の健康維持への情報発信」

■ 歯科基礎医学会学術シンポジウム

「口腔そして全身での免疫応答の最前線」

日時：9月26日（金）9：00～11：30

会場：A 会場（メインホール）

オーガナイザー：桑田 啓貴（昭大 歯 口腔微生物）
田中 芳彦（福歯大 感染生物）

KS-1：吉村 昭彦（慶應大 医 微生物・免疫）：

「TGF β とNR4aによる抑制性T細胞の分化制御」

KS-2：戸村 道夫（京大 院医 次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点）：

「免疫細胞の臓器間移動からみた口腔－全身免疫系の理解」

KS-3：福井 宣規（九大 生医研 免疫遺伝）：

「免疫細胞の遊走・活性化におけるDOCKファミリー分子の役割とその制御機構」

KS-4：竹田 潔（阪大 院医 免疫制御、免疫学フロンティア研究セ）：

「消化管粘膜の免疫応答機構とその異常」

KS-5：東 みゆき（医科歯科大 院医歯 分子免疫）：

「口腔免疫応答における制御機構」

■ ロッテ基金特別シンポジウム

「TRPチャネルの多様な生体機能と治療標的としての展開」

日時：9月27日（土）13：30～15：30

会場：A 会場（メインホール）

オーガナイザー：井上 隆司（福岡大 医 生理）
岡部 幸司（福歯大 細胞生理）

FS-1：井上 隆司（福岡大 医 生理）：

「口腔医学におけるTRPチャネルの生理学的・病態生理学的役割－overview－」

FS-2：松下 正之（琉大 院医 分子・細胞生理）：
「肝臓脂質代謝・歯牙形成機構と TRP チャネル」

FS-3：Seog Bae Oh（Dept. Neurobiol. & Physiol., Sch. Dent., Seoul National Univ.）：
「Targeting dental pain with TRP channels：from mechanisms to therapeutics」

FS-4：富永 真琴（岡崎統合バイオ 細胞生理）：
「TRP チャネルと痛覚を含む口腔内感覚」

■ メインシンポジウム

メインシンポジウム 1

「全身疾患とオーラルバイオサイエンス：歯の発生、顎関節症との関連」

日時：9月26日（金）9：00～11：00

会場：B 会場（409+410）

オーガナイザー：大島 勇人（新大 院医歯 硬組織形態）
沢 禎彦（福歯大 生体構造）

MS1-1：深田 俊幸（昭大 歯 口腔病理、理研 統合生命医科研セ）
「亜鉛シグナリングから究明する口腔医学と個体恒常性」

MS1-2：依田 浩子（新大 院医歯 硬組織形態）
「歯の形態形成を制御する糖代謝機構」

MS1-3：澁川 義幸¹、加藤 隆^{2,3}
（¹東歯大 生理、²慶應大 医 精神神経科学、³Univ. Aachen）
「顎関節症と統合失調症では口腔機能と関連する大脳皮質ミラーニューロンシステムに機能変調が存在する」

MS1-4：山崎 英俊（三重大 院医 幹細胞）
「神経堤及び中胚葉由来細胞の分化能と胸腺や骨髄での両細胞の役割」

メインシンポジウム2

「発生・分化・癌化を決める遺伝子スイッチ」

日時：9月27日（土）9：00～11：00

会場：B会場（409+410）

オーガナイザー：二藤 彰（鶴見大 歯 薬理）

山崎 純（福歯大 分子機能制御）

MS2-1：佐々木裕之（九大 生医研 エピゲノム制御）

「個体発生のエピゲノム制御：ゲノムインプリンティングをモデルとして」

MS2-2：木村 宏（阪大 生命機能、東工大 生命理工）

「発生・分化に伴うヒストン修飾のダイナミクス」

MS2-3：八田 光世¹、永沼 香織^{1,2}、山崎 純¹

（¹福歯大 分子機能制御 ²福歯大 口腔外科）

「口腔がん細胞におけるエピジェネティック変異」

MS2-4：安倍 真澄（放射線医学総合研）

「ゲノム初期化は多くのポイントミューテーションを伴う」

■ サテライトシンポジウム

サテライトシンポジウム1

「歯周病・糖尿病・アルツハイマー病の負のスパイラルを断ち切る：口腔からの健康寿命延伸戦略」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：B-1会場（409）

オーガナイザー：中西 博（九大 院歯 口腔機能分子科学）

西村 英紀（九大 院歯 歯周病）

SS1-1：歯周病と糖尿病を繋ぐ分子基盤

西村 英紀（九大 院歯 歯周病）

SS1-2：アルツハイマー病脳における糖尿病関連遺伝子の発現異常とその意義：久山町研究

外間 政朗^{1,2}、岡 素雅子^{1,3}、Julio Leon¹、二宮 利治⁴、本田 裕之⁵、佐々木健介⁵、岩城 徹⁵、小原 知之⁶、清原 裕⁷、中別府雄作^{1,3}
(¹九大 生医研 脳機能制御、²九大 院医 脳神経外科、³九大 ヌクレオチドプール研究セ、⁴九大 院医 総合コホート研究セ、⁵九大 院医 神経病理、⁶九大 院医 精神病態医学、⁷九大 院医 環境医学)

SS1-3：アルツハイマー病増悪因子としての歯周病の可能性

松下 健二 (国立長寿セ 口腔疾患)

SS1-4：歯周病菌による脳髄膜を介したミクログリアの活性化

武 洲、中西 博 (九大 院歯 口腔機能分子科学)

サテライトシンポジウム 2

「癌の分子標的治療から分子標的予防医学へ」

日時：9月25日(木) 15:20~17:20

会場：B-1 会場 (409)

オーガナイザー：畑 隆一郎 (神歯大 院 口腔難治疾患研究セ)

SS2-1：口腔癌の分子標的治療：抗腫瘍性ケモカイン CXCL14 のエピジェネティクス異常を指標としたセツキシマブ投与前評価の基礎的研究

小澤 重幸 (神歯大 院 顎顔面外科)

SS2-2：癌の分子標的治療から分子標的予防医学へ

畑 隆一郎 (神歯大 院 口腔難治疾患研究セ)

SS2-3：癌と NKT 細胞とケモカイン CXCL16 の役割

島岡 猛士 (東大 院医 分子予防医学)

SS2-4：がんと NK 細胞

小笠原康悦

(東北大 加齢医学研 生体防御、東北大 院歯 難治疾患・口腔免疫)

サテライトシンポジウム 3

「口腔機能に關与するイオンチャネル/ニューロン/神経回路研究の最前線：第 1 部～大脳皮質における情報処理機構～」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：B-2 会場（410）

オーガナイザー：姜 英男（阪大 院歯 口腔生理）

兼松 隆（広大 院医歯薬保 細胞分子薬理）

SS3-1：匂いの情報処理から認識へ

佐原 資謹¹、深見 秀之¹、堀江 沙和^{1,2}、樋口さとみ³、佐々木真理³
（¹岩医大 生理 病態生理、²岩医大 医歯薬総研 腫瘍生物、³岩医大 医歯薬総研 超高磁場 MRI）

SS3-2：口腔ストレスによる梨状皮質-傍梨状核ニューロンの活動性の上昇

吉村 弘（徳大 院 HBS 口腔分子生理）

SS3-3：In vivo 光学計測によるラット島皮質歯髄応答ニューロンの時空間的特性の解析

小林 真之（日大 歯 薬理、理研 分子イメージング科学研究セ）

SS3-4：大脳皮質体性感覚野バレル領野におけるカラム間の周期的同期化機構

豊田 博紀、佐藤 元、齋藤 充、河野 奨、姜 英男
（阪大 院歯 口腔生理）

サテライトシンポジウム 4

「口腔機能に關与するイオンチャネル/ニューロン/神経回路研究の最前線 第 2 部～顎運動制御・摂食調節～」

日時：9月25日（木）15：20～17：20

会場：B-2 会場（410）

オーガナイザー：若森 実（東北大 院歯 歯科薬理）

井上 富雄（昭大 歯 口腔生理）

SS4-1：三叉神経運動ニューロンの序列動員の基盤となるイオンチャネル機構

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 顎顔面口腔矯正）

SS4-2：下顎および舌運動制御の神経メカニズム

井上 富雄¹、中村 史朗¹、中山希世美¹、望月 文子¹、吉田 篤²、
清本 聖文¹（¹昭大 歯 口腔生理、²阪大 院歯 高次脳口腔機能）

SS4-3：海馬 CA3 領域でのシナプス伝達に対する抗けいれん薬フェニトインの作用

窪田 寿彦、吉田 卓史、若森 実（東北大 院歯 歯科薬理）

SS4-4：PRIP が調節する GABA シグナリングと摂食調節

兼松 隆（広大 院医歯薬保 細胞分子薬理）

サテライトシンポジウム 5

「藤田恒太郎原著「歯の解剖学」の未解決問題を考える～歯と顎
の形態進化に着目して～」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：C 会場（405+406）

オーガナイザー：土門 卓文（北大 院歯 口腔解剖）

大島 勇人（新大 院医歯 硬組織形態）

SS5-1：歯冠・歯根表面と DEJ そして歯髓腔形態の関連性と進化の検討

小澤 幸重（日大 松戸歯）

SS5-2：上顎大白歯の退化傾向に関する藤田理論を再考する：形態地図法を用いた定
量化による検討

森田 航¹、森本 直記²、大島 勇人¹

（¹新大 院医歯 硬組織形態、²京大 院理 自然人類）

SS5-3：歯頸線の形態とその歯面分布について

土門 卓文（北大 院歯 口腔解剖）

SS5-4：先天性多数歯欠損患者での残存歯の形態

須田 直人（明海大 歯 歯科矯正）

サテライトシンポジウム 6

「魚類からたどる歯の進化と多様性」

日時：9月25日（木）15：20～17：20

会場：C会場（405+406）

オーガナイザー：田畑 純（医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物）
 笹川 一郎（日歯大 新潟生命歯 先端研）

SS6-1：無顎類 メクラウナギの角質歯は真菌の原型か？

石山巳喜夫（日歯大 新潟生命歯 解剖2）

SS6-2：エナメロイドとエナメル質の相違

笹川 一郎（日歯大 新潟生命歯 先端研）

SS6-3：メダカ咽頭歯の多換性とその維持機構

高野 吉郎（医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物）

SS6-4：キングサーモンの歯の交換

土門 卓文（北大 院歯 口腔解剖）

SS6-5：シーラカンスのウロコ小歯の構造と歯の進化

田畑 純（医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物）

SS6-6：サメ類の皮小歯の発生・構造・多様性

後藤 仁敏（鶴見大 歯）

サテライトシンポジウム 7

「間葉系幹細胞の直接的／間接的な組織再生への関与を考える」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：D会場（411）

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）

SS7-1：歯根膜幹細胞の多様な特性およびその有用性

和田 尚久（九大 病院 歯内治療）

SS7-2：間葉系幹細胞移植におけるレシピエントの組織・細胞の反応

山座 孝義（九大 院歯 分子口腔解剖）

SS7-3：抜歯窩および歯周組織欠損部における細胞移植の組織再生の効果

本田 雅規¹、真下 貴之²、鶴町 仁奈³、秋田 大輔⁴、鳥海 拓¹、
磯川桂太郎¹（¹日大 歯 解剖Ⅱ、²日大 歯 口腔外科、³日大 院歯、
⁴日大 歯 歯科補綴Ⅱ）

SS7-4：間葉系幹細胞誘導性インプラント周囲粘膜の構築

熱田 生¹、鮎川 保則¹、山座 孝義²、近藤 綾介¹、松浦 由梨¹、
古谷野 潔¹（¹九大 病院 義歯補綴、²九大 院歯 分子口腔解剖）

サテライトシンポジウム 8

「歯根と歯周組織発生の分子機構解明の新たな展開と歯科疾患へのアプローチ」

日時：9月25日（木）15：20～17：20

会場：D 会場（411）

オーガナイザー：原田 英光（岩医大 解剖 発生・再生）

岡 暁子（福歯大 成育小児歯科）

SS8-1：遺伝性疾患における歯根の異常

須田 直人（明海大 歯 歯科矯正）

SS8-2：歯根発生メカニズムの新規仮説と歯根形態異常

熊上 深香、大津 圭史、藤原 尚樹、原田 英光
（岩医大 解剖 発生・再生）

SS8-3：歯根発生過程における細胞骨格制御因子の役割とその異常

福本 敏¹、日野 綾子¹、山田 亜矢¹、大津 圭史²、新垣真紀子¹、
齋藤 幹¹、中村 卓史¹、原田 英光²
（¹東北大 院歯 小児発達歯科、²岩医大 解剖 発生・再生）

SS8-4：ヘルトウィッチ上皮鞘の発育と神経ペプチド

川島 伸之（医科歯科大 院医歯 歯髓生物）

SS8-5：歯周組織発生制御における HERS の新規役割

岡 暁子¹、板家 智¹、吉良 廸子¹、藤原 尚樹²、原田 英光²
（¹福歯大 成育小児歯科、²岩医大 解剖 発生・再生）

サテライトシンポジウム 9

「口腔感染症の病因論に関する新展開」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：E会場（412）

オーガナイザー：福島 久典（大歯大 細菌）
山下 喜久（九大 院歯 口腔予防医学）

SS9-1：メタ 16S rRNA 遺伝子解析に基づく口腔常在細菌叢の把握
山下 喜久（九大 院歯 口腔予防医学）

SS9-2：*Prevotella intermedia* と誤嚥性肺炎
柳原 克紀（長大 院医歯薬 病態解析・診断）

SS9-3：*Prevotella intermedia* のバイオフィルム形成能と病原性
山中 武志（大歯大 細菌）

SS9-4：*Rothia mucilaginosa* の2面性
南部 隆之（大歯大 細菌）

SS9-5：*Porphyromonas gingivalis* によるタンパクシトルリン化と関節リウマチとの
関連
小林 哲夫（新大 病院 歯科総合診療）

サテライトシンポジウム 10

「口腔バイオフィルム研究の最前線：若手研究者によるチャレンジ」

日時：9月25日（木）15：20～17：20

会場：E会場（412）

オーガナイザー：浜田 信城（神歯大 微生物感染）
吉田 明弘（松歯大 口腔細菌）
宮川 博史（北医大 歯 口腔細菌）
佐藤 拓一（東北大 院歯 口腔生化）
大島 朋子（鶴見大 歯 口腔微生物）

SS10-1：Dental plaque as a biofilm and a microbial community—implications for
treatment
Philip D. Marsh（Public Health England, Oral Microbiol., Univ. Leeds）

SS10-2 : PCR-dipstick DNA chromatography for multiplex analysis of oral microbiota

Lingyang Tian¹, Takuichi Sato¹, Kousuke Niwa², Gen Mayanagi¹,
Keiko Yamaki³, Mitsuo Kawase², Anne C.R. Tanner⁴,
Nobuhiro Takahashi¹

(¹Div. Oral Ecol. Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ²Tohoku Univ. Grad. Sch. Biomed. Engin., ³Div. Periodontol. Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ⁴Dept. Microbiol., The Forsyth Institute)

SS10-3 : *Porphyromonas gulae* 41-kDa 線毛による破骨細胞分化誘導とサイトカイン産生について

佐々木 悠、渡辺 清子、浜田 信城 (神歯大 院歯 微生物感染)

SS10-4 : プロバイオティクスとプレバイオティクスの融合による新規口腔シンバイオティクスの開発

小島由佳子¹、大島 朋子¹、Chaminda JAA Seneviratne²、前田 伸子¹
(¹鶴見大 院歯 口腔微生物、²Dept. Oral Sci, Natl. Univ. Singapore)

SS10-5 : *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェシクルは、エポキシ磁性ビーズと種特異的に非共有結合する

中尾 龍馬、泉福 英信 (国立感染研 細菌1)

サテライトシンポジウム 11

「若手の口腔生理学研究最前線」

日時：9月25日(木) 13:00~15:00

会場：F会場(413)

オーガナイザー：山村 健介(新大 院医歯 口腔生理)
船橋 誠(北大 院歯 口腔生理)

SS11-1 : 味蕾から分泌される消化管ホルモンは味質特異的な情報伝達に関与する

高井 信吾¹、安松 啓子²、岩田 周介¹、井上真由子¹、吉田 竜介¹、
重村 憲徳¹、Daniel J. Drucker³、Robert F. Margolskee⁴、二ノ宮裕三^{1,2}
(¹九大 院歯 口腔機能解析、²九大 味覚嗅覚セ 感覚生理、³トロント
大 医 マウントサイナイ病院、⁴モネル化学感覚セ)

SS11-2 : 島皮質における化学感覚の統合機構

溝口 尚子¹、小林 真之²、村本 和世¹
(¹明海大 歯 生理、²日大 歯 薬理)

SS11-3：エストロゲンが痛みの制御に与える影響

田代 晃正 (防衛医大 生理)

SS11-4：情動ストレスが顎関節痛を増大させる脳メカニズム

岡本圭一郎、David A. Bereiter (ミネソタ大 歯 診断生物科学)

サテライトシンポジウム 12

「第 28 回唾液腺談話会 —唾液腺構造・機能解析から診断へ—」

日時：9月25日(木) 15:20~17:20

会場：F 会場 (413)

オーガナイザー：山崎 純 (福歯大 分子機能制御)

谷村 明彦 (北医大 歯 薬理)

SS12-1：外科的刺激後のラット顎下腺筋上皮細胞の形態変化

川邊 好弘^{1,2}、溝部 健一^{1,2}、天野 修²

(¹明海大 歯 オーラル・リハビリ、²明海大 歯 解剖)

SS12-2：胎仔マウス唾液腺上皮の発生を制御する組織間マイクロ RNA 輸送

林 徹^{1,2}、柏俣 正典¹、Matthew P. Hoffman²

(¹朝日大 歯 歯科薬理、²Lab. Cell & Develop. Biol., NIDCR, NIH)

SS12-3：ラット耳下腺小葉内導管における細胞内 pH とイオン電流測定に基づく重炭酸イオン分泌機構の解析

廣野 力、上野 可織、北川 道憲、杉田 誠、柴 芳樹

(広大院医歯薬保 口腔生理)

SS12-4：生きた動物における顎下腺 Ca²⁺応答のリアルタイムイメージングと唾液分泌の同時測定

根津 顕弘¹、森田 貴雄¹、東城 庸介²、谷村 明彦¹

(¹北医大 歯 薬理、²北医大 歯 生物物理)

SS12-5：メタボロームを用いた唾液から疾患マーカーの探索

杉本 昌弘 (慶應大 先端生命科学研)

サテライトシンポジウム 13

「超微形態の新時代 ～歯科領域で開花する FIB 連続切削+3 次元電子顕微鏡解析～」

日時：9月25日（木）13：00～15：00

会場：G 会場（414）

オーガナイザー：上岡 寛（岡大 院医歯薬 歯科矯正）
 藺村 貴弘（金沢医大 医 解剖 2）

SS13-1：中枢神経組織における FIB-SEM と共焦点レーザー顕微鏡の Correlative 3 次元再構築法

藺村 貴弘¹、古田 貴寛²、中谷 郁子³、山本 洋³、本間 智¹、
金子 武嗣²（¹金沢医大 解剖 2、²京大 院医 高次脳形態、³日立ハイテクサイエンス 解析技術）

SS13-2：歯根膜における歯根膜線維の走行と細胞性ネットワークの 3 次元超微形態解析

平嶋 伸悟^{1,2}、太田 啓介¹、金澤知之進¹、都合重記暢³、楠川 仁悟²、
中村桂一郎¹（¹久留米大 医 顕微解剖、²久留米大 医 歯口セ、³久留米大 医 電顕室）

SS13-3：直交配置型 FIB-SEM による骨の 3 次元観察

上岡 寛（岡大 院医歯薬 歯科矯正）

SS13-4：未脱灰象牙質における超微細形態の 3 次元再構築法

三浦 治郎（阪大 院歯 口腔総合診療）

SS13-5：象牙質接着界面の 3 次元観察

長岡 紀幸（岡大 歯 先端領域研究セ）

サテライトシンポジウム 14

「骨吸収と骨形成の共役機構」

日時：9月25日（木）15：20～17：20

会場：G 会場（414）

オーガナイザー：宇田川信之（松歯大 生化）
 高見 正道（昭大 歯 歯科薬理）

SS14-1：RANKL 結合ペプチドの骨吸収抑制作用と骨形成促進作用

青木 和広¹、菅森 泰隆¹、加藤 玄樹¹、上原 智己²、新井 祐貴³、
Md. Zahirul Haq Bhyuan¹、Neil Alles¹、Masud Khan¹、高橋真理子¹、
田村 幸彦¹、若林 則幸³、大谷 啓一^{1,4}
(¹医科歯科大 院医歯 硬組織薬理、²医科歯科大 院医歯 小児歯科、
³医科歯科大 院医歯 部分床義歯補綴、⁴放送大)

SS14-2：骨芽細胞分化における BMP シグナルと NF κ B シグナルのクロストーク

古株彰一郎¹、土屋-平田 志津^{1,2}、福島 秀文³、杉山 悟郎¹、片桐 岳信⁴、
自見英治郎¹ (¹九歯大 分子情報生化、²九歯大 保存治療、³福歯大 細胞
生理、⁴埼医大 ゲノム 病態生理)

SS14-3：骨細胞による破骨細胞分化に対する負の制御

佐藤 卓也、林田千代美、羽毛田慈之 (明海大 歯 口腔解剖)

SS14-4：破骨細胞と骨芽細胞の分化を制御する RANKL 信号伝達

中村美どり¹、古屋優里子²、保田 尚孝³、宇田川信之¹
(¹松歯大 生化、²オリエンタル酵母 長浜研、³オリエンタル酵母 バイ
オ)

SS14-5：破骨細胞の前駆細胞形成における骨芽細胞と炎症性刺激の役割

高見 正道¹、榎本 拓哉²、山本 松男²、上條竜太郎³
(¹昭大 歯 歯科薬理、²昭大 歯 歯周病、³昭大 歯 口腔生化)

サテライトシンポジウム 15

「TRP チャネルからみた口腔顎顔面領域の機能」

日時：9月25日(木) 13:00~15:00

会場：H会場 (402+403)

オーガナイザー：城戸 瑞穂 (九大 院歯 分子口腔解剖)

篠田 雅路 (日大 歯 生理)

SS15-1：口腔粘膜上皮メンテナンスに関わる温度感受性 TRP チャネル

城戸 瑞穂、合島怜央奈、木附 智子、張 旌旗、大崎 康吉
(九大 院歯 分子口腔解剖)

SS15-2：Odontoblast hydrodynamic receptor theory：TRP チャネルによって仲介される象牙質痛覚発現機構

澁川 義幸、佐藤 正樹、木村 麻記、小島 佑貴、東川明日香、
小倉 一宏、望月 浩幸、田崎 雅和 (東歯大 生理)

SS15-3：オイゲノールによる鎮痛作用メカニズムの解明

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)

SS15-4：TRP チャネルの口腔顎顔面領域における疼痛調節機構

篠田 雅路、大原 絹代、浦田健太郎、鈴木 安住、岩田 幸一
(日大 歯 生理)

■ ランチョンセミナー

ランチョンセミナー 1 (共催：味の素株式会社)

「世界が注目する“うま味 (UMAMI)” —その医療への活用を探る」

日時：9月26日 (金) 11:45~12:45

会場：B会場 (409+410)

座長：二ノ宮祐三 (九大 院歯 口腔機能解析)

LS1-1：うま味研究最前線

畝山 寿之 (味の素 イノベーション研)

LS1-2：うま味の歯科医療への活用

笹野 高嗣、佐藤しづ子、庄司 憲明 (東北大 歯 口腔診断)

ランチョンセミナー 2 (共催：株式会社トランスジェニック)

「分子イメージングの可能性：歯学分野での応用と今後の展望」

日時：9月26日 (金) 11:45~12:45

会場：G会場 (414)

座長：濱藤 徹郎 (株式会社トランスジェニック)

LS2：分子イメージングの可能性：歯学分野での応用と今後の展望

江國 大輔 (岡大 病院 予防歯科)

ランチオンセミナー 3 (主催：エルゼビア・ジャパン株式会社)

「若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成の基本
と英語らしい論文の書き方」

日時：9月26日（金）11：45～12：45

会場：D会場（411）

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

LS3：若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成の基本と英語らしい論文
の書き方

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

■ 一般演題 (口演)

9月26日(金) 9:00~9:40 C会場 (404~406)

破骨細胞1 座長：高橋 直之 (松歯大 総歯研 硬組織疾患)

01-C1	Sykの分解を介した β 1-3グルカンによる破骨細胞分化制御機構 ○有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染分子生物)
01-C2	新たなCCN2結合因子DCL-1の破骨細胞分化における役割 ○青山 絵理子 ¹ 、星島 光博 ¹ 、服部 高子 ² 、久保田 聡 ¹ 、滝川 正春 ^{1,2} (岡大 歯 先端領域研究セ、 ² 岡大 院医歯薬 口腔生化)
01-C3	ユビキチンリガーゼSCF/ β -TRCPは、脱ユビキチン化酵素CYLDの量的制御を介し破骨細胞分化を制御する ○福島 秀文 ¹ 、長岡 良礼 ¹ 、永島 勝之 ¹ 、鍛冶屋 浩 ¹ 、岡本 富士雄 ¹ 、岡部 幸司 ¹ (福歯大 細胞生理)
01-C4	破骨細胞におけるポドソームの形成に関与するタンパク質の同定とその機能解析 ○岩竹 真弓 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (長大 院医歯薬 歯科薬理)

9月26日(金) 9:40~10:10 C会場 (404~406)

骨代謝1 座長：青木 和広 (医科歯科大 院医歯 硬組織薬理)

01-C5	ビスホスホネート製剤による破骨細胞の形成阻害のプレニル化合物による回復作用 ○長岡 良礼 ^{1,2} 、鍛冶屋 浩 ¹ 、佐々木 三奈 ^{1,2} 、永沼 香織 ² 、永島 勝之 ^{1,2} 、岡本 富士雄 ¹ 、福島 秀文 ¹ 、岡部 幸司 ¹ (福歯大 細胞生理、 ² 福歯大 口腔外科)
01-C6	アレンドロネート連日投与中・投与中止後における骨の細胞群における組織化学的变化 ○坪井 香奈子 ^{1,2} 、佐々木 宗輝 ^{1,3} 、長谷川 智香 ¹ 、虎谷 彌 ¹ 、織田 公光 ⁴ 、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、 ³ 長大 院医歯 インプラント、 ⁴ 新大 院医歯 口腔生化)
01-C7	ミノドロロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布の観察と骨の細胞群に対する影響 ○佐々木 宗輝 ^{1,2} 、本郷 裕美 ² 、小林 幸雄 ³ 、坂本 尚義 ³ 、網塚 憲生 ² (長大 院医歯薬 口腔インプラント、 ² 北大 院歯 硬組織発生生物、 ³ 北大 創成科学研 IIL3)

9月26日(金) 10:10~10:50 C会場 (404~406)

骨芽細胞 座長：片桐 岳信 (埼玉大 ゲノム研究セ)

01-C8	オステオポンチンはLMW-PTPを介して骨芽細胞の生理的応答性に影響を与える ○楠山 謙二 ^{1,2} 、坂東 健二郎 ² 、大西 智和 ² 、仙波 伊知郎 ¹ 、松口 徹也 ² (鹿大 院医歯 口腔病理解析、 ² 鹿大 院医歯 口腔生化)
01-C9	細胞外無機リン酸はDmp1の発現を誘導し骨細胞分化を促進する ○西野 仁 ^{1,2} 、道上 敏美 ¹ (大阪府立母子保健総合医療セ研 環境影響、 ² 阪大 院歯 口腔外科一)
01-C10	MC3T3-E1細胞において、MTAはATF6を介して石灰化を促進させる ○前田 豊信 ¹ 、鈴木 厚子 ¹ 、湯澤 仁 ¹ 、阿部 匡聡 ² 、加藤 靖正 ¹ (奥羽大 歯 口腔機能分子生物、 ² 奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
01-C11	機械的伸展刺激により縫合部組織において変化する細胞増殖ならびに分化関連因子の検討 ○池亀 美華 ¹ 、服部 淳彦 ² 、河井 まりこ ¹ 、山本 敏男 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態、 ² 医科歯科大 教養 生物)

9月26日(金) 10:50~11:30 C会場 (404~406)

骨代謝2 座長：高見 正道 (昭大 歯 歯科薬理)

01-C12	骨芽細胞に対する圧縮刺激により分泌されるIL-33を介した破骨細胞分化抑制メカニズム ○清宮 弘康 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染生物、 ² 九歯大 顎顔面外科)
01-C13	チャーガマッシュルーム水抽出エキスの経口投与によるラット大腿骨欠損部位の修復に及ぼす影響 ○Aldartsogt Dolgorsuren ¹ 、山下 菊治 ¹ 、Dalkhsuren Shine-od ¹ 、角田 佳折 ¹ 、関 伸一郎 ¹ 、北村 清一郎 ¹ (徳大 院HBS 口腔顎顔面形態)

01-C14	副甲状腺ホルモン(PTH)間歇投与の投与量・投与頻度の違いによる骨の細胞群の変化について ○山本 知真也 ¹ 、長谷川 智香 ¹ 、佐々木 宗輝 ² 、虎谷 彌 ¹ 、織田 公光 ³ 、網塚 憲生 ¹ (¹北大 院歯 硬組織、²長大 院歯歯薬 口腔インプラント、³新大 院歯歯 生化)
01-C15	副甲状腺ホルモン投与ならびに授乳期・カルシウム欠乏食で誘導される骨細胞周囲の骨基質解析について ○本郷 裕美 ¹ 、佐々木 宗輝 ² 、斎藤 雅美 ³ 、虎谷 彌 ¹ 、宇田川 信之 ⁴ 、網塚 憲生 ¹ (¹北大 院歯 硬組織、²長大 院 歯歯薬 口腔インプラント、³ブルカー AXS、⁴松歯大 口腔生化)

9月26日(金) 9:00~9:40 D会場 (411)

解剖・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：影山 幾男(日歯大 新潟生命歯 解剖1)

01-D1	咀嚼筋の下顎骨への付着形態獲得プロセス ○山本 将仁 ¹ 、北村 啓 ¹ 、山根 茂樹 ¹ 、梅澤 貴志 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (¹東歯大 解剖)
01-D2	CT画像計測法を用いた無歯顎症例における上顎洞の容積 ○高橋 雄輔 ¹ 、一條 幹史 ¹ 、土屋 真人 ¹ 、渡辺 孝夫 ¹ 、熊坂 さつき ² 、高橋 常男 ¹ (¹神歯大 院 3次元画像解剖、²駒大)
01-D3	切歯管周囲の骨内部構造~三次元立体構築像を用いた定量的評価~ ○福田 真之 ¹ 、松永 智 ¹ 、大峰 悠矢 ¹ 、笠原 正彰 ¹ 、小高 研人 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (¹東歯大 解剖)
01-D4	ヒト舌骨の3次元画像解剖学的検討~下顎骨形態との相関~ ○一條 幹史 ¹ 、土屋 真人 ¹ 、高橋 雄輔 ¹ 、高橋 常男 ¹ (¹神歯大 院 3次元画像解剖)

9月26日(金) 9:40~10:10 D会場 (411)

筋・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：佐藤 巖(日歯大 生命歯 解剖)

01-D5	間葉系細胞の共培養が骨格筋筋芽細胞のMHCに与える影響 ○梅澤 貴志 ¹ 、芹川 雅光 ¹ 、山根 茂樹 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (¹東歯大 解剖)
01-D6	Grocho/TLEはMyoDの転写活性を調節し筋分化を制御する ○古株 彰一郎 ¹ 、杉山 悟郎 ¹ 、佐藤 毅 ² 、依田 哲也 ² 、片桐 岳信 ³ 、自見 英治郎 ¹ (¹九歯大 分子情報生化、²埼玉大 医 口腔外科、³埼玉大 ゲノム医学研究セ 病態生理)
01-D7	β ₂ アドレナリン受容体刺激による咬筋肥大に対するcAMP活性化因子Epacの役割 ○大貫 芳樹 ¹ 、梅木 大輔 ¹ 、奥村 敏 ¹ (¹鶴見大 歯 生理)

9月26日(金) 10:10~10:50 D会場 (411)

老化・病態・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：田沼 順一(朝日大 歯 口腔病理)

01-D8	老化の病態の根底に生物学的事象 ○Bhawal Ujjal ¹ (¹日大 松戸歯 生化・分子生物)
01-D9	N-BPsはalkyl型・heterocyclic型を問わずリン酸トランスポーターSLC20/34を介して細胞内に取り込まれ炎症壊死を起す ○佐藤 衣莉 ^{1,2} 、土谷 昌広 ^{1,3} 、木山 朋美 ¹ 、大泉 丈史 ¹ 、山口 晃史 ¹ 、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 病院、³東北福祉大)
01-D10	Interleukin-17刺激により誘導された滑膜細胞の生物学的活性の解明 ○櫻井 拓真 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、西原 達次 ¹ (¹九歯大 感染生物、²九歯大 顎顔面外科)
01-D11	免疫調節膜表面分子Tim-3の破骨細胞での発現と炎症性骨破壊制御 森山 加奈子 ^{1,3} 、久木田 明子 ² 、上原 範久 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、久本 由香里 ¹ 、高橋 一郎 ³ 、○久木田 敏夫 ¹ (¹九大 院歯 分子口腔解剖、²佐賀大 医 微生物、³九大 院歯 矯正)

9月26日(金) 10:50~11:30 D会場(411)

特色ある教育・・・・・・・・・・・・・・・・座長：東城 庸介(北医大 歯 大学教育開発セ)

01-D12	歯科基礎医学教育におけるメモリーツリーを用いたチーム基盤型学習システム ○葛城 啓彰 ¹ (¹ 日歯大 新潟生命歯 微生物)
01-D13	3D-CT 画像を併用した解剖学教育と社会貢献 ○高橋 常男 ¹ (¹ 神歯大 院 三次元画像解剖)
01-D14	歯学部薬理学教育における学生主体型ロールプレイの有用性 ○山崎 純 ¹ 、柳田 俊彦 ² (¹ 福歯大 分子機能制御、 ² 宮崎大 医 臨床薬理)
01-D15	災害医療歯科学講座の役割 ○山田 良広 ¹ (¹ 神歯大 院災害医 法医歯科)

9月26日(金) 9:00~9:30 E会場(412)

発生・分化1・・・・・・・・・・・・・・・・座長：吉子 裕二(広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物)

01-E1	味蕾と唾液腺に分化する多能性上皮幹細胞の局在領域の同定 ○太田 正人 ^{1,2} (¹ 日女大 家政 食物 食物生物、 ² 医科歯科大 院医歯 分子発生)
01-E2	Shh シグナリングと Wnt シグナリングの相互関係が口唇の癒合に果たす役割 ○黒坂 寛 ¹ (¹ ストワーズ医学研)
01-E3	歯周靭帯形成を解析するための <i>in vivo</i> モデルの構築 ○吉本 由紀 ¹ 、宿南 知佐 ¹ (¹ 広大 院医歯薬保 生体分子機能)

9月26日(金) 9:30~10:10 E会場(412)

エピジェネティクス・・・・・・・・・・・・・・・・座長：安彦 善裕(北医大 歯 臨床口腔病理)

01-E4	ヒストンメチル化酵素 G9a による間葉系細胞の増殖と分化の調節 ○出野 尚 ^{1,3} 、島田 明美 ¹ 、上運天 太一 ² 、和田 悟史 ² 、小松 浩一郎 ¹ 、中村 芳樹 ² 、安倍 真澄 ³ 、中島 和久 ¹ 、二藤 彰 ^{1,3} (¹ 鶴見大 歯 薬理、 ² 鶴見大 歯 歯科矯正、 ³ 放医研 研基 C 遺伝子細胞情報)
01-E5	腱細胞の発生分化におけるヒストンメチル化酵素 G9a の機能 ○和田 悟史 ¹ 、出野 尚 ² 、島田 明美 ² 、上運天 太一 ¹ 、中島 和久 ² 、中村 芳樹 ¹ 、二藤 彰 ² (¹ 鶴見大 歯 矯正、 ² 鶴見大 歯 薬理)
01-E6	歯の発生分化におけるヒストンメチル化酵素の発現と機能 ○上運天 太一 ¹ 、出野 尚 ² 、島田 明美 ² 、中島 和久 ² 、中村 芳樹 ¹ 、二藤 彰 ¹ (¹ 鶴見大 歯 矯正、 ² 鶴見大 歯 薬理)
01-E7	ACTH 産生腺腫で低発現を認めた miR-551b の腺腫発症への関与 ○小野 信二 ¹ 、岩田 武男 ¹ 、水澤 典子 ¹ 、岩脇 有軌 ² 、吉本 勝彦 ¹ (¹ 徳大 院 HBS 分子薬理、 ² 徳大 院口腔教育 口腔顎顔面補綴)

9月26日(金) 10:10~10:50 E会場(412)

再生・・・・・・・・・・・・・・・・座長：本田 雅規(日大 歯 解剖Ⅱ)

01-E8	核初期化タンパク質複合体の分離法の確立 ○鎌野 優弥 ^{1,2} 、佐伯 万騎男 ³ 、矢谷 博文 ² 、江草 宏 ¹ (¹ 東北大 院歯 分子・再生歯科補綴、 ² 阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴、 ³ 新大 院医歯 歯科薬理)
01-E9	歯髄幹細胞由来スフェロイドはマトリゲル上に自発的な多分化能を示す ○肖 黎 ¹ 、熊澤 康雄 ² 、岡村 尚 ² (¹ 日歯大 生命歯 薬理、 ² 日歯大 生命歯 病院)
01-E10	ヒト抜去歯由来幹細胞の採取組織と分離法に関する再生医療学的検討 ○大浜 令 ^{1,2} 、須田 直人 ¹ 、中原 貴 ² (¹ 明海大 歯 歯科矯正、 ² 日歯大 生命歯 発生・再生医科)

01-E11

骨修復に対する効果的なサイトカイン投与法と血管新生とのかわり

○増田 智幸¹、大津 圭史²、藤原 尚樹²、熊上 深香²、原田 英光² (岩医大 歯 口腔外科、²岩医大 解剖 発生・再生)

9月26日(金) 10:50~11:30 E会場 (412)

発生・分化2 座長：福本 敏 (東北大 院歯 小児発達歯科)

01-E12

肺魚(南米産)のアメロジェニン遺伝子の分子生物学的解析-1

○石山 巳喜夫¹、三上 正人²、岡 俊哉³、中富 満城⁴、田畑 純⁵、佐藤 秋絵⁶、井上 孝二⁷、佐藤 哲二⁶ (日歯大 新潟生命歯 解剖 2、²日歯大 新潟生命歯 微生物、³日歯大 新潟生命歯 生物、⁴九歯大 頭頸部構造解析、⁵医科歯科大 院歯 硬組織構造生物、⁶鶴見大 歯 解剖組織細胞、⁷鶴見大 歯 電顕セ)

01-E13

肺魚(南米産)のアメロジェニン遺伝子の分子生物学的解析-2

○佐藤 秋絵¹、井上 孝二²、石山 巳喜夫³、三上 正人⁴、岡 俊哉⁵、中富 満城⁶、田畑 純⁷、佐藤 哲二¹ (鶴見大 歯 解剖組織細胞、²鶴見大 歯 電顕セ、³日歯大 新潟生命歯 解剖 2、⁴日歯大 新潟生命歯 微生物、⁵日歯大 新潟生命歯 生物、⁶九歯大 頭頸部構造解析、⁷医科歯科大 院歯 硬組織構造生物)

01-E14

発生過程における骨髄間葉系幹細胞の起源

○溝口 利英¹、宇田川 信之²、高橋 直之¹ (松歯大 総歯研、²松歯大 口腔生化)

01-E15

脂肪細胞分化におけるプロテインホスファターゼ PP2A C α の役割

○岡村 裕彦¹、寺町 順平¹、羽地 達次¹ (徳大 院 HBS 口腔組織)

9月26日(金) 9:00~9:30 F会場 (413)

微生物1 座長：高橋 信博 (東北大 院歯 口腔生化)

01-F1

Streptococcus mutans におけるマルトース代謝の解析

○佐藤 裕¹、東 俊文¹ (東歯大 生化)

01-F2

ストレス環境下における *Streptococcus anginosus* の硫化水素産生能の増大

○佐藤 節子¹、山口 泰平²、於保 孝彦² (鹿大 病院 口腔保健、²鹿大 院歯 予防)

01-F3

A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素が病原性に果たす役割

○山口 雅也¹、中田 匡宣¹、住友 倫子¹、川端 重忠¹ (阪大 院歯 口腔細菌)

9月26日(金) 9:30~10:00 F会場 (413)

微生物2 座長：川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)

01-F4

緑膿菌臨床分離株における抗菌薬抵抗性と病原性との関連

○村上 圭史¹、弘田 克彦¹、三宅 洋一郎¹ (徳大 院 HBS 口腔微生物)

01-F5

黄色ブドウ球菌の3組の2成分制御系因子による class I バクテリオシン耐性機構

○松尾 美樹¹、小松澤 均¹ (鹿大 院歯 口腔微生物)

01-F6

Veillonella tobetsuensis 由来の Autoinducer の検出と精製

○眞島 いづみ¹、鎌口 有秀²、宮川 博史²、藤田 真理²、中澤 太² (北医大 院歯、²北医大 歯 微生物)

9月26日(金) 10:00~10:40 F会場 (413)

神経1 座長：船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)

01-F7

口腔顔面感覚の三叉神経感覚核への入力を制御する前頭前皮質からの下行投射

○佐藤 文彦¹、藤尾 隆史¹、加藤 隆史¹、吉田 篤¹ (阪大 院歯 口腔解剖 2)

01-F8

顎運動に関与する三叉神経運動前ニューロンへの大脳皮質一次体性感覚野からの投射とその機能との関連

○内野 勝郎¹、東山 景一郎¹、加藤 隆文¹、佐藤 文彦¹、山村 健介²、吉田 篤¹ (阪大 院歯 口腔解剖 2、²新大院 院歯 口腔生理)

O1-F9	甘味溶液継続摂取マウスにおける鼓索神経および舌咽神経全線維束応答の解析 ○安松 啓子 ^{1,2} 、裕 哲崇 ³ 、二ノ宮 裕三 ^{1,2} (九大 院歯 口腔機能解析、 ² 九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理、 ³ 朝日大 歯 口腔生理)
O1-F10	カプサイシンの辛味認知およびそれに伴う自律神経系の活性化に関する神経機構 ○佐藤 元 ¹ 、川上 晋平 ² 、豊田 博紀 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、河野 奨 ¹ 、姜 英男 ¹ (阪大 院歯 高次脳口腔機能、 ² 森永製菓)

9月26日(金) 10:50~11:20 F会場 (413)

TRP チャネル・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：若森 実 (東北大 院歯 歯科薬理)

O1-F11	温度感受性 TRP チャネル活性化による新しい口腔上皮治癒機構の解明 ○合島 怜央奈 ^{1,2,3,4} 、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 組織神経解剖、 ⁴ 日本学術振興会)
O1-F12	ケラチノサイト遊走時におけるインテグリン及び TRPV1 チャネルの関与 ○宮崎 綾子 ¹ 、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 分子機能制御)
O1-F13	Merkel 細胞は機械刺激を受容し神経伝達を行う ○東川 明日香 ¹ 、小島 佑貴 ¹ 、木村 麻記 ¹ 、佐藤 正樹 ¹ 、小倉 一宏 ¹ 、望月 浩幸 ¹ 、澁川 義幸 ¹ 、田崎 雅和 ¹ (東歯大 生理)

9月27日(土) 9:00~9:40 C会場 (404~406)

骨形成・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：宇田川 信之 (松歯大 生化)

O2-C1	Sox21 による歯と骨形成への影響 ○齋藤 幹 ¹ 、福本 敏 ¹ (東北大 院歯 小児発達歯科)
O2-C2	DMP1 の翻訳後修飾に関する形態学的検討 ○大家 香織 ^{1,2} 、佐藤 淳 ¹ 、宇佐美 悠 ³ 、岸野 万伸 ¹ 、野田 百合 ¹ 、廣瀬 勝俊 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 歯病院 検査、 ⁴ 長大 院医歯薬 細胞生物)
O2-C3	ラットの血中 DMP1 値の加齢に伴う変化 ○佐藤 淳 ¹ 、宇佐美 悠 ² 、大家 香織 ¹ 、岸野 万伸 ¹ 、野田 百合 ¹ 、廣瀬 勝俊 ¹ 、小川 裕三 ¹ 、小守 壽文 ³ 、豊澤 悟 ¹ (阪大 院歯 口腔病理、 ² 阪大 歯病院 検査、 ³ 長大 院医歯薬 細胞生物)
O2-C4	レジスタンス運動直後のインスリン高刺激性糖摂取は、インスリン低刺激性糖摂取に比べて骨量・骨強度を増大させる ○納富 拓也 ^{1,2,3,4} 、大浦 清 ¹ 、野田 政樹 ^{2,3} (大歯大 薬理、 ² 医科歯科大 難治疾患研 分子薬理、 ³ 医科歯科大 GCOE 歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点、 ⁴ 筑波大 体育科学 運動栄養)

9月27日(土) 9:40~10:20 C会場 (404~406)

破骨細胞 2・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 歯科機能形態)

O2-C5	スフィンゴシン 1 リン酸は <i>in vitro</i> の破骨細胞形成系において分化促進する ○天野 均 ¹ 、納富 拓也 ¹ 、大浦 清 ¹ (大歯大 薬理)
O2-C6	細胞外マトリックス分子ラミニン 332 は破骨細胞形成を負に制御する ○上原 範久 ¹ 、久木田 明子 ² 、久本 由香里 ¹ 、久木田 敏夫 ¹ (九大 院歯 分子口腔解剖、 ² 佐賀大 医 微生物)
O2-C7	骨芽細胞における Klf4 の発現は破骨細胞成熟を抑制する ○藤川 順司 ^{1,2} 、阿部 真土 ¹ 、竹内 優斗 ^{1,3} 、脇坂 聡 ¹ (阪大 院歯 口腔解剖一、 ² 阪大 歯病院 障害者歯科治療、 ³ 阪大 院歯 顎顔面口腔矯正)
O2-C8	PKR は歯周病における LPS および TNF- α による破骨細胞形成促進の重要な因子である ○寺町 順平 ¹ 、森本 景之 ² 、岡村 裕彦 ¹ 、羽地 達次 ¹ (徳大 院 HBS 口腔組織、 ² 産業医大 医 解剖)

9月27日(土) 10:20~11:00 C会場 (404~406)

骨再生・材料・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：久保田 聡(岡大 院医歯薬 口腔生化)

O2-C9	ハニカムβ-TCPを用いた細胞外微小環境再現による硬組織再生 ○高島 清文 ¹ 、辻極 秀次 ² 、武部 祐一郎 ¹ 、藤井 昌江 ¹ 、河合 穂高 ¹ 、于 湊 ¹ 、長塚 仁 ¹ (¹ 岡大 院医歯薬 口腔病理、 ² 岡山理大 理 組織病態)
O2-C10	デンタルインプラント周囲顎骨における生体アパタイト結晶配向性 ○小高 研人 ¹ 、笠原 正彰 ¹ 、木下 英明 ¹ 、松永 智 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (¹ 東歯大 解剖)
O2-C11	チタンが骨内定着する生化学的機構：チタン結合リン蛋白質の骨増生機能について ○久保木 芳徳 ¹ 、古澤 利武 ² 、鶴沼 英郎 ² 、八上 公利 ³ 、滝田 裕子 ⁴ 、劉 闡 ¹ 、葦崎 正明 ¹ (¹ 北大 院地球環境科学環境適応、 ² 山形大 院工、 ³ 松歯大 院歯、 ⁴ 北大 院歯)
O2-C12	拔牙即時埋入後早期咬合負荷を与えたチタンインプラント周囲骨組織の組織学的検索 ○池田 欣希 ^{1,2} 、長谷川 智香 ² 、織田 公光 ³ 、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、 ³ 新大 院歯 口腔生化)

9月27日(土) 9:00~9:40 D会場 (411)

シグナル伝達・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：竹内 弘(九歯大 口腔応用薬理)

O2-D1	細胞接着分子CD44が規定する血管内皮細胞増殖制御機構 ○常木 雅之 ¹ (¹ イエール大 医 病理)
O2-D2	グルタミン酸による象牙芽細胞-象牙芽細胞間シグナル伝達 ○西山 明宏 ¹ 、佐藤 正樹 ² 、木村 麻記 ² 、田崎 雅和 ² 、片倉 朗 ² 、澁川 義幸 ² (¹ 東歯大 オーラルメディスン・口腔外科、 ² 東歯大 生理)
O2-D3	Smad8はBMPシグナルの新しいタイプの制御因子である ○片桐 岳信 ¹ 、藤本 舞 ¹ 、大澤 賢次 ¹ 、自見 英治郎 ² 、古株 彰一郎 ^{1,2} (¹ 埼玉大 ゲノム 病態生理、 ² 九歯大 分子情報生化)
O2-D4	Smad4 MH1ドメインとNF-kBp65サブユニットTA2ドメインの相互作用 ○杉山 悟郎 ¹ 、古株 彰一郎 ¹ 、多田 幸代 ¹ 、自見 英治郎 ¹ (¹ 九歯大 分子情報生化)

9月27日(土) 9:40~10:20 D会場 (411)

分子機能・発現・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：自見 英治郎(九歯大 分子情報生化)

O2-D5	新規分子PRIPによる細胞移動調節 ○浅野 智志 ¹ 、兼松 隆 ¹ (¹ 広大 院医歯薬保 細胞分子薬理)
O2-D6	エピプロフィンによる上皮細胞増殖制御機構 ○中村 卓史 ^{1,2} 、福本 敏 ¹ (¹ 東北大 院歯 小児発達歯、 ² 東北大 院歯 歯学イノベーションリエゾンセ)
O2-D7	マウスケラチノサイトにおけるGLCA遺伝子の発現調節因子 ○廣松 亮 ¹ 、八田 光世 ² 、坂上 竜資 ¹ 、山崎 純 ² (¹ 福歯大 口腔治療、 ² 福歯大 分子機能制御)
O2-D8	前駆脂肪細胞におけるD-dopachrome tautomerase遺伝子の転写調節 ○岩田 武男 ¹ 、栗林 恭子 ² 、吉本 勝彦 ¹ (¹ 徳大 院HBS 分子薬理、 ² 徳大 院HBS 口腔顎顔面矯正)

9月27日(土) 10:20~11:00 D会場 (411)

関節・軟骨1・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：西村 理行(阪大 院歯 生化)

O2-D9	Tet-offシステムを用いたBMP受容体ALK2発現ES細胞の樹立と機能解析 ○藤本 舞 ^{1,2} 、大澤 賢次 ¹ 、宮本 阿礼 ¹ 、古株 彰一郎 ¹ 、須田 直人 ² 、片桐 岳信 ¹ (¹ 埼玉大 ゲノム 病態生理、 ² 明海大 歯 歯科矯正)
O2-D10	Cbfbは軟骨細胞分化・増殖および骨芽細胞分化に必要な因子 ○秦 昕 ¹ 、松尾 友紀 ¹ 、姜 晴 ¹ 、森石 武史 ¹ 、六反田 賢 ^{1,2} 、宮崎 敏博 ¹ 、小守 壽文 ¹ (¹ 長大 院医歯薬 細胞生物、 ² 長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療)

02-D11	22q11.2 欠失症候群の頭蓋底軟骨分化に関わる Dgcr2 遺伝子機能の解析 ○梶原 景正 ¹ (東海大 医 基礎医)
02-D12	マウス下顎頭軟骨発生過程における Perlecan, DMP-1 および MEPE の発現に関する研究 ○藤川 芳織 ¹ 、田巻 玉器 ¹ 、守田 剛 ¹ 、柴田 俊一 ¹ (医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)

9月27日(土) 9:00~9:40 E会場 (412)

炎症・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：菅原 俊二 (東北大 院歯 口腔分子制御)

02-E1	ナノ粒子によるマクロファージ炎症の解析 1 ○古澤 慧美 ¹ 、小笠原 康悦 ¹ (東北大 院歯 難治・口腔免疫)
02-E2	ナノ粒子によるマクロファージ炎症の解析 2 ○小笠原 康悦 ¹ 、古澤 慧美 ¹ (東北大 院歯 難治・口腔免疫)
02-E3	<i>Streptococcus sanguinis</i> による NLRP3 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 口腔分子微生物、 ² 北医大 歯 微生物)
02-E4	β -1,3 glucan のインフラマゾーム活性制御メカニズムについて ○沖永 敏則 ¹ 、有吉 渉 ¹ 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染分子)

9月27日(土) 9:50~10:20 E会場 (412)

免疫応答 1・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：小笠原 康悦 (東北大 院歯 加齢生体防御)

02-E5	窒素含有 bisphosphonates による TLR4 リガンド誘導 IL-1 β 産生の増加に与える Smad3 活性化の影響 ○玉井 利代子 ¹ 、清浦 有祐 ¹ (奥羽大 歯 口腔病態解析制御)
02-E6	<i>Porphyromonas gingivalis</i> によるヒト歯肉上皮細胞の LL-37 発現誘導は IL-33 により下方制御される ○多田 浩之 ¹ 、松下 健二 ² 、高田 春比古 ¹ (東北大 院歯 口腔微生物、 ² 国立長寿セ)
02-E7	A 群レンサ球菌 CAMP ファクターのマクロファージに対する病原性解析 ○小田 真隆 ¹ 、黒澤 美絵 ¹ 、土門 久哲 ¹ 、寺尾 豊 ¹ (新大 院医歯 微生物)

9月27日(土) 10:30~11:00 E会場 (412)

免疫応答 2・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：小田 真隆 (新大 院医歯 微生物感染症)

02-E8	脂質代謝異常におけるマクロファージのリゾリン脂質アシル転移酵素群の役割 ○谷口 広祐 ^{1,3} 、引地 尚子 ² 、沖永 敏則 ³ 、西原 達次 ³ (九歯大 顎顔面外科、 ² 九歯大 口腔機能支援、 ³ 九歯大 感染生物)
02-E9	新規抑制性共刺激分子 VITSA の T 細胞依存的あるいは非依存的免疫応答における役割解析 ○大野 建州 ¹ 、東 みゆき ¹ (医科歯科大 院医歯 分子免疫)
02-E10	舌背および歯肉上皮の有棘細胞に恒常的に認められる免疫抑制 B7-H1 分子発現 ○康 思雯 ¹ 、大野 建州 ¹ 、東 みゆき ¹ (医科歯科大 院医歯 分子免疫)

9月27日(土) 9:00~9:40 F会場 (413)

微生物 3・・・・・・・・・・・・・・・・・・座長：葛城 啓彰 (日歯大 新潟生命歯 微生物)

02-F1	歯周病減菌ゲノム情報から紐解く細菌の競合・協調的相互作用 ○丸山 史人 ¹ 、渡辺 孝康 ² 、遠藤 亜希子 ² 、和泉 雄一 ² 、中川 一路 ¹ (京大 院医 微生物感染症、 ² 医科歯科大 院医歯 歯周病)
02-F2	歯周病原性細菌の新規オリゴペプチダーゼ：基質特異性と分子集合性 ○根本 孝幸 ¹ 、根本 優子 ¹ 、小野 俊雄 ¹ 、下山 佑 ² 、木村 重信 ² (長大 院医歯薬 口腔分子生化学、 ² 岩医大 分子微生物)

O2-F3	歯周病原性細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> の第三の線毛に関する研究 ○永野 恵司 ¹ 、吉田 康夫 ¹ 、長谷川 義明 ¹ 、吉村 文信 ¹ (愛院大 歯 微生物)
O2-F4	口腔 Actinomyces 属および口腔 Rothia 属細菌用遺伝子改変システムの開発 ○真下 千穂 ¹ 、南部 隆之 ¹ 、円山 由郷 ¹ 、山根 一芳 ¹ 、山中 武志 ¹ 、福島 久典 ¹ (大歯大 細菌)

9月27日(土) 9:40~10:20 F会場 (413)

歯周組織 1 座長：城戸 瑞穂 (九大 院歯 分子口腔解剖)

O2-F5	歯周炎における TLR シグナル抑制因子の解析 ○土門 久哲 ¹ 、小田 真隆 ¹ 、寺尾 豊 ¹ (新大 院医歯 微生物)
O2-F6	飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に関与する可能性 ○四釜 洋介 ¹ 、工藤 保誠 ² 、石丸 直澄 ² 、船木 真理 ¹ (徳大 病院 糖尿病対策セ、 ² 徳大 院 HBS 口腔分子病態)
O2-F7	口腔粘膜の角化におけるフィラグリンとカスパーゼ 14 の役割 ○村上 弘 ¹ 、有田 晴一 ¹ 、岡村 和彦 ² 、八田 光世 ³ 、丸尾 直樹 ¹ 、坂上 竜資 ¹ 、山崎 純 ³ (福歯大 口腔治療、 ² 福歯大 病態構造、 ³ 福歯大 分子機能制御)
O2-F8	αklotho ^{-/-} マウスおよび kl/kl マウスの下顎臼歯部歯周組織における組織化学的解析 ○彦根 久美子 ^{1,2} 、長谷川 智香 ¹ 、佐々木 宗輝 ³ 、本郷 裕美 ¹ 、土屋 恵李佳 ^{1,4} 、虎谷 彌 ¹ 、織田 公光 ⁵ 、飯田 順一郎 ² 、網塚 憲生 ¹ (北大 院歯 硬組織発生物、 ² 北大 院歯 歯科矯正、 ³ 長大 院医歯薬 口腔インプラント、 ⁴ 北大 院歯 口腔内科、 ⁵ 新大 院歯 口腔生化)

9月27日(土) 10:20~10:50 F会場 (413)

歯周組織 2 座長：坂倉 康則 (北医大 歯 解剖)

O2-F9	脳由来神経栄養因子は歯肉上皮細胞の p-75-JNK シグナルカスケードを介してアポトーシスを誘導する ○柏井 桂 ¹ 、藤田 剛 ¹ 、柴 秀樹 ¹ 、栗原 英見 ¹ (広大 院医歯薬保 歯周病態)
O2-F10	ラット歯周組織の弾性系線維にみられる部位差とその意義 ○井上 孝二 ¹ 、原 矢委子 ² 、佐藤 哲二 ² (鶴見大 歯 電顕セ、 ² 鶴見大 歯 解剖・組織細胞)
O2-F11	オキシタラン線維形成における歯原性上皮細胞の関与 ○吉良 迪子 ^{1,2} 、板家 智 ¹ 、尾崎 正雄 ¹ 、岡 暁子 ¹ 、沢 禎彦 ² (福歯大 成育小児歯、 ² 福歯大 機能構造)

9月27日(土) 9:00~9:40 G会場 (414)

歯牙・歯髄 座長：江尻 貞一 (朝日大 歯 口腔解剖)

O2-G1	歯の動きと周期性、そして Zahnreihe ○小澤 幸重 ¹ (触れてみる骨と歯の訪問研究室)
O2-G2	ヒトの未咬耗の正中歯におけるエナメル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)
O2-G3	マウス臼歯における三種混合抗菌性薬剤と水酸化カルシウムセメント覆髄に対する感染歯髄の反応 ○Quispe Salcedo Angela ¹ 、佐藤 拓一 ² 、松山 順子 ³ 、大島 勇人 ¹ (新大 院医歯 硬組織形態、 ² 東北大 院歯 口腔生化、 ³ 新大 院医歯 小児歯科)
O2-G4	乳歯歯髄幹細胞由来組織再生因子を応用した間質性肺炎治療効果の検証 ○若山 博隆 ¹ 、山本 朗仁 ¹ 、石川 純 ¹ 、山口 聡 ¹ 、上田 実 ¹ (名大 院医 顎顔面外科)

9月27日(土) 9:50~10:20 G会場(414)

象牙質・象牙芽細胞・・・・・・・・・・ 座長：高野 吉郎(医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物)

O2-G5	象牙質シアロタンパク質(DSP)および象牙質リンタンパク質(DPP)と象牙質中の TGF- β 1 の相互作用について ○山越 康雄 ¹ 、木下 冴子 ² 、唐木田 丈夫 ¹ 、大井田 新一郎 ¹ (¹ 鶴見大 歯 分子生化、 ² 鶴見大 歯 小児歯科)
O2-G6	炎症性サイトカインによる象牙芽細胞様細胞における分化マーカー発現誘導に関する研究 ○中川 愛加 ^{1,2} 、沖永 敏則 ¹ 、有吉 渉 ¹ 、北村 知昭 ² 、西原 達次 ¹ (¹ 九歯大 感染生物、 ² 九歯大 口腔保存)
O2-G7	細胞分裂期の象牙芽細胞における IFT88 の役割 ○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27日(土) 10:20~11:00 G会場(414)

唾液・唾液腺・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：吉垣 純子(日大 松戸歯 生理)

O2-G8	ラットの唾液腺分泌型 IgA への運動による影響 ○栗本 勇輝 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、東 雅啓 ¹ 、猿田 樹理 ¹ 、槻木 恵一 ¹ (¹ 神歯大 院 環境病理)
O2-G9	耳下腺および腭外分泌腺アミラーゼ開口分泌における MARCKS シグナリングの関与 ○佐藤 慶太郎 ¹ 、成田 貴則 ² 、杉谷 博士 ² (¹ 獨協医大 医 生理、 ² 日大 生物資源 獣医生化)
O2-G10	生体内イメージングによる開口分泌におけるアクチン重合機構の解析 ○設楽 彰子 ¹ 、田隈 泰信 ² (¹ 米国立衛生研 歯科・頭蓋顔面研 膜輸送、 ² 北医大 歯 生化)
O2-G11	唾液腺由来 BDNF の全身への移行についての検討 -第1報- ○東 雅啓 ¹ 、猿田 樹理 ¹ 、杉本 昌弘 ^{1,2} 、近藤 裕介 ^{1,3} 、林 隆司 ¹ 、山本 裕子 ¹ 、清水 智子 ¹ 、栗本 勇輝 ¹ 、齋藤 一郎 ⁴ 、槻木 恵一 ¹ (¹ 神歯大 院 環境病理、 ² 慶応大 先端生命科学研、 ³ 東海大 医 病理診断、 ⁴ 鶴見大 歯 病理)

9月27日(土) 13:30~14:00 D会場(411)

関節・軟骨2・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：上條 竜太郎(昭大 歯 口腔生化)

O2-D13	軟骨特異的 CCN3 過剰発現は軟骨の最終分化の遅延だけでなく、変形性関節症を誘発する ○服部 高子 ¹ 、大野 充昭 ² 、星島 光博 ^{1,3} 、角谷 宏一 ⁴ 、窪木 拓男 ² 、滝川 正春 ³ (¹ 岡大 院医歯薬 口腔生化、 ² 岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴、 ³ 岡大 歯 先端領域、 ⁴ 岡大 歯)
O2-D14	ビタミン A・レチノイン酸の過剰・欠乏がマウス成長軟骨の septoclast に及ぼす影響 ○坂東 康彦 ¹ 、坂下 英 ¹ 、崎山 浩司 ¹ 、天野 修 ¹ (¹ 明海大 歯 解剖)
O2-D15	液状飼料飼育による成長期ラット顎関節軟骨の変化に関する組織学的・免疫組織化学的研究 ○上北 広樹 ^{1,2} 、高橋 茂 ² 、加藤 剛士 ² 、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)

9月27日(土) 13:30~14:00 E会場(412)

歯の発生・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：原田 英光(岩医大 解剖 発生・再生)

O2-E11	マウス切歯 apical bud および臼歯発生過程における BrdU label-retaining cells (LRCs) と幹細胞マーカー発現との関係 ○石川 裕子 ¹ 、大島 勇人 ² (¹ 新大 院医歯 口腔生命福祉、 ² 新大 院医歯 硬組織形態)
O2-E12	マウス臼歯歯胚の発生におけるヒアルロン酸合成酵素 (HAS) の発現 ○守田 剛 ¹ 、田巻 玉器 ¹ 、藤川 芳織 ¹ 、柴田 俊一 ¹ (¹ 医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)
O2-E13	生後マウス切歯 apical bud にエナメル結節様構造が恒久的に維持されている ○中富 千尋 ¹ 、中富 満城 ² 、齋藤 幹 ³ 、原田 英光 ⁴ 、大島 勇人 ⁵ (¹ 九歯大 分子情報生化、 ² 九歯大 頭頸部構造解析、 ³ 東北大 院歯 小児歯科、 ⁴ 岩医大 発生物学・再生医学、 ⁵ 新大 院医歯 硬組織形態)

9月27日(土) 13:30~14:10 F会場 (413)

神経2 座長: 井上 富雄 (昭大 歯 口腔生理)

O2-F12	レム睡眠中の錐体路電気刺激に対する開口筋の応答特性 ○東山 亮 ¹ 、加藤 隆史 ² 、佐藤 文彦 ² 、矢谷 博文 ¹ 、吉田 篤 ² (阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴、 ² 阪大 院歯解剖2)
O2-F13	PRIP-1/2 ダブルノックアウトマウスのパレル皮質第3層錐体細胞における CICR 及び SOCE の増強のメカニズム ○河野 奨 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、豊田 博紀 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 院歯 口腔細胞工学)
O2-F14	補酵素テトラヒドロピオプテリンのサルベージ経路前駆体セピアプテリンの末梢投与による、脳内補酵素の導入 ○大橋 晶子 ¹ 、内藤 昌子 ¹ 、高橋 富久 ¹ (日大 歯 解剖1)
O2-F15	オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態 ○角野 公紀 ¹ 、本間 志保 ¹ 、脇坂 聡 ¹ (阪大 院歯 口腔解剖一)

9月27日(土) 13:30~14:10 G会場 (414)

薬理作用・代謝 座長: 兼松 隆 (広大院医歯薬保 細胞分子薬理)

O2-G12	第一世代抗ヒスタミン薬の鎮痛効果 ○高橋 萌 ¹ 、島 和弘 ^{2,3} 、土谷 昌広 ^{2,4,5} 、渡邊 誠 ⁵ 、菅原 俊二 ² 、遠藤 康男 ² (東北大 歯 6年、 ² 東北大 院歯 口腔分子制御、 ³ 東北大 院歯 顎口腔矯正、 ⁴ 東北大 院歯 口腔診断、 ⁵ 東北福祉大)
O2-G13	窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) の炎症壊死作用: LPS による増強 ○鈴木 飛佳理 ^{1,2} 、島 和弘 ^{1,4} 、佐藤 衣莉 ^{1,3} 、山口 晃史 ¹ 、大泉 丈史 ¹ 、菅原 俊二 ¹ 、高橋 哲 ² 、遠藤 康男 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 病院、 ⁴ 東北大 院歯 顎口腔矯正)
O2-G14	オステオカルシン経口投与時の体内動態と糖代謝への作用 ○溝上 顕子 ¹ 、安武 雄 ^{1,3} 、東 泉 ² 、川久保-安河内 友世 ¹ 、高橋 一郎 ³ 、竹内 弘 ² 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工学、 ² 九歯大 応用薬理、 ³ 九大 院歯 矯正)
O2-G15	C2C12 筋管における糖取り込みのオステオカルシンによる修飾 ○柄 慎太郎 ^{1,2} 、青沼 史子 ^{1,2} 、細川 隆司 ² 、平田 雅人 ³ 、竹内 弘 ¹ (九歯大 口腔応用薬理、 ² 九歯大 口腔再建リハビリ、 ³ 九大 院歯 口腔細胞工学)

■ 一般演題 (ポスター)

9月26日(金)ポスター会場(203~204)

学部学生ポスター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-1	酸刺激で活性化した TRPV1 チャンネルに対する Eugenol の鎮静作用メカニズムの解明 ○高橋 かおり ¹ 、吉田 卓史 ² 、若森 実 ² (東北大学 歯、 ² 東北大学 院歯 歯科薬理)
P1-2	象牙芽細胞における酸・機械刺激誘発性 Ca ²⁺ 流入は amiloride で抑制される ○倉澤 馨 ¹ 、佐藤 正樹 ² 、木村 麻記 ² 、小島 佑貴 ² 、東川 明日香 ² 、小倉 一宏 ² 、望月 浩幸 ² 、陽田 みゆき ² 、 澁川 義幸 ² 、田崎 雅和 ² (東歯大 学生、 ² 東歯大 生理)
P1-3	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の口腔内定着を阻害する口腔内細菌の探索 ○泉 彩夏 ¹ 、松尾 美樹 ² 、小松澤 均 ² (鹿大 歯 5年、 ² 鹿大 院医歯 口腔微生物)
P1-4	pH で活性化される TRPV1 チャンネルの電気生理学的解析 ○宮本 英欧 ¹ 、荒木 健太郎 ¹ 、若森 実 ¹ (東北大学 院歯 歯科薬理)
P1-5	骨組織における組織非特異型アルカリフォスファターゼ (TNALP) と ENPP1 の免疫組織化学的解析 ○小林 博和 ¹ 、本郷 裕美 ² 、織田 公光 ³ 、網塚 憲生 ² (北大 歯、 ² 北大 院歯 硬組織、 ³ 新大 院歯 口腔生)
P1-6	象牙芽細胞後期分化過程での Osterix 過剰発現は、象牙芽細胞の成熟を抑制し基質産生能を低下させる ○井上 真愛弥 ¹ 、宮崎 敏博 ² 、馬場 友巳 ³ 、小守 壽文 ² (長大 歯、 ² 長大 院医歯薬 細胞生物、 ³ 長大 院医歯薬 口腔分子生)
P1-7	唾液腺再生モデルにおけるサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素の発現誘導 ○嶺岸 誠 ^{1,2} 、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、 ² 徳大 歯 4年)
P1-8	<i>Porphyromonas gingivalis</i> (P.g.) 菌性感染は非アルコール性脂肪性肝炎の病態を進行させる —P.g. 感染や P.g.-LPS が肝細胞に及ぼす影響— ○平田 真弓 ¹ 、古庄 寿子 ² 、宮内 睦美 ² 、高田 隆 ² (広大 歯、 ² 広大 院医歯薬保 口腔顎顔面病理病態)
P1-9	ヒト迷走神経下神経節と咽頭の神経支配 ○浦田 悠輔 ¹ 、佐藤 匡 ¹ 、岡島 多翔幸 ¹ 、南野 雅一 ¹ 、清水 良央 ¹ 、市川 博之 ¹ (東北大学 院歯 口腔器官構造)

優秀ポスター賞 解剖学/組織・発生学・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-10	ラットの根分岐部形成に関する組織学的研究 ○大澤 枝里 ¹ 、山崎 高希 ² 、山本 仁 ² 、新谷 誠康 ¹ (東歯大 小児歯科、 ² 東歯大 組織・発生)
P1-11	アレンドロネート連日投与中・投与中止後における骨の細胞群における組織化学的变化 ○坪井 香奈子 ^{1,2} 、佐々木 宗輝 ^{1,3} 、長谷川 智香 ¹ 、虎谷 彌 ¹ 、織田 公光 ⁴ 、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、 ³ 長大 院医歯 インプラント、 ⁴ 新大 院医歯 口腔生)
P1-12	歯原性上皮細胞における Ca ²⁺ を介した細胞接着メカニズム及び分化に及ぼす影響について ○宮崎 佳奈子 ¹ 、吉崎 恵悟 ¹ 、新井 智映子 ¹ 、張 麗麗 ¹ 、韓 雪 ¹ 、春山 直人 ¹ 、高橋 一郎 ¹ (九大 院歯 歯科矯正)
P1-13	ラット歯・歯周組織における formyl peptide receptor 2 (Fpr2) の局在 ○堀部 寛治 ¹ 、細矢 明宏 ¹ 、平賀 徹 ¹ 、中村 浩彰 ¹ (松歯大 解剖 2)
P1-14	頭頸部骨格筋内を走行する血管と神経の距離測定 ○北村 啓 ¹ 、山内 真人 ¹ 、山本 将仁 ¹ 、山根 茂樹 ¹ 、梅澤 貴志 ¹ 、芹川 雅光 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (東歯大 解剖)
P1-15	オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態 ○角野 公紀 ¹ 、本間 志保 ¹ 、脇坂 聡 ¹ (阪大 院歯 口腔解剖一)
P1-16	マウス臼歯歯胚移植後の歯髓発生過程におけるホスト・ドナー相互作用について ○斎藤 浩太郎 ¹ 、依田 浩子 ¹ 、大島 勇人 ¹ (新大 院医歯 硬組織形態)
P1-17	ラット真皮由来三次元細胞培養シートにおける石灰化物形成に対する無機リン酸イオンの効果 ○陶山 大輝 ¹ 、秦 省三郎 ¹ 、石川 博之 ¹ 、山崎 純 ² (福歯大 成長発達歯、 ² 福歯大 分子機能制御)
P1-18	コラーゲン・クロスリンクの変化が骨芽細胞、破骨細胞に及ぼす影響 ○井田 貴子 ¹ 、加来 賢 ¹ 、北見 恩美 ^{1,2} 、魚島 勝美 ¹ (新大 院医歯 生体補綴、 ² 日本学術振興会)
P1-19	含歯性嚢胞の間葉系結合組織層が骨吸収に与える影響 ○北村 尚正 ¹ 、杉本 明日菜 ¹ 、中川 弘 ² 、赤澤 友基 ² 、長谷川 智一 ¹ 、岩本 勉 ^{1,2} (徳大 院 HBS 小児歯、 ² 徳大 病院 小児歯)

P1-20	FIB-SEM を用いた骨細胞・骨細管系の3次元微細構造解析 ○長谷川 智香 ¹ 、山本 知真也 ¹ 、虎谷 彌 ¹ 、網塚 憲生 ¹ (1北大 院歯 硬組織)
P1-21	歯肉上皮バリア機能へのTRPV4の関与 ○木附 智子 ^{1,2} 、合島 怜央奈 ^{1,3} 、畠山 純子 ¹ 、大崎 康吉 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ (1九大 院歯 分子口腔解剖、2九大 院歯 口腔顎顔面外科、3佐賀大 医 歯科口腔外科)
P1-22	骨修復に対する効果的なサイトカイン投与方法と血管新生とのかわり ○増田 智幸 ¹ 、大津 圭史 ² 、藤原 尚樹 ² 、熊上 深香 ² 、原田 英光 ² (1岩医大 歯 口腔外科、2岩医大 解剖 発生・再生)
P1-23	HaCaT 細胞のタイト結合形成誘導による基底細胞マーカー発現の変化 ○北河 憲雄 ¹ 、稲井 哲一朗 ¹ (1福歯大 生体構造)
P1-24	口蓋粘膜上皮におけるタイトジャンクションのバリア機能 ○塩津 範子 ^{1,2} 、川本 忠文 ³ 、河井 まりこ ² 、池亀 美華 ² 、鳥井 康弘 ¹ 、山本 敏男 ² (1岡大 病院 総合歯科、2岡大 院歯歯薬 口腔形態、3鶴見大 歯 RI 研セ)
P1-25	Shh シグナリングと Wnt シグナリングの相互関係が口唇の癒合に果たす役割 ○黒坂 寛 ¹ (1ストワーズ医学研)
P1-26	小後頭直筋と下頭斜筋の筋線維特性について ○山内 真人 ¹ 、北村 啓 ¹ 、山本 将仁 ¹ 、阿部 伸一 ¹ (1東歯大 解剖)
P1-27	HaCaT 細胞におけるタイト結合形成と Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) ○水上 正彦 ¹ 、北河 憲雄 ² 、阿南 壽 ¹ 、稲井 哲一朗 ² (1福歯大 歯科保存、2福歯大 生体構造)
P1-28	乳歯歯髄幹細胞の脾臓分化における硫化水素の影響 ○岡田 実緒 ¹ 、八重垣 健 ¹ 、今井 敏夫 ¹ (1日歯大 院生命歯 衛生)
P1-29	オキシタラン線維形成における歯原性上皮細胞の関与 ○吉良 迪子 ^{1,2} 、板家 智 ¹ 、尾崎 正雄 ¹ 、岡 暁子 ¹ 、沢 禎彦 ² (1福歯大 成育小児歯、2福歯大 機能構造)
P1-30	ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布の観察と骨の細胞群に対する影響 ○佐々木 宗輝 ^{1,2} 、本郷 裕美 ² 、小林 幸雄 ³ 、坂本 尚義 ³ 、網塚 憲生 ² (1長大 院歯歯薬 口腔インプラント、2北大 院歯 硬組織発生生物、3北大 創成科学研 IIL3)
P1-31	転写抑制因子 Trps1 の関節軟骨発現制御エンハンサーの探索 ○竹内 優斗 ^{1,2} 、阿部 真土 ¹ 、藤川 順司 ^{1,3} 、脇坂 聡 ¹ 、山城 隆 ² (1阪大 院歯 口腔解剖一、2阪大 院歯 顎顔面口腔矯正、3阪大 歯病院 障害者歯科)
P1-32	歯槽骨再生を目的とするエレクトロポレーションを用いた歯周組織への遺伝子導入 ○片岡 陽平 ^{1,2} 、河井 まりこ ¹ 、塩津 範子 ^{1,3} 、池亀 美華 ¹ 、飯田 征二 ² 、山本 敏男 ¹ (1岡大 院歯歯薬 口腔形態、2岡大 院歯歯薬 顎口腔顎顔面再建外科、3岡大 病院 総合歯科)
P1-33	抜歯即時埋入後早期咬合負荷を与えたチタンインプラント周囲骨組織の組織学的検索 ○池田 欣希 ^{1,2} 、長谷川 智香 ³ 、織田 公光 ³ 、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、3新大 院歯 口腔生化)
P1-34	ヒト抜去歯由来幹細胞の採取組織と分離法に関する再生医療学的検討 ○大浜 令 ^{1,2} 、須田 直人 ¹ 、中原 貴 ² (1明海大 歯 歯科矯正、2日歯大 生命歯 発生・再生医科)

優秀ポスター賞 生理学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-35	矯正治療に伴う疼痛に対する動物モデルの薬理学的評価 ○佐々木 会 ¹ 、長谷川 尚哉 ¹ 、坂上 宏 ² 、天野 修 ³ 、安達 一典 ² 、須田 直人 ¹ (1明海大 歯 矯正、2明海大 歯 薬理、3明海大 歯 解剖)
P1-36	ラット舌癌モデルにおけるエンドセリンの初期癌性疼痛抑制機構 ○古川 明彦 ¹ 、篠田 雅路 ² 、本田 訓也 ² 、岩田 幸一 ² (1日大 歯 口腔外科、2日大 歯 生理)
P1-37	グルタミン酸による象牙芽細胞-象牙芽細胞間シグナル伝達 ○西山 明宏 ¹ 、佐藤 正樹 ² 、木村 麻記 ² 、田崎 雅和 ² 、片倉 朗 ² 、澁川 義幸 ² (1東歯大 オーラルメディシン・口腔外科、2東歯大 生理)
P1-38	Merkel 細胞は機械刺激を受容し神経伝達を行う ○東川 明日香 ¹ 、小島 佑貴 ¹ 、木村 麻記 ¹ 、佐藤 正樹 ¹ 、小倉 一宏 ¹ 、望月 浩幸 ¹ 、澁川 義幸 ¹ 、田崎 雅和 ¹ (1東歯大 生理)
P1-39	二日酔いでの口渇感アセトアルデヒド誘発-レニン-アンジオテンシン系の活性化により起こる ○氏原 泉 ^{1,2} 、人見 涼露 ¹ 、小野 堅太郎 ¹ 、柿木 保明 ² 、稲永 清敏 ¹ (1九歯大 生理、2九歯大 老年歯)
P1-40	ラットにおける口内炎誘発疼痛に対する5-fluorouracilの影響 ○山口 喜一郎 ¹ 、人見 涼露 ¹ 、小野 堅太郎 ¹ 、原野 望 ^{1,2} 、左合 徹平 ^{1,2} 、稲永 清敏 ¹ (1九歯大 生理、2九歯大 侵襲制御)
P1-41	末梢の代謝型グルタミン酸受容体活性化により誘発される熱および機械痛覚過敏に対するTRP channelの関与 ○本田 訓也 ^{1,2} 、篠田 雅路 ¹ 、古川 明彦 ² 、岩田 幸一 ¹ (1日大 歯 生理、2日大 歯 口腔外科)

P1-42	口腔内外における切開処置後の温熱および機械痛覚過敏に対する TRPV1 と TRPA1 の関与 ○浦田 健太郎 ¹ 、篠田 雅路 ² 、岩田 幸一 ² (¹ 日大 歯 歯科補綴I、 ² 日大 歯 生理)
P1-43	粉末食長期飼育はマウス糖代謝機構を障害し社会性行動の変化をもたらす ○千葉 航 ^{1,3} 、土谷 昌広 ² 、渡邊 誠 ¹ 、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 口腔診断、 ³ 東北大 院歯 口腔分子制御)
P1-44	唾液腺における V-ATPase の役割 ○堀江 沙和 ^{1,2} 、中西-松井 真弓 ³ 、佐原 資謹 ² (¹ 岩医大 歯 歯科総合研 腫瘍生物、 ² 岩医大 歯 病態生理、 ³ 岩医大 薬 機能生化学)
P1-45	新生仔ラット大腸筋層間神経叢における Nav1.9 ナトリウムチャンネルと transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) の共存 ○田宮 旬子 ¹ 、井出 良治 ¹ 、高橋 誠之 ¹ 、佐伯 周子 ¹ (¹ 日歯大 生命歯 生理)
P1-46	上喉頭神経刺激時における開口反射と三叉神経核領域での神経伝達の変調への影響 ○酒井 翔悟 ¹ 、辻 光順 ¹ 、真柄 仁 ¹ 、辻村 恭憲 ¹ 、井上 誠 ¹ (¹ 新大 院歯 歯科 摂食嚥下リハビリ)
P1-47	渋味溶液の舌刺激によるラット舌神経と鼓索神経の応答と温度覚との関連 ○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 歯科 口腔生理、 ² 岡大 院歯 歯科 咬合・有床義歯補綴)
P1-48	口腔内モデルラットに発症する口腔粘膜痛に対する半夏瀉心湯の効果 ○人見 涼露 ¹ 、小野 堅太郎 ¹ 、稲永 清敏 ¹ (¹ 九歯大 生理)
P1-49	KK-Ay 糖尿病モデルマウスにおける顎下腺の組織学的および生理学的解析 ○宗政 翔 ¹ 、向坊 太郎 ¹ 、近藤 祐介 ¹ 、正木 千尋 ¹ 、中本 哲自 ¹ 、細川 隆司 ¹ (¹ 九歯大 口腔再建リハビリ)
P1-50	嚥下誘発における孤束核グルタミン酸受容体の役割 ○辻村 恭憲 ¹ 、辻 光順 ¹ 、酒井 翔悟 ¹ 、真柄 仁 ¹ 、井上 誠 ¹ (¹ 新大 院歯 歯科 摂食嚥下リハビリ)
P1-51	ラット舌下腺における副交感神経性血流増加反応に関与する Ach と VIP の相互作用 ○佐藤 寿哉 ¹ 、石井 久淑 ¹ (¹ 北医大 歯 生理)
P1-52	マウス顎下腺の概日リズム ○内田 仁司 ¹ 、阪井 丘芳 ² 、斎藤 一郎 ¹ 、中村 渉 ³ (¹ 鶴見大 歯 病理、 ² 阪大 院歯 顎口腔機能治療、 ³ 阪大 院歯 口腔時間生物)
P1-53	象牙芽細胞のアルカリ感受性象牙質形成機構の解明 ○木村 麻記 ¹ 、佐藤 正樹 ¹ 、小島 佑貴 ¹ 、東川 明日香 ¹ 、陽田 みゆき ² 、小倉 一宏 ¹ 、望月 浩幸 ¹ 、田崎 雅和 ¹ 、澁川 義幸 ¹ (¹ 東歯大 生理、 ² 東歯大 口腔健康臨床科学)
P1-54	CCK はマウスの苦味伝達に関与する ○進 美沙 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、高井 信吾 ¹ 、安松 啓子 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析)
P1-55	L-ヒスチジン誘発の摂食抑制及び悪心誘発に対するノルアドレナリン作動性神経の関与 ○奥倉 有加 ^{1,2} 、平井 喜幸 ¹ 、前澤 仁志 ¹ 、山崎 裕 ² 、船橋 誠 ¹ (¹ 北大 院歯 口腔生理、 ² 北大 院歯 高齢者)
P1-56	三叉神経脊髄路核尾側亜核におけるリン酸化 ERK の口腔乾燥による舌痛への関与 ○中谷 有香 ¹ 、坪井 美行 ² 、篠田 雅路 ² 、岩田 幸一 ² (¹ 日大 歯 口腔診断、 ² 日大 歯 生理)
P1-57	咬合高径の挙上がモルモットの学習、記憶能に及ぼす影響 ○藤浪 陽三 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、田中 千恵 ^{1,2} 、河野 奨 ¹ 、姜 英男 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔生理、 ² 阪大 院歯 有床義歯補綴・高齢者歯科)
P1-58	グリシンの三叉神経運動核への投与がラットの開口反射興奮性に及ぼす影響 ○尾台 令奈 ¹ 、日野 峻輔 ² 、渡部 茂 ² 、坂上 宏 ³ 、安達 一典 ³ (¹ 明海大 歯 口腔小児科学、 ² 埼玉大 総合医療セ 歯科口腔外科、 ³ 明海大 歯 薬理)
P1-59	温度感受性 TRP チャンネル活性化による新しい口腔上皮治癒機構の解明 ○合島 怜央奈 ^{1,2,3,4} 、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 組織神経解剖、 ⁴ 日本学術振興会)

優秀ポスター賞 生化学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-60	生体内イメージングによる開口分泌におけるアクチン重合機構の解析 ○設楽 彰子 ¹ 、田隈 泰信 ² (¹ 米国立衛生研 歯科・頭蓋顔面研 膜輸送、 ² 北医大 歯 生化学)
P1-61	(演題取消)
P1-62	(演題取消)
P1-63	蛍光色素を用いた細菌の代謝活性リアルタイム・モニター法の確立 ○石黒 和子 ^{1,2} 、鷲尾 純平 ² 、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 東北大 院歯 口腔生化学)

P1-64	細胞分裂期の象牙芽細胞における IFT88 の役割 ○河田 かずみ ¹ 、竹田 扇 ¹ (山梨大 院医工 解剖細胞生物)
P1-65	象牙質顆粒の骨補填材としての機能評価 ○小栗 健策 ¹ 、川木 晴美 ² 、田中 雅士 ¹ 、森 春菜 ¹ 、神谷 真子 ² 、河野 哲 ¹ 、高山 栄次 ² 、吉田 隆一 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 歯科保存、朝日大 歯 口腔生化)
P1-66	チタン基盤への真空紫外光照射がヒト骨髄由来間葉系幹細胞の活性に及ぼす効果 ○新谷 耕平 ¹ 、川木 晴美 ² 、神谷 真子 ² 、高山 英次 ² 、堀田 正人 ¹ 、土井 豊 ³ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 歯冠修復、朝日大 歯 口腔生化、朝日大 歯 歯科理工)
P1-67	ブタ幼若エナメル質中の TGF- β 1 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、鶴見大 歯 分子生化)
P1-68	炭酸含有アパタイト多孔体による骨様組織誘導能の評価 ○高橋 潤 ¹ 、川木 晴美 ² 、近藤 雄三 ¹ 、大崎 公資 ¹ 、神谷 真子 ² 、高山 英次 ² 、土井 豊 ³ 、永原 國央 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 インプラント、朝日大 歯 口腔生化、朝日大 歯 歯科理工)
P1-69	オステオポンチンは LMW-PTP を介して骨芽細胞の生理的応答性に影響を与える ○楠山 讓二 ^{1,2} 、坂東 健二郎 ² 、大西 智和 ² 、仙波 伊知郎 ¹ 、松口 徹也 ² (鹿大 院医歯 口腔病理解析、鹿大 院医歯 口腔生化)
P1-70	エナメル上皮腫細胞における NFATc1 および NFATc2 を介した増殖および形態変化制御機構 ○吉本 尚平 ¹ 、森田 浩光 ² 、中村 誠司 ³ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工学、福歯大 総合歯科、九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)
P1-71	細胞外無機リン酸は Dmp1 の発現を誘導し骨細胞分化を促進する ○西野 仁 ^{1,2} 、道上 敏美 ¹ (大阪府立母子保健総合医療セ研 環境影響、阪大 院歯 口腔外科一)
P1-72	tdTomato 遺伝子導入マウス唾液腺由来間葉系幹細胞株の樹立 ○古川 真司 ¹ 、桑島 幸紀 ¹ 、畠山 慧 ¹ 、帖佐 直幸 ² 、佐藤 和朗 ¹ 、大塚 正人 ³ 、石崎 明 ² 、藤村 朗 ⁴ 、三浦 廣行 ¹ (岩医大 歯 歯科矯正、岩医大 生化 細胞情報科学、東海大 医 分子生命科学、岩医大 解剖 機能形態)
P1-73	Sirt1 活性は歯肉扁平上皮癌 Ca9-22 細胞の増殖と遊走を抑制する ○室伏 貴久 ¹ 、津田 啓方 ¹ 、鈴木 直人 ¹ (日大 歯 生化)
P1-74	Interleukin-17 刺激により誘導された滑膜細胞の生物学的活性の解明 ○櫻井 拓真 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染生物、九歯大 顎顔面外科)
P1-75	骨髄、脾臓および血液より分離した破骨前駆細胞の性質 ○榎本 拓哉 ^{1,2} 、高見 正道 ³ 、山本 松男 ² 、上條 竜太郎 ¹ (昭大 歯 口腔生化、昭大 歯 歯周病、昭大 歯 薬理)
P1-76	マウス口腔扁平上皮癌と間質細胞による脾細胞インターフェロン γ 産生能の調節 ○稲垣 俊弘 ¹ 、神谷 真子 ² 、川木 晴美 ² 、高山 英次 ² 、足立 充隆 ¹ 、村松 泰徳 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 口腔外科、朝日大 歯 口腔生化)
P1-77	バイオフィルム-歯面インターフェイス pH 測定装置を用いた各種フッ化物の pH 低下抑制効果の評価 ○石黒 朋子 ^{1,2} 、真柳 弦 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、東北大 院歯 口腔生化、東北大 院歯 インターフェイス研究事業)
P1-78	α -TCP/Te-CP セメントの培養歯髄由来幹細胞に対する親和性の検討 ○長谷川 智哉 ¹ 、川木 晴美 ² 、神谷 真子 ² 、河野 哲 ¹ 、高山 英次 ² 、土井 豊 ³ 、玉置 幸道 ³ 、吉田 隆一 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 歯科保存、朝日大 歯 口腔生化、朝日大 歯 歯科理工)
P1-79	マウス骨髄由来異種細胞共培養系の確立 ○滝沢 尚希 ^{1,2} 、客本 斉子 ² 、大久保 直登 ³ 、帖佐 直幸 ² 、衣斐 美歩 ⁴ 、加茂 政晴 ² 、大塚 正人 ⁵ 、八重柏 隆 ¹ 、石崎 明 ² (岩医大 歯 保存・歯周、岩医大 生化・細胞情報、北大 院薬 臨床病態、岩医大 歯 歯科総研 腫瘍生物、東海大 医 分子生命)
P1-80	成熟破骨細胞の細胞内骨格に対するカルデクリンの影響 ○長谷川 紘也 ^{1,2} 、須田 直人 ¹ 、友村 明人 ² (明海大 歯 歯科矯正、明海大 歯 生化)
P1-81	骨芽細胞に対する圧縮刺激により分泌される IL-33 を介した破骨細胞分化抑制メカニズム ○清宮 弘康 ^{1,2} 、有吉 渉 ¹ 、沖永 敏則 ¹ 、西原 達次 ¹ (九歯大 感染生物、九歯大 顎顔面外科)
P1-82	アポトーシス関連 p53 標的遺伝子の発現と細胞死誘導における DNA 結合因子 ARID3B の重要な役割 ○Endrawan Pratama ¹ 、井関 祥子 ¹ 、池田 正明 ¹ (医科歯科大 院医歯 分子発生)
P1-83	象牙質・幹細胞凝集複合体の骨補填材としての機能評価 ○田中 雅士 ¹ 、川木 晴美 ² 、小栗 健策 ¹ 、森 春菜 ¹ 、神谷 真子 ² 、河野 哲 ¹ 、高山 英次 ² 、吉田 隆一 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 歯科保存、朝日大 歯 口腔生化)
P1-84	8-ニトロ-cGMP はマウス成長板の伸長を促進する内因性シグナル分子である ○星野 真理江 ^{1,2} 、宮本 洋一 ¹ 、吉村 健太郎 ¹ 、田中 準一 ³ 、美島 健二 ³ 、馬場 一美 ² 、上條 竜太郎 ¹ (昭大 歯 口腔生化、昭大 歯 歯科補綴、昭大 歯 口腔病理)
P1-85	MAPK 経路を介した炭酸含有アパタイト焼結体の骨芽細胞増殖分化における作用の解析 ○近藤 雄三 ¹ 、川木 晴美 ² 、高橋 潤 ¹ 、大崎 公資 ¹ 、神谷 真子 ² 、高山 英次 ² 、土井 豊 ³ 、永原 國央 ¹ 、近藤 信夫 ² (朝日大 歯 インプラント、朝日大 歯 口腔生化、朝日大 歯 歯科理工)

P1-86	血管内皮細胞由来の Netrin4 は破骨細胞分化を抑制し、骨量低下への予防効果 ○榎木 祐一郎 ¹ 、佐藤 毅 ¹ 、大久保 正彦 ¹ 、古株 彰一郎 ² 、臼井 通彦 ³ 、依田 哲也 ¹ (1) 埼玉大 医 口腔外科、(2) 九歯大 分子情報生化学、(3) 九歯大 歯周病制御再建)
P1-87	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} 、杉山 悟郎 ¹ 、福島 秀文 ³ 、古株 彰一郎 ¹ 、自見 英治郎 ¹ (1) 九歯大 分子情報生化学、(2) 九歯大 歯科侵襲制御、(3) 福歯大 細胞生理)

優秀ポスター賞 病理学

P1-88	マウスに惹起したコレステリン肉芽腫における異物巨細胞の細胞性格 ○坂井 謙三 ¹ 、松田 紗衣佳 ¹ 、正村 正仁 ² 、大須賀 直人 ² 、中野 敬介 ¹ 、川上 敏行 ¹ (1) 松歯大 総歯研 病態解析、(2) 松歯大 口腔健康分析)
P1-89	実験的に惹起させた歯根膜息肉の病理組織学的検討 ○松田 紗衣佳 ¹ 、中野 敬介 ¹ 、正村 正仁 ² 、大須賀 直人 ² 、辻極 秀次 ³ 、川上 敏行 ¹ (1) 松歯大 総歯研 病態解析、(2) 松歯大 口腔健康分析、(3) 岡山理大 理 臨床生命科学)
P1-90	ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清を用いた急性心筋梗塞の治療効果の検討 ○山口 聡 ¹ 、山本 朗仁 ¹ 、若山 博隆 ¹ 、石川 純 ¹ 、上田 実 ¹ (1) 名大 院医 顎顔面外科)
P1-91	ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清を用いた関節炎モデルマウスにおける治療効果の検討 ○石川 純 ¹ 、山本 朗仁 ¹ 、若山 博隆 ¹ 、山口 聡 ¹ 、上田 実 ¹ (1) 名大 院医 顎顔面外科)
P1-92	歯周病原菌由来 TLR リガンドによる糖尿病性腎症の促進 ○高田 俊輔 ¹ 、梶原 弘一郎 ¹ 、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)
P1-93	口腔扁平苔癬の悪性化にヒトパピローマウイルス 16 型感染が関与する可能性についての検討 ○加藤 世太 ¹ 、河合 遼子 ¹ 、磯村 まどか ¹ 、佐藤 伸明 ¹ 、加藤 郁郎 ¹ 、吉田 和加 ^{1,2} 、佐藤 恵美子 ^{1,2} 、杉田 好彦 ^{1,2} 、久保 勝俊 ^{1,2} 、前田 初彦 ^{1,2} (1) 愛院大 歯 口腔病理、(2) 愛院大 未来口腔医療研究セ)
P1-94	エナメル上皮腫における mTOR pathway の機能解析 ○馬場 貴 ¹ 、山下 善弘 ¹ (1) 宮崎大 医 顎顔面口腔外科)
P1-95	マウス下顎切歯歯胚の幹細胞における Sox2 および Oct4 の発現 ○丸尾 直樹 ¹ 、岡村 和彦 ² 、沢 禎彦 ³ 、坂上 竜資 ¹ (1) 福歯大 歯周病、(2) 福歯大 病態構造、(3) 福歯大 機能構造)
P1-96	がん転移における腫瘍血管内皮細胞と腫瘍細胞の相互作用 ○間石 奈湖 ¹ 、進藤 正信 ² 、樋田 京子 ¹ (1) 北大 遺制研 血管生物、(2) 北大 院歯 口腔病理病態)
P1-97	マウスに惹起した咬合性外傷の病理組織学的検討 ○三村 泰亮 ¹ 、高谷 達夫 ¹ 、中野 敬介 ² 、松田 紗衣佳 ² 、岡藤 範正 ³ 、大須賀 直人 ¹ 、川上 敏行 ² 、藤井 健男 ¹ (1) 松歯大 口腔健康分析、(2) 松歯大 総歯研 病態解析、(3) 松歯大 院 臨床病態評価)
P1-98	高血糖はヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を阻害し、炎症性サイトカインの産生を促進する ○嘉藤 弘仁 ¹ 、岡村 友玄 ¹ 、富永 和也 ¹ 、和唐 雅博 ¹ 、西川 哲成 ¹ 、田中 昭男 ¹ (1) 大歯大 口腔病理)
P1-99	飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に関与する可能性 ○四釜 洋介 ¹ 、工藤 保誠 ² 、石丸 直澄 ² 、船木 真理 ¹ (1) 徳大 病院 糖尿病対策セ、(2) 徳大 院 HBS 口腔分子病態)
P1-100	LPS 長期刺激による炎症反応関連遺伝子の DNA メチル化 ○高井 理衣 ¹ 、植原 治 ² 、原田 文也 ¹ 、宇津宮 雅史 ¹ 、中條 貴俊 ¹ 、吉田 光希 ¹ 、佐藤 惇 ¹ 、西村 学子 ¹ 、千葉 逸朗 ² 、安彦 善裕 ¹ (1) 北医大 歯 臨床口腔病理、(2) 北医大 歯 保健衛生)
P1-101	HPV-16 型感染と口腔扁平上皮癌リンパ節転移について ○河合 遼子 ¹ 、磯村 まどか ¹ 、佐藤 伸明 ¹ 、加藤 世太 ¹ 、吉田 和加 ¹ 、佐藤 恵美子 ¹ 、杉田 好彦 ¹ 、久保 勝俊 ¹ 、前田 初彦 ¹ (1) 愛院大 歯 口腔病理)
P1-102	口腔癌の顎骨浸潤における TGF β シグナルの役割 ○中村 亮介 ^{1,2} 、原田 清 ² 、山口 朗 ¹ (1) 医科歯科大 院医歯 口腔病理、(2) 医科歯科大 院医歯 顎顔面外科)

優秀ポスター賞 微生物学

P1-103	<i>Streptococcus sanguinis</i> による NLRP3 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 (1) 北大 院歯 口腔分子微生物、(2) 北医大 歯 微生物)
P1-104	<i>Veillonella tobetsuensis</i> 由来の Autoinducer の検出と精製 ○眞島 いづみ ¹ 、鎌口 有秀 ² 、宮川 博史 ² 、藤田 真理 ² 、中澤 太 ² (1) 北医大 院歯、(2) 北医大 歯 微生物)
P1-105	舌背および歯肉上皮の有棘細胞に恒常的に認められる免疫抑制 B7-H1 分子発現 ○康 思雯 ¹ 、大野 建州 ¹ 、東 みゆき ¹ (1) 医科歯科大 院医歯 分子免疫)

P1-106	細菌感染時のオートファジーにおける Bcl-2 タンパク質群の機能解析 ○中島 慎太郎 ¹ 、渡辺 孝康 ¹ 、野澤 孝志 ² 、相川 知宏 ² 、丸山 史人 ² 、中川 一路 ² (1)医科歯科大 院医歯 細菌感染制御、 ² 京大 院医 微生物感染症)
P1-107	16S rRNA 遺伝子解析を用いた唾液中の細菌群集の由来についての検討 ○影山 伸哉 ¹ 、竹下 徹 ¹ 、柴田 幸江 ¹ 、山下 喜久 ¹ (1)九大 院歯 口腔予防医学)
P1-108	Mild heat stress 下で発現する <i>Candida albicans</i> の表層抗原探索 ○田崎 園子 ¹ 、長 環 ¹ 、橋本 麻利江 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、小島 寛 ² 、田中 芳彦 ¹ (1)福歯大 感染生物、 ² 福歯大 障害者歯科)
P1-109	舌下免疫療法における抗原取り込み機構と処理に関わる細胞の解析 ○白石 大祐 ^{1,2} 、田中 志典 ^{2,3} 、島内 英俊 ¹ 、菅原 俊二 ² (1)東北大 院歯 歯内歯周治療、 ² 東北大 院歯 口腔分子制御、 ³ 東北大 院歯 小児発達歯科)
P1-110	<i>Capnocytophaga ochracea</i> の滑走運動とバイオフィーム形成への IX 型分泌機構の関与 ○喜田 大智 ¹ 、菊池 有一郎 ² 、国分 栄仁 ² 、柴山 和子 ² 、齋藤 淳 ^{1,3} 、中山 浩次 ¹ 、石原 和幸 ^{2,3} (1)東歯大 歯周病、 ² 東歯大 微生物、 ³ 東歯大 口腔科学研究セ、 ⁴ 長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P1-111	CRISPR による <i>Porphyromonas gingivalis</i> のゲノム進化制御 ○渡辺 孝康 ¹ 、野澤 孝志 ² 、相川 知宏 ² 、丸山 史人 ² 、中川 一路 ² (1)医科歯科大 院医歯 歯周病、 ² 京大 院医 微生物感染症)
P1-112	歯磨剤の抗菌効果および歯槽骨吸収抑制効果の検討 ○佐藤 武則 ¹ 、早坂 奈美 ² 、遠山 歳三 ¹ 、高橋 俊介 ³ 、浜田 信城 ¹ (1)神歯大 院 微生物感染、 ² 小林製薬 オーラルケア開発、 ³ 神歯大 院 口腔科学)
P1-113	<i>Streptococcus sanguinis</i> の細胞壁架橋型ヌクレアーゼの酵素活性 ○森田 知里 ^{1,4} 、住岡 龍一 ¹ 、中田 匡宣 ¹ 、和田 聖史 ¹ 、岡橋 暢夫 ² 、住友 倫子 ¹ 、山口 雅也 ¹ 、浜田 茂幸 ³ 、山城 隆 ⁴ 、川端 重忠 ¹ (1)阪大 院歯 口腔細菌、 ² 阪大 院歯 口腔フロンティア、 ³ 阪大 微研、 ⁴ 阪大 院歯 矯正)
P1-114	ヒト歯肉上皮細胞におけるバクテリアによるアポトーシスと smad2 の関与 ○吉本 哲也 ¹ 、藤田 剛 ¹ 、柴 秀樹 ¹ 、栗原 英見 ¹ (1)広大 院医歯薬保 歯周病態)
P1-115	<i>Porphyromonas gingivalis</i> はインフルエンザウイルスの感染性獲得に関与する ○神尾 宜昌 ¹ 、今井 健一 ¹ 、齋藤 夕子 ¹ 、落合 邦康 ¹ (1)日大 歯 細菌)
P1-116	細菌性複合感染症における種多様性と機能頑強性 ○加地 博一 ¹ 、丸山 史人 ² 、道 泰之 ³ 、渡辺 孝康 ³ 、中川 一路 ² 、原田 清 ¹ (1)医科歯科大 院医歯 顎顔面外科、 ² 京大 院医研 微生物感染症、 ³ 医科歯科大 院医歯 歯周病)
P1-117	イムノプロットによるバイオフィーム定量法を用いた軟性床用材料におけるバイオフィーム形成の評価 ○金野 弘靖 ^{1,2} 、吉田 康夫 ² 、永野 恵司 ¹ 、長谷川 義明 ¹ 、中村 好徳 ² 、田中 貴信 ² 、吉村 文信 ¹ (1)愛院大 歯 微生物、 ² 愛院大 歯 有床義歯)
P1-118	A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素が病原性に果たす役割 ○山口 雅也 ¹ 、中田 匡宣 ¹ 、住友 倫子 ¹ 、川端 重忠 ¹ (1)阪大 院歯 口腔細菌)
P1-119	Hemin 濃度が <i>Porphyromonas gingivalis</i> の増殖と生理活性に及ぼす影響 ○大屋 学 ^{1,2} 、田村 宗明 ^{2,3} 、Cueno Marni ² 、落合 邦康 ^{2,3} (1)日大 歯 口腔健康科学、 ² 日大 歯 細菌、 ³ 日大 総歯研 生体防御)
P1-120	<i>Streptococcus mutans</i> のバイオフィーム形成を抑制するアズキ抽出物の開発 ○水原 真実子 ¹ 、荒井 俊明 ² 、毛利 彰太 ¹ 、津金 貴則 ¹ 、佐伯 洋二 ¹ 、泉福 英信 ² (1)(株)ロツテ 中央研 口腔科学研、 ² 国立感染研 細菌第一)
P1-121	正電荷リポソームと細菌細胞およびバイオフィームとの静電的引力に関する研究 ○菅野 真莉加 ^{1,2,3} 、森崎 弘史 ⁴ 、桑田 啓貴 ¹ 、山本 松男 ² (1)昭大 歯 歯科理工、 ² 昭大 歯 歯周病、 ³ 日本学術振興会、 ⁴ 昭大 歯 口腔微生物)
P1-122	溶血性レンサ球菌の DNA 分解酵素 Sda1 阻害による形質転換効率の向上 ○小川 真理子 ^{1,2,3} 、住友 倫子 ¹ 、川端 重忠 ¹ (1)阪大 院歯 口腔細菌、 ² 阪大 院歯 有床補綴高齢、 ³ Div. Infect Dis. Hosp. Epidemiol., Univ. Hosp. Zurich., Univ. Zurich.)
P1-123	合成糖脂質の <i>Streptococcus mutans</i> バイオフィームに対する作用 ○黒澤 美絵 ^{1,2} 、小田 真隆 ¹ 、土門 久哲 ¹ 、寺尾 豊 ¹ (1)新大 院医歯 微生物、 ² 新大 院医歯 小児歯)
P1-124	<i>Porphyromonas salivosa</i> ATCC 49407 株 線毛の精製と性状について ○古谷田 泰徳 ¹ 、佐々木 悠 ¹ 、渡辺 清子 ¹ 、浜田 信城 ¹ (1)神歯大 院 微生物感染)
P1-125	<i>Streptococcus mutans</i> に対する植物由来抽出物の殺菌ならびに抗バイオフィーム効果の検討 ○坂上 雄樹 ^{1,2} 、土門 久哲 ¹ 、小田 真隆 ¹ 、興地 隆史 ² 、寺尾 豊 ¹ (1)新大 院医歯 微生物、 ² 新大 院医歯 う蝕)
P1-126	<i>Streptococcus sanguinis</i> が産生する過酸化水素は NETs 形成を誘導する ○住岡 龍一 ^{1,2} 、中田 匡宣 ² 、森田 知里 ² 、和田 聖史 ² 、岡橋 暢夫 ³ 、住友 倫子 ² 、山口 雅也 ² 、林 美加子 ¹ 、川端 重忠 ² (1)阪大 院歯 保存、 ² 阪大 院歯 口腔細菌、 ³ 阪大 院歯 口腔科学フロンティア)

優秀ポスター賞 薬理学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-127	ワルファリンナトリウム投与ラットの動脈および骨出血に対するヘムコンデンタルドレッシング ^(R) の止血効果 ○唐川 亜希子 ¹ 、坂井 信裕 ¹ 、栗谷 未来 ^{1,2} 、高見 正道 ¹ 、諸橋 富夫 ¹ (昭大 歯 歯科薬理、 ² 昭大 歯 障がい者歯科)
P1-128	耳下腺における alpha 1B-アドレナリン受容体を介するフェニレフリン誘導性 AQP5 細胞内移動 ○Bragiel Aneta ¹ 、Pieczonke Tomasz ¹ 、石川 康子 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)
P1-129	ビタミン D による分化誘導でおこる歯原性上皮細胞の Ca ²⁺ 応答 ○村田 佳織 ¹ 、齊藤 正人 ¹ 、森田 貴雄 ² 、倉重 圭史 ¹ 、高橋 亜友美 ¹ 、谷村 明彦 ² (北医大 歯 小児歯科、 ² 北医大 歯 薬理)
P1-130	口腔扁平上皮癌細胞における keratin13 遺伝子サイレンシング ○永沼 香織 ^{1,2} 、八田 光世 ² 、山崎 純 ² (福歯大 口腔外科、 ² 福歯大 分子機能制御)
P1-131	Clodronate と etidronate (窒素非含有 bisphosphonates) は脊髄神経小胞リン酸トランスポーター SLC17 を抑制して鎮痛作用を発揮する ○島 和弘 ¹ 、山本 照子 ¹ 、菅原 俊二 ² 、遠藤 康男 ² (東北大 院歯 顎口腔矯正、 ² 東北大 院歯 口腔分子制御)
P1-132	Shh によるマウス顎下腺原基の分枝形態形成促進効果は EGF/EGFR 経路の活性化を介して起こる ○水越 堅詞 ¹ 、小山 典子 ¹ 、林 徹 ¹ 、赤井 崇浩 ² 、式守 道夫 ² 、柏俣 正典 ¹ (朝日大 歯 歯科薬理、 ² 朝日大 歯 口腔外科)
P1-133	ラット皮膚創傷治癒モデルにおいて MMP 阻害薬が線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を抑制する ○秦 省三郎 ¹ 、岡村 和彦 ² 、石井 太郎 ¹ 、梶井 貴史 ¹ 、石川 博之 ¹ 、山崎 純 ³ (福歯大 矯正歯科、 ² 福歯大 病態構造、 ³ 福歯大 分子機能制御)
P1-134	ACTH 産生腺腫で低発現を認めた miR-551b の腺腫発症への関与 ○小野 信二 ¹ 、岩田 武男 ¹ 、水澤 典子 ¹ 、岩脇 有軌 ² 、吉本 勝彦 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理、 ² 徳大 院口腔教育 口腔顎顔面補綴)
P1-135	C2C12 筋管における糖取り込みのオステオカルシンによる修飾 ○柄 慎太郎 ^{1,2} 、青沼 史子 ^{1,2} 、細川 隆司 ² 、平田 雅人 ³ 、竹内 弘 ¹ (九歯大 口腔応用薬理、 ² 九歯大 口腔再建リハビリ、 ³ 九大 院歯 口腔細胞工学)
P1-136	神経-骨芽細胞共培養系における細胞間シグナル伝達 ○兒玉 大介 ¹ 、戸苅 彰史 ¹ (愛院大 歯 薬理)
P1-137	ROCK 阻害剤 Fasudil の頭頸部扁平上皮癌における CXCL14/BRAK を介した抗腫瘍効果の検討 ○宮本 千央 ¹ 、前畑 洋次郎 ¹ 、高橋 聡子 ¹ 、吉野 文彦 ¹ 、吉田 彩佳 ¹ 、高橋 俊介 ¹ 、李 昌一 ² (神歯大 院 口腔科学、 ² 神歯大 災害セ)
P1-138	唾液腺の老性萎縮や老性遺伝子変化に及ぼすホエー成分の諸性質の探索 ○Pieczonka Tomasz ¹ 、Bragiel Aneta ¹ 、石川 康子 ¹ (徳大 院 HBS 分子薬理)
P1-139	ミクログリアの 2 種類の突起の日内変化に関する形態学的ならびに生体イメージング解析 ○高山 扶美子 ¹ 、林 良憲 ¹ 、武 洲 ¹ 、中西 博 ¹ (九大 院歯 口腔機能分子科学)
P1-140	破骨細胞の多核化とリソソーム機能を制御する rab タンパク質の同定 ○菅原 めぐみ ^{1,2} 、坂井 詠子 ¹ 、福岡 裕 ¹ 、西下 一久 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、吉田 教明 ² 、筑波 隆幸 ¹ (長大 院歯歯薬 歯科薬理、 ² 長大 院歯歯薬 歯科矯正)
P1-141	Na,K-ATPase 活性及びそのリン酸化反応中間体量に対するベリリウムの作用 ○沖野 雄一郎 ¹ 、出山 義昭 ¹ 、吉村 善隆 ¹ 、鈴木 邦明 ¹ (北大 院歯 細胞分子薬理)
P1-142	メカニカルストレス応答性 miR-494-3p による FGFR2 発現の抑制 ○岩脇 有軌 ¹ 、水澤 典子 ² 、小野 信二 ² 、岩田 武男 ² 、吉本 勝彦 ² (徳大 院 HBS 口腔顎顔面補綴、 ² 徳大 院 HBS 分子薬理)

炎症・免疫・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-143	血清アルブミンによって誘導される LPS の物理化学的変換 ○小松 俊也 ¹ 、相田 宜利 ¹ (九大 院歯 歯周病)
P1-144	ファイブロサイトに注目した顎関節領域疾患発症機構の解明 ○衣斐 美歩 ^{1,2} 、堀江 沙和 ^{1,3} 、帖佐 直幸 ² 、吉田 茉莉子 ² 、加茂 政晴 ² 、客本 斉子 ² 、大塚 正人 ⁴ 、佐原 資謹 ³ 、藤村 朗 ⁵ 、石崎 明 ² (岩医大 歯歯薬総研 腫瘍生物、 ² 岩医大 生化学 細胞情報、 ³ 岩医大 生理 病態生理、 ⁴ 東海大 医 分子生命、 ⁵ 岩医大 解剖 機能形態)
P1-145	クマ笹アルカリ抽出液のヒト歯肉線維芽細胞に対する抗炎症効果の解析 ○坂上 宏 ^{1,2} 、大越 絵実加 ² 、加藤 崇雄 ^{1,3} 、下山 哲夫 ³ 、北嶋 まどか ⁴ 、賈 俊業 ⁴ 、大泉 高明 ⁴ 、杉本 昌弘 ⁵ (明海大 歯 薬理、 ² 明海大 歯 MPL、 ³ 埼玉大 口外、 ⁴ 大和生物研、 ⁵ 慶應大 先端生命科学研)
P1-146	プロボリスのカテプシン S 発現制御を介した Th1 応答抑制作用 ○張 馨文 ¹ 、武 洲 ² 、中西 博 ² (中国医大 口腔医院 インプラントセ、 ² 九大 院歯 口腔機能分子科学)

P1-147	口腔扁平苔癬、苔癬様口内炎および苔癬様上皮性異形成 190 検体についての病理組織学的、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)
P1-148	<i>Candida albicans</i> によるマクロファージと樹状細胞への IL-1 β 産生誘導の違い ○長谷部 晃 ¹ 、佐伯 歩 ¹ 、杉山 正博 ^{1,2} 、柴田 健一郎 ¹ (1北大 院歯 口腔分子微生物、 ² 北大 院歯 口腔診断内科)
P1-149	免疫応答を誘導する歯周病原細菌の抗原決定基の探索 ○今吉 理恵子 ¹ 、田崎 園子 ¹ 、橋本 麻利江 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、長 環 ¹ 、田中 芳彦 ¹ (1福歯大 感染生物)
P1-150	老化ラット歯肉の生理活性物質吸収と免疫応答誘導における有用性 ○Cueno Marni ¹ 、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)
P1-151	ケモカイン遺伝子のメディエーター複合体による転写制御 ○廣井 美紀 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (1明海大 歯 微生物)
P1-152	アレルギー反応に関連した新しいシグナル分子の同定とその機能解析 ○橋本 麻利江 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、田崎 園子 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ 、長 環 ¹ 、湯浅 賢治 ² 、田中 芳彦 ¹ (1福歯大 感染生物、 ² 福歯大 画像診断)
P1-153	唾液腺における抗体ならびに抗菌性タンパク質産生におけるシグナル伝達分子 MyD88 の役割の検討 ○引頭 毅 ¹ 、猪俣 恵 ¹ 、稲葉 裕明 ¹ 、村上 幸孝 ¹ (1朝日大 歯 口腔微生物)
P1-154	SLPI による <i>Porphyromonas gingivalis</i> に対する感染抑制作用 ○下山 佑 ¹ 、石河 太知 ¹ 、根本 優子 ² 、根本 孝幸 ² 、佐々木 実 ¹ 、木村 重信 ¹ (1岩医大 分子微生物、 ² 長大 院医歯 薬 口腔分子生)
P1-155	LDL 酸化変性における Arg-及び Lys-gingipain の役割 ○落合 智子 ¹ 、瀧澤 智美 ¹ 、小林 良喜 ¹ (1日大 松戸歯 口腔免疫)
P1-156	細菌分解オートファジーに関わる Rab タンパク質 ○野澤 孝志 ¹ 、中川 一路 ¹ (1京大 医 微生物感染症)
P1-157	マウス口腔扁平上皮癌細胞株の形質の違いが宿主の抗腫瘍免疫機構に及ぼす影響 足立 充隆 ^{1,2} 、神谷 真子 ² 、川木 晴美 ² 、高山 英次 ² 、稲垣 俊弘 ¹ 、村松 泰徳 ¹ 、○近藤 信夫 ² (1朝日大 歯 口腔 外科、 ² 朝日大 歯 口腔生)

歯周組織・口腔粘膜・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P1-158	歯根膜における実験的咬合性外傷の細胞動態 ○高谷 達夫 ¹ 、三村 泰亮 ¹ 、松田 紗依佳 ² 、中野 敬介 ² 、川上 敏行 ² 、岡藤 範正 ³ 、大須賀 直人 ¹ (1松歯大 口腔健康分析、 ² 松歯大 総歯研 病態解析、 ³ 松歯大 院 臨床病態)
P1-159	ヒト歯根膜線維芽細胞の機能維持におけるオステオポンチンとメカニカルストレスの役割 ○荒川 俊哉 ¹ 、岡山 三紀 ² 、溝口 到 ² 、田隈 泰信 ¹ (1北医大 歯 生化、 ² 北医大 歯 矯正)
P1-160	矯正力による歯の移動時のラットの歯周組織の改造 ○朱 成淑 ¹ 、金 志延 ¹ 、申 濟元 ¹ (1慶熙大 歯 口腔解剖組織)
P1-161	歯根膜線維芽細胞による破骨細胞制御機能に及ぼす咬合力の影響 ○高橋 智美 ¹ 、滝田 裕子 ¹ 、牛島 夏未 ¹ 、飯塚 正 ¹ (1北大 院歯 学術支援)
P1-162	ストレス反応性物質による歯周組織への影響 第2報 ○定岡 直 ¹ 、八上 公利 ^{2,3} 、川原 一郎 ¹ (1松歯大 口腔衛生、 ² 松歯大 社会歯科、 ³ 松歯大 院 健康増進口腔科学)
P1-163	ヒト歯肉線維芽細胞での LPS 長期刺激による XII-collagen と fibronectin の DNA メチル化解析 ○西村 学子 ¹ 、高井 理衣 ¹ 、植原 治 ² 、原田 文也 ¹ 、宇津宮 雅史 ¹ 、中條 貴俊 ¹ 、吉田 光希 ¹ 、佐藤 惇 ¹ 、齊藤 正人 ³ 、安彦 善裕 ¹ (1北医大 歯 臨床口腔病理、 ² 北医大 歯 保険衛生、 ³ 北医大 歯 小児歯科)
P1-164	歯周組織における血管・骨再生の数値シミュレーション ○松尾 雅斗 ^{1,2} 、永山 勝也 ³ (1神歯大 院 歯科形態、 ² 神歯大 横須賀・湘南地区災害医療歯科学研究セ、 ³ 九工大 機会情報)
P1-165	大黃甘草湯は活性酸素やインフラマソームを介して 5-fluorouracil が誘導する細胞死を改善させる ○吉田 賀弥 ¹ 、吉岡 昌美 ² 、岡村 裕彦 ³ 、日野出 大輔 ⁴ (1徳大 院 HBS 口腔保健教育、 ² 徳大 院 HBS 口腔保健福祉、 ³ 徳大 院 HBS 口腔組織、 ⁴ 徳大 院 HBS 口腔保健衛生)
P1-166	口腔粘膜におけるメカノセンサー Piezo の発現 ○畠山 純子 ¹ 、木附 智子 ² 、合島 怜央奈 ^{2,3} 、村田 直久 ⁴ 、畠山 雄次 ⁵ 、阿南 壽 ¹ 、城戸 瑞穂 ² (1福歯大 保存、 ² 九大 院歯 分子口腔解剖、 ³ 佐賀大 医 歯口外、 ⁴ 九大 院歯 矯正、 ⁵ 福歯大 機能構造)

薬理作用

P1-167	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4) ○石原 真理子 ¹ 、山内 雅司 ² (明海大 歯 基礎化学、 ² 明海大 歯 医療情報)
P1-168	分岐鎖脂肪酸及び分岐鎖脂肪酸エステルによる抗炎症成分の口腔粘膜吸収性向上 ○成松 三四郎 ¹ 、川延 勇介 ¹ 、荒井 将人 ¹ 、高橋 康彦 ¹ (ライオン オーラルケア研)
P1-169	各種臓器由来ヒトアルカリ性ホスファターゼの基質選択性と阻害剤感受性 ○更田 恵理子 ¹ 、出山 義昭 ² 、吉村 善隆 ² 、鈴木 邦明 ² 、山崎 裕 ¹ (北大 院歯 口腔健康科学、 ² 北大 院歯 口腔病態)
P1-170	ラット脳各種 ATPase 活性に対する静脈麻酔薬の作用 宮本 健志 ¹ 、出山 義昭 ¹ 、吉村 善隆 ¹ 、○鈴木 邦明 ¹ (北大 院歯 口腔病態)
P1-171	侵害性疼痛およびシクロオキシゲナーゼに対するキトサンオリゴ糖の効果 ○米原 典史 ¹ 、長岡 正博 ¹ (奥羽大 歯 口腔病態解析制御)
P1-172	NNC05-2090 の抗アロディニア効果とその他の薬理作用について ○十川 千春 ¹ 、秦泉寺 紋子 ² 、大山 和美 ³ 、宮脇 卓也 ⁴ 、森田 克也 ⁵ 、十川 紀夫 ¹ 、小崎 健一 ¹ (岡大 院医歯薬 歯科薬理、 ² 香川大 口腔外科、 ⁴ 岡大 院医歯薬 歯科麻酔、 ³ 岡大 歯 RI 実験施設、 ⁵ 広島文化大 看護 薬理)
P1-173	グルタミン酸は zoledronate による骨芽細胞障害を抑制する ○田島 雅道 ¹ 、坂上 宏 ¹ (明海大 歯 薬理)
P1-174	歯科用モノマーによる破骨細胞分化に対する効果 ○稲光 宏之 ^{1,2} 、岡元 邦彰 ¹ 、坂井 詠子 ¹ 、村田 比呂司 ² 、筑波 隆幸 ¹ (長大 院医歯薬 歯科薬理、 ² 長大 院医歯薬 歯科補綴)
P1-175	窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) 治療患者での顎骨壊死：N-BPs の etidronate (non-N-BP) への置換の試み ○大泉 丈史 ^{1,2,4} 、山口 晃史 ^{1,2} 、鈴木 飛佳理 ^{1,2} 、土谷 昌広 ³ 、菅原 俊二 ¹ 、高橋 哲 ² 、遠藤 康男 ¹ (東北大 院歯 口腔分子制御、 ² 東北大 院歯 口腔病態外科、 ³ 東北福祉大、 ⁴ JCHO 仙台病院 歯科・口腔外科)
P1-176	破骨細胞の分化抑制に関するエラジタンニン類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 歯科薬理)
P1-177	アルクチゲニンの破骨細胞分化抑制メカニズム ○山下 照仁 ¹ 、上原 俊介 ² 、小林 泰浩 ¹ 、宇田川 信之 ² 、高橋 直之 ¹ (松歯大 総歯研 硬組織、 ² 松歯大 口腔生化)

その他

P1-178	新ミュータンスレンサ球菌 <i>Streptococcus troglodytae</i> TKU31 の全遺伝子解析 ○岡本 公彰 ¹ 、内藤 真理子 ² 、今井 奨 ³ 、花田 信弘 ³ (鶴見大 歯 口腔微生物、 ² 長大 院医歯薬 口腔病原微生物、 ³ 鶴見大 歯 探索歯)
P1-179	レーザー照射による齶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)
P1-180	ブタ幼若エナメル質中の BMP について 村尾 一誠 ¹ 、木下 冴子 ¹ 、○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)

9月27日(土)ポスター会場(203~204)

解剖

P2-1	頸動脈の走行と後深側頭動脈の分岐に関する形態学的研究 ○前田 信吾 ^{1,3} 、飯村 彰 ^{1,3} 、影山 幾男 ² 、松尾 雅斗 ^{1,3} (神歯大 院 歯科形態、 ² 日歯大 新潟生命歯 解剖 1、 ³ 神歯大 横須賀・湘南地区災害医療歯科学研究セ)
P2-2	日本人の頬骨—上顎骨複合部形態に関する研究 ○松野 昌展 ¹ 、近藤 信太郎 ¹ (日大 松戸歯 解剖 I)
P2-3	メダカ咽頭骨にみられる硬組織間接着界面の形態学的特徴 ○松村 馨 ^{1,2} 、土門 卓文 ² 、飯田 順一郎 ¹ (北大 院歯 歯科矯正、 ² 北大 院歯 口腔機能解剖)

歯牙・・

P2-4	ヒト歯髄組織のセメント質様化生に関する病理組織学的観察 ○宇都宮 忠彦 ¹ 、山本 浩嗣 ² 、久山 佳代 ¹ (日大 松戸歯 口腔病理、 ² 日大)
P2-5	ヒト歯髄におけるプロスタグランジン E ₂ 輸送担体および特異的レセプターの免疫組織化学的局在解析 ○大倉 直人 ¹ 、大倉 麻里子 ² 、吉羽 永子 ¹ 、吉羽 邦彦 ¹ 、小田 陽平 ³ 、依田 浩子 ⁴ 、大島 勇人 ⁴ 、興地 隆史 ¹ (新大 院医歯 う蝕、 ² 新大 院医歯 歯科矯正、 ³ 新大 院医歯 組織再建口腔外科、 ⁴ 新大 院医歯 硬組織形態)
P2-6	歯胚発生、発育における Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Region Gene 1 (FRG1) の発現様式 ○長谷川 佳那 ^{1,2} 、和田 裕子 ¹ 、永田 健吾 ¹ 、藤原 弘明 ¹ 、染矢 祐孝 ^{1,3} 、神野 彰子 ^{1,4} 、三上 友理恵 ^{1,4} 、清島 保 ¹ (九大 院歯 口腔病理、 ² 九大 院歯 歯科保存、 ³ 九大 院歯 インプラント・義歯補綴、 ⁴ 九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)
P2-7	ブタ歯髄から分離した細胞の不死化とクローニング ○唐木田 丈夫 ¹ 、山本 竜司 ¹ 、大井田 新一郎 ¹ 、山越 康雄 ¹ (鶴見大 歯 分子生化)
P2-8	ブタ象牙質シアロリントリパゼ (DSPP) 遺伝子のスプライスバリエーションについて ○山本 竜司 ¹ 、唐木田 丈夫 ¹ 、大井田 新一郎 ¹ 、山越 康雄 ¹ (鶴見大 歯 分子生化)
P2-9	加齢に伴うエナメル小柱鞘の構造変化 ○見明 康雄 ¹ 、筒井 生 ² 、江下 義之 ² (東歯大 組織・発生、 ² 花王 パーソナルヘルスケア研)
P2-10	Semaphorin 4D - Rho A シグナルによるエナメル芽細胞分化制御 ○大津 圭史 ¹ 、熊上-坂野 深香 ¹ 、増田 智幸 ¹ 、藤原 尚樹 ¹ 、原田 英光 ¹ (岩医大 解剖 発生生物・再生医学)
P2-11	象牙芽細胞分化における Bmi-1 の機能 ○細矢 宏明 ¹ 、二宮 禎 ² 、吉羽 邦彦 ³ 、吉羽 永子 ³ 、中塚 美智子 ⁴ 、中村 浩彰 ¹ (松歯大 解剖 2、 ² 松歯大 総歯研、 ³ 新大 院医歯 う蝕、 ⁴ 大歯大 口腔解剖)
P2-12	象牙質基質タンパク質の糖化による加齢変化 ○清水 真人 ¹ 、三浦 治郎 ¹ (阪大 院歯 総診)
P2-13	持続的な軽度熱刺激は象牙芽細胞様細胞の熱耐性を向上させる ○諸富 孝彦 ¹ 、沖永 敏則 ² 、西原 達次 ² 、北村 知昭 ¹ (九歯大 口腔保存治療、 ² 九歯大 感染分子生物)
P2-14	マウス ES 細胞由来象牙芽細胞において IL-1 β 誘導 MMP-3 は Wnt5 シグナルを介して細胞増殖を調節する ○尾関 伸明 ¹ 、山口 秀幸 ¹ 、檜山 太希 ¹ 、森田 あや美 ² 、茂木 眞希雄 ² 、中田 和彦 ¹ (愛院大 歯 歯内治療、 ² 愛院大 薬 生体機能化学)
P2-15	グアヤコールの前投与は象牙芽細胞における低浸透圧刺激誘発性 Ca ²⁺ 流入を抑制する ○陽田 みゆぎ ¹ 、木村 麻記 ² 、佐藤 正樹 ² 、田崎 雅和 ² 、澁川 義幸 ² (東歯大 口健、 ² 東歯大 生理)
P2-16	ラット切歯に填塞した酸化亜鉛ユージノール練和物から歯髄に遊離した亜鉛の動態と作用 ○深田 哲也 ¹ 、戸円 智幸 ¹ 、橋本 修一 ¹ (日歯大 生命歯 アイソトープ研究施設)
P2-17	カチオン・デンドリマーによる <i>in vitro</i> 石灰化阻害 ○藤沢 隆一 ¹ 、田村 正人 ¹ (北大 院歯 口腔分子生化)
P2-18	ラット切歯エナメル質と象牙質の石灰化過程における Ca、P および C の SEM-EDX 分析 ○丸山 顕太郎 ¹ 、逸見 晶子 ¹ 、笹野 泰之 ¹ (東北大 院歯 顎口腔形態創建)
P2-19	染め出しと QLF-D による歯垢検知法の比較 - Bland-Altman Plot を応用して - ○渡辺 幸嗣 ¹ 、鈴木 亮 ¹ 、中村 昭博 ¹ 、池田 英史 ¹ 、吉原 幸司郎 ¹ 、渡部 茂 ¹ (明海大 歯 口腔小児)
P2-20	ミドリフグの歯に関する組織学的観察 ○山本 仁 ¹ 、藤関 元也 ¹ 、山崎 貴希 ¹ (東歯大 組織・発生)
P2-21	トガリネズミの上顎・下顎第 1 大臼歯の咬頭形成 ○山中 淳之 ¹ 、岩井 治樹 ¹ 、後藤 哲哉 ¹ (鹿大 院医歯 歯科機能形態)
P2-22	デボン紀扇鱗類 <i>Eusthenopteron foodi</i> の歯の組織構造と歯の支持様式 ○三島 弘幸 ¹ 、見明 康雄 ² 、笹川 一郎 ³ (高知学園短大 医療衛生 歯科衛生、 ² 東歯大 組織・発生、 ³ 日歯大 新潟生命歯 先端研)

骨代謝・・

P2-23	間質細胞から産生されている破骨細胞前駆細胞分化機能維持に影響する因子について ○天野 滋 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (明海大 歯 口腔生物再生医工学)
--------------	--

P2-24	網羅的遺伝子発現解析による破骨細胞の分化に関わる遺伝子の同定及びその発現機能解析 舟久保 立 ^{1,2} 、久木田 敏夫 ³ 、徐 祥赫 ¹ 、中村 誠司 ² 、○久木田 明子 ¹ (佐賀大 医 微生物、 ² 九大 院歯 顎顔面腫瘍制御、 ³ 九大 院歯 分子口腔解剖)
P2-25	RAW264.7細胞の破骨細胞分化においてIL-17A刺激がJNKとc-fosに及ぼす影響 ○井上 博 ¹ 、内橋 賢二 ¹ 、西川 泰央 ¹ (大歯大 生理)
P2-26	細菌感染による免疫応答が破骨細胞分化に与える影響 ○中山 真彰 ¹ 、井上 哲圭 ¹ 、中山 浩次 ² 、大原 直也 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)
P2-27	硫化水素は骨髄幹細胞から破骨細胞を分化誘導する ○今井 敏夫 ¹ 、那須 優則 ² 、八重垣 健 ¹ (日歯大 生命歯 衛生、 ² 日歯大 生命歯 共同研)
P2-28	破骨細胞分化制御におけるPRIPの役割 ○松田 美穂 ¹ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工学)
P2-29	RelBが誘導するMAP3Kファミリー分子であるCotはIKK α を活性化しNF- κ B2のプロセッシングを誘導することによりリンパ節形成不全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 ³ 、牧 憲司 ² 、自見 英治郎 ¹ (九歯大 分子情報生化学、 ² 九歯大 小児歯、 ³ 福歯大 細胞生理)
P2-30	至適圧縮力は破骨細胞分化を促進する ○吉村 善隆 ¹ 、早川 貴子 ^{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 院 HBS 小児歯科)
P2-31	Nrf2遺伝子欠損マウスにおける酸化ストレスと破骨細胞分化 ○坂井 詠子 ¹ 、福岡 裕 ¹ 、菅原 めぐみ ² 、西下 一久 ¹ 、岡元 邦彰 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (長大 院医歯薬 歯科薬理、 ² 長大 院医歯薬 歯科矯正)
P2-32	BMP-2は骨シアー蛋白質(BSP)遺伝子のRunx2による転写調節に促進的効果を及ぼす ○山内 雅人 ¹ 、岩田 敏男 ² 、河田 俊嗣 ² (神歯大 院 高度先進口腔医学・歯科矯正、 ² 神歯大 院 口腔科学・歯科矯正)
P2-33	コバルトプロトポルフィリンの破骨細胞分化および活性化に対する影響 八島 由佳 ^{1,2} 、○岡元 邦彰 ¹ 、坂井 詠子 ¹ 、西下 一久 ¹ 、筑波 隆幸 ¹ (長大 院医歯薬 歯科薬理、 ² 広大 歯)
P2-34	II型ウシコラーゲン誘導のマウス関節リウマチモデルを用いたRANKL結合ペプチドの骨形成促進作用と骨吸収抑制作用 ○加藤 玄樹 ¹ 、清水 康広 ² 、菅森 泰隆 ¹ 、田村 幸彦 ¹ 、小野 卓史 ² 、大谷 啓一 ¹ 、青木 和広 ¹ (医科歯科大 院医歯硬組織薬理、 ² 医科歯科大 院医歯 咬合機能矯正)
P2-35	血清および骨芽様培養細胞MC3T3-E1中の亜鉛結合蛋白質の解析 ○戸円 智幸 ¹ 、深田 哲也 ¹ 、橋本 修一 ¹ (日歯大 生命歯 アイソトープ研究施設)
P2-36	Cellmatrix [®] Type I-A コラーゲングルスキャホールド内でインプラント体とともに培養したHMS0014細胞の硬組織形成に関する組織学的研究 ○森下 愛子 ¹ 、隈部 俊二 ¹ 、中塚 美智子 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖)
P2-37	糖尿病ラット骨髄由来骨芽細胞様細胞のチタン上における増殖能および分化能について ○杉田 好彦 ^{1,2} 、神野 正人 ¹ 、本田 由馬 ¹ 、加藤 世太 ¹ 、河合 遼子 ¹ 、磯村 まどか ¹ 、佐藤 伸明 ¹ 、吉田 和加 ^{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)
P2-38	骨折治癒過程へのTRPV4欠損の影響 ○沖 雄二 ¹ 、米女 博司 ¹ 、合島 怜央奈 ¹ 、畠山 純子 ¹ 、木附 智子 ¹ 、張 旌旗 ¹ 、城戸 瑞穂 ¹ (九大 院歯 口腔常態制御)
P2-39	乳塩基性タンパク投与によるマウス骨折治癒促進効果 ○米女 博司 ¹ 、畠山 純子 ¹ 、檀上 敦 ² 、合島 怜央奈 ² 、村田 直久 ¹ 、渡辺 敏之 ¹ 、沖 雄二 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)
P2-40	マウス下顎体領域前方部メッケル軟骨の軟骨内骨化様式による消失範囲 ○井上 貴一郎 ¹ 、樋口 ゆみ ² 、影近 史也 ² 、牛島 夏未 ³ 、上北 広樹 ¹ 、松村 馨 ¹ 、八木原 澄 ¹ 、高橋 茂 ¹ 、土門 卓文 ¹ (北大 院歯 口腔機能解剖、 ² 北大 歯 6年、 ³ 北大 院歯 学術支援)
P2-41	マウス下顎体領域後半部メッケル軟骨の骨化様式について ○牛島 夏未 ¹ 、影近 史也 ² 、樋口 ゆみ ² 、井上 貴一郎 ³ 、上北 広樹 ³ 、松村 馨 ³ 、八木原 澄 ³ 、高橋 茂 ³ 、飯塚 正 ¹ 、土門 卓文 ³ (北大 院歯 学術支援、 ² 北大 歯 6年、 ³ 北大 院歯 口腔機能解剖)
P2-42	<i>In situ</i> hybridization法を用いたマウス大腿骨成長板における一酸化窒素合成酵素(NOS)の検出 ○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 口腔組織、 ² 奥羽大 歯 口腔組織構造生物、 ³ 奥羽大 歯 顎口腔外科)
P2-43	大理石骨病における下顎智歯部歯槽骨の形態学的解析 ○三上 俊成 ¹ 、見明 康雄 ² 、武田 泰典 ¹ (岩医大 病理 病態解析、 ² 東歯大 組織・発生)
P2-44	プロゲステロンは産卵ウズラの骨髄骨破骨細胞の活性を抑制する ○山本 敏男 ¹ 、塩津 範子 ^{1,2} 、片岡 陽平 ^{1,3} 、河井 まりこ ¹ 、池亀 美華 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態、 ² 岡大 病院 総合歯科、 ³ 岡大 院医歯薬 顎口腔顔面再建外科)
P2-45	成長因子カクテルを用いた歯根膜由来細胞の分化誘導実験 ○隈部 俊二 ¹ 、中塚 美智子 ¹ 、細矢 明宏 ² 、上田 甲寅 ¹ 、乾 千珠子 ¹ 、森下 愛子 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖、 ² 松歯大 口腔解剖二)

P2-46	軟骨細胞動態における Growth/Differentiation Factors の機能的差異に関する検討 ○畠山 雄次 ¹ 、松田 裕子 ⁴ 、畠山 純子 ² 、岡 暁子 ³ 、阿南 壽 ² 、稲井 哲一朗 ¹ 、石川 博之 ⁴ 、沢 禎彦 ¹ (福歯大 機能構造、 ² 福歯大 歯科保存、 ³ 福歯大 小児歯科、 ⁴ 福歯大 矯正歯科)
P2-47	ラット顎関節滑膜におけるデスミン免疫陽性 B 型および RECA-1 免疫陽性 A 型表層細胞の血管形成への関与 ○野澤-井上 佳世子 ¹ 、真柄 仁 ² 、河野 芳朗 ¹ 、大峽 淳 ¹ 、前田 健康 ¹ (新大 院医歯 口腔解剖、 ² 新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)
P2-48	オステオカルシン受容体候補タンパク質 GPRC6A の免疫組織学的解析 ○東 泉 ¹ 、溝上 顕子 ² 、大住 伴子 ¹ 、平田 雅人 ² 、竹内 弘 ¹ (九歯大 口腔応用薬理、 ² 九大 院歯 口腔細胞工学)
P2-49	オステオカルシン妊娠期投与による次世代糖脂質代謝制御の可能性 ○川久保一安河内 友世 ¹ 、近藤 皓彦 ¹ 、安武 雄 ¹ 、溝上 顕子 ¹ 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工学)

発生・再生・・

P2-50	歯胚発生過程における血管新生制御機構の解析 ○春原 正隆 ¹ 、佐藤 巖 ¹ (日歯大 生命歯 解剖一)
P2-51	舌発生における SHH の役割 ○奥原 滋 ¹ 、井関 祥子 ¹ (医科歯科大 院医歯 分子発生)
P2-52	マウス胚における GnRH-ニューロンの移動に非依存的な性腺刺激ホルモン分泌細胞の出現 ○今井 元 ¹ 、馬場 麻人 ¹ (奥羽大 歯 生物)
P2-53	胎生期中後期における線維芽細胞増殖因子 (FGF) 10 の過剰発現はマウス頭蓋顎顔面の形成障害をもたらす ○香川 和子 ¹ 、吉岡 広陽 ² 、呉本 晃一 ¹ 、竹井 悠一郎 ² 、南崎 朋子 ² 、津賀 一弘 ¹ 、吉子 裕二 ² (広大 院医歯薬保先端歯科補綴、 ² 広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物)
P2-54	咬筋における miR-206 とアセチルコリン受容体形成因子との関連性について ○島崎 絵美 ¹ 、成山 明具美 ¹ 、安藤 準 ² 、山根 明 ² 、朝田 芳信 ¹ (鶴見大 院歯 小児歯科、 ² 鶴見大 歯 物理)
P2-55	ラット胎仔器官培養舌粘膜組織における <i>in vitro</i> エレクトロポレーション法による遺伝子導入の評価 ○吉村 建 ¹ 、梨田 智子 ² 、三上 正人 ³ 、影山 幾男 ¹ (日歯大 新潟生命歯 解剖、 ² 日歯大 新潟生命歯 生化、 ³ 日歯大 新潟生命歯 微生物)
P2-56	温度感受性 TRPV3 チャネル遺伝子欠失マウスにおけるエナメル質の異常形成 ○張 旌旗 ¹ 、合島 怜央奈 ^{1,2} 、木附 智子 ¹ 、大崎 康吉 ¹ 、久木田 敏夫 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)
P2-57	DNA メチル化酵素阻害剤投与による TGFβ3 ノックアウトマウスの口蓋裂表現型の薬理的改善に関する研究 ○杉山 明子 ¹ 、滝川 俊也 ¹ 、引頭 毅 ² (朝日大 歯 口腔解剖、 ² 朝日大 歯 口腔微生物)
P2-58	マウス <i>Msx2</i> 遺伝子は外エナメル上皮の角化重層扁平上皮化を抑制する ○中富 満城 ^{1,2} 、依田 浩子 ² 、大島 勇人 ² (九歯大 頭頸部構造解析、 ² 新大 院医歯 硬組織形態)
P2-59	歯髄幹細胞からのクローンにおける分化能と網羅的遺伝子発現の差異 ○小林 朋子 ¹ 、鳥居 大祐 ¹ 、筒井 健機 ² 、筒井 健夫 ¹ (日歯大 生命歯 薬理、 ² 日歯大 生命歯)
P2-60	ビリルビンの影響下におけるヒト歯髄幹細胞の機能回復 ○星野 慶弘 ¹ 、山座 孝義 ² 、馬 蘭 ¹ 、友田 恵利佳 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)
P2-61	ヒト歯髄幹細胞を用いたマウス抜髄歯への移植法 ○筒井 健夫 ¹ (日歯大 生命歯 薬理)
P2-62	培養ヒト歯根膜細胞におけるセメント芽細胞分化機構の解析 ○鳥居 大祐 ¹ 、筒井 健夫 ¹ 、古西 清司 ² (日歯大 生命歯 薬理、 ² 日歯大 生命歯 微生物)
P2-63	エムドゲインゲル中の生理活性物質について ○丹羽 堯彦 ¹ 、木下 冴子 ² 、村尾 一誠 ² 、大井田 新一郎 ³ 、五味 一博 ¹ 、山越 康雄 ³ (鶴見大 歯 歯周病、 ² 鶴見大 歯 小児歯科、 ³ 鶴見大 歯 分子生化)
P2-64	骨欠損に填入した β-TCP 顆粒間隙と血管新生について ○戸田 伊紀 ¹ 、安光 秀人 ¹ 、大西 吉之 ¹ 、芳本 岳 ¹ 、上村 守 ¹ 、諏訪 文彦 ¹ (大歯大 解剖)

腫瘍・・

P2-65	口腔前癌病変診断マーカーとしての糖鎖の可能性 ○江原 道子 ¹ 、中尾 寿奈 ¹ 、永山 元彦 ¹ 、田沼 順一 ¹ (朝日大 歯 口腔病理)
P2-66	口腔癌細胞におけるアポトーシス誘導因子 GRIM19 の発現制御機構 ○森 一将 ¹ 、廣井 美紀 ² 、嶋田 淳 ¹ 、大森 喜弘 ² (明海大 歯 口腔顎面外科 1、 ² 明海大 歯 微生物)

P2-67	<i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS が HSC-3 舌癌細胞の癌進展機能に与える影響 ○大久保 つや子 ¹ 、山崎 純 ¹ (福歯大 分子機能制御)
P2-68	頭頸部扁平上皮癌における berberine の Notch-1 のダウンレギュレーション ○大越 絵実加 ¹ 、梅村 直己 ² 、坂上 宏 ² (明海大 歯 MPL、 ² 明海大 歯 薬理)
P2-69	口腔におけるテロメラーゼ活性と癌進展との相関性に関する研究 ○宮崎 裕司 ¹ 、菊池 建太郎 ¹ 、星野 都 ² 、井上 ハルミ ¹ 、山内 雅司 ³ 、草間 薫 ¹ (明海大 歯 病理、 ² 明海大 歯 口腔外科、 ³ 明海大 歯 医療情報)
P2-70	Foxp3 強制発現は Ca9-22 細胞の増殖能、遊走能及び MMP9 の分泌を抑制する ○津田 啓方 ¹ 、室伏 貴久 ¹ 、鈴木 直人 ¹ (日大 歯 生化)
P2-71	ヒト正常角化細胞における活性酸素種は p16 プロモーター領域のメチル化を介して細胞老化を誘導する 佐々木 三奈 ^{1,2} 、鍛冶屋 浩 ¹ 、○永島 勝之 ^{1,2} 、長岡 良礼 ^{1,2} 、永沼 香織 ² 、大城 希美子 ¹ 、岡本 富士雄 ¹ 、福島 秀文 ¹ 、岡部 幸司 ¹ (福歯大 細胞生理、 ² 福歯大 口腔外科)
P2-72	腫瘍内浸潤マクロファージは解糖系亢進と共に免疫抑制能を保持する ○梅村 直己 ¹ 、坂上 宏 ¹ (明海大 歯 薬理)
P2-73	マウス扁平上皮癌細胞の IFN 耐性における細胞増殖制御遺伝子の DNA メチル化による発現抑制 ○山口 花 ¹ 、廣井 美紀 ¹ 、大森 喜弘 ¹ (明海大 歯 微生物)
P2-74	Mucosa-associated lymphoid tissue 1 による口腔癌浸潤の抑制 ○千葉 忠成 ¹ 、美原 希美 ¹ 、須藤 遥 ¹ 、今井 一志 ¹ (日歯大 生命歯 生化)

唾液・唾液腺

P2-75	液状飼料飼育がラット耳下腺の成長に与える影響について ○高橋 茂 ¹ 、上北 広樹 ¹ 、加藤 剛士 ¹ 、牛島 夏未 ¹ 、井上 貴一郎 ¹ 、土門 卓文 ¹ (北大 院歯 口腔機能解剖)
P2-76	唾液蛋白質ヒスタチンによる細胞増殖とユビキチン化促進作用 ○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)
P2-77	小児および成人の唾液メタボローム解析：特に、プロリン/グリシン比の変動に注目して ○田中 庄二 ¹ 、秋田 紗世子 ¹ 、谷口 潔 ¹ 、片山 直 ¹ 、荻原 孝 ² 、小口 寛子 ² 、渡部 茂 ² 、坂上 宏 ³ 、杉本 昌弘 ⁴ (明海大 歯 総合臨床歯科、 ² 明海大 歯 口腔小児、 ³ 明海大 歯 薬理、 ⁴ 慶應大 先端生命科学研究)
P2-78	NOD マウス耳下腺腺房細胞における細胞内輸送タンパク質 mRNA の発現変化 ○梨田 智子 ¹ 、佐藤 律子 ² 、下村-黒木 淳子 ³ (日歯大 新潟生命歯 生化、 ² 日歯大 新潟短大、 ³ 日歯大 新潟生命歯 小児歯科)
P2-79	唾液腺における分泌タンパク質の選別輸送機構の解析 ○吉垣 純子 ¹ 、横山 愛 ¹ 、加藤 治 ¹ (日大 松戸歯 生理)
P2-80	耳下腺腺房細胞における Rab33A の局在と働き ○今井 あかね ^{1,4} 、辻村 麻衣子 ^{2,3} 、佐藤 律子 ^{1,4} 、吉江 紀夫 ² (日歯大 新潟短大、 ² 日歯大 新潟生命歯 第二解剖、 ³ 日歯大 新潟生命歯 先端研究セ、 ⁴ 日歯大 新潟生命歯 生化)
P2-81	唾液分泌刺激薬による顎下腺の Ca ²⁺ 応答の intravital イメージングと唾液分泌の同時測定 ○根津 顕弘 ¹ 、森田 貴雄 ¹ 、東城 庸介 ² 、谷村 明彦 ¹ (北医大 歯 薬理、 ² 北医大 歯 生物物理)
P2-82	アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた Ca ²⁺ バイオセンサーの長期発現と唾液腺細胞の長時間 Ca ²⁺ イメージング ○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)
P2-83	雄性マウス顎下腺における顆粒性導管の出現と PACAP レセプターの局在変化について ○野中 直子 ¹ 、中村 雅典 ¹ (昭大 歯 口腔解剖)
P2-84	萎縮および損傷顎下腺における bFGF の効果 ○菊池 憲一郎 ¹ 、八重垣 健 ² 、筒井 健夫 ³ 、那須 優則 ⁴ 、池田 利恵 ⁵ 、高田 清美 ¹ 、堀江 哲郎 ⁴ (日歯大 生命歯 解剖 2、 ² 日歯大 生命歯 衛生、 ³ 日歯大 生命歯 薬理、 ⁴ 日歯大 生命歯 共同研セ、 ⁵ 日歯大 東京短大 歯衛生)
P2-85	オレキシンはラット顎下唾液腺を支配する上唾液核ニューロンを興奮させる ○美藤 純弘 ¹ 、佐藤 匡 ² 、藤田 雅子 ¹ 、小橋 基 ¹ 、市川 博之 ² 、松尾 龍二 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生理、 ² 東北大院歯 口腔器官構造)
P2-86	ラット唾液腺の TRP チャネルの出現に関する発生学的研究 ○藤関 元也 ¹ 、山崎 貴希 ¹ 、山本 仁 ¹ (東歯大 組織・発生)
P2-87	マウス胎仔唾液腺の発生過程における Hippo シグナル伝達経路の機能解析 ○北川 道憲 ¹ 、廣野 力 ¹ 、杉田 誠 ¹ (広大院医歯薬保 口腔生理)
P2-88	胎生 12 日と 13 日の顎下腺原基における細胞成長因子の応答性の違いについて ○赤井 崇浩 ¹ 、水越 堅詞 ² 、林 徹 ² 、式守 道夫 ¹ 、柏保 正典 ² 、小山 典子 ² (朝日大 歯 口外、 ² 朝日大 歯 歯科 薬理)

P2-89	唾液腺再生モデルにおける水チャネル AQP5 の発現 ○姚 陳娟 ¹ 、赤松 徹也 ¹ 、長谷川 敬展 ¹ 、吉村 弘 ¹ (徳大 院 HBS 口腔分子生理)
P2-90	ユビキチンリガーゼによる AQP5 のユビキチン化亢進とダウンレギュレーション ○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)
P2-91	バイオマーカー応用を目的とした唾液からの RNA 抽出法の評価 ○佐藤 律子 ^{1,2} 、梨田 智子 ² 、今井 あかね ^{1,2} (1日歯大 新潟短大 歯科衛生、2日歯大 新潟生命歯 生化)
P2-92	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 ³ (1神歯大 院 放射線応用科学、2神歯大 院 う蝕制御修復、3神歯大 院 硬組織分子細胞生物)

筋

P2-93	マイクロ CT による舌筋の 3 次元構築 ○青柳 秀一 ¹ 、岩崎 信一 ² 、浅見 知市郎 ³ (1日歯大 新潟生命歯 先端研、2日歯大 新潟生命歯 生理、3群馬パース 検査技術)
P2-94	高齢者の鼓膜張筋と口蓋帆張筋における血管動態について ○佐藤 巖 ¹ 、三輪 容子 ¹ 、福山 完 ¹ 、春原 正隆 ¹ (1日歯大 生命歯 解剖)
P2-95	成長因子と irisin との関連 ○崎山 浩司 ¹ 、坂東 康彦 ¹ 、川邊 好弘 ² 、坂下 英 ^{1,3} 、天野 修 ¹ (1明海大 歯 解剖、2明海大 歯 オーラルリハビリ、3明海大 歯 口腔顎顔面外科 2)
P2-96	筋芽細胞株 C2C12 におけるアミノ酸 (うま味) 受容体 T1R1 遺伝子のプロモーター領域の解析 ○豊野 孝 ¹ 、瀬田 祐司 ¹ 、片岡 真司 ² 、豊島 邦昭 ¹ (1九歯大 口腔組織機能解析、2九歯大 頭頸部構造解析)
P2-97	β2 アドレナリン受容体作動薬および糖質コルチコイドがラット咬筋に与える影響 ○梅木 大輔 ¹ 、大貫 芳樹 ² 、中村 芳樹 ¹ 、奥村 敏 ¹ (1鶴見大 歯 歯科矯正、2鶴見大 歯 歯科生理)

神経

P2-98	ラット三叉神経脊髄路核尾側亜核 / 上部頸髄移行部の眼侵害受容ニューロンに対するオレキシン下行性変調機構 ○片桐 綾乃 ^{1,2} 、岩田 幸一 ² (1ミネソタ大、2日大 歯 生理)
P2-99	上唾液核ニューロンにおける NMDA 受容体活性化による顎下腺唾液分泌応答 ○石塚 健一 ¹ 、佐藤 義英 ¹ (1日歯大 新潟生命歯 生理)
P2-100	最後野および孤束核のノルアドレナリン作動性ニューロンの悪心・嘔吐誘発への関与 ○平井 喜幸 ¹ 、前澤 仁志 ¹ 、船橋 誠 ¹ (1北大 院歯 口腔生理)
P2-101	cGMP 依存性蛋白キナーゼの活性化による TASK3 コンダクタンスの抑制 ○田中 千恵 ^{1,2} 、齋藤 充 ¹ 、豊田 博紀 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、河野 奨 ¹ 、姜 英男 ¹ (1阪大 院歯 高次脳口腔機能、2阪大 院歯 顎口腔機能再建)
P2-102	乾燥に应答する角膜求心性神経線維における TRPV1 TRPA1 作動薬の影響 ○黒瀬 雅之 ¹ 、八田 あずさ ^{1,2} 、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)
P2-103	末梢ドーパミンの体色依存痛覚感受性における役割 ○小野 堅太郎 ¹ 、人見 涼露 ¹ 、稲永 清敏 ¹ (1九歯大 生理)
P2-104	神経障害性疼痛による開口反射の変調におけるグルタメート-グルタミン酸シャトルの関与 ○高橋 功次朗 ^{1,2} 、篠田 雅路 ³ 、海野 俊平 ³ 、高辻 華子 ^{1,2} 、齋藤 功 ¹ 、山村 健介 ² 、岩田 幸一 ³ 、北川 純一 ² (1新大 院医歯 矯正、2新大 院医歯 口腔生理、3日大 歯 生理)
P2-105	三叉神経運動核閉口筋領域内の γ 運動ニューロンの電気生理学および組織学的特性 ○西村 佳世 ¹ 、磯貝 由佳子 ¹ 、齋藤 充 ² 、豊田 博紀 ² 、佐藤 元 ² 、河野 奨 ² 、山城 隆 ¹ 、姜 英男 ² (1阪大 院歯 顎顔面口腔矯正、2阪大 院歯 高次脳口腔機能)
P2-106	脳磁図によるヒトの等尺性舌突出時の脳-筋コヒーレンス解析 ○前澤 仁志 ¹ 、美馬 達哉 ² 、白石 秀明 ³ 、平井 喜幸 ¹ 、船橋 誠 ¹ (1北大 院歯 口腔生理、2京大 院医 脳機能セ、3北大 院医 小児科学)
P2-107	連続舌運動課題遂行時における大脳体性感覚ニューロンの発火パターン解析 ○戸田 孝史 ¹ 、工藤 忠明 ¹ (1東北大 院歯 口腔生理)
P2-108	ラットバレル野におけるカイニン酸誘発性オシレーションの周期的同期化機構 ○豊田 博紀 ¹ 、佐藤 元 ¹ 、齋藤 充 ¹ 、河野 奨 ¹ 、姜 英男 ¹ (1阪大 院歯 口腔生理)

P2-109	下歯槽神経損傷後の延髄後角における収斂投射 ○寺山 隆司 ¹ 、丸濱 功太郎 ¹ 、土屋 泰規 ^{1,2} 、大村 晋司 ² 、杉本 朋貞 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔機能解剖、 ² 朝日医療専門学校岡山校)
P2-110	ラット孤束核を構成する細胞の新生時期とその局在との関係 ○諏訪部 武 ¹ 、安尾 敏明 ¹ 、碓 哲崇 ¹ (朝日大 歯 口腔生理)
P2-111	ラットにおける視床髄板内核群から線条体腹側部への味覚投射 ○岩井 治樹 ¹ 、山中 淳之 ¹ 、後藤 哲哉 ¹ (鹿大 院医歯 歯科機能形態)
P2-112	味覚刺激による脳内神経活動に加齢が与える影響 ○乾 千珠子 ¹ 、山本 隆 ² 、上田 甲寅 ¹ 、中塚 美智子 ¹ 、隈部 俊二 ¹ 、松田 哲史 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖、 ² 畿央大 健康科学)
P2-113	味神経に発現する GLP-1 レセプターとその役割 ○高井 信吾 ¹ 、安松 啓子 ² 、進 美沙 ¹ 、吉田 竜介 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ^{1,2} (九大 院歯 口腔機能解析、 ² 九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理)
P2-114	口腔粘膜消毒薬アクリノールは各種甘味物質に対する味覚神経応答を特異的に抑制する ○安尾 敏明 ¹ 、片川 吉尚 ² 、諏訪部 武 ¹ 、玄 景華 ² 、碓 哲崇 ¹ (朝日大 歯 口腔生理、 ² 朝日大 歯 障害者歯科)
P2-115	アンギオテンシン II によるエンドカンナビノイドレセプターを介した甘味感受性の増強 ○岩田 周介 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (九大 院歯 口腔機能解析)
P2-116	Cre-lox リコンビナーゼ系による成体マウス味蕾における Mash1 の機能解析 ○瀬田 祐司 ¹ 、豊野 孝 ¹ 、片岡 真司 ² 、豊島 邦昭 ¹ (九歯大 口腔組織、 ² 九歯大 頭頸解析)
P2-117	レプチンによる甘味応答抑制には KATP チャネルが関与する ○吉田 竜介 ¹ 、野口 健志 ¹ 、重村 憲徳 ¹ 、二ノ宮 裕三 ¹ (九大 院歯 口腔機能解析)
P2-118	頸部交感神経は交感神経一副腎系から分泌される循環アドレナリンを介する咀嚼筋の血流増加に関与する ○石井 久淑 ¹ 、佐藤 寿哉 ¹ (北医大 歯 生理)
P2-119	赤核刺激による嚥下反射の抑制 ○佐藤 義英 ¹ 、辻 光順 ² 、辻村 恭憲 ² 、井上 誠 ² 、石塚 健一 ¹ 、岩崎 信一 ¹ (日歯大 新潟生命歯 生理、 ² 新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)
P2-120	視覚情報による咀嚼運動の制御 ○宗形 芳英 ¹ 、大須賀 謙二 ¹ 、古山 昭 ¹ (奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
P2-121	咬筋運動ニューロン樹状突起での入力情報処理機構の生後変化 ○中村 史朗 ¹ 、長田 翔子 ² 、望月 文子 ¹ 、中山 希世美 ¹ 、清本 聖文 ¹ 、山本 松男 ² 、井上 富雄 ¹ (昭大 歯 口腔生理、 ² 昭大 歯 歯周病)
P2-122	脳幹における p38 MAPK の活性化は咀嚼筋への侵害刺激により誘発される ○中塚 美智子 ¹ 、乾 千珠子 ¹ 、隈部 俊二 ¹ 、上田 甲寅 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖)
P2-123	海馬 CA1 における文脈学習依存的な AMPA 受容体のシナプス移行は、両側の背側海馬で見られ、腹側海馬では見られない ○水野 潤造 ¹ 、美津島 大 ^{1,2} (神歯大 院 口腔科学、 ² 山口大 院医 システム神経科学)
P2-124	嗅覚訓練マウスを用いた食品由来芳香成分の口臭マスキング作用に関する研究 ○長田 和実 ¹ (北医大 歯 生理)
P2-125	強制経口投与とストレスがうつ病モデル卵巣摘出マウスの行動に及ぼす影響と GABA 神経伝達機構との関連 ○塚原 飛央 ¹ 、増原 正明 ¹ 、菌村 貴弘 ² 、岩井 治樹 ³ 、佐藤 友昭 ¹ (鹿大 院医歯 歯科応用薬理、 ² 金沢医大 医解剖 2、 ³ 鹿大 院医歯 歯科機能形態)

微生物・・

P2-126	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 ¹ 、国分 栄仁 ^{1,2} 、大原 直也 ³ 、中山 浩次 ⁴ 、石原 和幸 ^{1,2} (東歯大 微生物、 ² 東歯大 口科研 hrc8、 ³ 岡大 院医歯薬 口腔微生物、 ⁴ 長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P2-127	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の酪酸産生機構に関与する新規 CoA 転移酵素の同定とその酵素学的解析 ○吉田 康夫 ¹ 、永野 恵司 ¹ 、長谷川 義明 ¹ 、中村 好徳 ² 、田中 貴信 ² 、吉村 文信 ¹ (愛院大 歯 微生物、 ² 愛院大 歯 有床義歯)
P2-128	<i>Porphyromonas gingivalis</i> における菌体外のジンジパインの酵素活性に関わる新規遺伝子について ○田口 裕子 ¹ 、井上 哲圭 ² 、佐藤 啓子 ³ 、加野 小奈美 ⁴ 、中山 真彰 ² 、内藤 真理子 ³ 、中山 浩次 ³ 、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 長大 院医歯薬 口腔病原微生物、 ⁴ 岡大 院医歯薬 歯科矯正)
P2-129	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の Mfa1 線毛構築における Mfa4 の役割の解析 ○長谷川 義明 ^{1,3} 、井貝 亮太 ² 、出水川 雅司 ² 、堀江 俊 ² 、猪俣 恵 ¹ 、北井 則行 ² 、吉村 文信 ³ 、村上 幸孝 ¹ (朝日大 歯 口腔微生物、 ² 朝日大 歯 歯科矯正、 ³ 愛院大 歯 微生物)

P2-130	歯周病関連細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> における蛋白質リン酸化の増殖への影響 ○出水川 雅司 ^{1,2} 、井貝 亮太 ¹ 、堀江 俊 ^{1,2} 、長谷川 義明 ³ 、猪俣 恵 ² 、稲葉 裕明 ² 、引頭 毅 ² 、吉村 文信 ³ 、北井 則行 ¹ 、村上 幸孝 ² (朝日大 歯 歯科矯正、 ² 朝日大 歯 口腔微生物、 ³ 愛院大 歯 口腔微生物)
P2-131	Recycling endosome に存在する <i>Porphyromonas gingivalis</i> への VAMP2 の関与 ○竹内 洋輝 ¹ 、天野 敦雄 ¹ (阪大 院歯 予防歯科)
P2-132	マウス実験的歯周炎モデルにおける生薬「鶏血藤」の循環改善効果 ○遠山 歳三 ¹ 、塗々木 和男 ² 、高橋 俊介 ³ 、吉野 文彦 ³ 、吉田 彩佳 ³ 、松尾 雅斗 ³ 、高橋 聡子 ³ 、渡辺 清子 ¹ 、浜田 信城 ¹ (神歯大 院歯 微生物感染、 ² 神歯大 看護、 ³ 神歯大 院歯 口腔科学)
P2-133	歯周病原細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> に対するプロポリスの抗菌効果の検討 ○中尾 龍馬 ¹ 、泉福 英信 ¹ (国立感染研 細菌 1)
P2-134	ケニアにおける HIV 感染と歯周病原細菌感染との関係 ○中山 浩次 ¹ (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P2-135	<i>Porphyromonas gingivalis</i> は OmpA 様蛋白質を介して血管内皮細胞に付着し細胞応答や細胞死を誘導する ○猪俣 恵 ¹ 、引頭 毅 ¹ 、稲葉 裕明 ¹ 、堀江 俊 ² 、北井 則行 ² 、村上 幸孝 ¹ (朝日大 歯 口腔微生物、 ² 朝日大 歯 歯科矯正)
P2-136	<i>Tannerella forsythia</i> が有する OmpA 様蛋白質の宿主細胞表面レクチンへの結合能の解析 ○堀江 俊 ¹ 、猪俣 恵 ² 、出水川 雅司 ¹ 、稲葉 裕明 ² 、引頭 毅 ² 、北井 則行 ¹ 、村上 幸孝 ² (朝日大 歯 歯科矯正、 ² 朝日大 歯 口腔微生物)
P2-137	<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>polymorphum</i> AK 株の VSC 産生に対する <i>P. acnes</i> の培養上清の影響 ○鎌口 有秀 ¹ 、長田 和実 ² 、笹本 洋平 ³ 、岡本 公彰 ⁴ 、中澤 太 ¹ (北医大 歯 微生物、 ² 北医大 歯 生理、 ³ 北医大 歯 クラウンブリッジインプラント、 ⁴ 鶴見大 歯 口腔細菌)
P2-138	<i>Prevotella intermedia</i> における病原遺伝子特異的変異株作成 ○内藤 真理子 ¹ 、庄子 幹郎 ¹ 、成田 由香 ¹ 、中山 浩次 ¹ (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P2-139	歯周病原性細菌 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> GFP 発現株の作成 ○瀧澤 智美 ¹ 、桑原 紀子 ² 、落合 智子 ¹ (日大 松戸歯 口腔免疫、 ² 日大 松戸歯 口腔微生物)
P2-140	<i>Treponema denticola</i> の細胞侵入に対する Malassez 上皮遺残細胞の動態 ○国分 栄仁 ^{1,2} 、菊池 有一朗 ^{1,2} 、柴山 和子 ^{1,2} 、石原 和幸 ^{1,2} (東歯大 微生物、 ² 東歯大 口腔科学研究セ)
P2-141	EBV 潜伏感染維持と破綻機構の解明と炎症性疾患への関与 ○齋藤 タ子 ¹ 、今井 健一 ¹ 、落合 邦康 ¹ (日大 歯 細菌)
P2-142	EBV は NF- κ B を活性化し歯肉線維芽細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する ○今井 健一 ¹ 、齋藤 タ子 ¹ 、落合 邦康 ¹ (日大 歯 細菌)
P2-143	歯周組織の健常マーカーの指標となり得る細菌の検索 ○續橋 治 ¹ 、内堀 聡史 ² 、齊藤 真規 ¹ 、桑原 紀子 ¹ (日大 松戸歯 口腔微生物、 ² 日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)
P2-144	病原真菌 <i>Candida glabrata</i> の Hsp70 タンパク質 Sse1 の機能解析 ○永尾 潤一 ¹ 、長 環 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ 、橋本 麻利江 ¹ 、田崎 園子 ¹ 、田中 芳彦 ¹ (福歯大 感染生物)
P2-145	新規バイオマテリアル S-PRG フィラーによる <i>Candida albicans</i> の付着と菌糸型変換に及ぼす影響 ○田村 宗明 ^{1,2} 、阿部 和正 ¹ 、大屋 学 ^{1,3} 、関 啓介 ^{1,3,4} 、落合 邦康 ^{1,2} (日大 歯 細菌、 ² 日大 総歯研 生体防御、 ³ 日大 歯 口腔健康科学、 ⁴ 日大 歯 総合歯)
P2-146	サケ由来プロタミン派生ペプチドの抗真菌活性に関する評価 ○長 環 ¹ 、永尾 潤一 ¹ 、今吉 理恵子 ¹ 、橋本 麻利江 ¹ 、田崎 園子 ¹ 、田中 芳彦 ¹ (福歯大 感染生物)
P2-147	ヒト口腔内細菌叢に対する亜鉛イオンの影響 ○鈴木 奈央 ¹ 、中野 善夫 ² 、松尾 忠行 ³ 、米田 雅裕 ¹ 、廣藤 卓雄 ¹ (福歯大 総合歯科、 ² 日大 歯 化学、 ³ 福岡医短大 歯科衛生)
P2-148	フランス海岸松抽出成分含有ガムの口臭抑制効果の検討 ○渡辺 清子 ¹ 、浜田 信城 ¹ (神歯大 院 微生物感染)
P2-149	義歯装着患者の口腔、デンチャープラークおよび手指におけるブドウ球菌の分布と遺伝子型の同定性 ○内堀 聡史 ¹ 、小林 平 ¹ 、會田 雅啓 ¹ (日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)
P2-150	口腔レンサ球菌 2 型線毛の分布とその機能 ○岡橋 暢夫 ¹ 、中田 匡宣 ² 、川端 重忠 ² (阪大 院歯 フロンティア、 ² 阪大 院歯 口腔細菌)
P2-151	亜硝酸塩の <i>Streptococcus mutans</i> 酸産生抑制機構をメタボロミクスで解明する ○鷲尾 純平 ¹ 、山本 祐慈 ² 、高橋 信博 ¹ (東北大 院歯 口腔生化学、 ² やまもと歯科 津田歯科診療所)
P2-152	テルペノイドの併用が <i>Streptococcus mutans</i> の浮遊細胞ならびに既成バイオフィルムに及ぼす影響 ○藤田 真理 ¹ 、長田 和実 ² 、宮川 博史 ¹ 、鎌口 有秀 ¹ 、中澤 太 ¹ (北医大 歯 微生物、 ² 北医大 歯 生理)

P2-153	<i>Streptococcus anginosus</i> による上皮細胞での AID 異所性発現の誘導 ○佐々木 実 ¹ 、古玉 芳豊 ¹ 、下山 佑 ¹ 、石河 太知 ¹ 、木村 重信 ¹ (岩医大 分子微生物)
P2-154	<i>Streptococcus dentasini</i> GTF 遺伝子の検索 ○桑原 紀子 ¹ 、續橋 治 ¹ 、齋藤 真規 ¹ (日大 松戸歯 口腔微生物)
P2-155	<i>Streptococcus criceti dblB</i> 遺伝子の解析と <i>srtA</i> 遺伝子変異の同定 ○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)
P2-156	フサオマキザルから口腔から分離されたレンサ球菌の解析 ○齋藤 真規 ¹ 、續橋 治 ¹ 、桑原 紀子 ¹ (日大 松戸歯 口腔微生物)
P2-157	<i>Streptococcus mutans</i> のバイオフィルム形成に関する <i>gbpC</i> 発現調節遺伝子の検討 ○泉福 英信 ¹ 、鈴木 雄佑 ¹ (国立感染研 細菌 1)

生理活性・発現・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P2-158	β -アドレナリン受容体シグナルによる <i>Ptgs2</i> 遺伝子発現における時計遺伝子の関与 ○平居 貴生 ¹ 、田中 健二郎 ¹ 、戸苅 彰史 ¹ (愛院大 歯 薬理)
P2-159	SNARE タンパク質の TALEN を用いた機能解析 ○田隈 泰信 ¹ 、荒川 俊哉 ¹ 、岡山 三紀 ² 、溝口 到 ² (北医大 歯 生化、 ² 北医大 歯 矯正)
P2-160	競合的蛍光リガンド結合アッセイ法を活用した新規 IP ₃ 分子センサーの開発 ○谷村 明彦 ¹ 、村田 佳織 ² 、齋藤 正人 ² 、森田 貴雄 ¹ 、根津 顕弘 ¹ (北医大 歯 薬理、 ² 北医大 歯 小児歯科)
P2-161	歯周病原菌代謝産物・酪酸による神経障害誘導性の可能性 ○関 啓介 ^{1,2} 、神尾 宣昌 ^{3,4} 、Cueno Mami ³ 、田村 宗明 ^{3,4} 、紙本 篤 ² 、落合 邦康 ^{3,4} (日大 歯 口腔健康科学、 ² 日大 歯 総合歯、 ³ 日大 歯 細菌、 ⁴ 日大 総歯研 生体防御)
P2-162	アドヘレンスジャンクションで働く接着因子の立体構造と機能 ○鈴木 守 ¹ (阪大 蛋白研)
P2-163	Kruppel-like factor 5 遺伝子のプロモーター解析 ○美原 希美 ¹ 、千葉 忠成 ¹ 、須藤 遥 ¹ 、今井 一志 ¹ (日歯大 生命歯 生化)
P2-164	PRIP 欠損マウスにおけるインスリンシグナリングの検討 ○平田 牧子 ¹ 、倉谷 顕子 ¹ 、安武 雄 ¹ 、高橋 一郎 ² 、平田 雅人 ¹ (九大 院歯 口腔細胞工学、 ² 九大 院歯 歯科矯正)
P2-165	継続的カゼイン摂取制限が味覚にもたらす影響 ○上田 甲寅 ¹ 、乾 千珠子 ¹ 、中塚 美智子 ¹ 、隈部 俊二 ¹ 、岩井 康智 ¹ (大歯大 口腔解剖)
P2-166	ラクトペルオキシダーゼ系による <i>p</i> -アミノ安息香酸の酸化反応 ○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)
P2-167	食習慣と BMI との関係 ○塩澤 光一 ¹ 、奥村 敏 ¹ (鶴見大 歯 生理)

生体材料・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

P2-168	糊剤根管充填材に対するマウス皮下組織の反応 ○正村 正仁 ¹ 、松田 紗衣佳 ² 、大須賀 直人 ¹ 、中野 敬介 ² 、川上 敏行 ² (松歯大 口腔健康分析、 ² 松歯大 総歯研 病態解析)
P2-169	微粒子とプレート状チタンにおけるヒト白血球の H ₂ O ₂ 生成 ○盛口 敬一 ¹ 、大野 紀和 ¹ (愛院大 歯 口腔解剖)

抄 録

特別講演 (PL-1)

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-3)

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)

ロッテ基金特別シンポジウム (FS-1～FS-4)

メインシンポジウム (MS1～MS2)

サテライトシンポジウム (SS1～SS15)

ランチョンセミナー (LS-1～LS-3)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

PL-1

Regulation of NF- κ B in inflammation and immunity

Sankar Ghosh

Dept. Microbiol. & Immunol., Coll. Physicians & Surgeons,
Columbia Univ.

The transcription factor NF- κ B is ubiquitously expressed, evolutionarily conserved transcription factor that plays a critical in the inducible expression of large number of genes involved in the innate immune and inflammatory responses. NF- κ B plays an important role in these processes by augmenting the expression of genes such as IL-1 IL-6, IL-8, TNF α β -IFN, GM-CSF and serum amyloid A protein. A variety of stimuli such as pro-inflammatory cytokines such as TNF α or microbial products such as LPS coalesce on NF- κ B activation, which can in turn mediate varied transcriptional programs. Consequently, NF- κ B-dependent transcription is not only tightly controlled by positive and negative regulatory mechanisms but also closely coordinated with other signaling pathways. This intricate crosstalk is crucial to shaping the diverse biological functions of NF- κ B into cell type- and context-specific responses. Understanding how the different signals lead to the activation of NF- κ B has been a topic of great interest. It has also become clear that regulation of gene expression by transcription factors such as NF- κ B is influenced by epigenetic factors that regulate chromatin structure and accessibility. In this presentation I will present some of our recent findings about the mechanisms that regulate NF- κ B in inflammation and immunity. In particular I will focus on novel cross-talk mechanisms between pathways that regulate inflammation, survival and proliferation, and thereby contribute to inflammatory diseases and cancer.

L-1

骨形成過程における転写制御プログラムの統合的理解の解明

西村 理行

阪大 院歯 生化

Y-1

口腔腫瘍組織構築における腫瘍実質細胞・細胞外基質間相互作用の統合的理解

常木 雅之

イェール大 医 病理

骨組織は、骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞、軟骨細胞などの骨格系細胞のみならず、脂肪細胞、血液細胞、免疫細胞、神経系細胞が存在し、複雑な微小環境を構築している。この骨組織の形成メカニズムを理解するためには、骨格系細胞の分化制御機構の解明が不可欠である。

演者は、骨格系細胞の分化に関与する分子メカニズムを明らかにするために、骨格系細胞の分化プログラムを、細胞内シグナル伝達機構ならびに転写制御機構の観点から研究を展開してきた。その結果、未分化間葉系細胞から骨芽細胞への分化にBMP2シグナルおよびインディアンヘッジホッグ(Ihh)シグナルの重要性を見出してきた。特に、BMP2シグナル伝達分子であるSmad5の同定と機能解析、BMP2/Smadシグナルによる転写因子Runx2、Osterix、C/EBP β およびMsx2の機能調節、Ihhシグナル分子Gliファミリー分子による骨芽細胞調節機構を明らかにしてきた。また骨芽細胞と起源を同じくする脂肪細胞と骨芽細胞の分化バランスの調節に、Msx2やC/EBP β のアイソフォームであるLIPが関与していることも見出してきた。一方、骨吸収を担う破骨細胞の分化、骨吸収機能、ならびにそのアポトーシスにおける転写因子c-JunおよびNFAT2の転写複合体の重要性を*in vitro*ならびに遺伝子改変マウスを用いた*in vivo*において実証してきた。

演者は、膜性骨形成と双壁をなす内軟骨性骨形成の制御機構の解明にも精力的に研究を行ってきた。様々な遺伝子クローニング法を開発し、軟骨形成に必須な転写因子Sox9の転写複合体の同定とその機能解析に成功した。転写制御因子Arid5a、p54Nrb、Znf219は、Sox9と転写複合体を形成し、その標的遺伝子のヒストン修飾やスプライシングに重要であることを示してきた。また最近では、超高速シーケンサーを活用した遺伝子クローニングとマウスジェネティクスを活用して、Sox9の標的遺伝子のエピゲノム情報の制御機構を明らかにした。さらに最近では、関節軟骨細胞の維持と破綻に関わる分子機構の解明にも取り組んでおり、変形性関節症の新規治療法の開発も目指している。

本講演では、これらの研究成果に加えて、演者らが行っている最新の研究成果も紹介し、骨形成過程における転写制御機構について概説したい。

口腔腫瘍性病変の病理組織形成において、実質細胞は細胞外基質に富んだ間質空間と相互作用することで特徴的な腫瘍空間が形成される。したがって、実質細胞と細胞外基質のクロストークにより反映される腫瘍細胞動態および組織構築制御機構に関する統合的理解が不可欠である。本研究では、口腔腫瘍組織形成・腫瘍細胞動態の理解を細胞外基質との関係性という視点からアプローチし、細胞外基質の存在による腫瘍実質細胞形質の変化ならびに腫瘍細胞・細胞外基質間相互作用の詳細について形態学および分子生物学的解析を行った。

腫瘍組織構築を規定する実質・細胞外基質間クロストーク候補分子として膜タンパク質ポドプラニンに着目した。ポドプラニンはリンパ管内皮細胞マーカーとして病理診断などに応用されているが、多種の腫瘍細胞にも発現し、口腔腫瘍（歯原性腫瘍・唾液腺腫瘍・扁平上皮癌）においても間質と境界する腫瘍細胞に特徴的な発現が確認され、間質の多彩な細胞外基質を認識する機能が推測された。したがって、腫瘍細胞動態におけるポドプラニンの分子機構について、口腔扁平上皮癌由来細胞株をもちいて多面的な解析を行った。恒常的なポドプラニン高発現株に発現抑制を行うと、細胞接着不全が生じ、接着依存性の細胞増殖抑制が確認された。興味深いことに、ポドプラニン発現はヒアルロン酸受容体であるCD44発現と協調しており、ポドプラニンとCD44は連携してヒアルロン酸依存性の細胞・基質間接着を正に制御することがあきらかになった。さらに、細胞外空間におけるポドプラニンとの相互作用分子をプロテオーム解析したところ、細胞外分泌性熱ショックタンパク質(HSPA9)が同定され、病理組織学的局在から、癌細胞の浸潤性(遊走性)制御の可能性が示唆された。

以上の研究成果は、細胞外環境認識分子により腫瘍細胞と細胞外基質間のクロストークが介在され、細胞接着・増殖などの細胞動態が規定されることで特徴的な腫瘍組織構築が誘導されることを証明した。腫瘍細胞のみならず、間質空間(微小環境)を構成する細胞成分(血管内皮細胞など)の動態、さらには異種細胞間相互作用の理解に本概念の敷衍可能性を模索している。

Y-2

BK チャネルを介した疼痛制御機構の
解明

林 良憲、中西 博

九大 院歯 口腔機能分子科学

Y-3

A 群レンサ球菌の分泌型プロテアー
ゼによる宿主細胞間接着分子の分解

住友 倫子

阪大 院歯 口腔細菌

難治性疼痛に対して著効を示すケタミンはS体、R体という光学異性体が存在し、等量の混合体であるラセミ体が臨床的に使用されている。S体はR体に比べ約4倍もの強力な鎮痛効果を有する一方で、その主な阻害部位とされるNMDA受容体への結合定数は約2倍程度しか違いがない。そのため、NMDA受容体のみで光学異性体のケタミンの効果を説明するには不十分であった。そこで慢性疼痛の発症に関与するミクログリアに着目し、ケタミンの鎮痛強度の差異の面より鎮痛標的分子の探索を行った。神経障害後、脊髄後角における活性化ミクログリアにおいて、正常では認められない高コンダクタンスCa²⁺活性型K⁺(BK)電流が認められた。この時に生じたBK電流はS体ケタミンにより強力に抑制された。神経損傷後および、NS1619(BKチャネル活性化剤)により誘発されるBK電流はS体、ラセミ体、R体の順に抑制効果を示した。さらにNS1619の髄腔内投与により生じる疼痛閾値の低下はSケタミンにより有意に抑制された。カリプトトキシン(BKチャネル阻害剤)の髄腔内投与により神経障害性疼痛が有意に改善され、ミクログリアにおけるP2X₄受容体およびBDNFの発現量を抑制した。神経障害性疼痛の誘発因子とされるLPAの髄腔内投与による疼痛閾値の低下もSケタミンにより優位に改善された。以上の結果よりS体ケタミンの新たなターゲットとして、ミクログリアのBKチャネルの抑制を介して強力な鎮痛作用を発揮することが示唆された。疼痛時におけるミクログリアBKチャネルの関与を更に検討するため、他の疼痛モデルにおいても検討を行った。モルヒネ慢性投与により生じる鎮痛耐性および痛覚過敏に対してもミクログリアBKチャネルが関与しており、低濃度BKチャネル阻害剤の腹腔内投与により、運動機能に影響を及ぼさず有意な改善効果を認めた。これらの結果より、ミクログリアのBKチャネルがミクログリアの活性化のスイッチングの機能を果たし、慢性的な痛みを引き起こしていることが示唆された。今後、ミクログリアのBKチャネルを基盤とした鎮痛薬開発が期待される。

A群レンサ球菌はヒトの咽頭炎や膿痂疹の起原菌として知られるが、時として、軟部組織壊死や多臓器不全を伴う致死性の高い劇症型レンサ球菌感染症を惹き起こす。細胞間接着分子は隣接する上皮細胞間をシールし、外界からの病原体の侵入を防御する物理バリアとして機能する。それゆえ、A群レンサ球菌が劇症型レンサ球菌感染症を惹起するためには、初発感染部位である咽頭や皮膚の上皮バリア層を突破することが必要である。実際、咽頭や皮膚に形成される化膿性病変の病理像から、本菌の病原因子による宿主上皮の細胞間接着障害が感染の成立に重要であると考えられている。本研究では、宿主上皮細胞間接着分子を分解するA群レンサ球菌のプロテアーゼを検索し、本菌の上皮バリア突破機構との関連性を検討した。

臨床分離株の培養上清を各種プロテアーゼ阻害剤で処理した後、細胞間接着分子であるE-カドヘリンの組換え体と反応させ、組換え体の分解を検討した。その結果、培養上清によるE-カドヘリンの分解が認められた。この分解はシステインプロテアーゼ阻害剤により抑制されたことから、streptococcal pyrogenic exotoxin B (SpeB)が宿主細胞間接着分子の分解に関与することが示唆された。次に、分解産物のN末端アミノ酸配列の解析により、SpeBはE-カドヘリン細胞外ドメインEC2・EC3間のカルシウム結合部位を分解することを確認した。SpeBはスペクトルの広いエンドペプチダーゼであり、A群レンサ球菌感染症の発症に深く関与することが報告されている。しかし、SpeBと細胞間接着分子の相互作用が本菌の病原性に及ぼす影響は不明であった。そこで、トランスウェルシステムに至適なヒト大腸粘膜上皮細胞Caco-2を用いて上皮バリアの*in vitro*モデルを構築し、SpeBがA群レンサ球菌の上皮バリア通過に及ぼす影響を検討した。*speB*欠失株の上皮バリア通過能は野生株と比較して有意に低下したが、*speB*の再導入により野生株と同等レベルまで回復した。また、野生株感染細胞における細胞間接着分子の分解は、*speB*欠失により抑制された。

以上の結果から、A群レンサ球菌は細胞間接着分子の分解により宿主上皮バリアを突破し、その突破機構にはSpeBが関与することが明らかになった。

CS-1

超高齢社会における歯科基礎医学の役割：機能的観点から～CCNファミリーメンバー2のアンチエイジング作用～
滝川 正春
岡大 歯 先端領域研究セ

近年、超高齢社会になってロコモティブシンドロームが「メタボ」に並んで大きな社会問題となつつある。そのなかで変形性膝関節症は、日本で700万人以上の患者がおり、高齢者では半数以上が罹患しているという報告もあるほどのポピュラーな疾患で、本疾患の積極的な治療法、予防法の確立は健康寿命を延ばすために必須と考えられる。

ところで、超高齢社会における機能系歯科基礎医学の役割として重要なものの一つに、アンチエイジング作用を有する機能分子を単離・同定し、トランスレーショナルレサーチ(TR)へと展開していくことが挙げられる。

我々は、肥大軟骨細胞に高発現する分子としてクローニングしたHcs24(結合組織成長因子CTGFと同一の分子で、現在はCCN2と呼ばれている)が、内軟骨性骨形成過程を、軟骨細胞、骨芽細胞、血管内皮細胞、破骨細胞前駆細胞の4種の細胞に作用して促進することを主にin vitroの系を用いて解明してきた。また、CCN2が骨、軟骨等で調和ある組織再生作用を発揮することも明らかにした。さらに、最近、軟骨特異的CCN2過剰発現トランスジェニック(TG)マウスを作成したところ、実際に内軟骨性骨形成が促進された。

この軟骨特異的CCN2過剰発現TGマウスを老齢化(約20ヶ月)するまで飼育しても、野生型では約半数のマウスの膝関節軟骨でみられる、加齢による変形性関節症様の変化、即ち、アグリカン、II型コラーゲン等の軟骨マトリックスの減少や、正常関節軟骨には存在しないI型およびX型コラーゲンやMMP13の発現が防止された。つまり、CCN2に軟骨アンチエイジング作用があることがわかった。CCN2を創薬の対象とした場合分子量が38kDaと大きく、システインに富むため活性がありかつ安定な組換え体タンパクの調製が難しいが、この問題を克服すべくCCN2を構成する4つのモジュールの個別モジュールの活性を調べ、トロンボスポンジンtype 1リピートに実験的変形性関節症を修復する作用があることを見いだした。さらに、侵襲性のない治療法への応用を視野に入れて、低出力パルス超音波(LIPUS)が培養軟骨細胞のCCN2の発現とそれに伴うアグリカンおよびII型コラーゲンの発現を促進することも見いだした。以上、一つの事例を示しつつ、機能系歯科基礎医学が超高齢社会の医療に如何に貢献できるか考察したい。

CS-2

超高齢社会における歯科基礎医学の役割：形態的観点から
山口 朗
医科歯科大 院医歯 口腔病理

近年、我が国では超高齢社会を迎え、歯科医療では高齢者の口腔機能低下の予防とその回復が重要な課題となっている。しかし、実際の臨床では、口腔機能低下のメカニズムや病態さらに機能回復に関する基礎医学的な研究基盤が乏しい状態で、高齢者の歯科医療が実践されている趣が無きにも非ずと思える。今後、優れた歯科医療を確立するには、病態の理解を形態学的・機能的観点から十分に深め、それらに立脚した適切な対処法・治療法を開発して、疾患を克服することが重要であろう。そのためには、いままでに構築された「経験を活かした歯科医療」を基盤として、それに「メカニズムの理解を基盤とした歯科医学」を積み重ねていくことが必要である。

我が国で、口腔領域の形態学的な変化が老化に関連すると初めて科学的に考察したのは緒方洪庵の孫の東京大学医学部病理学教室の緒方知三郎教授(1983～1973)一門の研究であろう。彼らは、多くのヒトの唾液腺や動物実験の形態学的解析から、唾液腺(特に耳下腺)の導管の線条部の形態学的変化に着目して、同部が内分泌に関与すると考え、唾液腺内分泌説を提唱した。さらに、唾液腺ホルモン(パロチン)を同定し、臨床応用へと発展させた。残念ながらパロチンの詳細な作用メカニズムは未だ十分に解明されていないが、唾液腺の形態学的観察を基盤として、「老年病理学」ともいえる論理的な仮説を構築した点は偉業である。その後、我が国でも唾液腺の老化・加齢に伴う形態学的な解析が多く研究者により着実に進められ、現在に至っている。

さらに、我が国で、口腔領域の加齢・老化に伴う形態学的変化を集大成した鹿児島大学歯学部口腔病理学講座の初代教授である浦郷篤史名誉教授の業績も特記すべきである。浦郷先生の名著「口腔諸組織の加齢変化」では、まず加齢現象と老化現象の概念が述べられ、顎骨、歯周組織、顎関節、舌、唾液腺、血管などの加齢現象が素晴らしい組織像を提示しながら概説されている。その後、老化に伴うこれらの口腔組織の形態学的な解析も多く歯学研究者により継承、推進されている。

本講演では、我が国の老化研究における形態学的解析を振り返り、今後、形態学的解析だけではなく、機能的解析結果も融合して歯科基礎医学が超高齢社会における種々の口腔疾患の「メカニズムの理解を基盤とした歯科医学」の確立にどのように貢献できるかを考察したい。

CS-3

超高齢化社会における基礎老化研究の
意義
遠藤 玉夫
都健康長寿医療セ研

老化に伴う身体機能の低下は、ヒトにとってごく日常的な現象である。しかしながらその機能低下の程度は個体差があり、この差異は老化の特徴のひとつである。こうした老化に伴う心身の衰えに対する恐怖、あるいは不老不死へのあこがれなどから、なぜ老化するのか、ということを理解しようとする欲求は古来より高かった。そして、生物学や医学などが勃興するに従い、実証的な観察に基づき、科学的な言葉で老化を説明しようと多くの考えが提出されてきた。現在ヒトの老化機構を説明するために、遺伝因子と環境因子の二つの因子が互に関連しており、双方からの説明が試みられている。ヒトは遺伝学的に均一ではないことから、線虫、ハエ、マウスなどのモデル動物を用いた分子遺伝学的研究が行われ、寿命に関連する遺伝子が多数明らかにされてきた。また、ヒトにおいて病的な老化を引き起こす遺伝子の単離・同定も進んだ。その結果、老化や寿命を分子レベルで議論することが可能になり、老化の生物学の分野は飛躍的に進歩した。基礎老化学は、分子、細胞、組織、個体、と様々な階層で、「老化」という難題に取り組んでいる。その成果は老化のプロセスの理解を深めるだけでなく、医学・生物学における様々な領域にインパクトを与えることもある。

一方、現在日本は、世界でも有数の少子高齢化社会であることは衆知の事実である。少し数字を上げてみると、今後高齢化と少子化の進行によって人口構造が激変することが良く分かる。65歳以上を高齢者として定義すると、昨年(2013年)すでに25%に達した高齢化率は、2030年には30%を超え、2055年には40%になると予測されている。一方で、14歳以下の子供は、2030年には1,115万人(10%)、そして2055年には725万人(8%)になると推計されている。こうした人口構成の激変に伴い、医療費、介護費、年金給付費など社会保障費が今後大幅に増大することが非常に重い問題になり、早急な取り組みが必要となっている。本シンポジウムでは、このような超高齢化社会における基礎老化研究の意義について、健康で自立度の高い長寿を達成すること、すなわち健康寿命を伸ばす、という観点からも議論したい。

CS-4

超高齢社会における歯科基礎医学の役割：骨-腸-代謝関連シグナルの解明による全身の健康維持への情報発信
平田 雅人¹⁾、溝上 顕子¹⁾
川久保-安河内 友世¹⁾、竹内 弘²⁾
¹⁾九大 院歯 口腔細胞工学
²⁾九歯大 応用薬理

世は超高齢社会であるという。今では単に寿命をのばすのではなく、健康寿命を延伸することが非常に重要であることは明白である。このため医学が「生命の医療」であるのに対して、「生活の医療」といわれる歯学の研究並びに臨床活動の重要性はいっそう高まっている。そのような中、日本学術会議歯学委員会では、「超高齢社会における歯学・歯科医療のあり方」を中心課題として活動しており、歯科基礎医学に身を置く我々としてもこれを好機として、歯科基礎医学の世界にとどまらず様々な情報を広く世に発信していくべきであろう。

健康寿命の延伸を享受するには、動ける事・食べられる事が非常に重要である。容易に想像できようが、私はそのような患者さんを診る臨床医ではなく、paper dentistであるが、身近な血族・姻族の4名の年寄りを見てきて、つくづくと思う。言うまでもなく、動けるためには骨・関節が丈夫であることが大切である。我が国の歯学では従来から骨・軟骨研究に関わる研究が盛んで世界的にも重要な発見を多く行ってきたし、今後も期待できる素地は非常に高い。

私どもは、骨を、体を支えて動かすための器官としてではなく、内分泌器官として捉え、骨芽細胞より分泌されるオステオカルシンが代謝機能に及ぼす影響について検討することとした。骨(Bone)が分泌するオステオカルシンが、腸の内分泌上皮(Gut)に作用してインクレチン分泌を促し、インスリンやアディポネクチンなどのシグナリング経路を介して全身の代謝(Metabolism)を亢進するという観点から、これをBGM Flowと名付けて研究成果を得ようとしている。加えて、このFlowの理解と制御が代謝にとどまらず、おそらく老化と関連している動脈硬化の予防や治療にも有効であるかについても検討している。この研究は開始したばかりであるが、これまでに得られている成果をお話しながら、歯科基礎医学から深く広く情報発信するための努力を高めていきたい。

KS-1

TGFβとNR4aによる抑制性T細胞の分化制御
吉村 昭彦
慶應大 医 微生物・免疫

KS-2

免疫細胞の臓器間移動からみた口腔-全身免疫系の理解
戸村 道夫
京大 院医 次世代免疫制御を目指す
創薬医学融合拠点

自己反応性のT細胞は免疫寛容機構によって抑制されている。免疫寛容の中心をなすヘルパーT細胞が抑制性T細胞(Treg)である。抗原特異的Tregを誘導することで自己免疫疾患を治療する試みは古くより行われて来たが、Tregの発生メカニズムが十分解明されておらず十分な成果は得られていない。Tregは末梢や試験管内でTGFβによって誘導されるiTregと胸腺で発生するnTregの2種類が知られておりともにFoxp3をマスター転写因子とする。我々は核内受容体NR4aファミリーがFoxp3の転写を直接活性化しnTregの誘導に必須の役割を果たすことを見いだした。NR4aを強制的に発現させることで通常はTregにならない細胞においてもTregを作り出すことが可能である。NR4aは核内受容体でありアゴニストを見いだすことができれば効率よくTregを誘導できる可能性がある。

一方でiTregは消化管に多く、クロストリジウム属菌によって誘導される事が知られている。我々はクロストリジウム属菌によるTGFβを介したiTreg誘導の新しい機構を発見したのであわせて報告したい。

免疫系は多種多様な免疫細胞が臓器内の微少環境から分化・教育、あるいは生存のためのシグナルを受け、更に臓器間を移動して臓器特異的に機能を発現することで成立しています。従ってその理解には、従来の*in vitro*細胞レベルの解析に、*in vivo*全身レベルでの免疫細胞の時間・空間・数量的な制御という情報を加えることが必須です。我々の確立した、紫色の光照射で緑から赤に変色する蛍光タンパク質「カエデ」発現マウスを用いた全身細胞動態可視化評価系は、「カエデ」マウスの目的部位に紫光を照射して細胞をマークし一定時間後に解析することで、定常状態及び免疫応答状態の任意のタイミングで、マークした部位における細胞の入れ替わりと、全身への細胞移動の正確で詳細な追跡が可能です。我々は評価系を用い、T細胞及びB細胞のダイナミックな全身再循環を目で見える形で示すと共に、「T細胞の全身再循環は、自己抗原と相互作用しT細胞自身が機能維持と生存のためのシグナルを受け取るための限られたnicheを探す過程である」こと、「皮膚炎症部位で生成し活性化した強い免疫抑制活性を有する制御性T細胞が、炎症皮膚一所属リンパ節を循環し、この細胞が皮膚炎終息に重要である可能性」、さらに皮膚組織から所属リンパ節への抗原運搬およびT細胞への抗原提示に重要な、皮膚から所属リンパ節に移行する樹状細胞は、所属リンパ節に移行後、サブセットにより幅はあるが2~4日程度で所属リンパ節から移出せず入れ替わっていることを明らかにしています。

講演では、健全な状態は想像されていた以上にダイナミックな免疫細胞移動によって維持されていること、そして、炎症・病態時には免疫細胞動態をさらに劇的に変化させることによって生体恒常性は保たれていることを示し、口腔粘膜免疫系と全身免疫系の連携の理解に繋がるお話しをしたい。

KS-3

免疫細胞の遊走・活性化における
DOCK ファミリー分子の役割とその
制御機構

福井 宣規

九大 生医研 免疫遺伝

免疫系は生体にとって感染に対する必須の防御機構であるが、一方免疫応答したための病態、例えばアレルギー・自己免疫疾患・移植片拒絶は、現代医学が解決すべき問題としてクローズアップされている。DOCK ファミリーは線虫から哺乳類に至るまで保存された分子で、低分子量 G タンパク質の上流で機能することで細胞骨格の制御に関わっている。私達は、免疫系特異的に発現する分子として DOCK2 を同定し、DOCK2 がケモカイン受容体や抗原受容体の下流で機能する低分子量 G タンパク質 Rac の活性化分子であり、免疫細胞の遊走・活性化に重要な役割を演じていることを明らかにした。一方近年、新しいヒト複合型免疫不全症の責任分子として DOCK8 が同定され、国際的にも大きな注目を集めている。本講演では、これら DOCK ファミリー分子の機能や構造、シグナル伝達に関して最新の知見を紹介する。

KS-4

消化管粘膜の免疫応答機構とその異常
竹田 潔

阪大 院医 免疫制御、免疫学フロン
ティア研究セ

消化管粘膜は、日々摂取する食事成分や常在細菌などの異物（腸内環境因子）に常に曝されている組織で、通常はこれら腸内環境因子に対する炎症反応は惹起されることなく、特有のメカニズムにより恒常性が維持されている。しかし、我々の免疫系が腸内環境因子に過剰応答するようになり、腸管上皮層の機能異常により常在細菌が上皮層を越えて侵入するようになると、炎症性腸疾患が発症する。このように、腸管では、腸内環境因子・腸管上皮層・免疫系の相互作用により腸管恒常性が維持され、その関係性の破綻により腸管炎症が発症するものと考えられている。私たちの研究室では、これまで自然免疫系に焦点を当て、消化管粘膜における免疫応答機構を解析してきた。その結果、腸管に特有の自然免疫細胞サブセットが、腸管恒常性の維持に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。本講演では、消化管粘膜における免疫応答の制御機構について、最新知見を交えて議論したい。

KS-5

口腔免疫応答における制御機構
東 みゆき
医科歯科大 院医歯 分子免疫

口腔粘膜は、腸管粘膜と同じく莫大な数の細菌叢と粘液層に包まれている一方で、上皮構造は皮膚と同じ重層扁平上皮からなり、生体防御機構に加えて、咀嚼・構音・味覚などの特殊な役割をもつ。口腔における免疫応答制御機構の実際はほとんど解明されていないのが現状である。樹状細胞 (DC) は、自然免疫と適応免疫の両者において応答制御の要となる働きをしているが、存在する部位によりそのフェノタイプや機能が異なっている。口腔に存在する樹状細胞の特性を知ることは口腔免疫応答を理解する上で重要である。また、口腔粘膜も腸管と同様に常時多くの共生細菌と食餌性抗原に曝されているので、恒常性維持のための様々な機構が備わっているはずである。本シンポジウムでは、口腔の免疫応答をコントロールする口腔粘膜の樹状細胞と近年注目されている免疫チェックポイント分子 CD274 (B7-H1) の粘膜上皮における機能に関する我々の研究の一端を紹介する。

<関連論文>

1. Predominant expression of B7-H1 and its regulatory roles in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* 42; 268, 2006.
2. Identification of three distinct subsets of migrating dendritic cells from oral mucosa within the regional lymph nodes. *Immunology* 127; 558, 2009.
3. Keratinocyte-associated B7-H1 directly regulates cutaneous effector CD8+ T cell responses. *J Immunol* 184; 4918, 2010
4. B7-H1 overexpression regulates epithelial-mesenchymal transition and accelerates carcinogenesis in skin. *Cancer Res* 71; 1235, 2011.
5. Differential expression of co-signal molecules and migratory properties in four distinct subsets of migratory dendritic cells from the oral mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 413; 407, 2011.
6. Dental pulp dendritic cells migrate to regional lymph nodes. *J Dent Res* 93; 288, 2013

FS-1

口腔医学における TRP チャネルの生理学的・病態生理学的役割-over-view—
井上 隆司
福岡大 医 生理

The mammalian transient receptor potential (TRP) proteins are the classes of Ca²⁺-permeable cation channels which respond to a wide array of physicochemical stimuli in peri-cellular micro-environments to transduce extracellular signals to a variety of cellular functions. Since the pathogenesis for many human diseases is tightly associated with environmental stresses, these channels attract growing attention as therapeutically promising molecules in clinical practice.

The atomic structure of the most intensively investigated TRP isoform TRPV1 indicates that its overall topology is similar to that of voltage-gated cation channels. Nonetheless, the primary activator is not membrane potential change, but includes many chemical agents such as neurohumoral factors, pungent/cooling/gustatory agents, alcohols, detergents and phytochemicals, as well as ambient 'intensive factors' such as acidity, temperature and various forms of mechanical stimuli (stretch, expansion, shear stress, hyper- and hypo-osmolarity). This enormous diversity and complexity of activating mechanisms enable TRP channels to fulfill unprecedentedly unique roles in cellular physiology and pathophysiology.

In keeping with the above view, in the past decade, more than 100 papers started to unravel non-trivial roles of these channels in oral medicine. These are exemplified by nociception in dental pulp/odontoblast (e. g. ethanol, eugenol, noxious cooling, gingivitis), taste transduction and aversive behavior, salivation and its disorder (Sjögren's syndrome), swallowing reflex and dysphagia, and oral cancer.

This symposium talk will provide an overview of such emerging significance of TRP channels in oral medicine, and discuss about their therapeutic potentials.

FS-2

肝臓脂質代謝・歯牙形成機構と TRP
チャンネル
松下 正之
琉大 院医 分子・細胞生理

TRPM7 is a member of the transient receptor potential (TRP) family of cation channels, displaying a small inward current and permeable to a number of divalent metal ions, including Mg^{2+} and Ca^{2+} . A closely related gene, TRPM6, was identified as being mutated in familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia, and a key role for both TRPM6 and TRPM7 has been suggested in cellular Mg^{2+} homeostasis. TRPM7 is a unique protein that contains an atypical kinase domain at its C-terminus, closely similar to eukaryotic elongation factor-2 kinase. The TRPM7 kinase domain plays a structural role and is crucial for ion channel activity. However, the role of the kinase activity and autophosphorylation in the ion channel function remains controversial. Moreover, its *in vivo* function in mammals is also largely unknown. In the study, to address if TRPM7 kinase activity has an *in vivo* function, we generated kinase inactive knock-in mutant mice by mutagenesis of a key lysine residue involved in Mg^{2+} -ATP binding and analyzed their phenotype. These mice have normal body weight and do not impair its channel activity. Screening of serum clinical parameters showed that serum Ca^{2+} and Mg^{2+} levels were not altered, but serum triglyceride and total cholesterol were significantly changed. We also found abnormal structure of tooth in these mutant mice. These results suggest that TRPM7 kinase activity play important roles in specific organs.

FS-3

Targeting dental pain with TRP
channels: from mechanisms to thera-
peutics
Seog Bae Oh
Dept. Neurobiol. & Physiol., Sch. Dent.,
Seoul National Univ.

TRP channels, which serve as cellular sensors for mechanical and thermal stimuli in diverse tissues, are also found in the dental nociceptive neurons. When the dentin is exposed, the teeth are highly sensitive to cold and heat stimulation, and even innocuous air could occasionally elicit intense and sudden pain. However, the molecular and cellular mechanism underlying dental pain is not fully understood yet. In this talk, I will provide compelling evidences obtained from our lab that temperature-sensitive and/or mechano-sensitive TRP channels expressed on dental primary afferent fibers might play a critical role in dental pain, and it is possible that dental pain could be controlled by targeting TRP channels with the combination of an appropriate TRP agonist and QX-314, a permanently charged membrane impermeant sodium channel blocker. With this combination approach, we found that TRPV1-expressing nociceptive fibers were selectively silenced by QX-314 delivered inside through TRPV1, which may provide an effective local anesthetic option for dental patients in the clinic. Currently, to provide molecular basis for hydrodynamic theory, our lab is trying to identify low-threshold mechanoreceptors expressed by dental primary afferent fibers.

The works presented in this talk are mostly included in our recent review published in *Journal of Dental Research* (2013 Nov; 92(11): 948-955).

FS-4

TRP チャンネルと痛覚を含む口腔内感
覚

富永 真琴

岡崎統合バイオ 細胞生理

TRP (transient receptor potential) channels were first described in *Drosophila* in 1989, and in mammals, TRP channels comprise six related protein families (TRPC, TRPV, TRPM, TRPA, TRPML, TRPP). One subunit of the TRP channel is composed of six transmembrane domains and a putative pore region with both amino and carboxyl termini in the cytosolic side. It is thought that the subunits form functional channels as homo- or hetero-tetramers. TRP channels are the best recognized for their contributions to sensory transduction, responding to temperature, nociceptive stimuli, touch, osmolarity, pheromones and other stimuli from both within and outside the cell. Among the huge TRP super family of ion channels, some have been proven to be involved in thermosensation and nociception. There are now ten thermosensitive TRP channels (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM3, TRPM4, TRPM5, TRPM8 and TRPA1) with distinct temperature thresholds for their activation. Because temperature ranges above 43 degree C or below 15 degree C are considered to cause pain sensation in our body, thermosensitive TRP channels whose temperature thresholds are in the range can be viewed as nociceptive receptors as well. In addition, thermosensitive TRP channels work as 'multimodal receptors' which respond to various chemical and physical stimuli. TRPV1, the first identified thermosensitive TRP channel, was found as a receptor for capsaicin, and later was found to have thermosensitivity with the activation threshold of over 43 degree C. TRPA1, a wasabi receptor, is also known to detect various noxious and irritant stimuli in the mouth although its thermal sensitivity in mammals is controversial. A menthol receptor, TRPM8 is expressed in a subset of trigeminal neurons and activated by cold stimulus lower than 28 degree C in the naïve condition. TRPM5 known to be a warm-temperature-activated channel is expressed in the type II taste cells and believed to be involved in temperature sensitivity of our taste, especially sweet taste. TRPV3 and TRPV4 are

expressed in epithelial cells in oral cavity and activated by warm temperatures in our body temperature range. I would like to talk about the structure and physiological functions of these thermosensitive TRP channels mainly focusing on pain sensation.

MS1-1

亜鉛シグナリングから究明する口腔医学と個体恒常性
深田 俊幸
昭大 歯 口腔病理、理研 統合生命医科学研究セ

Zinc is an essential trace element that is required for many physiological events, and unbalanced zinc homeostasis results in health problems like abnormal bone and tooth formation, neuronal dysfunctions, and immunodeficiency. Recent studies have uncovered that the zinc acts as a signaling factor called “Zinc signal”, which is mediated by zinc transporters, cation channels, and metallothioneins. Advances of molecular and genetic investigations have demonstrated that zinc signaling tightly associates with health and disease conditions.

In this symposium, I will address the zinc signaling contributes to maintain our health, by highlighting tooth and bone maintenance, and discuss that zinc signal selectively controls cellular and molecular events called “Zinc signal axis”, which may provide the new insights into the role of zinc in health and diseases. Also, I would like to share the updated information about the significant roles of zinc signaling in immunity, and to discuss the future directions of zinc signaling studies in physiology and pathogenesis.

Reference (review)

Fukada *et al*, **Zinc Signal: A New Player in Osteobiology**, *J. Bone. Miner. Meta.* 31: 129-135, 2013

Fukada *et al*, **Slc39a13/Zip13: A Crucial Zinc Transporter Involved in Tooth Development and Inherited Disorders**, *J. Oral Biosci.* 51: 1-12, 2011

MS1-2

歯の形態形成を制御する糖代謝機構
依田 浩子
新大 院医歯 硬組織形態

Cells play important roles in the proliferation, differentiation, and matrix secretion in organogenesis. It is thought that the energy source driving cellular functions is blood glucose and the glucose metabolic pathway consisting of glycolysis, glycogenesis and glycogenolysis is a critical event in determining cell behavior in organogenesis and some pathophysiological situations. However, very little is known about the role of glucose metabolism during tooth development.

Blood glucose is transported into cells by glucose transporters (GLUTs). Thirteen members of the GLUT family have been identified and they are expressed in tissue- and cell-specific functional manners depending on various glucose requirements. Recently, we demonstrated that the expression of GLUT1/2 in the dental epithelial and mesenchymal cells is precisely and spatiotemporally controlled depending on cell differentiation. In an *in vitro* organ culture experiment with an inhibitor of GLUTs1/2, the bud-stage tooth germs induced the disturbance of primary enamel knot formation, resulting in the developmental arrest of the explants. And the inhibition of GLUTs1/2 in cap-to-bell-stage tooth germs reduced tooth size in a dose dependent manner. These findings suggest that the glucose uptake mediated by GLUT1/2 plays a crucial role in the early tooth morphogenesis and tooth size determination (Ida-Yonemochi *et al*. *Dev Biol* 363: 52-61, 2012). Next, we examined the glycogen metabolism in odontogenesis focusing on the ameloblast lineage cells. We found that the timing of glycogen synthesis, accumulation and degradation is also tightly associated with the process of ameloblast differentiation. To understand the significance of glycogen metabolism in amelogenesis, we examined the effect of disrupting glycogen metabolism on ameloblast differentiation in both tooth germ organ and cell culture models. The inhibition of glycogen synthesis/degradation disturbed ameloblast differentiation and enamel matrix formation, and the activation of Akt signaling by IGF-1 consequent glycogen accumulation led to an increase in enamel matrix formation.

Thus, we concluded that the regulation of glycogen metabolism via Akt signal cascade represents an essential biological system in governing cell differentiation and matrix production in amelogenesis.

The balance among glucose uptake, glycogen synthesis and degradation is important for maintaining energy homeostasis within the cells, and the disorder of glucose-glycogen metabolism induces pathological conditions such as developmental anomaly or cancer. Human diseases of glucose-glycogen metabolism include diabetes and glycogen storage diseases. Dental development in these patients has not been well documented, but there are some reports that the patients suffer from dental anomalies such as enamel hypoplasia. The pathogenesis of that phenotype might be explained by our experimental results.

In this symposium, I will summarize the role of glucose-glycogen metabolism in tooth morphogenesis, and discuss the pathogenesis of some dental abnormalities found in glucose-glycogen metabolic disorder.

MS1-3

顎関節症と統合失調症では口腔機能と関連する大脳皮質ミラーニューロンシステムに機能変調が存在する

澁川 義幸¹⁾、加藤 隆^{2,3)}

¹⁾東歯大 生理

²⁾慶應大 医 精神神経科学

³⁾Univ. Aachen

“Temporomandibular disorder” (TMD) is a collective term that includes a number of chronic pain-related problems involving the masticatory musculature and/or the temporomandibular joint, while “schizophrenia” is characterized by deficits in social interaction. The neuropathological bases of TMD and schizophrenia implicate the dysfunction of recognition mechanisms in the cerebral cortex. Abnormal neural mechanisms related to the observation of biological motion have been reported in patients suffering schizophrenia. Although the perception of biological motion is essential for the recognition of orofacial expressions and gestures of other people, defective perception of biological motion in patients with schizophrenia results in misunderstandings in nonverbal communication with others, leading to impairments in social interaction. On the other hand, orofacial pain in patients suffering TMD is associated with the dysfunction of brain areas to which trigeminal nociceptive inputs project. The orofacial pain in TMD also modulates cortical sensory-motor integration mechanisms, and modifies motor performance by reducing motor neuron activity. The motor and premotor cortex, superior temporal sulcus, rostral inferior parietal cortex (area PF), and visual area in humans and monkeys are involved in the perception and recognition of biological motion by motor observation. These neural networks participate in the “mirror neuron system” (MNS), which has not only motor executive, but also cognitive functions including action organization, spatial perception, motor imagery, and understanding/imitation of biological motion (*i. e.*, action). Our neurophysiological and neuroimaging studies have demonstrated that disturbances to cortical MNS functions regulating visuo-motor integration are involved in the development as well as the aggravation of TMD. In patients suffering schizophrenia, we could also observe dysfunction of

gamma-synchronization in the parietal lobe of the MNS during the observation of biological motion. In this symposium, we will discuss the neuropathological evidence that both TMD and schizophrenia patients exhibit dysfunction of recognition mechanisms in the cerebral cortex of the MNS during biological motion (motor) observation.

MS1-4

神経堤及び中胚葉由来細胞の分化能と
胸腺や骨髄での両細胞の役割

山崎 英俊

三重大 院医 幹細胞

Neural Crest (NC) cells emerge from the dorsal region of the neural tube during embryogenesis and differentiate into melanocytes, neurons, glia, and mesenchymal cells including osteoblasts, chondrocytes and adipocytes. NC cells participate in the organogenesis of the craniofacial area, including tooth, thymus, and bone marrow (BM). On the other hands, mesodermal cells also differentiate into mesenchymal cells and contribute to many organs. However, it is difficult to distinguish NC-derived cells from mesoderm-derived cells, and it is not clear the roles of these cells in these organs.

First, we used Cre-LoxP mediated double transgenic mice that have NC-specific or mesoderm-specific Cre expression and Cre-activated YFP reporter. These mice enabled us to trace NC-derived or mesoderm-derived cells as YFP expressing cells. Using these mice, we demonstrated that both NC-derived and mesoderm-derived cells contribute to the development of dental, thymic, and BM mesenchyme from fetal to adult. Dental and thymic mesenchyme were composed of either NC-derived or mesoderm-derived cells, whereas half of the BM mesenchyme was composed of cells that were not derived from the NC or mesoderm. However, a colony-forming unit-fibroblast (CFU-F) assay indicated that CFU-Fs in the dental pulp, thymus, and BM were composed of NC-derived and mesoderm-derived cells. Colony formation was inhibited by the addition of anti-PDGFR antibody, regardless of the tissue and its origin. Therefore, the mesenchymal stem cells found in these tissues had different origins, but similar properties in each organ.

Next, we investigated the individual roles of these mesenchymal cells with distinct origins in the thymus and BM. We used Cre-LoxP mediated triple transgenic mice that have NC-specific or mesoderm-specific Cre expression and Cre-activated YFP reporter and Diphtheria Toxin Receptor (DTR). NC-derived cells or mesodermal cells were depleted by the administration of DT. The consequence of DT-mediated depletion of thymic and

BM mesenchyme on hematopoiesis was examined by flow cytometry and histochemistry. Severe reduction of the number of B lymphocytes in the BM and T lymphocytes in the thymus was observed by the depletion of either mesenchyme. Especially, immature B lymphocytes and CD4/8-double positive (DP) T lymphocytes were significantly affected. These results suggested that NC-derived and mesodermal mesenchyme were involved in the differentiation of lymphocytes. We are currently examining the possibility that immature lymphocytes died due to growth factor depletion and also the possibility that the cells migrated out of these hematopoietic foci due to the defects in retention mechanism within the niche.

MS2-1

個体発生のエピゲノム制御：ゲノムインプリンティングをモデルとして
佐々木裕之
九大 生医研 エピゲノム制御

エピジェネティクスは細胞核内の染色質の化学修飾（メチル化、アセチル化等）の調節により遺伝子発現や表現型の多様性を生み出し、その表現型を安定に維持・継承する機構をいう。また、個々の細胞のもつそのような化学修飾の総体をエピゲノムとよぶ。個体発生におけるエピゲノム制御の典型例として、胎盤の形成や胎児の成長に大きく関わるゲノムインプリンティング現象がある。インプリンティングは雌雄の配偶子形成過程においてエピゲノム修飾の違いが刷り込まれる現象で、そこで生じた修飾の違いが両親由来ゲノムの差として胚（子）へ伝達され、一群の遺伝子の片親性の発現を引き起こす。インプリンティングを受ける遺伝子には、IGF2をはじめとする胎児の成長調節因子や、胎盤形成、代謝調節、母性行動等に関わる遺伝子等があり、婦人科・小児科領域の様々な疾患と関わっている。本教育講演ではエピゲノム制御とゲノムインプリンティングの基本を解説し、現在進行中の国際ヒトエピゲノム計画についても触れる。

MS2-2

発生・分化に伴うヒストン修飾のダイナミクス

木村 宏

阪大 生命機能、東工大 生命理工

ヒストンの翻訳後修飾は、遺伝子発現制御やゲノム恒常性維持に重要な役割を果たしており、発生や分化、細胞周期、外部刺激などに応じてダイナミックに変化する。また、がんをはじめとした疾病とヒストン修飾を介したエピゲノム制御との関係が最近注目されている。実際、多くのがん細胞でヒストン修飾制御因子の変異や過剰発現などが見出されているのに加え、局所あるいは全体レベルでヒストン修飾の変化も見つかっており、エピゲノム制御を標的とした疾患治療戦略が展開されている。一方、様々なヒト正常組織のエピゲノムマップを作製するための国際プロジェクトも発足し、ヒトの各臓器のエピゲノム情報が明らかになる日も近づきつつある。

我々は、遺伝子発現制御の基本原則を明らかにする目的で、様々なヒストン修飾やRNAポリメラーゼIIのリン酸化に特異的モノクローナル抗体を開発してきた。これらの抗体を用いて、ChIP-seqによるエピゲノム解析や単一細胞レベルでのヒストン修飾のダイナミクス解析が可能になっている。また、最近、蛍光標識した特異的モノクローナル抗体(Fab断片)を用いて、生細胞でヒストン修飾を検出する方法(FabLEM; Fab-based live endogenous modification labeling法)を開発した。さらに、修飾特異的抗体を蛍光蛋白質と融合させた一本鎖可変領域抗体(Mintbody; Modification-specific intracellular antibody)として発現させることで、モデル動物の個体レベルでヒストン修飾の動態を可視化することも可能になってきた。本シンポジウムでは、これらの生細胞解析などから明らかとなってきた、発生や分化におけるヒストン修飾のダイナミクスと転写制御への関与について紹介する。

MS2-3

口腔がん細胞におけるエピジェネティック変異

八田 光世¹⁾、永沼 香織^{1,2)}、

山崎 純¹⁾

¹⁾福歯大 分子機能制御

²⁾福歯大 口腔外科

生命の設計図である遺伝子=DNAはコアヒストン八量体に約2回転巻き付いたヌクレオソーム構造をつくり、さらにヌクレオソーム集合体はリンカーヒストンによりクロマチンと呼ばれる高次構造体を構築して細胞の核内に存在する。現在、Pioneer転写因子の結合やヒストン/DNAのメチル化など化学修飾を介したクロマチン構造調節は遺伝子発現パターン確立の基盤と考えられている。

Pioneer転写因子はクロマチン構造内の標的DNA配列に結合することでゲノム領域の遺伝子発現部位を確立する特別な転写因子と定義されている。私たちは、フォークヘッド転写因子FoxO1について再構成ヌクレオソームおよびリンカーヒストンH1により凝集化したクロマチン(ヌクレオソームアレイ)を用いた*in vitro*解析を行い、ATP非依存的に局所のクロマチン構造を変化させることを明らかにした。FoxO1がクロマチン構造変換能を保持したPioneer転写因子として、さまざまな細胞・組織において遺伝子発現パターン形成に重要な役割を担っている可能性が考えられた。

近年、クロマチンを構成するヒストン/DNAの化学修飾はエピジェネティックな遺伝子発現制御において中心的な分子メカニズムとして提唱されている。細胞におけるエピジェネティック制御の破綻は、がんの発症や進展に関わると考えられる。細胞骨格タンパク質keratin 13は口腔粘膜上皮細胞において分化依存的に発現するが、口腔がんの病変部では抑制されていることが報告されている。私たちは、keratin 13遺伝子に着目して、口腔がん細胞におけるmRNA発現とヒストン/DNAの化学修飾変化について解析をおこなった。低分化型口腔がん細胞ではmRNA発現が抑制されており、遺伝子領域のヒストン/DNA化学修飾について正常細胞と異なるパターンが認められた。Polycomb repressive complex 2 (PRC2)によるヒストンH3K27トリメチル化を介した抑制機構が関わっており、PRC2阻害薬が発現抑制を解除できることも明らかにした。エピジェネティック変異が口腔がん細胞の遺伝子発現パターンおよび細胞特性に影響を与えること、さらに薬物による制御の可能性が示された。

MS2-4

ゲノム初期化は多くのポイントミューテーションを伴う
安倍 真澄
放射線医学総合研

SS1-1

歯周病と糖尿病を繋ぐ分子基盤
西村 英紀
九大 院歯 歯周病

「エピゲノムの再編成・制御によってゲノムに変異は生じない(影響は無い)」がこれまでの教科書の教えるところである。しかし、複数のグループによって iPS 細胞ゲノムに多くの single nucleotide variation (SNV) が報告されてきた。iPS 化は mutagenic なのか? という問いは、iPS 細胞の再生医療利用を考えると極めて重要な問題である。樹立法や、用いる体細胞、さらに生物種にも依存しないと報告されてきたこのゲノムあたり~1000 個に達する SNVs が、1) iPS 化に伴って生じる もしくは、2) 用いた体細胞の一部の細胞にもともと存在していた、のかが決定的に重要な問いになった。

これまでは、検出された複数の SNVs が、親体細胞ゲノムを深く解析すると観察されることから、一部の細胞(例えば、親細胞集団の~1/100)に既に存在していた、即ち 2) が支持されてきた。しかし、最近、我々は、SNVs の iPS クローンゲノム内の存在頻度を解析し、i) その頻度に 25% 以下がみられることを見出した(全ての細胞には存在しない変異が多数存在することを)。ii) 事実、この 25% SNVs は細胞集団から調製したゲノムの~1/4 にしか存在しない変異であることを amplicon sequencing 法で確認した。iii) 最後に iPS 細胞コロニーに含まれるひとつひとつの細胞からサブクローンを樹立し、SNVs の存在様式を解析したところ、体細胞から iPS 細胞への転換直後に、多くの point mutation が生じていること、更には、その正確な時系列が明らかになった。観察された変異は通常のあまり見られない tranversion 優位という特徴を有していた。我々の一連の観察は、従来理解の逆、即ち 1)であることを示していた。

点突然変異以外にも、copy number variation などの変化が初期化に伴っていることも示唆されている。今回は、エピゲノム変更がゲノムに与える影響を、point mutation から観察した結果を報告し、エピゲノムとゲノムの関係について話題を提供したい。

重度歯周病は生体に軽微な炎症反応を惹起する。軽微な炎症は全身的に健康な成人においては、自覚症状や検査レベルで異常値を示さず経過するが、近年この軽微な慢性炎症が耐糖能や虚血性心疾患リスクに影響を及ぼすことが明らかにされ、にわかに注目されるようになった。重度歯周病を合併した 2 型糖尿病に対する介入研究ヒロシマスタディから、ベースライン時に systemic な炎症マーカーが上昇している糖尿病に対し歯周治療を行うことで、炎症が軽減するとともにヘモグロビン A1c が改善することが明らかになっている (Munenaga *et al.*, Diab Res Clin Pract, 2013)。この場合の炎症マーカーの上昇のレベルは、久山町研究を参考に考察した場合、日本人で虚血性心疾患発症リスクおよびそれによる死亡リスクを 2 倍程度上昇させる軽微な炎症反応であった (Arima *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008)。したがって元来口腔局所の感染症である歯周病によってなぜ全身性に炎症マーカーが上昇するのかについて、その分子基盤を確立することは重要な課題である。分子基盤を理解すれば、ヒロシマスタディの後から米国で発表された歯周治療の効果を疑問視する報告 (Engelbrecht *et al.*, JAMA, 2013) に対しても明確な反論が可能となる。

演者らは歯周医学研究の発展には分子基盤の確立が不可欠との概念に基づき、機序の解析を進めてきた。ここでは、①臨床介入研究から導き出された解析結果を踏まえた分子基盤に対する仮説、②仮説を検証するための *in vitro*, *in vivo* 両面からのアプローチについて講演するとともに、歯周炎症の全身への波及機序に対する演者らの考え方を紹介することで、後の演者の講演の導入としたい。

SS1-2

アルツハイマー病脳における糖尿病関連遺伝子の発現異常とその意義：久山町研究

外間 政朗^{1,2)}、岡 素雅子^{1,3)}、
Julio Leon¹⁾、二宮 利治⁴⁾、
本田 裕之⁵⁾、佐々木健介⁵⁾、
岩城 徹⁵⁾、小原 知之⁶⁾、
清原 裕⁷⁾、中別府雄作^{1,3)}

¹⁾九大 生医研 脳機能制御

²⁾九大 院医 脳神経外科

³⁾九大 スクレオチドプール研究セ

⁴⁾九大 院医 総合コホート研究セ

⁵⁾九大 院医 神経病理

⁶⁾九大 院医 精神病態医学

⁷⁾九大 院医 環境医学

イルの変化は末梢の糖尿病や糖代謝障害とは無関係であった。以上の結果は、ADに特有の病態が脳におけるインスリン産生低下とインスリン・シグナリングの異常をもたらすことを意味しており、末梢のインスリン抵抗性や糖尿病はこのようなAD脳におけるインスリン・シグナリングの異常を増悪させる可能性が示唆される。

世界では認知症患者は2000万人に上り、この数は高齢者人口の急速な増加により2040年までには8000万人を超えると予想されている。全認知症とアルツハイマー病(AD)の日本の高齢者における割合は、ここ20年間で特に75歳以上で顕著に増加してきた。このため、認知症、特にADに対して効果的な予防戦略を立てることが重要となってきた。この目的を達成するためには、高齢者におけるADを含む認知症の危険因子を理解することが重要である。これまでの研究で、認知症、特にADの発症におけるインスリンと糖代謝の影響が示されている。久山町研究においても、高インスリン血症と高血糖が老人班の形成と強い相関性を持つ事が明らかになっている。

我々は、AD脳における分子病態を遺伝子発現の変化に注目して明らかにするために、久山町研究に献体された方の死後脳とADモデルマウスの海馬における遺伝子発現プロファイルの比較解析を行った。死後脳の前頭皮質、側頭皮質、海馬から得られたマイクロアレイデータについてAD、脳血管性認知症(VD)、性別の3要因について分散解析を行ったところ、AD患者の海馬において最も顕著な遺伝子発現プロファイルの変化を認めた。同様の遺伝子発現プロファイルの変化は側頭葉と前頭葉でも認められた。この遺伝子発現プロファイルの変化の程度は、AD特異的な病理変化の程度と平行して海馬>側頭葉>前頭葉の順であった。AD患者とADモデルマウスの海馬における発現変化を比較解析したところ、精神疾患とADに関連する遺伝子群に加えてインスリン産生とインスリン・シグナリングに関与する遺伝子群の発現変化が共通に認められた。このようなAD患者の脳における遺伝子発現プロファ

SS1-3

アルツハイマー病増悪因子としての歯周病の可能性

松下 健二

国立長寿セ 口腔疾患

SS1-4

歯周病菌による脳髄膜を介したミクログリアの活性化

武 洲、中西 博

九大 院歯 口腔機能分子科学

歯周病は *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) などの口腔内細菌によって引き起こされる局所的な感染症である。近年、歯周病が糖尿病やアテローム性動脈硬化症などの全身疾患と関連性があることが数多く報告されている。一方、糖尿病やメタボリックシンドロームといった生活習慣病とアルツハイマー病との関連性を示唆する報告も散見される。生活習慣病の一つである歯周病とアルツハイマー病(AD)との相関関係を示唆する文献は存在しているが、その因果関係に関する報告は皆無である。また、細菌感染がADの進行に寄与する可能性があることも報告されている。最近我々は、*P.g.*により誘発される歯周炎がアルツハイマー病の病理学的特徴に影響するかどうかをADのトモデルマウス(J20マウス)を用いて検討した。その結果、*P.g.*を投与したJ20マウスにおいて認知機能が有意に低下すること、さらに脳内のアミロイド β ($A\beta$) 40と $A\beta$ 42の量がコントロールJ20マウスに比べて*P.g.*投与J20マウスで高いことが明らかになった。海馬と皮質における $A\beta$ の沈着面積は、コントロールJ20マウスに比べて*P.g.*投与J20マウスで有意に増加していた。さらに、脳内のIL-1 β およびTNF- α などの炎症性サイトカインレベルは、コントロールマウスに比べて*P.g.*投与マウスで高かった。これらの結果は、*P.g.*によって誘発された歯周炎が脳アミロイドの沈着および脳の炎症を悪化させることでアルツハイマー病の病態を増悪させる可能性があることを示唆している。

歯周炎がアルツハイマー病を増悪させる機序として、口腔内のサイトカイン、菌、あるいはリポ多糖(LPS)が何らかの経路を経て脳内へ運ばれ、それらがアルツハイマー病の病態に影響を与えていることが考えられ、現在その可能性を検討中である。

超高齢社会が進行している日本において、認知症対策は喫緊の課題である。今のところ認知症の特効薬が存在しないため、その発症や進行を遅らせるための方策が模索されている。中高年層の歯周病予防と治療はアルツハイマー病進行の抑制に繋がる可能性があり、特に軽度認知症の患者にとっては歯周病の治療が重要であることなどが考えられる。今後、中高年以降の歯周病対策が益々重要になっていくであろう。

アルツハイマー病の発症・進行に脳炎症が関与しており、全身炎症により増悪することが知られている。歯周病は全身炎症を引き起こし、アルツハイマー病のリスク因子の一つとして注目を集めている。しかし、歯周病がどのような経路で脳炎症を引き起こすのか、またなぜ老化が脳炎症を増悪させるのかなどは不明である。私たちは慢性全身炎症モデルとしてアジュバンド関節炎(AA)ラットを用いた一連の研究により、(1)脳髄膜細胞はAAに伴い炎症性因子を産生分泌し、脳内ミクログリアを活性化すること、(2)ミクログリアは、若齢AAラットでは抗炎症性因子を、中年AAラットでは炎症性因子を産生分泌すること、(3)中年AAラットにおいてミクログリア活性化により海馬の長期増強現象(LTP)が低下することを明らかにしてきた。最近、*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*)由来のリポ多糖類(LPS)の全身投与が、C57BL/6マウスにおいてアミロイド β_{1-42} ($A\beta_{1-42}$)ならびにクロモグラニンAのニューロン内蓄積ならびに学習・記憶障害を引き起こすことを見出した。さらに、*P.g.*由来LPSはTLR2依存的に脳髄膜細胞を介してミクログリアを活性化し、炎症性因子の産生分泌を誘導することが分かった。興味深いことに、 $A\beta_{1-42}$ は中年マウスの脳より単離したミクログリアにおいてのみIL-1 β の産生分泌を誘導した。これは若齢マウスの脳より単離したミクログリアでは $A\beta_{1-42}$ によるNF- κ B活性化が十分ではなく、老化に伴って細胞内レッドクス環境の変化によりNF- κ Bが活性化されるためと考えられる。これらの結果より、歯周病菌とそれらの関連成分がTLR2依存的に脳髄膜細胞から分泌される炎症性因子を介してミクログリアを活性化する経路の存在が示唆される。また、老化に伴うミクログリアの反応性増大がADにおいて $A\beta$ を介した脳炎症を増幅する重要なファクターとなることが明らかとなった。

SS2-1

口腔癌の分子標的治療：抗腫瘍性ケモカイン CXCL14 のエピジェネティクス異常を指標としたセツキシマブ投与前評価の基礎的研究

小澤 重幸

神歯大 院 顎顔面外科

ことを示し、メチル化異常に着目した場合には、セツキシマブと脱メチル化剤の併用療法が有用であると考えられた。

分子生物学の発展は目覚ましく、生命現象における調節の分子機構、その調節異常による疾患の発生メカニズムについて解明されつつある。従来、癌の発生から進展にかけては染色体を構成する遺伝子異常が関与していると報告されてきたが、実際の腫瘍で高率に変異を有する遺伝子は思いのほか少ない。近年、遺伝子変異を伴わない遺伝子発現異常であるエピジェネティクス異常が注目され、DNA メチル化、ヒストンの修飾等のさまざまなエピジェネティクス異常が、癌の発生、進展に重要であることが認識されている。事実、エピジェネティクス異常をターゲットとした治療薬が臨床に取り入れられるようになり、脱メチル化剤であるアザシチジンが骨髓異形成症候群に対して 2011 年 1 月に承認、同年 3 月に発売開始された。大腸癌に使用されてきた上皮成長因子受容体(EGFR)阻害剤であるセツキシマブは 2012 年 3 月に頭頸部扁平上皮癌に適応拡大された。セツキシマブの投与前効果予測としては、大腸癌と同様に K-ras をはじめとした遺伝子の変異の有無が提唱されてきたが、頭頸部癌においては遺伝子変異の頻度が少ないにもかかわらず、セツキシマブの効果が期待されていたほどではないことが現状である。今回我々はセツキシマブの投与前効果予測にエピジェネティクス異常も考慮しなければいけないと提案し、抗腫瘍性ケモカイン CXCL14 のプロモーター領域のメチル化の有無が、セツキシマブの抗腫瘍効果に関与するのか、さらにはメチル化している場合は脱メチル化剤がセツキシマブとの併用に有効であるかを検討した。本研究では CXCL14 のプロモーターがメチル化していない HSC-3 細胞、メチル化している YCU-H891 細胞を使用した。K-ras をはじめとした遺伝子変異の有無をダイレクトシークエンスにて確認後、*in vivo* の実験系でセツキシマブと DAC(デオキシアザシチジン)による抗腫瘍効果を判定した。さらに、CXCL14 が前述した併用療法に関与するかどうかを検討するため、Tet-on システムを用いた CXCL14 強制ベクターを YCU-H891 に導入することで、CXCL14 の抗腫瘍効果を確認した。本研究結果は、CXCL14 をはじめとした様々な分子のエピジェネティクス異常を、セツキシマブの投与前効果判定に取り入れなければならない

SS2-2

癌の分子標的治療から分子標的予防医学へ

畑 隆一郎

神歯大 院 口腔難治疾患研究セ

SS2-3

癌と NKT 細胞とケモカイン CXCL16 の役割

島岡 猛士

東大 院医 分子予防医学

癌は多段階で進行することが明らかになっている。各段階は癌の進展を促進する分子の活性と抑制する分子の活性のバランスによっている。我々はケモカイン CXCL14/BRAK が生体内に存在する癌抑制分子であることを報告した。癌の各段階における CXCL14/BRAK の作用を明らかにするために、CXCL14/BRAK を野生型 (Wt) の 10 倍程度発現するトランスジェニックマウス (Tg) を 3 系統作成し、発癌と癌の進展の各段階に対する作用を調べた。

Tg マウスと野生型マウスの腹腔にアゾキシメタン (12 mg/kg body weight) を注射後、3% のデキストラン硫酸ナトリウムを間欠的に飲料水に加えることにより実験的大腸癌を発生させた。また、Tg マウスと Wt マウスの背部あるいは尾静脈より悪性黒色腫、あるいはルイス肺癌の細胞を注入し、一定期間後に移植腫瘍の増殖あるいは肺への転移数を数えた。また、一部のマウスについては anti-asialoGM1 抗体、あるいは anti-NK1.1 抗体を注入し NK 細胞活性を阻害した。Tg マウスの腫瘍数は Wt マウスの 1/10 であり有意 ($P < 0.001$) に少なかった。Tg マウスの方が Wt マウスより癌の増殖は遅く、また、肺への転移数が有意に少なく、かつ、生存率が高かった。また、NK 細胞活性の阻害により Tg マウス、Wt マウスともに転移腫瘍数が激増し、両者における増殖、肺転移に NK 細胞が関与していることが明らかにされた。さらに、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 3×10^3 では Wt マウスの生存率が 50% に対して BRAKTg では 100% であった。Tg マウスの解析から CXCL14/BRAK は発癌、癌の増殖、転移のすべての段階を抑制する分子であることが明らかになった。

CXCL14/BRAK は正常細胞で大量に合成されており、健康人でも Tg マウスレベルの発現をしているヒトが存在したので、今後の副作用のない新しい癌の分子標的治療法および分子標的予防法開発のための有望な分子標的と考えられる。

NKT 細胞は生体内で抗腫瘍反応を誘導する潜在的な能力を有することが知られている。しかしながら NKT 細胞の作用を制御するメカニズムはいまだ明らかではない。ケモカイン CXCL16 とその受容体 CXCR6 は NKT 細胞の恒常的な働きや活性化において重要な役割を果たすことを我々は示してきた。今回我々は肝臓と肺へのがん細胞転移モデルとがん細胞皮下接種モデルにおいて NKT 細胞とケモカイン CXCL16 の役割を検討した。肝臓へのがん細胞転移は野生型と比較して CXCR6 ノックアウトマウスで増加していた。一方、肺へのがん細胞転移においてそのような違いは見られなかった。また肝臓へのがん細胞転移は CXCL16 中和抗体を処理した野生型マウスでも同様に増加していた。CXCR6 ノックアウトマウスは肝臓における NKT 細胞数が減少しているが、CXCL16 中和抗体処理では NKT 細胞数の変化は見られなかったので抗腫瘍免疫制御において CXCL16/ CXCR6 が直接的な役割を担っていることが示唆された。皮下にがん細胞を接種し増殖を測定する実験モデルにおいて NKT 細胞活性化糖脂質抗原である α GalCer 処理によって野生型では皮下接種したがん細胞の増殖は有意に阻害されるが、CXCL16 ノックアウトマウスにおいては α GalCer による IL-4 や IFN- γ といったサイトカイン誘導が減弱し、皮下接種したがん細胞の抗腫瘍効果が見られなかった。今回の実験結果より、がん細胞増殖や転移において NKT 細胞と CXCL16 ケモカインが自然免疫監視として機能していることが示された。

SS2-4

がん と NK 細胞
 小笠原康悦
 東北大 加齢医学研 生体防御、東北
 大 院歯 難治疾患・口腔免疫

がん（腫瘍）の免疫療法において、歴史的に Lymphokine-Activated Killer (LAK) 療法の主要な細胞集団として Natural Killer (NK) 細胞が注目されてきた。NK 細胞は、腫瘍細胞の排除、ウイルス感染細胞の排除という機能を持っていることが知られている。NK 細胞は、前感作なしに標的細胞を攻撃できることから、このように呼ばれているものの、NK 細胞の標的細胞認識機構の詳細は未だ不明である。分子生物学の発展により、NK 細胞においても、種々のレセプターがクローニングされ、NK 細胞の認識機構が分子レベルで示されるようになり、現在では、NK 細胞の機能発現には、活性化レセプターと抑制性レセプターのシグナルのバランスによって調節されているという考え方が一般的になっている。

我々は、NK 活性化レセプター NKG2D が、腫瘍の排除に重要であることを明らかにした。強制的に NKG2D リガンドを発現させた腫瘍をマウスに接種すると、NK 細胞依存的に腫瘍が排除されることが判明した。さらに腫瘍を排除したマウスでは CTL も誘導されることも報告された。しかし、興味深いことにマウスおよびヒト腫瘍細胞において、通常組織では発現の認められない NKG2D リガンドが広範に発現しており、NK 細胞の攻撃を逃れて、腫瘍が進展していく現象が見出されている。本シンポジウムでは、がん（腫瘍）と NK 細胞の攻防について、我々の知見を紹介し議論したい。

SS3-1

匂いの情報処理から認識へ
 佐原 資謹¹⁾、深見 秀之¹⁾、
 堀江 沙和^{1,2)}、樋口さとみ³⁾、
 佐々木真理³⁾
¹⁾岩医大 生理 病態生理
²⁾岩医大 医歯薬総研 腫瘍生物
³⁾岩医大 医歯薬総研 超高磁場 MRI

匂いの認識はどのように行われるのであろうか？ 体性感覚や視覚で行われている位置情報をもとにした“感覚(空間)地図”による認識のメカニズムからの類推で、“化学感覚の匂いにも同様の“匂いの空間地図”が存在すると一般に考えられてきた。嗅覚受容体の遺伝子クローニングが行われて以降、ラットやマウスなどの動物を用いた末梢の受容器から嗅球への投射の研究が盛んに行われ、①嗅粘膜上の受容体の分布から“rhinotopic map”が、②嗅覚 1 次ニューロンの投射パターンから、嗅球表面に 2 次元の機能マップ“odotopic map”が存在していることが明らかにされた。嗅球の機能地図は、それぞれの糸球体間で部位局在が成立するのではなく、匂いを特徴つける化学基に対応するパターンにより匂いの空間地図が形成されている。しかし、③嗅球から梨状皮質への投射様式が、point-to-point topographyではなく、all-to-all topographyをとることが明らかにされ、近年、匂い情報処理の新たな原理の探索や構築が進められている。今回我々は、匂いの認識機構を探る目的で、ヒトにおいて 7 tesla 超高磁場 MRI を使用し、全能の脳機能イメージングを試みた。異なった数種類の匂いを被験者に嗅がせ、動物実験で得られた神経投射ならびに回路情報を考慮して ROI 設定し検索を行った。静磁場強度を 7 tesla に上げたことで、高解像度で S/N 比の良い fMRI 画像が得られるようになり、梨状皮質、海馬、扁桃体、前頭皮質などの部位に活性化が認められた。この結果をもとに、“匂いの種類がどのように認識されているか”そのメカニズムについて考察を試みる。

SS3-2

口腔ストレスによる梨状皮質-傍梨状核ニューロンの活動性の上昇
吉村 弘
徳大 院 HBS 口腔分子生理

傍梨状核は嗅覚中枢と考えられている梨状皮質の深部にあり、これらは相互に神経連絡を有している。また、傍梨状核は大脳皮質味覚野を含む島皮質とも神経連絡があり、さらに情動や痛みに関する皮質下領域とも連絡がある。口腔環境にストレスを感じるような異常が生じた場合、このような神経連絡を考慮すると、傍梨状核に影響が及ぶことが考えられる。そこで、生後3週ラットの上顎切歯に口腔内装置を装着して咬合関係を悪化させ、慢性的に歯牙に力が加わるようなストレスを与えて飼育した時の影響を、傍梨状核ニューロンにおいて誘発される膜電位振動（オシレーション）を指標にして評価した。生後6~7週の時期に傍梨状核、梨状皮質、島皮質を含むスライスを作製し、カフェインを含む細胞外液下で梨状皮質を電気刺激し、傍梨状核からフィールド電位計測をおこなった。正常飼育ラットと比較して、口腔内装置装着ラットの傍梨状核から記録されたオシレーションの波数と振動時間がともに増大し、興奮性の上昇が認められた。また、このオシレーションはNMDA受容体の阻害剤であるD-AP5投与により抑えられたので、振動現象の発現にはNMDA受容体の活動を必要とすることかわかった。以上の結果より、口腔ストレスはNMDA受容体の活動に関連して傍梨状核ニューロンの活動性を上昇させることが示唆された。以前我々はニオイ刺激と味刺激の両方に応じる傍梨状核ニューロンが存在することを報告したが、これらを考慮すると、口腔ストレスがニオイや味などの化学感覚の情報処理に影響を与える可能性が考えられる。

SS3-3

In vivo 光学計測によるラット島皮質歯髄応答ニューロンの時空間的特性の解析
小林 真之
日大 歯 薬理、理研 分子イメージング科学研究セ

歯科治療において、患者自身が歯痛の原因歯を特定することが難しいこと（歯痛錯誤）がある。しかし、その情報を統合していると考えられる大脳皮質において、歯に対する侵害刺激がどのように処理されているかについては不明な点が多い。そこで、ラット上下顎切歯・臼歯、髭・舌等の口腔周辺領域を電気刺激し、大脳皮質への投射体部位に局在性があるか否かについて、光学計測システムを用いて神経活動を光学的に記録した。上下顎切歯・臼歯、オトガイ皮膚、口髭部、舌に対する電気刺激は、各々島皮質の異なる領域を活性化した。上下顎切歯・臼歯の電気刺激に対する初期応答は、中大脳動脈（MCA）に隣接する尾側の領域に位置していた。下顎切歯・臼歯は上顎切歯・臼歯より尾側にあり、局在性が認められた。最大応答は重複する領域が認められ、局在性に乏しかった。下顎臼歯歯髄の初期応答の中心部位を焼灼し冠状断切片（ニッスル染色）とチトクローム染色にて組織学的に検索したところ、一次体性感覚野（S1）腹側の顆粒島皮質（GI）と不全顆粒島皮質（DI）に歯髄応答部位が認められた。歯髄の初期応答が、島皮質（IC）の限局した領域にある一方、最大応答では局在性が失われていたことは、歯痛錯誤のメカニズムを反映している可能性がある。

SS3-4

大脳皮質体性感覚野バレル領野におけるカラム間の周期的同期化機構

豊田 博紀、佐藤 元、齋藤 充、
河野 奨、姜 英男

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同期化が生じていると考えられる。発火活動の周期的同期化は、スライス標本における細胞外記録法によって観察されており、カイニン酸の灌流投与により、バレル野第2/3層に1-5 Hz のオシレーションが生じることが報告されている。一方、我々は、隣接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明らかにしている。本研究では、GABA_Bシナプス前抑制が、発火活動の周期的同期化、或いは、脱同期化の時空間的パターンをどのように修飾するかを明らかにするため、ラットバレル野のスライス標本を用いて、膜電位測光法及びパッチクランプ同時記録により実験を行った。まず、膜電位測光法を用いて、第3層に与えた paired pulse 刺激 (200 ms 間隔) により生じる第2/3層における水平方向の興奮伝播の広がりを観察した。GABA_A 受容体阻害薬 (bicuculline) 及び NMDA 受容体阻害薬 (APV) 存在下では、一発目より二発目の方が小さくなる paired-pulse depression (PPD) を観察したが、GABA_B 受容体阻害薬 (CGP) によりそうした PPD が消失した。このことから、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ものと考えられた。また、カイニン酸の灌流投与により、バレル野第2/3層の複数のカラムにわたって、同期化した約 5 Hz のオシレーションが引き起こされることを観察した。こうした周期的同期化が CGP によって消失したことから、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示唆された。次に、隣接カラムの二つの第3層錐体細胞からパッチクランプ同時記録を行い、カイニン酸を投与することにより、ほぼ同じ周波数の同期発火が誘発された。両細胞のスパイク間に 1-5 Hz の相互相関関係が認められた。そこで、CGP 投与によるそうした相互相関関係の修飾を検討中である。

SS4-1

三叉神経運動ニューロンの序列動員の基盤となるイオンチャネル機構

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 顎顔面口腔矯正

筋の等尺性収縮力は、運動単位サイズの原理 (Henneman *et al.*, 1965) に従った序列動員とその発火頻度に依存している。咬合力が増加する噛み締め運動においても、咬筋運動単位は運動ニューロンの細胞径が小さいものから大きなものへと順に序列動員されることが知られている (Yemm 1977)。これは細胞径が小さい程入力抵抗が高く一定の興奮性シナプス後電流に対する脱分極量が大きくなるためであると考えられている。ニューロンの入力抵抗や静止膜電位を支配的に決定しているのは TASK1 及び TASK3 チャネルによる漏洩 K⁺コンダクタンスである (Lesage *et al.*, 1996)。

そこで我々は、閉口筋を支配する三叉神経運動ニューロン (TMN) 膜上の TASK1 及び TASK3 の分布について、免疫組織化学的に解析した。その結果、TMN の細胞体及び樹状突起にはそれぞれ TASK1 と TASK3 が高密度に発現しており、両チャネルの分布は相補的であることが明らかとなった。また、TASK1 と TASK3 mRNA は、共に、樹状突起が発達している大型細胞に、より多く発現していることも明らかにした。ホールセル記録を行った結果、大型 TMN は小型 TMN に比べて、静止膜電位が深く、入力抵抗が小さいことが明らかとなり、TASK チャネルの発現パターンと首尾一貫していた。一酸化窒素 (NO) - cGMP - cGMP 依存性蛋白キナーゼ (PKG) 系の活性化によって TASK1 は上方制御を受けることを既に報告しているが (Toyoda *et al.*, 2010)、TASK3 はそれにより下方制御を受けることをさらに明らかにした。その結果、大型及び小型 TMN の静止膜電位・入力抵抗・EPSP の振幅が、cGMP 可溶性アナログである 8-Br-cGMP の投与により異なる変化を示す機序も明らかになった。こうした所見は、序列動員のパターンが NO により修飾を受ける可能性を強く示唆している。

SS4-2

下顎および舌運動制御の神経メカニズム

井上 富雄¹⁾、中村 史朗¹⁾、
中山希世美¹⁾、望月 文子¹⁾、
吉田 篤²⁾、清本 聖文¹⁾¹⁾昭大 歯 口腔生理²⁾阪大 院歯 高次脳口腔機能

外界から食物を摂取してエネルギー基質を得ることは、ヒトや動物の生存に必須である。吸啜や咀嚼は食物を生体内に取り込む運動であり、体内の一連のエネルギー産生機構の第1段階として極めて重要な役割を果たす。我々は、2つの実験系を用いて吸啜や咀嚼における口腔顎顔面の運動制御の神経機構の解明を試みてきた。脳幹スライス標本を用いた実験系で、下顎の運動指令を開口筋あるいは閉口筋運動ニューロンに送るプレモーターニューロンについて検索を行った。三叉神経運動核周辺の領域にレーザー光誘発性化学刺激を行ってプレモーターニューロンを興奮させると、ほとんどの咬筋および顎二腹筋運動ニューロンでシナプス応答が誘発された。特に三叉神経上核(SupV)外側部の刺激により咬筋運動ニューロンでバースト状のシナプス後電流が多く誘発された。さらに、細胞内Ca²⁺測定法を利用して同定したSupVプレモーターニューロンの発火特性を調べると、高頻度スパイク発射型と低頻度スパイク発射型のニューロンに分類された。両者の形態を比較すると、樹状突起の分布および軸索の走行様式に差が認められた。以上の結果から、SupVプレモーターニューロンは、様々な電気生理学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関与する可能性が考えられる。次に、新生マウスの脳幹-脊髄摘出標本を用い、吸啜様活動誘発時の三叉神経運動根と舌下神経の活動の関係について調べた。NMDA投与により、三叉神経運動根では長周期のリズム活動が誘発され、少し遅れて短周期のリズム活動が誘発された。長周期のリズム活動は左右の三叉神経運動根と舌下神経で同期していたが、短周期のリズム活動は左右で独立していた。次に、標本を正中で左右に分離したところ、長周期のリズム活動は三叉神経運動根で消失したが、舌下神経では消失しなかった。以上の結果から長周期のリズムを形成する神経回路からの出力は、同側の舌下神経に伝えられるのに対して、三叉神経では反対側に伝えられることが示唆された。長周期のリズム形成回路は、三叉神経と舌下神経の両方に出力することで顎と舌の協調に関与していると考えられる。

SS4-3

海馬CA3領域でのシナプス伝達に対する抗けいれん薬フェニトインの作用
窪田 寿彦、吉田 卓史、若森 実
東北大 院歯 歯科薬理

抗けいれん薬のフェニトインはNa⁺チャネルを遮断することが知られているが、中枢神経の神経細胞間情報伝達に対する詳細な作用は不明である。本研究ではラット(3~4週齢)の海馬CA3領域を含む脳スライス標本を用い、CA3錐体細胞へ投射する興奮性及抑制性神経に対するフェニトインの作用を電気生理学的に詳細に検討した。

TTX 1 μMにより伝導を遮断し膜電位固定下に海馬CA3錐体細胞で自発性興奮性シナプス後電流(mEPSC)を記録した。フェニトインはmEPSCの振幅(amplitude)を変化させず、グルタミン酸の放出頻度(frequency)を濃度依存的(10⁻⁷~10⁻⁴M)に減少させた。海馬CA3錐体細胞へ投射する興奮性神経線維を電気刺激(0.1 Hz)して得られるeEPSCの振幅にフェニトインは影響を与えなかった。L-グルタミン酸(10⁻⁴M)の海馬CA3錐体細胞へのpuff-applicationにより惹起される電流は、フェニトイン10⁻⁴Mにより抑制されなかった。CA3錐体細胞に投射するGABA作動性神経に対しフェニトイン10⁻⁴Mは、振幅と放出頻度共に変化させなかった。フェニトインによるmEPSC頻度の抑制は、細胞外Ca²⁺に依存しなかった。アデニール酸シクラーゼ抑制薬SQ22536によりmEPSCの振幅は変化せず、頻度が減少した。フェニトインによる更なるmEPSC頻度の抑制は認められなかった。一方、cAMP濃度を上げるためフォルスコリンを投与するとmEPSC頻度は増加するが、フェニトインはその増加した頻度を減少させた。

フェニトインは、海馬CA3領域では抑制性神経終末には影響を与えず、興奮性神経終末部から放出されるグルタミン酸の放出頻度をNa⁺チャネルの遮断とは無関係に、cAMP/PKAカスケードに作用して抑制することが判明した。フェニトインはクラスI b抗不整脈薬に分類されているが、cAMP/PKAカスケードに作用することはクラスII作用を持つ可能性も示唆される。

SS4-4

PRIP が調節する GABA シグナリングと摂食調節
兼松 隆
広大院医歯薬保 細胞分子薬理

脳内の情報伝達系は、興奮性と抑制性の神経ネットワークの絶妙なバランスによって制御されている。どちらの神経伝達制御が変調しても、正常な脳機能の維持に障害をきたすことは言うまでもない。抑制性シナプス入力を制御する重要な分子の1つに GABA_A 受容体がある。我々は、Phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) が、GABA_A 受容体のシナプス膜への局在制御に重要な役割を担っており、この分子が抑制性シナプスにおけるシグナル入力を調節することをみいだした。

摂食行動は視床下部を中心とした大脳皮質から脊髄までの神経ネットワークによって制御されている。この神経ネットワークの中核には視床下部の弓状核がある。弓状核には、ニューロペプチド Y (NPY) ニューロンと Pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンがあり、それぞれ摂食行動を正と負に調節している。NPY/AgRP ニューロンは GABA 作動性であり POMC ニューロンに投射して POMC ニューロンを抑制するほか、他の摂食制御に関わる神経核にも抑制的なシグナルを入力し、摂食行動調節に重要な役割を果たしていることが分かっている。

我々は、PRIP 遺伝子欠損マウスを用いて、GABA 作動性シナプス制御が摂食調節に及ぼす影響について検討した。そして、GABA シグナリングの変調は、マウスの摂食行動を変え生体のエネルギー代謝調節に影響することを見出した。シンポジウムでは、PRIP が制御する GABA_A 受容体の機能調節機構とエネルギー調節や摂食調節について紹介する。

SS5-1

歯冠・歯根表面と DEJ そして歯髓腔形態の関連性と進化の検討
小澤 幸重
日大 松戸歯

背景；藤田恒太郎「歯の解剖学」は歯の形態を科学的視点から反省する格好の本であろう。その視点を学生へ訴える苦勞が行間から滲み出し、将来に委ねた問題も多い。その一つが歯髓腔と歯の形態との関連である。歯髓腔の形態は、例えば上条「日本人の永久歯牙解剖学」では記述は少しあるが図が心許ない、Carsen の Dental Anatomy も図は簡略である。殆どの歯髓の論文も歯根の分岐や歯根側枝の形態に終わっている。この中で藤田の教科書は記載が少ないが図は詳細に描かれ、問題が提議されている。しかし臨床の要求に応えられていない。これは、歯髓腔の形態が歯の連続切断面か液浸標本によるという観察の限界がある。近年 μ CT の出現でこれが一変した。同じ歯で非破壊的に全形態が観察できるからである。それでも様々な問題、二次象牙質やセメント質の添加によるノイズ、解像度がよく正確な映像を得るための時間と良い試料と数の等々が横たわる。今回はこの問題を考慮しつつ Courtesy of Brown Herbranson Imaging Human 3D Interactive Tooth Atlas (株式会社ニッシンの好意による) を用いて歯髓をふくむ歯の形態の分析を行った。標本は乳歯と永久歯の全歯種約 200 本だが、歯種による偏りもあり、二次的な形質を含まない歯を観察した。**結果**；乳歯、永久歯ともに歯髓腔はほぼ歯冠部と歯根部に分かれるが、歯冠部は括れによって歯帯領域と咬頭領域に区分される。咬頭領域では主要な咬頭(切縁あるいは咬頭)が歯髓腔に認められるが副次的な構造は乏しい。歯帯は殆どの歯で膨む。根管は歯根入り口の広い根幹と歯根中腹、根尖が膨らみと括れによって区分される。これらは変異が大きいがほぼ共通の特徴である。これらの領域の境界は歯冠では咬頭側と歯帯、そして歯根表面ではその括れに連動する。これは歯冠がエナメル質も象牙質も咬頭(切縁、尖頭)と歯帯の2部分、歯根が根幹、根中腹、根尖のほぼ3領域に区分できることを示している。さらにここから歯帯と根幹領域の象牙質はほぼ一定の厚さであることが伺える。そして象牙質のこの区分はその系統発生が反映していることを推定させる。またカラベリーの結節などの重要な副咬頭は歯髓と DEJ とエナメル質表面が連動することもあるが、連動しないこともある。**展望**；今後はこのような資料が蓄積されることを願うものである。

SS5-2

上顎大白歯の退化傾向に関する藤田理論を再考する：形態地図法を用いた定量化による検討

森田 航¹⁾、森本 直記²⁾、大島 勇人¹⁾

¹⁾新大 院医歯 硬組織形態

²⁾京大 院理 自然人類

Butler が提唱した歯の形態形成場の理論をベースに、同一の形成場に属する歯の形態が連続的に推移することはよく知られている。上顎大白歯においては、第一大臼歯 (UM1) が最も大白歯場の影響を受ける鍵歯であり、第二大臼歯 (UM2)、第三大白歯 (UM3) にかけて、その形態は退化する傾向にあるとされる。この規則的な形態の推移について藤田恒太郎原著『歯の解剖学』のなかでは、8つの特徴が挙げられているが、その中でも咬合面形態において2つの退化の様式 (= 「近遠心的な圧平」と「咬頭の退化」) があることが示されている。また「上顎各大臼歯間の形態的差異というものは結局、量的なもので質的なものではない」ことにも言及している。だが、変異の幅の大きな上顎各大臼歯形態を定量的に比較する方法はこれまで無く、本当に退化傾向は2様式に分けられるのか、UM1 から UM3 へ形態は連続的に変化するのか、という点は実証されてこなかった。そこで我々は、歯冠の3次元形状を定量化する形態地図法を開発し、歯種間の形状変異から大白歯の退化にどのような傾向があるのかを検討した。試料には、咬耗の形態分析に与える影響を排除し、歯冠形態の本質的な形状を保持していると考えられるエナメル象牙境を用いた。その結果、3つの歯種からなる上顎大白歯全体の変異を最も説明する特徴は、各咬頭の相対的な高さや近接度合いであった。これは『歯の解剖学』における「咬合面の単調化」に相当すると考えられるが、必ずしも歯種間の退化傾向を説明するものではなく、歯種ごとの変異の幅に収まった。次に全体の変異を説明する形態的特徴はハイポコーンの退縮であり、これは藤田の咬合面退化の2様式のうち、「咬頭の退化」に相当する。この特徴により UM1 と UM2&UM3 とが区別された。『歯の解剖学』においては、退化の「落差は UM2 と UM3 との間の方が UM1 と UM2 との間よりも大きい」ことが指摘されているが、本研究の結果はこれと相反する。鍵歯である UM1 が他の歯種とは異なる形態変異を持つと言える。本発表では、『歯の解剖学』で挙げられているその他の上顎大白歯における規則的な形態の推移についても検討し、「退化傾向」とは何なのかについて議論したい。

SS5-3

歯頸線の形態とその歯面分布について
土門 卓文
北大 院歯 口腔解剖

【目的】藤田・中山 (1940) はヒト永久歯歯頸線の形態を観察し、滑沢・鋸歯状・地図の海岸線状と分類し、複雑な形態のものは隣接面で多く見られると報告した。この拡大写生図は藤田恒太郎原書「歯の解剖学」に掲載されている。しかしながら、藤田・中山以降、歯頸線の形態に関する報告はない。今回、2000~2011年の間、北海道大学歯学部研究実習において学生と調査した歯頸線の形態とそれらの歯面分布について報告する。

【材料と方法】水酸化ナトリウム溶液にて浸軟処理し、カルボルフクシン染色したヒト上顎永久歯 2964 歯、下顎歯 3066 歯を試料として用いた。試料は歯種鑑別後、近心・遠心・頬 (唇) 側・舌 (口蓋) 側の4歯面の歯頸線の形態を実体顕微鏡下で藤田・中山の報告に従い3型 (I型:滑沢、II型:鋸歯状、III型:海岸線状) に分類し、歯種・歯面別にそれらの頻度を計測した。

【結果】上顎では切歯近心面でIII型が53%の頻度で観察された。犬歯、小白歯、並びに大白歯では全歯面においてI・II型が64%~91%を占めていた。下顎では切歯隣接面においてIII型が65~70%を占めていた。犬歯、小白歯、並びに大白歯では全歯面においてI・II型が65%~92%を占めていた。

【考察】以上の結果から、I・II型の歯頸線は犬歯、小白歯、大白歯に多く、III型は切歯、特に下顎切歯の隣接面に多く見られる傾向が示唆された。藤田・中山 (1940) は歯頸線の形態について肉眼的観察、顕微鏡的観察、発生学的観察、歯頸部う蝕との観点から詳しく考察しているが、これらは「歯の解剖学」では簡略化されている。これら考察の内容と乳歯における歯頸線についても当日簡単に紹介する。

【文献】藤田恒太郎、中山愛一：歯頸部ニ於ケル珐瑯質境界線ノ形態學的研究。口腔病学会誌 18:355-363,1940.

SS5-4

先天性多数歯欠損患者での残存歯の形態

須田 直人

明海大 歯 歯科矯正

SS6-1

無顎類 メクラウナギの角質歯は真歯の原型か？

石山巳喜夫

日歯大 新潟生命歯 解剖 2

歯の発生は多数の遺伝子機能によって担われ、これらの遺伝子の機能異常が比較的発生初期にみられた場合に歯の先天性欠損をきたすと考えられている。このような歯の先天性欠損は、顎顔面領域にみられる最も頻度が高い先天異常の一つである。

歯の欠損が多数歯にわたる例では、咀嚼、発音、摂食といった口腔機能に重大な障害を引き起こし、患者のQOLに深刻な影響を与える。智歯を除いた6歯以上に先天性欠損がみられる例は、先天性多数歯欠損症 (oligodontia) とよばれる。このような先天性多数歯欠損症が非症候群性にみられる例では、原因となる遺伝子によって欠損する歯に歯種特異性をみることが報告されている。すなわち、MSX1 遺伝子の変異は主として大白歯、PAX9 遺伝子では小臼歯、EDA 遺伝子では前歯の欠損を多くみる。これらの例では、歯の発生における原因遺伝子の重要性が歯種によって異なることが考えられる。

それでは、先天性多数歯欠損症において欠損を免がれた歯において、原因遺伝子の機能が発生と無関係だったと考えられるのだろうか？この点に回答を得るため、本シンポジウムでは、非症候群性の先天性多数歯欠損症において欠損を免がれた歯の特徴を検証し報告する。

現生無顎類はヤツメウナギ類とメクラウナギ類に分けられ、両群ともに歯を持たず代わりに角質歯とよばれる角質突起を口腔内に有する。ヤツメウナギ類の角質歯に関しては、光学顕微鏡および電子顕微鏡により研究されており、微細構造的特徴が明らかにされている。一方、メクラウナギ類に関しては、19世紀に二三の先駆的研究が認められ、さらに近年はDawson(1963)の光顕による研究が存在するが、電顕による研究が存在しないために、いくつかの疑問点が残されていた。そんな中で、Slavkin *et al.* (1991) は本類の角質歯の内部に細胞外基質が存在し、これがアメロジェニン部位特異抗体に反応することを明らかにして、メクラウナギ類こそエナメル質進化の原点であるという衝撃的な学説を提唱した。加えて、爬虫類の遺伝子すら未知の時代に、アメロジェニン遺伝子の50残基の配列を公表している (Slavkin & Diekwisch, 1997)。

筆者と共同研究者は、はたしてメクラウナギの角質歯の内部には、アメロジェニン抗体に陽性な細胞外基質が存在し、本類こそエナメル質進化の原点であるというような形象が存在するのかという点に焦点を絞り、光顕、電顕および免疫組織化学法により19尾を対象に解析を行った。結果として、角質歯は機能層、網状層およびポカール層の三層構造を呈していることが明らかになり、ポカール層の頂端部の細胞は明調な高円柱形細胞に分化していた。いわゆるポカール細胞である。Slavkin *et al.* (1991) はこれらがアメロジェニン抗体陽性の細胞外基質を分泌する細胞であるとしているが、我々の研究ではいずれの個体でもアメロジェニンの免疫組織化学反応も陰性であり、彼らが細胞外基質であると報告した部位はポカール細胞の遠心部位の細胞質であった。細胞質にはケラチン顆粒が充満し、まさに角質細胞の典型的な微細構造を示した。このように、本類の角質歯はエナメル質進化の原点を彷彿させるような形質は持たないことが明らかになり、特殊に分化した角質器であることが証明された。

SS6-2

エナメロイドとエナメル質の相違

笹川 一郎

日歯大 新潟生命歯 先端研

エナメロイドは魚類と幼生の両生類の歯の表面を覆うエナメル質様高石灰化組織である。エナメル芽細胞によって上皮側に作られるエナメル質に対し、エナメロイドは間葉側に作られる組織であり、エナメル器の細胞に加え象牙芽細胞がおおきくその形成に関与する。象牙質表層がエナメル質様となった硬組織ともいえる。ここでは、硬骨魚類のエナメロイド形成における歯胚上皮性要素の役割に注目し、エナメル質との違いを比較検討する。

エナメロイド基質はコラーゲン線維に富み、主に象牙芽細胞によって作られるとされる。さらに、基質形成初期では象牙芽細胞由来とされる多数の基質小胞が基質内に出現し、次の石灰化期では針状結晶がコラーゲン線維に沿って集積する。ここまでは骨や象牙質とよく似ている。一方、基質形成期の内エナメル上皮細胞には *COL1* の発現が報告され、形態的にも細胞内にプロコラーゲン構造が認められる。さらに、エナメロイド石灰化期では内エナメル上皮細胞とエナメロイド基質中にエナメルタンパク様物質の存在が観察される。これらの所見は形成初期から上皮側の細胞が関与している可能性を示唆しているが、その詳細はまだ不明である。エナメロイド形成の後半、石灰化が進む段階（石灰化期、成熟期）では、主にエナメル器の細胞が基質の分解と脱却、結晶成長に関わっていることが形態的および酵素組織化学の所見から示されている。この点はむしろ哺乳類のエナメル質成熟期と類似する。

基幹条鰭魚類にはエナメロイドとエナメル質を有する歯を持つ種があるので、魚類ではエナメロイドとエナメル質は共存している。エナメロイドは魚類の進化に伴い発達した組織であり、エナメル質とは異なる硬組織と考えられる。

SS6-3

メダカ咽頭歯の多換性とその維持機構

高野 吉郎

医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物

脊椎動物は元来多生歯性であり、その進化の過程で歯の交換回数を減じてきた。事実 現生哺乳動物の多くは二生歯性であるが、爬虫類や魚類は多生歯性を維持している。我々はこれら下等脊椎動物に見られる多生歯性を維持する仕組みの中に、歯の再生を実現させる上での重要なヒントが潜んでいると考え、近年、魚の歯の交換システムの解明に着手した。

小型硬骨魚メダカは成魚でも体長 3 cm 程に過ぎないが、咽頭には 1000 本にも及ぶ咽頭歯が植立し、生涯脱落と交換を繰り返している。本研究はメダカ咽頭歯形成野全域における歯の形成ユニットを同定し、歯の形成から脱落までの経過を明らかにするとともに、同部における歯原性幹細胞ニッチを同定して多生歯性の維持機構を解明することを目的に計画された。

本研究で我々は咽頭歯形成野の上皮性要素を 3 次元立体復構し、更に咽頭歯骨の経時的蛍光標識データを解析することで、咽頭歯列が併せて 5 世代にも及ぶ機能歯とその後継歯胚を構成単位とする多数の tooth family で構成されていること、個々の tooth family における歯の交換サイクルが 4 週間を超えないこと、更に個々の歯が機能歯として機能する期間が 10 日前後しかないことを初めて明らかにした。また、BrdU の長期標識/追跡実験を行って各 tooth family の最後端部に一群の label retaining cell (LRC) が存在することを明らかにし、加えてほぼ同じ領域に、多機能分化マーカーである *sox2* の遺伝子発現が認められることを *in situ hybridization* で確認した。

これらの結果は、咽頭歯形成野における個々の tooth family の後端部に slow cycling cell が恒常的に存在し、その領域に *sox2* 陽性細胞が共存することが、メダカ咽頭歯の持続的な新生と交換を可能にする重要な要素であることを示している。

一方でメダカの骨組織に目を向けてみると、メダカ骨格は無細胞骨で構成されており、全身骨格の中で破骨細胞は極く限られた領域にしか認められない。その中で咽頭歯形成野には例外的に多数の破骨細胞が存在し、歯と歯足骨を盛んに吸収して、めまぐるしく繰り返される歯の交換を可能にしている。

本シンポジウムでは、咽頭歯形成野で特異的に進行する破骨細胞の分化誘導と活性化の仕組みにも言及し、メダカ咽頭歯多換システムの全容の解説を試みる。

SS6-4

キングサーモンの歯の交換
土門 卓文
北大 院歯 口腔解剖

【目的】 演者は過去に多生歯性である硬骨魚類キングサーモン（サケ目サケ科、和名：マスノスケ）の脱落歯にみられる破歯細胞を観察していた際、脱落歯が規則的に出現する印象を持った。今回、キングサーモンの上・下顎歯の交換について Edmund (1960) が提唱する Zahnreihen theory の観点から検索し、脱落歯の出現と破歯細胞の役割について検討した。

【方法】 札幌市さけ科学館より提供された体長 (SL) 148~165mmのキングサーモン4匹を用いた。上・下顎骨を採取後、固定・脱灰後、パラフィン包埋し試料とした。試料は前頭断・水平断方向から厚さ5 μ m 間隔の連続切片を作成し、HE染色を行った。得られた連続切片は顕微鏡観察後、歯の発生過程（結節期・帽状期歯胚、基質形成がみられる歯胚、石灰化した歯胚、歯足骨形成中の歯、歯足骨をもつ機能歯、破歯細胞による吸収がみられる脱落歯）によって6段階に分類した。観察した歯は、歯の位置を横線に、歯の発生段階を縦線にした歯の交換の表に記入した。

【結果】 歯と歯胚は唇側と舌側の2つの歯列で観察され、唇側には歯が、舌側には歯胚が観察された。得られた歯の交換の表から脱落歯の出現は規則的であり、歯の位置と発生段階の間には、歯胚の発生から歯の脱落まで一定の規則性をもつ Zahnreihen が認められた。破歯（骨）細胞は脱落歯とその周囲歯足骨にのみ観察された。

【考察】 キングサーモンにおける破歯細胞の役割は歯の交換における規則的な歯・歯足骨吸収であると思われる。破歯細胞は系統発生的に硬骨魚類から出現することから、破歯細胞が本来もつ系統発生的に古い役割は、哺乳類で知られているような骨吸収ではなく、歯の交換における歯・歯足骨吸収であると思われる。

SS6-5

シーラカンスのウロコ小歯の構造と歯の進化
田畑 純
医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物

魚鱗の表面には、オーナメントと呼ばれる突起構造がみられることがあるが、シーラカンスの場合には、硬組織でできていて小歯 denticle という。ただし、咀嚼器官でもなく、顎に植立しているわけでもないで、偽歯もしくは類歯であるが、知られているかぎり、真歯とよく似た構造を持ち、歯の進化を考える上できわめて興味深い。そこで、その詳細を解析し、検討することにした。

タンザニア産のシーラカンス数匹から採取したウロコを用いた。コスミン鱗であるが、基本構造は円鱗と似ており、露出部表面に多数の小歯があった。小歯はエックス線不透過で、表面はガラス様の光沢があり、内部は透明もしくは若干の白濁があった。 μ CT 観察によって全ての小歯に髓腔構造のあることが確認された。

研磨切片の組織観察により、2層の構造が確認され、ラマン分光分析によって第1層にハイドロキシアパタイト、第2層にハイドロキシアパタイトとコラーゲンが含まれることが確認された。また、偏光顕微鏡観察によって第1層、第2層ともに明瞭な結晶配向性が確認された。脱灰して作成したパラフィン切片では、第1層が失われていたが、第2層には細管構造があることが確認された。非脱灰凍結切片によって、各種組織染色や免疫染色が行われ、第1層がエナメル質の性質、第2層が象牙質の性質を持つことが示された。すなわち、シーラカンスの小歯は、構造的にも成分的にもきわめて歯に近いものであった。

歯の進化を考えると、我々は「歯」が咀嚼器官として進化した、顎の上で進化した、と考えがちである。しかし、シーラカンスの小歯は違う筋道を示した。すなわち、歯は「体表」で進化し、「顎」に生えるようになって咀嚼器官として機能するようになったという可能性である。こうした例は進化の上では「前適応」といい、歯の進化においてもあてはまると考えられた。

SS6-6

サメ類の皮小歯の発生・構造・多様性
後藤 仁敏
鶴見大 歯

SS7-1

歯根膜幹細胞の多様な特性およびその有用性
和田 尚久
九大 病院 歯内治療

【目的】古く Hertwig(1874)は「歯はサメの皮小歯(楯鱗)から由来した」と述べたが、皮小歯は無顎類の皮甲の象牙質結節に由来し、顎上の歯だけでなく、ネコザメやツノザメの背鰭棘、エイ類の尾棘などにも分化している。サメ類における皮小歯について、その発生過程と微細構造を観察し、進化と多様性について考察した。

【方法】ラブカ *Chlamydoselachus anguineus* とメガマウスザメ *Megachasma pelagios* の皮膚および粘膜を材料とし、固定・脱灰後、パラフィンおよびセロイジン包埋し、各種染色標本を作成し、光学顕微鏡で観察した。

【結果】皮小歯は、表皮直下の真皮乳頭層に間葉細胞が密集することから形成が始まり、表皮基底細胞層が円柱形のエナメル芽細胞層に分化してエナメル器を形成し、エナメル器に囲まれた真皮乳頭層は歯乳頭となる。歯乳頭のエナメル芽細胞層に面する細胞層は象牙芽細胞層となり、エナメロイド基質を形成し、続いて象牙前質が形成され、やがて両者は石灰化してエナメロイドおよびその内層の象牙質となり、象牙質の中心に残された歯乳頭は歯髄となる。象牙質に連続して、基底部の骨様組織が真皮中に形成され、皮小歯は歯頸部を取り囲む表皮と基底部の骨様組織と真皮層を結ぶ膠原線維で支えられるようになる。メガマウスザメの背側の皮小歯は歯髄中にメラニン色素を含む色素細胞を有するが、腹側の皮小歯はメラニン色素を含まない。口腔粘膜には皮小歯と連続する粘膜小歯が見られ、鰓耙表層には細長い粘膜小歯があり、捕食の機能を果たしている。

【考察】サメ類の皮小歯は、歯堤こそ形成されないが、歯と同様な発生過程によって形成され、エナメロイド・象牙質・歯髄・基底部の骨様組織からなり、顎上の歯や、口腔粘膜や鰓耙上の粘膜小歯、背鰭棘、尾棘などに分化したものと考察される。

根尖性歯周炎や辺縁性歯周炎は、細菌感染によって引き起こされた炎症であり、歯周組織の破壊を伴う疾患である。歯周組織の破壊範囲が大きい場合は原因除去のみでは組織再生は誘導されないため、種々の再生療法が開発されている。しかしながら、いずれも罹患部位の既存の細胞に依存して治癒を促す方法であるため、完全に再生させることは難しい。したがって、近年、細胞を用いた新たな組織再生法の確立が期待されており、歯周組織再生の移植細胞源として様々な組織由来の幹細胞や分化ステージの異なる歯根膜由来細胞が試されている。その中でも、歯根膜組織由来幹細胞(歯根膜幹細胞)は他の細胞と比較して歯周組織再生能が高いことが報告されているが、歯根膜幹細胞を歯周組織再生のための移植細胞源として用いるには、歯根膜組織が微小な組織であることや、獲得する機会が限られていることなど課題も多い。

我々は、これらの課題を克服しつつ歯根膜幹細胞の特性を生かした歯周組織再生誘導法の確立を目指して、様々な研究アプローチにより歯根膜幹細胞の特徴を検討してきた。今回は、先ず歯根膜幹細胞が持つ免疫寛容能に関する解析結果について報告する。さらに、我々は、発生の過程で神経や血管系のガイダンス因子として知られている Semaphorin3A 因子が、多分化能を有するヒト歯根膜幹細胞クローンに強発現しており、歯胚発生過程では歯根膜組織由来組織である歯小嚢に局在が認められたことから、歯根膜細胞に及ぼす効果を検討したところ、幹細胞/未分化細胞へ誘導する因子である可能性を示唆する結果を得た。本シンポジウムではこれらの研究成果をご紹介しながら、多様な特性を有する歯根膜幹細胞の有用性、ならびにこれまでハードルとなっていた歯根膜幹細胞の回収機会や回収効率の低さに対してどのような解決方法が考えられるか、今後の課題と展望も含めて考察したいと考えている。

SS7-2

間葉系幹細胞移植におけるレシピエントの組織・細胞の反応

山座 孝義

九大 院歯 分子口腔解剖

間葉系幹細胞移植による治療メカニズムとして、ドナー細胞による直接的な組織置換や組織修復、ドナー細胞によるサイトカイン分泌などの Drug Delivery System、レシピエント幹細胞の賦活化などいくつかの作用機序が考えられている。私どもはこれまでに、全身性エリテマトーデスモデルマウスの MRL/lpr マウスを用いて、間葉系幹細胞に属するヒト乳歯幹細胞やヒト過剰歯幹細胞の細胞移植実験を行ってきた。その移植効果として、間葉系幹細胞が免疫担当細胞、特にインターロイキン 17 分泌型ヘルパー T 細胞の分化・機能抑制作用を通じて、全身的な免疫過剰状態のレスキューによる自己免疫疾患の治療効果について報告してきた。この免疫抑制効果としては間葉系幹細胞が直接的または間接的に免疫担当細胞の分化や機能を調節している事が推測されている。一方、最近の我々の研究成果から、疾患により間葉系幹細胞移植の治療機序が変化する事が明らかとなった。

本シンポジウムでは、種々の疾患モデルでの研究成果から、間葉系幹細胞・間葉系幹細胞移植が備える治療効果の多様性について、議論を深めたいと考えている。

SS7-3

抜歯窩および歯周組織欠損部における細胞移植の組織再生の効果

本田 雅規¹⁾、真下 貴之²⁾、

鶴町 仁奈³⁾、秋田 大輔⁴⁾、

鳥海 拓¹⁾、磯川桂太郎¹⁾

¹⁾日大 歯 解剖Ⅱ

²⁾日大 歯 口腔外科

³⁾日大 院歯

⁴⁾日大 歯 歯科補綴Ⅱ

今回のサテライトシンポジウムでは、間葉系幹細胞の移植の効果について再考することを課題としている。そこで、この発表では、移植した細胞が標的とする細胞に分化することで組織再生・修復に関与するのか、または、移植した細胞が内在性の幹細胞を活性化および免疫寛容の働きを行うことで再生の場の環境を整える役割として働くのか、を考えるために下記の二つの実験を計画した。

マウス骨髄由来間葉系幹細胞の抜歯窩への移植：C57BL/6J マウスの左右大腿骨および脛骨を摘出し粉碎後、酵素処理にて単離された骨髄細胞からフローサイトメトリーを用い、CD45-/TER119-/PDGFRα+/Sca-1+細胞を分取する。分取した細胞をマウスの上顎第一臼歯の抜歯窩へ移植し、移植後の組織再生をマイクロ CT による解析と組織学的解析により評価した。

脱分化脂肪細胞の歯周組織欠損部への移植：脂肪組織の約 90% の体積を占める脂肪細胞は天井培養を行うと未分化な細胞へと脱分化する。そこで、今回は、その脱分化脂肪細胞をラットの皮下組織より酵素処理にて採取、培養後にラットの歯周組織欠損部に移植した。移植後 5 週において、組織の再生をマイクロ CT による解析と組織学的に評価した。さらに、蛍光標識した細胞を移植後の細胞の動態を観察した。

これらの二つの実験から得られた結果より、細胞移植による組織の再生への効果を考察する。

SS7-4

間葉系幹細胞誘導性インプラント周囲
粘膜の構築

熱田 生¹⁾、鮎川 保則¹⁾、
山座 孝義²⁾、近藤 綾介¹⁾、
松浦 由梨¹⁾、古谷野 潔¹⁾

¹⁾九大 病院 義歯補綴

²⁾九大 院歯 分子口腔解剖

歯科インプラント治療は歯牙欠損患者に対する最も有効な補綴治療の選択肢の一つといえる。1960年代にBrånemark博士らによって「オッセオインテグレーション」、すなわち「チタンに対する骨の結合」という概念が提唱されて以来多くの研究が重ねられ、現在のインプラント治療は確固たる地位を獲得することとなった。しかし長期経過症例に目を向けたときインプラント治療には依然解決されるべき問題が残されている。

その中で最も注目すべきはインプラント周囲軟組織の存在である。インプラント周囲における軟組織は天然歯と類似した封鎖構造を有するにも関わらず明らかに脆弱である。そのためインプラント周囲粘膜で生じた炎症は、天然歯周囲と比較して容易に骨へと波及しインプラントの支持骨を吸収させる。つまり軟組織において細菌に対する免疫的、物理的な局所防御の改善こそが周囲炎や粘膜退縮を防止し長期にわたるインプラント治療の成功に貢献出来ると思われる。

実際インプラント周囲における軟組織封鎖性の向上を目指した研究成果は数多く存在する。ただコスト面や安全性の点で臨床応用まで多少の距離があるのも事実である。そこで我々は、間葉系幹細胞(MSC)を用いることによりインプラント治療をより確実なものにすることを目指す。

MSCはオッセオインテグレーションが提唱された時期とほぼ同じ1960年代に同定された細胞で、優れた多分化能と増殖能を有する幹細胞の一種である。特に分化の幅は広く、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞など様々であり、組織再生に有効な選択肢である。近年では顎骨骨折や歯周病由来の骨欠損、顎補綴時など口腔領域での再生治療として用いられるようになった。そして現在では、幹細胞の新たな投与効果として免疫細胞の制御能が明らかとなった。これにより膠原病などの自己免疫疾患、大腸性ポリープなどの炎症、さらには乳癌など悪性腫瘍の治療にも効果が示されている。このようなMSCの特徴的な治療効果がインプラント周囲軟組織の封鎖性向上にも活用出来ないものであろうか。今回はその可能性について発表させていただく。

SS8-1

遺伝性疾患における歯根の異常

須田 直人

明海大 歯 歯科矯正

歯冠の異常に比較して歯根の異常に関する報告は少ない。おそらく口腔内に萌出し直接可視化が可能な歯冠に比べ、顎骨内に埋入されX線画像を通じて認識されることが多い歯根は、その大きさや長さ・形態を正確に把握することが困難なためと考えられる。

また歯の発生に関する基礎研究において、歯冠の発生や形成に比較して、これらの点を歯根で検討したものは多くない。歯根に比べ、咬頭や窩といった複雑な形態をみる歯冠の方が研究対象として興味深く感じる研究者が多いのかもしれない。

歯冠と歯根は、相互作用を持ちながら進行する一連のプロセスにより形成され、歯冠形成期においても歯根発生は開始していると考えられる。そのため、歯冠と歯根の発生や形成期を明確に分けることは困難であろう。

上記のような特徴を持った歯根に関して、一歯あるいは数歯に限定した異常については局所的要因が大きいと考えられる。一方、両側性であったり、比較的多数歯にわたる歯根異常をみる例では、遺伝性疾患や全身疾患の一表現型として発症する例が多い。

本シンポジウムでは、歯根の形態異常を伴う種々の遺伝性疾患を概説する。また歯根異常歯における歯冠形態に着目し、歯根と歯冠の関連性に関し臨床的な考察を加える。

SS8-2

歯根発生メカニズムの新規仮説と歯根形態異常

熊上 深香、大津 圭史、藤原 尚樹、
原田 英光
岩医大 解剖 発生・再生

歯冠の形態形成のメカニズムは世界中の多くの研究によって解明が進められてきた。その一方で、歯根および歯周組織発生については研究があまり進んでいないのが現状であり、さらに歯根の形態や歯周組織に関わる先天性疾患の原因も不明な点が多い。これらについては、1) 歯の発生過程で歯冠から歯根へと形態的变化がなぜ生じるのか。2) 歯根象牙質の形成を誘導するヘルトウィッチ上皮鞘 (Hertwig's epithelial root sheath: HERS) はどのように発生するのか。3) HERS の増殖と伸張、さらに断裂とマラッセの上皮遺残 (epithelial rests of Malassez: ERM) の形成はどのようなメカニズムなのか。4) 歯小囊細胞の分化と歯根象牙質表面への遊走はどのようなシグナルが働いているのか。5) 顎骨と歯根の成長との相互関係について。などの疑問を上げることができる。そこで我々は、エナメル器による歯冠形成から HERS の発生に至るまでの間の増殖因子の発現パターンの変化、それに伴う増殖細胞の局在の違いについて検索し、さらには様々な方法のリアルタイムイメージングを用いて細胞の動きを詳細に観察した。その結果、歯冠形成は歯乳頭の増殖因子発現による内エナメル上皮の増殖誘導によって行われるが、歯根の発生に移行するには歯乳頭での増殖因子の発現低下と共に、歯小囊誘導による外エナメル上皮の増殖と移動が重要であることが明らかとなった。また HERS は、ビメンチン等の間葉系細胞マーカーの発現を示す細胞も含まれているヘテロな細胞集団であり、これらの細胞が上皮間葉転換を示す結果も得られた。このシンポジウムでは HERS の起源やその細胞の特殊性、ならびに顎骨と歯根ならびに歯周組織発生との関連について議論することで、歯根と歯周組織疾患の原因究明につなげていきたいと考えている。

1) Kumakami-Sakano M, Harada H *et al.*, Exp Cell Res.. 2014 Feb 18 E-pub

SS8-3

歯根発生過程における細胞骨格制御因子の役割とその異常

福本 敏¹⁾、日野 綾子¹⁾、
山田 亜矢¹⁾、大津 圭史²⁾、
新垣真紀子¹⁾、齋藤 幹¹⁾、
中村 卓史¹⁾、原田 英光²⁾

¹⁾東北大 院歯 小児発達歯科

²⁾岩医大 解剖 発生生物・再生

歯根の形成は、歯原性上皮細胞のうちヘルトリッヒの上皮鞘の根尖方向への移動により制御されている。上皮細胞の移動には、インテグリン等の接着分子の細胞外基質への結合と、接着分子の細胞内領域における接着斑の形成や F-アクチンなどの細胞骨格の形成や維持が重要であることが知られているが、歯根形成過程における機能については未だ不明な点も多い。

我々は $\beta 1$ インテグリンが、歯原性上皮細胞の細胞極性の決定や分化における役割を明らかにし、上皮特異的な $\beta 1$ インテグリンの欠損が、部分的なエナメル質形成不全や歯の萌出の遅延を生じることを明らかにした。そこで、 $\beta 1$ インテグリンの細胞内領域に結合し、F-アクチンと結合するアダプター分子フィラミンの、歯根形成における役割について解析を進めた。

フィラミン分子群は、A から C までの 3 分子が同定されているが、この中でフィラミン-A (FLNA) は、ヘルトリッヒの上皮鞘が形成される領域の歯原性上皮細胞に発現し、歯原性上皮細胞株に shRNA-FLNA を過剰発現した歯原性上皮細胞株においては、細胞の移動が抑制された。また上皮細胞内では、細胞膜直下に存在することが明らかとなった。F-アクチンの線維は、細胞骨格の形成に重要な因子であるが、歯原性上皮細胞においては、細胞の外側から核方向へ線維の移動が観察されるが、shRNA-FLNA 過剰発現においては、その移動が遅延した。さらに FLNA 遺伝子を変異した小児において、乳歯および永久歯の歯根形成が抑制され、短根を示す表現系を認めた。また指の癒合 (合指症) や爪の異常、頭蓋骨の形成異常、さらに歯においては、薄いエナメル質 (低成型型エナメル質形成不全症) を有していることが明らかとなった。以上の結果から、細胞骨格制御因子の 1 つである FLNA は、歯原上皮細胞の細胞移動を制御し、これまで知られていない新たな歯根形成制御因子として機能していることが明らかとなった。

SS8-4

ヘルトウィッチ上皮鞘の発育と神経ペプチド
川島 伸之
医科歯科大 院医歯 歯髄生物

歯根の形成は歯冠形成がほぼ終了した後に開始されるが、その形成過程はヘルトウィッチ上皮鞘 (Hertwig's epithelial root sheath : HERS) により制御されている。HERS は歯胚のサービカルループにおける内外エナメル上皮が癒合した2層構造の組織で、げっ歯類においては生後5~7日より形成が開始され、生後14日でその長さがピークとなる。その後、退縮しその残渣が歯根膜内にてマラッセの上皮遺残 (epithelial rests of Malassez : ERM) として観察される。ところで、歯の発生と神経支配の発達は深く相関している。歯の発生初期の帽状期において、歯乳頭下に神経叢が形成され、歯の発生が進むにつれ歯小囊内への神経分布が広がる。歯根形成期において、根尖部の歯髄およびその周囲組織においても神経は分布している。これまでに、substance P (SP) がその特異的受容体である neurokinin1 (NK1) 受容体を介して歯の形成に関与しているとの報告がある。また、NK1のみならず、calcitonin gene-related peptide (CGRP) の受容体の発現も臼歯発生過程で根尖部の歯髄およびその周囲組織に認められている。これらの報告は、種々の神経ペプチドが歯根形成に関与している可能性を示唆している。また、vasoactive intestinal peptide (VIP) は小腸、胃および脳、脊髄、下垂体といった種々の神経組織に広範に分布している神経ペプチドで、それぞれの組織において生理学的な機能を担っている。口腔領域においてもVIP陽性神経の分布が報告されており、たとえば歯髄においては象牙芽細胞層およびその直下あるいは歯髄内の血管周囲に認められる。また、臼歯部分岐部の歯根膜にも局在が報告されている。我々はVIP陽性神経線維がHERS周囲に存在し、VIP特異的受容体であるVPAC1がHERSに局在することを明らかにした。また、VPAC1発現の増強がHERSの成長と相関していることも確認した。本講演では、VIPをはじめとする神経ペプチドのHERSの発達および歯根の形成過程における役割について紹介する。

SS8-5

歯周組織発生制御におけるHERSの新規役割

岡 暁子¹⁾、板家 智¹⁾、
吉良 廸子¹⁾、藤原 尚樹²⁾、
原田 英光²⁾

¹⁾福歯大 成育小児歯科

²⁾岩医大 解剖 発生・再生

ヘルトウィッチ上皮鞘 (HERS) は、歯根形成期、歯乳頭と歯小囊という歯原性間葉組織の中で、歯根象牙質形成とセメント質および歯根膜組織形成とをみごとにオーガナイズする歯原性上皮である。これまでのHERSに関する研究は、歯根形成における役割に多くの注目が集まってきた。

我々は、歯根膜に特徴的に存在しているオキシタン線維と呼ばれる微細繊維の束を構成するFibrillin蛋白に着目し、マウス歯の発生における免疫組織学的手法を用いた発現解析を行ってきた。その中で、Fibrillin-1は、断裂したHERSの間の歯根象牙質表面から発現を開始すること、Fibrillin-2は、歯根形成期のHERS周囲を取り囲むように存在していることをとらえ、HERSは、歯根膜の線維形成においても重要な働きを担っているのではないかと考えはじめた。

そこで、マウスHERS由来の細胞株であるHERS01a細胞を用いて、in vitroでの実験を開始した。HERS01a細胞は、血清を含まず、FGF、EGFのみを添加した培地では、fibrillinを発現しない。しかしながら、血清やTGFbetaを添加すると、fibrillinの発現が誘導されることがわかった。つまり、HERSを構成する上皮細胞は、周囲環境によって、その性格を変化させることが示唆された。

さらに、ヒト歯根膜組織でのFibrillin蛋白発現も調べたところ、Fibrillin線維がマラッセ上皮遺残周囲にも密に存在していることがわかった。マラッセ上皮遺残を構成する上皮細胞は、細胞増殖能を有することや、セメント質、歯根膜組織維持に関与していることなどが報告されていることから、我々のヒト歯根膜組織での観察結果は、これらの調節に、Fibrillinが関与している可能性を示唆している。

本シンポジウムでは、HERSが歯根膜形成で果たしている役割や、歯根完成後も歯根膜に一部残存することが歯根膜組織の維持にどのように関わっているのかを、Fibrillin分子に着目した研究をもとに考察したい。

SS9-1

メタ 16S rRNA 遺伝子解析に基づく口腔常在細菌叢の把握
山下 喜久
九大 院歯 口腔予防医学

歯科の2大疾患であるう蝕と歯周病の原因菌が口腔に生息する多種多様な細菌種の中に存在することは過去の多くの研究が示してきた。しかしその一方で、口腔常在細菌叢のバランスの破綻もその誘因として大きな影響を与えていると考えられており、歯科疾患の病態は未だに十分には解き明かされていない。

口腔には700種を数える細菌種が生息し、これらが絶妙なバランスをもって口腔常在細菌叢を構築しており、このような複雑な細菌叢構成種の個人差と各個人の口腔の健康を関連づけて解析することは、従来の科学技術では至難の技であった。しかし、近年、急速に進展してきたマイクロバイーム解析手法は、これまでどうも不可能と考えられていた口腔常在細菌叢の網羅的解析を比較的容易に行うことを可能としている。

そこで我々の研究室では、従来のように特異的感染論に立って歯科疾患の原因となる特定の病原性細菌を追求するのではなく、口腔常在細菌叢の全体構成が口腔の健康にどのように関わっているのかを新しい視点から観察することで、既存の概念に縛られない新しい口腔疾患の病態の解明を目指している。今回は、口腔常在細菌叢のバリエーションが口腔や全身の健康に関連していることを示す我々の最近の研究成果を紹介することで、口腔常在細菌叢解析がこれからの歯科医学において果たす意義とその重要性を考えてみたい。

SS9-2

Prevotella intermedia と誤嚥性肺炎
柳原 克紀
長大 医院歯薬 病態解析・診断

高齢者では、口腔内分泌物の誤嚥による、誤嚥性肺炎を発症することが少なくない。誤嚥性肺炎は、多くの場合で原因菌が不明であり、この理由として、(1)誤嚥性肺炎の原因菌に偏性嫌気性菌が含まれる場合が多く、原因菌の分離は困難であること、(2)様々な口腔内微生物を含む口腔内容物を誤嚥していることが多く、原因病原菌を同定することが困難であること、などがあげられる。

口腔内微生物による主要な疾病である歯周病は、口腔内に及ぼす病的影響に加え、近年糖尿病や早産などの全身疾患との関連性が指摘されている。呼吸器疾患との関連性については、口腔内不衛生が肺炎に病的影響を及ぼすことは様々な研究結果から指摘されているが、歯周病との関連性は明らかではない。そこで今回、我々は歯周病の主要な病原菌である *Prevotella intermedia* および *Fusobacterium nucleatum* に注目して、その生成物が下気道に及ぼす病的影響について検証を行った。

マウスに肺炎球菌のみ感染させた群に比べ、*P. intermedia* 培養液と一緒に感染させると、死亡率が著明に増加し、肺炎球菌性肺炎を重症化させることが示唆された。培養液が肺炎球菌接着に与える機序を *in vitro* で解析したところ、platelet-activating factor receptor (PAFR) を発現させることが明らかになった。以上の結果から、*P. intermedia* の生成物が誤嚥性肺炎の重症化に寄与しているものと考えられた。(IAI 2014)

また、*F. nucleatum* の培養上清が、気道上皮産生細胞の粘液産生能に与える影響を検証した。粘液産生については、気道上皮から分泌される主要な高分子成分であるムチンのコア蛋白である MUC5AC に注目し、検証を行った。*F. nucleatum* 上清は、MUC5AC 蛋白発現を促進的に作用し、誤嚥性肺炎の発症において大きな役割を果たすことが示された。(AAC 2013)

SS9-3

Prevotella intermedia のバイオフィルム形成能と病原性
山中 武志
大歯大 細菌

Prevotella intermedia は血液寒天培地上で黒色色素を産生する偏性嫌気性グラム陰性桿菌で、歯周病原細菌の1つと考えられている。近年の報告では、唾液中には口腔レンサ球菌と同程度の比率で存在し、偏性嫌気性菌ではあるが、清掃した歯面にもっとも早く定着するイニシャルコロナイザーの一員であることも知られている。臨床分離の *P. intermedia* のバイオフィルム形成性について検討した結果、約20%の菌株が菌体外多糖を産生しバイオフィルム形成能を示した。この性状は実験室環境での継代で失われることも多いが、バイオフィルム形成性を維持した *P. intermedia* をマウス鼠径部に接種すると、 10^7 CFU で著明な膿瘍形成を認めた。一方、バイオフィルムを形成しない *P. intermedia* 菌株や *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, W83, 381 株では、明らかな膿瘍形成を誘導するのに 10^9 から 10^{10} CFU を要した。バイオフィルムを形成する *P. intermedia* の培養上清から精製した菌体外多糖はマンノースを主鎖とし、オブソニン化したラテックスビーズと混和したところメッシュワークを呈し、ヒト好中球によるラテックスビーズの貪食を阻害した。以上のことから、バイオフィルム形成能を持つ *P. intermedia* のマウスにおける膿瘍形成誘導能は、これを持たない *P. gingivalis* より100倍程度強いこと、これが *P. intermedia* の産生する菌体外多糖の好中球貪食阻害によることが示唆された。多菌種からなる口腔バイオフィルムにおいて、バイオフィルムマトリックスの供給は一部のレンサ球菌を中心に行われるとの考えが一般的であるが、個々の細菌が独自にマトリックスを産生し、単独でバイオフィルムを形成する可能性も否定できない。この性状は、口腔常在細菌の外毒素や酵素産生性と並んで病原性に強く影響すると考えられるが、実験室環境では消失することが多いため、研究が困難な理由ともなっている。本シンポジウムでは、これらの点も含め口腔バイオフィルムの病原性について考察を試みたいと考えている。

SS9-4

Rothia mucilaginosa の2面性
南部 隆之
大歯大 細菌

近年の解析技術の著しい進歩により、口腔細菌学の主要な研究対象である齲蝕や歯周病に関係する細菌群について多くの知見が蓄積されてきた。その一方で、これまでこれら「主要口腔細菌」の陰に隠れていた「口腔マイナー菌」の中にも、宿主と様々な相互作用を示す興味深い細菌がいくつか潜んでいることが明らかになりつつある。その1つが、アクチノバクテリア門に属する *Rothia mucilaginosa* である。本菌は、他の *Rothia* 属細菌である *R. dentocariosa*, *R. aeria* と同様に口腔や咽頭に常在し、まれに難治性根尖性歯周炎、菌血症、心内膜炎、髄膜炎を引き起こす日和見感染症の病原体として知られている。最近、本菌は緑膿菌と並び嚢胞性線維症 (cystic fibrosis) 患者における肺炎の起原菌であることが報告された。この背景には、恐らく本菌のもつバイオフィルム形成性が関与していると推測されている。また、このような病原菌としての側面と対称的に、硝酸代謝依存的に歯周病原菌を殺菌したり、血圧コントロールに関与するなどの善玉菌としての側面も持ち合わせていることが明らかになってきた。このような本菌の2面性を理解し、その特性を利用することで、口腔および全身の健康に寄与できる可能性が考えられる。

SS9-5

Porphyromonas gingivalis によるタンパクシトルリン化と関節リウマチとの関連

小林 哲夫

新大 病院 歯科総合診療

タンパクシトルリン化は翻訳後修飾の1つであり、酵素 peptidylarginine deiminase (PAD) によりタンパク質のアルギニン残基は脱イミノ化されシトルリンに変換し、タンパク質の極性、高次構造、抗原性は変化すると考えられている。このタンパクシトルリン化は生理的にも見られるが、関節リウマチ (RA) 患者の滑膜内では特に亢進していることが明らかになっている。シトルリン化されたタンパク・ペプチドに反応する自己抗体 (ACPA) は関節内のシトルリン化抗原と免疫複合体を形成して炎症を惹起・悪化させていると考えられている。このように ACPA は RA 病態に密接に関与しており、その1つである抗環状シトルリン化ペプチド抗体は RA 診断において高い特異度を示す指標となっている。最近では、歯周病患者の歯周組織でもシトルリン化タンパクや ACPA の発現上昇が認められ、歯周病の RA への関与が示唆されている。主要な歯周病原細菌の1つである *Porphyromonas gingivalis* は慢性歯周炎の発症・進行に関与するが、原核生物で唯一、PAD と類似した塩基配列でタンパクシトルリン化活性を示す酵素を保有することが明らかになっている。*P. gingivalis* PAD はヒトの fibrinogen や alpha-enolase をシトルリン化する。また、*P. gingivalis* enolase とヒト alpha-enolase の類似配列や交差反応により *P. gingivalis* enolase に対する免疫反応が自己の alpha-enolase に対する抗体反応を誘導する。さらに、RA 患者における *P. gingivalis* PAD に対する血清抗体価は歯周病患者や健常者と比べて高い。以上から、*P. gingivalis* タンパクシトルリン化による RA への関与が考えられる。

SS10-1

Dental plaque as a biofilm and a microbial community—implications for treatment

Philip D. Marsh

Public Health England, Oral Microbiol., Univ. Leeds, UK

Dental plaque is an example of both a biofilm and a microbial community. Biofilms are spatially-organised and highly structured, and are often composed of consortia of interacting micro-organisms, termed microbial communities, the properties of which are more than the sum of the component species. Members of microbial communities display a broader habitat range, a greater metabolic efficiency, and are harder to treat with antimicrobial agents (cross-protection). Microbial gene expression alters markedly in biofilms; organisms communicate by gene transfer and by secretion of diffusible signalling molecules. Cells in biofilms are more tolerant of antimicrobial agents.

The microbial composition of dental plaque is highly diverse, and includes high numbers of obligate anaerobic and (currently) unculturable species. These micro-organisms form part of the human resident microbiota, and live in harmony with the host, and provide essential benefits, including (a) conferring colonisation resistance, (b) modulating the host responses, and (c) contributing to normal host physiological processes (blood pressure regulation, mucus production, etc).

On occasions, this symbiotic relationship is perturbed, and the natural balance between host and microbiota breaks down (dysbiosis), resulting in a shift in the proportions of species in the microbial community, thereby increasing the risk of disease. The microbiota from carious lesions is characterised by increased proportions of acidogenic and acid-tolerating bacteria (including, but not exclusively, mutans streptococci, lactobacilli and bifidobacteria). In contrast, periodontal diseases display an even more diverse microbiota, with increases in obligately anaerobic and proteolytic bacteria, and many unculturable taxa can be detected.

Modelling studies, using defined, mixed culture consortia grown under controlled conditions in a chemostat, with and without surfaces for biofilm

formation, demonstrated unequivocally that it was possible to drive the selection of either a cariogenic or a periodontal microbiota by repeatedly exposing a community of predominantly beneficial resident bacteria to environmental cues that reflect events in disease. Thus, the competitiveness of cariogenic bacteria was favoured by repeated conditions of low pH, but not just by sugar pulses per se, while periodontal-associated organisms were selected by conditions linked to inflammation (e.g. supply of proteins/glycoproteins found in gingival crevicular fluid; a rise in pH). This led to the proposal of an 'ecological plaque hypothesis', and subsequently to an 'extended ecological plaque hypothesis' for caries.

The key feature of an ecological approach to controlling dental disease is that it is not sufficient to merely target interventions at the putative pathogens; the factors that are driving the deleterious shifts in the resident microbiota need to be identified and then removed or controlled. In this way, the selection of bacteria within the biofilm community with damaging traits is prevented while the essential benefits that are provided by the resident oral microbiota are retained.

SS10-2

PCR-dipstick DNA chromatography for multiplex analysis of oral microbiota

Lingyang Tian¹⁾, Takuichi Sato¹⁾, Kousuke Niwa²⁾, Gen Mayanagi¹⁾, Keiko Yamaki³⁾, Mitsuo Kawase²⁾, Anne C.R. Tanner⁴⁾, Nobuhiro Takahashi¹⁾

¹⁾ Div. Oral Ecol. Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.,

²⁾ Tohoku Univ. Grad. Sch. Biomed. Engin.,

³⁾ Div. Periodontol. Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.,

⁴⁾ Dept. Microbiol., The Forsyth Institute, Cambridge, USA

Dipstick DNA biosensor holds great promise in replacing conventional post-PCR analysis for future point-of-care testing. The purpose of the present study was to develop a dipstick DNA chromatography assay for multiplex and semi-quantitative analyses of oral microbiota. Parallel oligonucleotides were immobilized on a dipstick strip forming several test lines for simultaneous detection of target DNA sequences. Streptavidin-coated blue-colored latex microspheres were to generate signal. Target DNA amplicons with an oligonucleotide-tagged 5' terminus and a biotinylated 3' terminus were coupled with latex beads through streptavidin-biotin interaction, and then hybridized with complementary oligonucleotides on the strip. Accumulation of captured latex beads produced blue bands, enabling visual detection with a naked eye. After obtaining informed consent, 16 supragingival plaque samples from healthy tooth surfaces and 16 subgingival plaque samples from periodontal pockets (4-10 mm) were obtained. The samples (1.5 mg each) were qualitatively and semi-quantitatively analyzed by PCR-dipstick DNA chromatography of 5 dental caries-associated bacteria, *Streptococcus mutans* (*Sm*), *Streptococcus sobrinus* (*Ss*), *Scardovia wiggisiae* (*Sw*), *Actinomyces* species (*Ac*) and *Veillonella parvula* (*Vp*). PCR-dipstick DNA chromatography detected quantities as low as 100 pg of each target DNA amplicons, and demonstrated 10- to 1000-fold higher sensitivity than PCR-agarose gel electrophoresis. Semi-quantification of bacteria was performed by obtaining a

series of chromatograms using serial 10-fold dilution of PCR-amplified DNA extracted from dental plaque samples. The turnaround time from sampling to result was less than 3 h. The detection frequencies of *Sm*, *Ss*, *Sw*, *Ac* and *Vp* in supragingival samples by PCR-dipstick DNA chromatography were 94, 6, 25, 100 and 94%, while in subgingival samples were 100, 25, 6, 88 and 19%, respectively. In particular, *Vp* was significantly present in supragingival plaque samples ($P < 0.05$). Semi-quantification provided information on the relative amount of each detected species and revealed that *Ac* and *Vp* predominated over other 3 species (at least 10-fold larger in relative amounts) in supragingival plaque, while *Sm* and *Ac* in subgingival plaque. The PCR-dipstick DNA chromatography was confirmed highly sensitive, specific and rapid for qualitative and semi-quantitative multiplex detection of oral bacteria. This disposable and easy-operating assay may exhibit great potential in analysis of oral microbiota, as well as in point-of-care diagnosis of microbiota-associated diseases. Based on the previous data, our present research focuses on detecting 7 endodontic infection-associated bacteria in samples of supragingival plaque, subgingival plaque and infected root canals. More bacterial species associated with different oral infectious diseases will be included and the sample size will be expanded in future research to assess the reproducibility, universality and accuracy of PCR-dipstick DNA chromatography. Rigorously standardized protocols are aimed to be established for clinical application. This study was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (24390511, 25462945, 25463237, 25670777, 25861785, and 26462869) from the Japan Society for the Promotion of Science.

SS10-3

Porphyromonas gulae 41-kDa 線毛による破骨細胞分化誘導とサイトカイン産生について

佐々木 悠、渡辺 清子、浜田 信城
神歯大 院歯 微生物感染

Porphyromonas gulae is a black-pigmented anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. We have previously reported that *P. gulae* ATCC 51700 had the 41-kDa and the 53-kDa fimbrial proteins. The fimbriae which promote the adherence of the organism to host tissues may play an important role in the pathogenesis of periodontal disease. In this study, we examined the involvement of the 41-kDa fimbrial protein from *P. gulae* in osteoclast differentiation and cytokine production in murine macrophages. The 41-kDa fimbrial protein of *P. gulae* ATCC 51700 was purified by a DEAE Sepharose CL-6B anion exchange column. Bone marrow cells from BALB/c mouse and MC3T3-G2/PA6 cells were cultured in the presence of RANKL, Dexamethasone and $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ with or without co-cultured the 41-kDa fimbrial protein for 7 days. BALB/c mouse peritoneal macrophages were stimulated with the 41-kDa fimbrial protein and the levels of IL- 1β and TNF- α production were determined by ELISA. To estimate osteoclast differentiation, mouse osteoclast precursors were placed on dentine slices in 48-well culture plates with RANKL, Dexamethasone and $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, then cultured for 7 days. After wiping the cells off, the slices were immersed in hematoxylin to stain the resorption pits formed by osteoclasts. Primary cultures of human gingival fibroblast were used in the adherence assay. Bacterial suspensions were added to confluent gingival fibroblast monolayers and incubated at 37°C in 5% CO₂ for 90 min. Gingival fibroblasts were lysed and adhere bacteria were incubated anaerobically at 37°C for 7 days. Adherence capacity of the bacterial strain was calculated from the colony forming units recovered as a percentage of total bacteria bound to human gingival fibroblast. Special pathogen-free 3-week-old male Sprague-Dawley rats were orally infected with *P. gulae* ATCC 51700 and alveolar bone loss was measured. Rats orally infected with *P. gulae* ATCC 51700 exhibited significantly bone loss compared with that of sham-infected rats. Thus, *P.*

gulae is capable of inducing periodontal disease in infected animal. Osteoclast differentiation was significantly enhanced with the treatment of the 41-kDa fimbrial protein in a dose-dependent manner. The levels of IL-1 β and TNF- α induced by the 41-kDa fimbrial protein were similar to 1 μ g/ml *E. coli* LPS. The total area of pits formed on the dentine slices with osteoclasts incubated with the 41-kDa fimbrial protein was significantly greater than that of nonstimulated control. The level of adherence of *P. gulae* was 1.44 \pm 0.21% at a multiplicity of infection of 100. These results suggest that *P. gulae* 41-kDa fimbriae may provoke an inflammatory response in the host and be involved in periodontal tissue breakdown.

SS10-4

プロバイオティクスとプレバイオティクスの融合による新規口腔シンバイオティクスの開発

小島由佳子¹⁾、大島 朋子¹⁾、
Chaminda JAA Seneviratne²⁾、
前田 伸子¹⁾

¹⁾鶴見大 院歯 口腔微生物

²⁾Dept. Oral Sci, Natl. Univ. Singapore

Prebiotics and probiotics are well-known for their health benefits on human gastrointestinal tract. Recently, “synbiotics”, a new concept, with fusion of prebiotics and probiotics has been shown to promote intestinal health in clinical studies. However, hitherto mechanism of action of synbiotics, particularly on oral health has not been properly investigated. In the present study, we attempted to discover synbiotics for oral health and subsequently examined their mechanism of action.

Prebiotic screening was performed by means of sugar assimilation test using 12 saccharides such as glucose, galactose, xylose, xylitol, cellobiose, sucrose, maltose, lactose, trehalose, arabinose, melezitose and raffinose. Among 12 saccharides, *C. albicans* did not assimilate eight saccharides, including xylose, xylitol and arabinose, which were not assimilated by *S. mutans*. All lactobacilli strains could grow with any of the 12 saccharides. For probiotic screening, in total, 40 strains of lactobacilli were used *viz.* seven reference strains of lactobacilli, 22 strains isolated from human oral cavity and 14 strains isolated from dairy foods. Following four tests were carried out with oral pathogenic microorganisms: *Candida albicans* ATCC 18804, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. First, growth inhibitory and hyphal inhibitory assays were conducted against *C. albicans* using lactobacilli in co-culture or culture supernatant (CS) in terms of optical density or CFU counting. In the co-culture test, 16 lactobacilli strains inhibited the growth of *C. albicans*. Seven out of these 16 strains produced CS, which could inhibit the growth of *C. albicans*. CS of at least two strains exhibited inhibitory effect on hypha formation. Subsequently, further tests were conducted on selected seven lactobacilli strains. A growth inhibitory test was performed against *P. gingivalis* with lactobacilli CS by disc diffusion

method. The result showed six strains produced growth inhibitory zones on *P. gingivalis* growth. Next the inhibitory test of lactobacilli CS was conducted on insoluble glucan production in *S. mutans* biofilm with phenol-sulfate staining. Then, five strains showed inhibitory effect of glucan production of *S. mutans*.

Taken together, the best candidates for prebiotics were arabinose, xylose and xylitol, and five lactobacilli strains isolated from human oral cavity were the best probiotic candidates. These three saccharides not only support the growth of lactobacilli as prebiotics, but also suppress the growth of oral pathogens. Lactobacilli strains isolated from dairy foods did not have a strong effect on oral microbiota, although they may carry the health benefit on intestinal microbiota. Interestingly, some probiotic isolates and their secretory products found to suppress *C. albicans* biofilm and hyphal growth, which are major virulence attributes of this fungal pathogen. Hence, present study demonstrated a panel of strong candidates to be developed as oral synbiotics in future, which will bring much needed oral health benefits to the community.

SS10-5

Porphyromonas gingivalis の外膜ヴェシクルは、エポキシ磁性ビーズと種特異的に非共有結合する

中尾 龍馬、泉福 英信

国立感染研 細菌 1

Outer membrane vesicles (OMVs) of *Porphyromonas gingivalis* are regarded as an offensive weapon of the bacterium, leading to tissue deterioration in periodontal disease. Therefore, isolation of highly purified OMVs is indispensable to better understand the pathophysiological role of OMVs in the progression of periodontitis. OMVs are generally isolated by a conventional method based on ultracentrifugation of the bacterial culture supernatant. However, the resulting OMVs are often contaminated with co-precipitating bacterial appendages sheared from the live bacteria. Here, we report an intriguing property of *P. gingivalis* OMVs—their ability to bind superparamagnetic beads coated with epoxy groups (SB-Epoxy). Analysis of fractions collected during the purification revealed that all OMVs of five tested *P. gingivalis* strains bound to SB-Epoxy. In contrast, free fimbriae in the crude OMV preparation did not bind to the SB-Epoxy. The SB-Epoxy-bound OMVs were easily dissociated from the SB-Epoxy using a mild denaturation buffer. These results suggest that the surface chemistry conferred by epoxy on the beads is responsible for the binding, which is mediated by noncovalent bonds. Both the structural integrity and purity of the isolated OMVs were confirmed by electron microscopy. The isolated OMVs also caused cell detachment from culture dishes at a physiologically relevant concentration. Assays of competitive binding between the SB-Epoxy and mixtures of vesicles from five bacterial species demonstrated that only *P. gingivalis* OMVs could be selectively eliminated from the mixtures. We suggest that this novel approach enables efficient purification and selective elimination of *P. gingivalis* OMVs.

SS11-1

味蕾から分泌される消化管ホルモンは味質特異的な情報伝達に関与する

高井 信吾¹⁾、安松 啓子²⁾、
岩田 周介¹⁾、井上真由子¹⁾、
吉田 竜介¹⁾、重村 憲徳¹⁾、
Daniel J. Drucker³⁾、Robert F. Margolskee⁴⁾、
二ノ宮裕三^{1,2)}

¹⁾九大 院歯 口腔機能解析

²⁾九大 味覚嗅覚セ 感覚生理

³⁾トロント大 医 マウントサイナイ
病院

⁴⁾モネル化学感覚セ

1量を測定した結果、甘味強度依存的に GLP-1 濃度は上昇した。また、GLP-1 を静脈内投与すると、鼓索神経中の甘味特異的に応答する単一神経線維において一過性の活動電位発生頻度の上昇が見られた。一方、他の味質に応答する神経線維ではこの活動性の上昇は確認出来なかった。以上の結果は、甘味受容細胞から分泌される GLP-1 は、マウスの甘味特異的な情報伝達に関与している可能性が高いことを示唆する。

近年、味細胞において様々な消化管関連ホルモンの発現が報告されている。興味深いことに、これらのホルモンは特定の味刺激により分泌されることが報告されており、味覚の情報伝達に関与している可能性が浮上しているが、そのメカニズムは全く不明であり、その解明は急務となっている。

我々は消化管ホルモンの一つである GLP-1 に着目し、その味覚情報伝達への関与について検討した。GLP-1 は腸管内分泌細胞から分泌され、膵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おり、その分泌のメカニズムには味細胞と同じ甘味受容体の関与が示唆されている。本研究では、まず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 の発現を探索した。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。また、GLP-1 のレセプターは味蕾内の神経繊維、および舌前方部味蕾を支配する鼓索神経が入力する膝神経節の一部のニューロンで発現が確認出来た。次に、GLP-1 レセプター KO マウスの鼓索神経の甘味、苦味、酸味、塩味、うま味の各種味物質に対する応答を記録し、WT マウスと比較した。その結果、KO マウスでは甘味刺激に対する応答のみが WT マウスと比べて減弱していることがわかった。行動実験においても、この KO マウスは、WT マウスと比べて甘味特異的に嗜好性が減少していることが確認された。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、1分間の味刺激に対する細胞の応答を記録後、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、苦味に応答した細胞のそれよりも有意に高値を示した。甘味刺激に応じ味蕾全体から分泌される GLP-

SS11-2

島皮質における化学感覚の統合機構

溝口 尚子¹⁾、小林 真之²⁾、
村本 和世¹⁾

¹⁾明海大 歯 生理、²⁾日大 歯 薬理

基本味の構成が同じ物質であっても異なる香りが負荷されたものを口に含んだ場合、それぞれ「異なる味」と判断することがある。このように味覚の情報処理には、嗅覚系からの入力が高く関与することが知られている。従来、味覚と嗅覚という2つの化学感覚の統合部位は二次感覚野であると考えられてきたが、一次感覚野である島皮質に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。つまり、化学感覚の統合の一部は島皮質で行われていると推定されるが、その統合機構については未だ不明な点が多い。

そこで、味覚・嗅覚の投射経路を電気刺激した場合に、それぞれの経路の単独または同時刺激によって島皮質における応答が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。

舌前方 2/3 から味情報を中枢に伝える鼓索神経を電気刺激すると島皮質およびその周辺皮質に興奮伝播が認められた。嗅覚情報を梨状皮質 (PC) に伝える神経線維が走行する外側嗅索 (LOT) を電気刺激すると梨状皮質 (PC) および無顆粒島皮質 (AI) に応答が認められた。すなわち鼓索神経と LOT 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。しかし、同一個体で鼓索神経と LOT を同時に電気刺激すると、AI において応答変化率に有為な増加が認められた。

一次味覚野直前の中継核である視床後内側腹側核 (VPMpc) および嗅球 (OB) 腹側表層に電気刺激を行った場合も同じ傾向を示した。

これらの結果から、味覚と嗅覚の統合の一部は AI で行われている可能性が示された。

SS11-3

エストロゲンが痛みの制御に与える影響

田代 晃正

防衛医大 生理

顎顔面頸部における骨格筋系の様々な原因不明の慢性痛は、若年女性に好発し、著名な性差を有する。さらに、女性における慢性痛では、その症状や侵害刺激に対する感受性が性周期によって変動するという報告や、閉経後のホルモントリートメントにより痛みが発症するなどの報告もある。このことは、女性ホルモン (エストロゲン; E2) が、疼痛閾値の変化に重要な役割をはたしており、慢性痛の危険因子となっていることを示唆している。また、末梢組織での病変が観られない慢性痛は中枢神経の感作、機能不全という概念が多くの臨床・基礎研究により示されている。発表者らは近年、顎関節より入力を受ける三叉神経脊髄路核尾側亜核と頸髄移行部 (Vc/C₁₋₂) に存在する侵害受容ニューロン (TMJ ニューロン) の興奮性が、E2 により増大することを明らかにし、さらにそのメカニズムについて研究を進めている。本発表では、E2 による疼痛抑制機構の変調について報告する。

まず、発表者らはオピオイドにより活性化する疼痛制御機構に着目し、E2 による影響を解析した。その結果、モルヒネによる TMJ ニューロンへの抑制効果は、E2 により減弱することが明らかとなり、さらに E2 による上位中枢でのオピオイド感受性の変化が、モルヒネによる鎮痛効果減弱の要因であることが示された。次いで、発表者らは Vc/C₁₋₂ における TMJ ニューロンに対する GABA による抑制効果に着目し、E2 による影響を解析した。その結果、TMJ ニューロンへの GABA による抑制効果は E2 により減弱されることが明らかとなり、さらにこの GABA 機能の低下には、上位中枢における疼痛制御機構の変調が寄与している可能性を見いだした。これらの結果より、E2 による痛覚過敏発症には上位中枢における疼痛制御機構の変調と、それに伴う Vc/C₁₋₂ レベルでの GABA 機能の低下が要因となっていることが推察された。

E2 による痛覚の抑制機構の減弱に注目したこれらの研究は、女性に好発する顎顔面部の痛みのメカニズムを解明し、これまで治療困難であった原因不明の慢性痛を緩和する新たなターゲットになる可能性を示唆するものである。

SS11-4

情動ストレスが顎関節痛を増大させる
脳メカニズム

岡本圭一郎, David A. Bereiter
ミネソタ大 歯 診断生物科学

Temporomandibular joint Disorder (TMD) は歯科臨床現場でしばしば遭遇する病態であり顎顔面領域の慢性疼痛を主症状とする。その特徴的臨床所見は疼痛メカニズムが脳に存在する事を示唆する。我々は顎関節 (TMJ) 疼痛モデルラットを用い TMJ 痛の脳内機構を三叉神経脊髄路核尾側亜核 (VcC2) を対象とし TMJ 応答性 VcC2 ニューロンの性質を検索してきた。例えば TMJ 侵害受容はメスラットの月経周期やエストロゲン (E2) レベルの違いによって変化することを示した。RDC/TMD は診断の軸として医学生物学的因子と心理学的因子の評価を並列させている。この事実は TMD 痛のメカニズムの検索では心理的因子を無視できない事を示唆する。一方、臨床研究では TMD 痛のリスク因子として性差や E2 に加えストレスやそれに伴う心理的因子を挙げている。そこで我々は TMJ 痛モデルメスラットを用い心理的因子による TMD 痛への影響を検索した。卵巣摘出メスラットに E2 処置 (HE, 高濃度; LE, 低濃度) を行った。ストレス状態は 3 日間の繰り返し強制水泳で作成、翌日全身麻酔下で以下の実験を行った。TMJ 侵害刺激情報は VcC2 部の浅層と深層に入力される。よってそれぞれの部位 (浅層 vs 深層) から神経興奮を細胞外記録した。さらに TMJ 刺激による咬筋活動を記録し対照群と比較した。結果、TMJ 刺激による VcC2 の興奮性は E2 濃度非依存性に深層で増強した。浅層ではストレス非感受性だったが HE では LE と比べ刺激応答は上昇した。この結果は TMJ 侵害情報を code する VcC2 では TMJ 応答性細胞の場所依存性に異なる役割を持つ可能性を示唆する。同様にストレス状態で TMJ 刺激による咬筋活動はストレス群では E2 濃度非依存性に筋活動を増強した。この事実はメスラットでは筋活動を指標とする疼痛関連応答が VcC2 部深層での神経活動の変化とマッチし同部での評価が TMJ 侵害受容機構において重要である事を意味する。上記結果は脳機能の変調が TMD 痛に重要な役割を担うという従来の仮説を支持する。そして VcC2 部が TMJ 痛を受容する最初の脳組織であり同時に心理的影響 (ストレス) を受ける部位であるという事実は歯科医が TMD 痛の診断治療を遂行する上で少なからず脳機能を意識する必要性を示唆する事になる。

SS12-1

外科的刺激後のラット顎下腺筋上皮細胞の形態変化

川邊 好弘^{1,2)}、溝部 健一^{1,2)}、
天野 修²⁾

¹⁾明海大 歯 オーラル・リハビリ

²⁾明海大 歯 解剖

筋上皮細胞は主に外分泌腺に存在し、細胞膜と基底膜の間に見られ、収縮することにより外分泌腺における分泌を補助すると考えられている。腺房を籠のように取り囲んでいることから basket cell の名称もある。唾液腺では、筋上皮細胞は腺房から介在部にかけて存在し、腺房では、細胞体からまず 4~5 本の 1 次突起があり、その突起から 2~3 回分岐し、腺房を球に例えると、半球程度を包みこんでいる。介在部では、突起の数も少なく、管の長軸方向に配列している。

一般的に器官の外科的摘出を行うと、残存部や非手術側 (対照側) の組織では、代償性肥大が生じて減少した組織・器官の機能を補償するように機能的な亢進が生じる。本研究では、ラットの片側顎下腺の半分または全部摘出手術を行い、外科的刺激後の残存・非手術側組織の分泌機能の亢進が生じたと考えられる時期の筋上皮細胞の形態変化を調べ、唾液分泌における役割について検討を行った。筋上皮細胞は抗 α アクチン抗体を用いた免疫組織化学を用いて検出し、幼若期のラット顎下腺や同時期の舌下腺と耳下腺における筋上皮細胞の形態を比較し、分泌機能との関連を考察した。

成長や摘出手術による外科的刺激により、筋上皮細胞の突起の数、太さ、長さ、分岐が増加することが分かった。しかし、筋上皮細胞数自体には大きな変化は無く、主に細胞のサイズと形態の複雑さが変化することがわかった。唾液腺では、腺によって構成する腺房細胞の種類や唾液の内容が異なるが、以下のことが強く示唆された:

- 1) 漿液性の強い耳下腺腺房では分泌に筋上皮細胞を必要とせず、介在部導管での唾液輸送に関与していること。
- 2) 混合性の唾液を分泌する顎下腺や舌下腺では、腺房部に発達した筋上皮細胞が認められることから、腺房での唾液分泌にも重要であること。
- 3) 分泌機能が向上すると筋上皮細胞の突起が発達し複雑化すること。

以上の結果から、ラット唾液腺筋上皮細胞は混合性・漿液性唾液の腺房での分泌に重要で、分泌機能と連動して突起の形態を変化させることがわかった。

SS12-2

胎仔マウス唾液腺上皮の発生を制御する組織間マイクロ RNA 輸送
林 徹^{1,2)}、柏俣 正典¹⁾、
Matthew P. Hoffman²⁾
¹⁾朝日大 歯 歯科薬理、
²⁾Laboratory of Cell and Develop. Biol.,
NIDCR, NIH

ノンコーディング RNA のうち、21-23 塩基からなる内在性の小分子 RNA、マイクロ RNA が注目を集めている。2014 年現在、マイクロ RNA はヒトで 2578 種類、マウスで 1908 種類、線虫で 368 種類見つかっている (miRBase release 20)。マイクロ RNA はメッセンジャー RNA に相補的に結合することで、その発現および翻訳を抑制する。このとき、マイクロ RNA は標的遺伝子と部分相補的な二本鎖を形成するため、一種類のマイクロ RNA が数百の遺伝子を標的にしうる。このため、マイクロ RNA はあたかも転写因子のように細胞固有の遺伝子群の発現を規定し、その形態・形質に大きなインパクトをもたらすことが分かっている。

近年、様々な細胞がマイクロ RNA 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。取り込まれたマイクロ RNA は「受け手」の細胞の遺伝子発現を調節していたため、マイクロ RNA 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。しかしながら組織間や器官間など、より高次の生体構造におけるマイクロ RNA 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。

胎生期のマウス唾液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いる。我々はマイクロ RNA 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、胎仔マウス唾液腺の上皮間葉間でマイクロ RNA が移動していることが示唆された。輸送されたマイクロ RNA について、マイクロアレイおよびレポーターアッセイによる解析から、現在までに少なくとも一種類の標的遺伝子を同定した。さらに輸送されたマイクロ RNA により、唾液腺の形態形成および上皮の分化が調節されていることが示唆された。

SS12-3

ラット耳下腺小葉内導管における細胞内 pH とイオン電流測定に基づく重炭酸イオン分泌機構の解析
廣野 力、上野 可織、北川 道憲、
杉田 誠、柴 芳樹
広大院医歯薬保 口腔生理

我々は、これまで、グラミシジン穿孔パッチクランプ法を用いたイオン電流測定の結果より、ラット耳下腺小葉内導管からの重炭酸イオン分泌には、Ca²⁺系と cAMP 系のどちらの刺激でも、Cl⁻チャネル、炭酸脱水酵素 (CA)、および、Na⁺-H⁺交換体 (NHE) の活性が必要であることを示してきた。今回は、それぞれの刺激中に導管細胞内 pH (pH_i) を制御する主要な要素を特定し、重炭酸イオン分泌制御機構の更なる解明を目指した。pH 感受性蛍光色素 BCECF (AM 体) を負荷したラット耳下腺分離小葉内導管で、主に Cl⁻チャネル、CA、および、NHE に対する阻害剤が pH_i に及ぼす影響を、カルバコール (Ca²⁺系) とフォルスコリン+IBMX (cAMP 系) 両刺激の場合で比較した。得られた結果は、カルバコール刺激では、イオンチャネルの活性化に加えて、CA 活性化よりは、むしろ、少なくとも部分的には Ca²⁺-カルモジュリンを介した NHE の強い活性化が起り、pH_i が高く保たれることで、細胞内重炭酸イオン濃度が増加し、重炭酸イオン分泌が促進されることを示唆するものであった。一方、フォルスコリン+IBMX 刺激では、カルバコール刺激の場合と比較して、NHE よりはむしろ CA が強く活性化され、H⁺ 産生が増加し pH_i は低下するが、重炭酸イオン産生も促進され、これが分泌に寄与していることが推定された。なお、耳下腺導管細胞で重炭酸イオンの分泌経路となる Cl⁻チャネルは cAMP 系刺激では CFTR Cl⁻チャネルが主であるが、Ca²⁺系刺激では不明であり、この点に関していくつかの可能性を議論する。

SS12-4

生きた動物における顎下腺 Ca^{2+} 応答のリアルタイムイメージングと唾液分泌の同時測定

根津 顕弘¹⁾、森田 貴雄¹⁾、

東城 庸介²⁾、谷村 明彦¹⁾

¹⁾北医大 歯 薬理

²⁾北医大 歯 生物物理

唾液腺における水・電解質分泌は、腺房細胞の受容体刺激を介した Ca^{2+} 応答によって調節されると考えられている。これまでの単離細胞を使った *in vitro* 系の解析により、腺房細胞で Ca^{2+} ウェーブや Ca^{2+} オシレーションなどの特徴的な時間・空間的变化が起こることが明らかにされている。しかし生体での唾液分泌は、腺房細胞の Ca^{2+} 応答に加え、血流動態が関与する可能性が考えられることから、単離細胞での解析のみでは唾液分泌機構を解明するのは困難である。

近年、蛍光 Ca^{2+} バイオセンサーとイメージング技術の進歩により、生きた動物の臓器における Ca^{2+} 応答をリアルタイムで可視化することが可能になった。我々は、ラットの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、非侵襲的に唾液腺細胞に蛍光タンパク質を発現させる実験系を確立した。これらの手法を用いて、顎下腺に超高感度 Ca^{2+} センサーである YC-Nano50 を発現させ、薬物や神経刺激による生体内 Ca^{2+} イメージングに成功した。マクロズーム蛍光顕微鏡による腺全体の Ca^{2+} 応答と微小圧力センサーを使った分泌の同時測定、あるいは二次元レーザー血流計を使った血流動態の同時解析により、唾液腺の Ca^{2+} 応答と唾液分泌や血流動態との関係を直接的に解析した。この方法により、アセチルコリン (ACh) の持続投与で腺全体に Ca^{2+} 応答が惹起され、さらに腺全体で同期した Ca^{2+} オシレーションが観察された。 Ca^{2+} 応答と唾液分泌の経時変化を比較すると、低濃度の ACh では Ca^{2+} 応答に 60 秒ほど遅れて分泌が観察された。また血流動態との同時測定により、ACh 投与によって起こる Ca^{2+} 応答とともに、一過性あるいは周期的な血流増加が観察され、この血流動態は唾液分泌速度とも同期していた。さらに、舌神経刺激によって反射的に副交感神経を活性化させると、顎下腺の限られた部位に一過性の Ca^{2+} 応答が惹起された。舌神経刺激による唾液分泌は、ACh 投与時のようなタイムラグは無く、 Ca^{2+} 応答とほぼ同時に観察された。これらの解析結果を踏まえ、生体内での唾液腺の Ca^{2+} 応答と唾液分泌制御機構について考察したい。

SS12-5

メタボロームを用いた唾液から疾患マーカーの探索

杉本 昌弘

慶應大 先端生命科学研

膵臓癌は 5 年生存率が 5% 以下と他の癌腫と比べても極めて低い。これは、初期に自覚症状がほとんどないために、発見時に既に悪性腫瘍に進行していたり、周囲臓器への転移によって局所的な外科手術では治療できない状態で発見されることが多いことなどが原因である。このため、膵臓癌は、早期発見と早期治療の重要性が他の癌腫と比べても極めて高く、勘弁で高頻度な検査を可能とする技術の開発が必要である。そこで、非侵襲、低コスト、安全な採取が可能な唾液を用いて膵臓癌を検出するマーカーの探索を行った。国内の大学病院(合計 4 施設)にて 200 症例程度の膵癌・慢性膵炎・膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) と健常者の唾液を収集し、唾液中の低分子を網羅的に定量するメタボローム解析を実施した。ステージ I と II は症例数が少なく、評価できていないが、手術適応が可能なステージ III 以降で高い値を示す物質を発見した。本発表ではこれらの研究成果を報告する。

SS13-1

中枢神経組織における FIB-SEM と共焦点レーザー顕微鏡の Correlative 3 次元再構築法

藺村 貴弘¹⁾、古田 貴寛²⁾、
中谷 郁子³⁾、山本 洋³⁾、
本間 智¹⁾、金子 武嗣²⁾

¹⁾金沢医大 医 解剖 2

²⁾京大 院 医 高次脳形態

³⁾日立ハイテクサイエンス 解析技術

2004 年に発表されたシリアルブロックフェイス走査電子顕微鏡 (SBF-SEM) イメージング法は、走査電子顕微鏡 (SEM) の内部に高精度なウルトラミクロトームを内蔵させ、試料をダイヤモンドナイフで切削してその試料表面を SEM で観察する行程を連続的に自動で行う方法である。この手法は、通常のウルトラミクロトームによる連続超薄切標本の透過電子顕微鏡 (TEM) 観察に極めて近い 3 次元再構築を、はるかに正確にまた短時間で完成させることができる新たなテクニックとして、近年、中枢神経系などで応用され始めている。SBF-SEM のように、これまで TEM で観察していた試料を、SEM により TEM 同等の像として連続的に取得して 3 次元再構築する方法には、この SBF-SEM 法の他に、アレトモグラフィー法、自動切片回収機 (ATUM) そして、集束イオンビーム-走査電子顕微鏡 (FIB-SEM) トモグラフィー法があり、それぞれの長所を活かし、目的や試料条件によって使い分けられている。

この中で、FIB-SEM トモグラフィー法は、ガリウムイオンを電界で加速し細く絞った「集束イオンビーム」によって試料表面を切削するため、XY 方向の観察領域の広さに制限があるものの、Z 方向に非常に高い空間解像度を有する連続画像を得ることができるのが特徴である。さらに、集束イオンビームによって、硬組織もさらにはチタン等の金属も、またそれら硬組織と金属とが混在する標本でも切削が可能なることから、硬組織や金属を対象とした研究テーマの多い歯科領域の基礎研究において、将来的に大きな可能性を秘めている。

本講演では、FIB-SEM を含めたこれらの SEM 連続断面観察の各手法の特徴をそれぞれ紹介した上で、FIB-SEM が得意とする観察可能領域が、現在、生命科学研究の分野で広く普及している共焦点レーザー顕微鏡による 3 次元再構築像のスケールとほぼ同じ「メゾスケール」であることを利用し、中枢神経組織の二重免疫染色標本において、共焦点レーザー顕微鏡と FIB-SEM による連続画像を取得して、同一試料の全く同じ観察領域でそれぞれ 3 次元再構築を行う手法の一例をお示しする。

SS13-2

歯根膜における歯根膜線維の走行と細胞性ネットワークの 3 次元超微形態解析

平嶋 伸悟¹⁾²⁾、太田 啓介¹⁾、
金澤知之進¹⁾、都合亜記暢³⁾、
楠川 仁悟²⁾、中村桂一郎¹⁾

¹⁾久留米大 医 顕微解剖

²⁾久留米大 医 歯口セ

³⁾久留米大 医 電顕室

歯根膜線維は通常の咬合力では恒常性を維持しているが、矯正力などの力学的負荷にตอบสนองし、改変が行われる。それと同時に歯槽骨の吸収と添加にも関わりとされている。このような歯根膜の組織構造/生理機能の理解を更に深めていくためには、歯牙-歯槽骨間に渡る長い歯根膜線維とそれらを構築する線維芽細胞を同時に観察する事が重要である。

歯根膜線維の配列や細胞の形態を正確に把握するには高い空間分解能で 3 次元的に解析する必要があるが、一断面での光学顕微鏡観察 (HE 染色等) では歯根膜線維に沿って細胞の核が配列していることは観察できるものの、分解能の限界から細い突起まで同定する事は困難である。一方で、電子顕微鏡レベルの形態観察では、細胞小器官まで観察できるものの細胞全体の 3 次元形態を把握するのは困難であった。

近年、SEM を用いた連続断面観察法によって、細胞から組織レベルの検体を広範囲かつ高い空間分解能で 3 次元的に解析する手法が開発されてきている。その手法の 1 つに収束イオンビーム (FIB; Focused Ion Beam) と SEM を用いた FIB/SEM トモグラフィー法がある。この方法は従来の TEM 連続切片法よりも高い空間分解能で広範囲を観察することができる画期的な解析法である。この手法では、FIB による試料表面の平滑切削と SEM による試料表面の組成画像取得という操作を交互に繰り返す事で、Z 軸方向の連続切削画像を得る事ができる。また、得られた連続切削画像データから試料の立体構造を再構築する事も可能で、主に神経解剖の分野で応用されている。

しかしながら、骨や歯等の硬組織領域において、このような解析は重要と考えられるものの、その組織の特殊性から未だこの様な解析例は少ない。現在、我々はマウス歯根膜を含む下顎骨標本を *en bloc* 染色後、FIB/SEM 観察し、歯根膜線維と細胞の超微形態を解析している。結果、従来の方法では観察が困難であった歯根膜線維の走行と細胞の方向性を 3 次元的に観察することができ、更には隣接す

る細胞同士が連結しネットワークを形成していることも確認できた。

今後、歯科領域における3次元超微形態解析に対する応用例の1つとしてのFIB/SEMトモグラフィ法について概説する。

SS13-3

直交配置型FIB-SEMによる骨の3次元観察

上岡 寛

岡大 院医歯薬 歯科矯正

【背景と目的】骨は力学的な強度と移動のために必要な軽さを兼ね備えている。どのようにして、このような構造を獲得したかを検討するためには、骨の形成・改造を担っている細胞とそれらが構成した骨微細構造を同時に解析することが必要となってくる。しかしながら、細胞とそのネットワークはマイクロ単位の大きさであるが、骨微細構造を形成しているコラーゲン線維はナノ単位の微細構造であり、これらを同時に、観察することは非常に困難であった。一方、原らによって近年開発された直交配置型FIB-SEMは、一度の撮影で3次元情報をマルチスケールで捉えることが可能である。そこで、本研究では、直交配置型FIB-SEMを用いて骨中の細胞とコラーゲン線維の3次元ネットワークを同一部位から3次元再構築した。

【方法】ニワトリ胚の頭蓋骨を試料とした。試料は固定後、還元型オスミウム溶液、チオカルボヒドライド溶液、オスミウム水溶液、酢酸イッテルビウム溶液、アスパラギン酸鉛溶液に浸漬した。その後脱水し、エポキシ樹脂を用いて包埋した。重合後、4×4×1 mm幅に研磨した。観察には、直交配置型FIB-SEM(SII ナノテク製,SMF-1000)を用いた。典型的には、SEM加速電圧1 kV、インレンズ二次電子検出器で観察し、25 μm四方の領域を70 nmのスライスピッチで360枚(25 μm厚)観察し、3次元像を再構築した。

【結果】骨表面の細胞層から骨深部石灰化層までを含む範囲を観察することができた。また、同時に骨芽細胞と骨基質の境界を含む範囲も詳細に観察できた。表層から、扁平な細胞層、骨芽細胞層、幼弱骨細胞層、成熟骨細胞層が深部にかけて観察された。さらに、骨芽細胞と骨基質の境界では、骨芽細胞から産生されているコラーゲン細線維が観察され、3次元立体構築することによって、コラーゲン細線維が平行にしかも束状に放出されている像が観察された。

【考察】直交配置型FIB-SEMを用いて、骨系細胞及びコラーゲン線維の高詳細かつ3次元観察を行うことができた。

【謝辞】本研究は文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業による成果であり、物質材料研究機構・主幹研究員・原 徹博士との共同研究である。科学研究費助事業基盤研究(B)(25293419)の支援により実施した。

SS13-4

未脱灰象牙質における超微細形態の3次元再構築法
三浦 治郎
阪大 院歯 口腔総合診療

これまで石灰化硬組織の顕微鏡観察には脱灰処理を行い観察する手法が用いられてきた。しかし、脱灰処理により構造的なアーティファクトが生じることから様々な問題が生じ、未脱灰での観察が必要な場合も多く見られる。また現在、生体組織の三次元情報を得る手法は多数存在するが、細胞内小器官や基質蛋白質といったナノオーダーの構造を三次元で得る手法は現在数種類に限られる。それらの中でも電子線トモグラフィー法と集束イオンビーム観察加工法 (FIB/SEM 法) が、未脱灰の石灰化硬組織観察に応用できる現段階で最も現実的な手法である。電子線トモグラフィー法は、透過型電子顕微鏡を用いて傾斜撮像を行ったのち基準マーカを用いて再構成像を取得する方法であり、超高圧電子顕微鏡との組み合わせにより一般的な生物試料で厚さ 10 μm 程度の厚い切片でもナノスケールの分解能でトモグラフィー観察可能である。一方、SSSEM (Serial-Slice SEM) 法の一種である FIB/SEM 法は、集束イオンビームにより試料表面を切削し BFI (Block Face Imaging) により連続的に反射電子組成像を取得することで試料の大きさに制限されずに三次元再構成を行うことが可能な手法である。どちらの手法も未脱灰試料観察に応用可能であるが、それぞれ試料作成法、観察条件や得られる情報に特徴があり、それらの理解した上で使い分ける必要がある。トモグラフィー法においては、画像の分解能に優れるため象牙細管周囲のコラーゲン線維の観察や組成比率などを求めることが出来るが、コンプレッションによる割れといった試料損傷が起りやすいといった欠点がある。一方、FIB/SEM 法においてはイオンビームによる面出しの際に切削ムラが起りやすいことや、電子ビームにスパッタされ試料表面におけるアモルファス層を形成しやすいという欠点もあるが、対象エリアが電子線トモグラフィー法よりも広い領域に設定できるため、低倍率における広範囲な三次元情報を取得することが可能となる。どちらの手法も従来の光学顕微鏡トモグラフィーを遥かにしのぐ分解能での三次元立体構築が可能であり、使い分けることにより硬組織の超微細形態における三次元構造分析に応用することが可能である。本シンポジウムでは、本研究室で行っているヒト象牙質の加齢変化および構成する基質蛋白質の観察に関して、それぞれの手法での未脱灰超微細構造の三次元構築手法と得られた情報および手法ごとの特徴を交えながら紹介させていただきたい。

SS13-5

象牙質接着界面の3次元観察
長岡 紀幸
岡大 歯 先端領域研究セ

【目的】 10MDP (10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate) 含有歯質接着剤による接着界面には、脱灰されたカルシウム (Ca) と 10MDP が自己組織化した 10MDP-Ca 塩が観察される (Y. Yoshida et al., *J Dent Res.*, **91** (4), 2012)。

集束イオンビーム加工装置と走査電子顕微鏡を複合した装置 (FIB-SEM) は、FIB によるセクションングと SEM による観察を繰り返すことで、シリアルセクションングによる 3 次元再構築が可能である。この方法を歯質接着界面に応用することで、10MDP-Ca 塩の 3 次元形状観察を試みた。

【材料と方法】 歯質接着剤は 10MDP を含有する、クリアフィル メガボンド (クラレノリタケデンタル) を用いた。#600 の耐水研磨紙で研磨した象牙質に、メーカーの指示に従い歯質接着処理を行い、コンポジットレジン (クリアフィル プロテクトライナー F: クラレノリタケデンタル) を薄く形成させた。37℃ の水に 1 日浸漬後、一般的な TEM 試料作製手法で、エポキシ包埋し、FIB-SEM 観察試料とした。FIB-SEM は、FIB と SEM が直交に配置された装置 (SMF-1000, SII ナノテクノロジー) を用いた (T. Hara et al., *J Alloy Compd.*, **577**, 2013)。

【結果と考察】 FIB 加工は 15 nm ピッチでセクションングし、500 枚の SEM 像を撮影した。SEM 像をスタックさせ、3 次元データを得た。FIB 加工した歯質接着界面を SEM 観察した像は、健全象牙質、樹脂含浸層、接着剤層、自己組織化した 10MDP-Ca 塩が観察された。10MDP-Ca 塩は樹脂含浸層でも形成されており、象牙質の接着界面から接着層側へと、10MDP-Ca 塩が広がるように形成されていた。モノマー Ca 塩は、板状様であることが示唆された。この結果から、10MDP による象牙質の脱灰と同時に 10MDP-Ca 塩の自己組織化が開始していると示唆された。

【謝辞】 本研究は文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業による成果であり、物質材料研究機構・主幹研究員・原 徹博士との共同研究です。科学研究費助成事業、基盤 (C) (24592914) の支援の元、実施しました。

SS14-1

RANKL 結合ペプチドの骨吸収抑制作用と骨形成促進作用

青木 和広¹⁾、菅森 泰隆¹⁾、
加藤 玄樹¹⁾、上原 智己²⁾、
新井 祐貴³⁾、Md. Zahirul Haq Bhyuan¹⁾、
Neil Alles¹⁾、Masud Khan¹⁾、
高橋 真理子¹⁾、田村 幸彦¹⁾、
若林 則幸³⁾、大谷 啓一^{1,4)}

¹⁾医科歯科大 院医歯 硬組織薬理

²⁾医科歯科大 院医歯 小児歯科

³⁾医科歯科大 院医歯 部分床義歯補綴

⁴⁾放送大

我々は腫瘍壊死因子 TNF- α 1 型受容体のリガンド認識部位に似せて設計された W9 ペプチド (W9) が破骨細胞分化促進因子である RANKL に結合し、骨吸収抑制作用を示すことを明らかにしてきた。近年、W9 が骨芽細胞分化促進作用を示し、BMP-2 による異所性骨石灰化も促進することが明らかとなった。この W9 による異所性骨石灰化の促進は TNF α の骨形成抑制作用を W9 が阻害するために起こっているものかと思われた。しかし、TNF- α 欠損マウスあるいは、TNF1 型受容体欠損マウスを用いた異所性骨石灰化実験では、W9 による骨形成促進作用は依然として認められた。そこで、W9 は TNF α だけでなく RANKL にも同様に結合することから、RANKL 欠損マウスを用いて同様の異所性骨石灰化実験を行ったところ、RANKL 欠損マウスでは W9 による石灰化亢進は認められなくなった。このことから、W9 による骨形成活性化は RANKL 依存性のメカニズムを介して行われている可能性が示唆された。

一方、RANKL に結合する W9 とは別のペプチド X も、破骨細胞形成を阻害するとともに、骨形成活性も促進する。W9 とペプチド X との骨形成促進作用を頭頂骨欠損モデルを用いて比べてみると、ペプチド X の骨形成促進作用のほうが W9 よりも強いことが明らかとなった。RANKL の細胞内ドメインは短いですが、RANKL を介して骨芽細胞内に骨形成シグナルを通して可能性に関して検討したところ、mTORC1 を活性化するシグナル経路の存在が明らかとなった。mTORC1 の活性化は Runx2 の上昇を引き起こすことが知られているため、我々は W9 とペプチド X の骨形成促進の違いが RANKL を介した骨芽細胞内のシグナル程度の差異として現れないか mTORC1 下流の S6K1 のリン酸化を指標に検討した。予想通り、骨芽細胞株を用いた実験では、W9 よりもペプチド X の方が S6K1 のリン酸

化が強く現れ、RANKL を介した逆シグナルをペプチド X が W9 よりもさらに活性化させていることが示された。このことは、RANKL 逆シグナルを活性化させる骨形成促進経路の存在を示しており、RANKL に結合する化合物が新たな骨形成促進剤開発のリード化合物になる可能性も示していると思われる。

RANKL 逆シグナルの生理的な意味合いも含めて RANKL 逆シグナルによる骨形成促進作用の証明には、まだ多くの実験を必要とするが、本サテライトシンポジウムでは今まで得られた結果をご紹介します。先生方のご意見を伺えれば有難いと考えている。

なお、本研究に用いた RANKL 欠損マウスは松本歯科大学 中村美どり博士、宇田川信之博士より供与いただき、TNF α 欠損マウスは福岡歯科大学 鍛冶屋浩博士、岡部幸司博士より供与いただき、オリエンタル酵母 古屋優里子博士、保田尚孝博士には W9 の骨形成促進作用に関してご指導いただいた。また、RANKL 逆シグナルに関する実験は、東京大学薬剤部 本間雅博士、鈴木洋史博士との共同研究として進めている。ここに謝意を表するものである。

SS14-2

骨芽細胞分化における BMP シグナルと NF κ B シグナルのクロストーク
 古株彰一郎¹⁾、土屋-平田 志津¹⁾²⁾、
 福島 秀文³⁾、杉山 悟郎¹⁾、
 片桐 岳信⁴⁾、自見英治郎¹⁾
¹⁾九歯大 分子情報生化
²⁾九歯大 保存治療
³⁾福歯大 細胞生理
⁴⁾埼玉大 ゲノム 病態生理

合部位を特異的に阻害することができれば、副作用の少ない BMP による骨形成・骨再生の促進効果を発揮できる画期的な創薬の開発につながる可能性がある。

骨は絶えず破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が繰り返されることで骨量が維持されている。骨芽細胞の分化に不可欠な BMP は筋組織に移植すると異所性骨を形成する因子として発見された。その後、BMP による骨再生を目指した研究が長年行われているが、十分な骨を形成するためには大量の BMP が必要なことや炎症などにより効果が減弱するなどの理由から期待通りの効果は得られていない。

BMP シグナルは BMP が 2 種類の膜貫通型受容体に結合することで活性化される。BMP の結合した II 型受容体はリン酸化することで I 型受容体を活性化し、活性化した I 型受容体は転写因子 Smad1/5 をリン酸化する。さらにリン酸化された Smad1/5 は Smad4 と複合体を形成し核内へ移行、標的遺伝子の発現を誘導する。

転写因子 NF- κ B は炎症や免疫応答に関わる様々な遺伝子の発現を調節するだけでなく、NF- κ B1 と NF- κ B2 ダブルノックアウトマウスが破骨細胞の存在しない大理石骨病を呈することから、NF- κ B が破骨細胞分化に必須であることがわかった。NF- κ B の活性化機構は厳密に制御されており、定常状態では NF- κ B は抑制分子である I κ B α と複合体を形成して細胞質中に留まっているが、細胞が炎症性サイトカインである IL-1、TNF α などの刺激を受けると I κ B α が分解され、主に p50 と p65 のヘテロダイマーが核へ移行し、標的遺伝子の発現を調節する。

近年われわれを含む幾つかの研究室より、NF- κ B が破骨細胞分化だけでなく、骨芽細胞分化や骨形成にも関与することを報告している。われわれは、NF- κ B のメインサブユニットである p65 が Smad4 と会合して、Smad1/5 と Smad4 の複合体の DNA への結合を阻害し、その結果、BMP シグナルを抑制することで骨芽細胞分化を抑制することを明らかにした。さらに NF- κ B の選択的阻害剤は BMP による異所性骨形成を強力に促進した。

以上より、p65 と Smad4 との会合部位同定し、会

SS14-3

骨細胞による破骨細胞分化に対する負の制御

佐藤 卓也、林田千代美、羽毛田慈之
明海大 歯 口腔解剖

骨基質中の骨細胞は、骨細胞同士あるいは骨基質表面の bone lining cell と 3 次元ネットワークを形成している。私達は骨細胞について *in vitro* で検討するため、株化骨細胞 MLO-Y4 (Y4) をコラーゲンゲル中で 3 次元培養し、そのゲル上に bone lining cell として破骨細胞 (Ocl) 形成支持能を持つ株化間質細胞 ST2 を培養、さらに骨髄細胞を ST2 細胞層上に播きこみ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を加え Ocl 分化を誘導することで、Ocl 形成に対する骨細胞の影響を検討した。Y4 は骨髄細胞との通常の共存培養で Ocl 形成を支持するが、ゲル中の Y4 はゲル上で ST2 が誘導する Ocl 形成を抑制した。この抑制作用は ST2 による RANKL/OPG 産生変化を伴わなかった。Y4 の培養上清 (Y4-CM) は骨髄細胞培養系で M-CSF が誘導する Ocl 前駆細胞形成、及び可溶性 RANKL が誘導する Ocl への分化を抑制した。M-CSF による Ocl 前駆細胞形成期に Y4-CM が存在すると、形成された細胞では Ocl への分化能低下、RANKL 誘導性 *c-fos* タンパク質の翻訳阻害、*Protein kinase R* mRNA 増加、転写因子 STAT のリン酸化促進が観察された。これらの作用は抗 *interferon-β* (IFN-β) 中和抗体によって一部緩和され、Y4-CM 存在下で形成された細胞の Ocl 分化能低下も一部回復した。次に初代骨細胞について検討するため、骨細胞のみを含む骨片 (osteocyte-enriched bone fragment, OEBF) の培養を行った。OEBF は、5 週齢マウス大腿骨骨幹部を縦断して得た骨片をコラーゲンゼ・EDTA を用いた逐次消化によって骨細胞以外の細胞を除去し調製した。OEBF と骨髄細胞を非接触状態で共存培養し、M-CSF 及び可溶性 RANKL によって Ocl 分化を誘導すると、OEBF は Ocl 分化を抑制し、その抑制効果の一部は IFN-β 依存であった。*Opg* ノックアウト (KO) マウス由来の OEBF も同様の作用を有していた。Y4 及び OEBF は Ocl 前駆細胞に比べ *Ifn-β* mRNA を高発現していた。

Ifn-β-KO マウスでは Ocl 形成が亢進し骨が粗鬆化する。これまで IFN-β は、RANKL で刺激された Ocl 前駆細胞が産生するネガティブフィードバック因子とされてきたが、骨細胞が産生する Ocl 分化の負の調節因子の一つでもあることが示唆された。

SS14-4

破骨細胞と骨芽細胞の分化を制御する RANKL 信号伝達

中村美どり¹⁾、古屋優里子²⁾、
保田 尚孝³⁾、宇田川信之¹⁾¹⁾松歯大 生化²⁾オリエンタル酵母工業 長浜研³⁾オリエンタル酵母工業 バイオ

破骨細胞分化因子である RANKL が 1998 年に発見されてから 15 年、破骨細胞の分化誘導に関わる信号伝達が明らかとされてきた。その過程で、RANKL 信号伝達が破骨細胞のみならず、骨芽細胞の分化を制御している可能性を示す実験結果が得られてきた。

W9 (WP9QY) は RANK や TNF レセプターと相同性を有する 9 個のアミノ酸から構成される環状ペプチドであり、W9 ペプチドは、TNF の作用を阻害する他、RANKL と結合することにより、破骨細胞の分化を阻害し、卵巣摘出モデルにおける骨量減少を防止する。我々は、W9 ペプチドを正常マウスに投与することにより、骨形成能の亢進により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 (RANKL と M-CSF 存在下) 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。

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 μM) 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 μM) 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。

正常マウス由来の骨芽細胞上では、ビタミン D や PTH の存在下で破骨細胞が形成され、W9 ペプチドは破骨細胞分化を阻害すると共に ALP 陽性の骨芽細胞の分化を促進した。BMP-2 や PTH による ALP 陽性の骨芽細胞誘導に対しても W9 ペプチドは促進作用を示した。一方、RANKL 欠損マウス由来の骨芽細胞上の共存培養系においては、ビタミン D や PTH などの存在下でも破骨細胞の誘導は認められなかった。また、RANKL 欠損マウスの骨芽細胞は正常マウス骨芽細胞と比較して ALP 活性が弱く、W9、BMP-2、PTH による ALP 陽性の骨芽細胞誘導活性も弱かった。

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。

SS14-5

破骨細胞の前駆細胞形成における骨芽細胞と炎症性刺激の役割

高見 正道¹⁾、榎本 拓哉²⁾、

山本 松男²⁾、上條竜太郎³⁾

¹⁾昭大 歯 歯科薬理

²⁾昭大 歯 歯周病

³⁾昭大 歯 口腔生化

破骨細胞は、血液幹細胞から単球・マクロファージ系細胞の過程を経て分化誘導され、その過程では、分化に必須の RANKL や M-CSF を産生する骨芽細胞の支持が必要である。しかし、前駆細胞の形成過程については不明な点が多く、その全貌を明らかにすることは、骨リモデリングにおける破骨細胞と骨芽細胞の共役や、それが破綻した炎症性骨破壊の機序解明にも繋がると考えられる。最近、松本歯科大学の高橋直之博士らは、生体内に存在する破骨細胞の前駆細胞のほとんどが細胞分裂を休止しており、破骨細胞への分化が運命付けられていることを報告した。またそれらは、骨髄だけでなく血中や op/op マウスの脾臓にも存在することを示した。一方、大阪大学の石井優博士らも前駆細胞が血管から組織へ移行する様子をイメージングの手法を用いて視覚的に示した。このような最近の知見を鑑み、我々は骨髄、脾臓および血中に存在する破骨細胞の前駆細胞の性質を解析し、それらが骨芽細胞とどのような相互関係をもつのか、さらに LPS などの炎症性刺激が前駆細胞の形成に与える影響について研究を行った。その結果、骨芽細胞は破骨細胞の前駆細胞の形質を変化させ、LPS による炎症性シグナルは骨髄や脾臓に新しいタイプの前駆細胞を出現させた。今回のサテライトシンポジウムでは、最近の破骨細胞の前駆細胞研究についての状況と、我々の研究結果を紹介する。

SS15-1

口腔粘膜上皮メンテナンスに関わる
温度感受性 TRP チャネル
城戸 瑞穂、合島怜央奈、
木附 智子、張 旌旗、
大崎 康吉
九大 院歯 分子口腔解剖

口腔粘膜上皮は重層扁平上皮により成り、口腔内を被覆している。口腔粘膜は飲食物などからの多様な化学的・物理的あるいは温度刺激に常に曝されながら、適切にその刺激を受容し、飲食物を咀嚼・嚥下あるいは毒劇物は排出する。口腔上皮は角化上皮と分類され、皮膚と類似の角化細胞よりなるとされているが、十分研究されているとは言えない。私たちは口腔が皮膚よりもダイナミックな温度に曝されることに着目し、温度感受性の TRP チャネル (transient receptor potential channel) の口腔粘膜における発現およびその機能を報告してきた。そして、口腔上皮には温度感受性の TRP チャネル群が発現していること、そのなかでも体温近傍に活性化温度域値を示す TRPV チャネルの発現が顕著であることを見出した。そして、口腔上皮細胞が温度感受性を示すこと、その温度感受性には TRPV3 および TRPV4 チャネルが関与していることをそれぞれの遺伝子欠失マウスを用い明らかにした。本シンポジウムでは口腔を隈無く覆っている粘膜上皮の生理学的特徴や病態を温度感受性の TRP チャネル (transient receptor potential channel) を介した生理機能を通して議論する。

TRP チャネルは、陽イオン透過性のチャネルとして知られ、細胞内外の環境センサーとしての機能が端緒となり研究が進められてきた。その後、生体内の多様な機能に TRP チャネルが重要な役割を果たすことが次々と明らかになっている。研究の進展と共に、TRP イオンチャネルスーパーファミリーとして種を超えた生理学的意義、さらには、疾患への関連が報告されたことで創薬ターゲットとして精力的に研究が進められている。本シンポジウムを歯科領域における TRP 研究を今後発展させて行く機会の一つとしたい。

SS15-2

Odontoblast hydrodynamic receptor theory : TRP チャネルによって仲介される象牙質痛覚発現機構
澁川 義幸、佐藤 正樹、木村 麻記、
小島 佑貴、東川明日香、小倉 一宏、
望月 浩幸、田崎 雅和
東歯大 生理

象牙質は象牙細管構造を有し、その内部には象牙細管内液を含んでいる。露出象牙質に加えられた様々な外的刺激が、象牙細管内液の移動を誘発する事(動水力学)で象牙質痛は発生する。象牙細管内液移動は、象牙芽細胞突起を伸展させる機械刺激となる。この事から、細管内液移動が機械刺激として象牙芽細胞によって受容され、歯髄ニューロンに感覚情報伝達される感覚発現メカニズムが、過去100年以上にわたって議論されてきた。しかし、残念ながら象牙質痛覚発現における象牙芽細胞の役割は明らかにされてこなかった。我々は以前より象牙芽細胞に発現する transient receptor potential (TRP) チャネルに着目し、象牙質感覚情報変換機構における象牙芽細胞の役割を検討してきた。そこで、本シンポジウムでは、象牙芽細胞における TRP チャネルの機能的発現と薬理的・生物物理学的特性から、TRP チャネルが象牙質感覚の分子センサーとして機能する事を報告する。また、機械感受性 TRP チャネルの活性化は、細胞膜 ATP 透過性チャネルを開口させ、神経伝達物質としての ATP 放出を誘発する。放出された ATP がニューロンにおける ATP (P2X₃) 受容体を活性化する事で、象牙芽細胞-歯髄ニューロン間での情報伝達が確立する。象牙細管内液移動による TRP チャネル活性化によって放出された ATP が、歯髄ニューロンに対する神経伝達物質として作用する、新たな象牙質痛覚発現メカニズム「odontoblast hydrodynamic receptor theory」を報告し、象牙芽細胞の感覚受容細胞として役割を議論する。

SS15-3

オイゲノールによる鎮痛作用メカニズムの解明

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

オイゲノール (Eug) は古くから歯科診療において歯髄鎮静薬として用いられている。しかしながら Eug の持つ鎮静作用の作用機序についてはいまだに明らかになっていない。

生体の持つ痛み受容体の一つである transient receptor potential (TRP) V1 チャンネルは辛味成分である capsaicin により活性化される。興味深いことに Eug はこの capsaicin と共通の vanillyl 基を持つことから TRPV1 を活性化できると考えられる。実際これまでに Eug がラットの三叉神経節細胞と強制発現系で TRPV1 を活性化することが報告されている¹⁾。そこで我々は Eug の TRPV1 チャンネル活性に対する作用を詳細に検討することにより Eug の持つ鎮静作用メカニズムを解明することを目指した。

実験は mouse TRPV1 を HEK293 細胞に一過的に発現させて TRPV1 に対する Eug の効果を、fura-2 を用いた細胞内 Ca²⁺濃度測定とホールセルパッチクランプ法を用いて測定した。また TRPV1 に対する刺激として capsaicin と酸刺激を用いた。

Capsaicin と酸刺激 (pH 5.5) により活性化した TRPV1 の内向き電流は 1 mM の Eug により有意に抑制された。また、酸刺激による細胞内 Ca²⁺上昇を調べたところ 1 回の刺激では Eug (1 mM) の存在下・非存在下で優位差は見られなかったが連続して 2 回酸刺激を行うと 2 回目の細胞内 Ca²⁺上昇は Eug により有意に抑制された。一方、Eug の長時間作用を見るために 1 mM の Eug を 5 時間作用させて細胞表面に発現している TRPV1 タンパク質量を western blotting 法で調べたところ減少が見られた。

以上の結果より Eug は次の 3 つの機序により TRPV1 チャンネル活性を阻害していると考えられる。① TRPV1 の capsaicin 結合部位に対する競合阻害、② TRPV1 チャンネルに対するポアブロック、③長時間作用時の細胞表面に存在する TRPV1 チャンネルタンパク質量の減少作用。これら 3 つの作用機序により TRPV1 チャンネル活性が阻害され、鎮静作用が見られると考えられる。

1) Yang *et al.*, J. Dent. Res. 82, 781-785 (2003).

SS15-4

TRP チャンネルの口腔顎顔面領域における疼痛調節機構

篠田 雅路、大原 絹代、浦田健太郎、
鈴木 安住、岩田 幸一

日大 歯 生理

Transient receptor potential (TRP) チャンネルは多くの臓器に発現しており、多彩な細胞機能にかかわることがわかっている。TRP チャンネルの一つである TRPV1 は一次感覚神経に発現し、侵害熱刺激 (>43°C)、カプサイシンおよびプロトンにより開口する非選択性イオンチャンネルとして知られており、新規疼痛治療薬の有力なターゲットと考えられている。抜歯、神経損傷あるいは慢性炎症などによる様々な組織損傷が口腔顎顔面領域に引き起こされると、損傷部位のみならず損傷部位を超えた広い領域に異常疼痛が誘導される。このような異常疼痛は難治性であるばかりでなく誤診や誤診療の原因となり、臨床におおきな問題となることがある。われわれは、歯髄炎が引き起こされると炎症歯髄を支配する三叉神経節細胞活動が著しく亢進し、三叉神経節細胞に Toll-like Receptor (TLR) が強く発現し、舌に異所性異常疼痛が発症することを見出した。さらに、Heat shock protein 70 が炎症歯髄組織で合成されて逆行性に三叉神経節に運ばれ、三叉神経節細胞から放出されて、他の口腔顎顔面領域を支配している三叉神経節細胞に存在する TLR に結合することによって、炎症歯髄神経を支配する三叉神経節細胞およびその周辺部に存在する三叉神経節細胞において TRPV1 発現の増強をもたらすことも明らかにした。

本シンポジウムでは、三叉神経領域の神経損傷あるいは慢性炎症によって口腔顎顔面領域に誘導される異常疼痛発症に対する TRP チャンネルの役割に焦点を当て、これまでにわれわれが明らかにしてきた知見を中心に最新の報告も交え概説したい。

LS1-1

うま味研究最前線

畝山 寿之

味の素 イノベーション研

LS1-2

うま味の歯科医療への活用

笹野 高嗣、佐藤しづ子、庄司 憲明

東北大 院歯 口腔診断

昨年末に日本食（和食）はユネスコの無形文化遺産として認定された。日本食（和食）は『だし・うま味』を共通の要素とした特徴をもつ。日本人の健康長寿と和食との関係について、リーブオイルを中心とした地中海食の健康価値と対比される形で、『だし・うま味』の健康価値が海外からも高い関心を寄せられている。我々はこれまで、『うま味』の生理作用とその健康価値を味覚・脳腸連関と食物の嗜好性・消化吸収の観点から解き明かそうと研究を続けてきた。そして、うま味は唾液や胃液・粘液など、消化管全般の外分泌系を刺激することで、摂取した食物の消化促進や消化管粘膜のメンテナンスに寄与していることを見出してきた。全ての動物は、必要な栄養を消化管活動を通して取り入れており、『健康な食生活』を考える上で『健康な消化管』の機能維持は必須である。本セミナーでは、うま味の消化管外分泌機能調節作用に焦点をあてて、『だし・うま味』の生理作用に基づく健康価値について改めて考えてみたい。

グルタミン酸ナトリウム（MSG）に代表されるうま味物質は口腔内で味覚（うま味）という特殊感覚を発生させ、消化管においては迷走神経を介した内臓感覚を誘発する。内臓感覚は消化管運動や内外分泌機能に影響を与え、多くの生理学の教科書に記載されている。MSGの味覚を介する消化機能の調節（いわゆる消化の頭相）に関しては古くより研究が存在する。我々もラットを用いた研究から、MSGの口腔内刺激は胃外分泌反射を誘導することを示してきた。一方、MSGの内臓感覚を介する胃外分泌機能調節は非常に複雑であることが動物実験や臨床研究で多く示されており、その調節機序の一つとして、我々は胃からのソマトスタチン分泌抑制仮説を提唱している。一方、うま味の消化管粘膜保護に関する研究も進んでいる。MSGの胃・十二指腸粘膜上への局所投与はカプサイシン感受性神経線維依存的に粘膜保護因子（粘液分泌と重炭酸分泌）を高める。更に、解熱鎮痛剤による十二指腸障害モデル（ラット）においては、MSG含有餌の摂取は予防だけでなく、治癒促進効果が認められる。近年ピロリ菌除菌療法が盛んに行われているが、MSG含有餌摂取はピロリ菌感染胃炎の発症を抑制することが砂ネズミで確認されている。

美味しく味わって食べることは人生の大きな喜びのひとつと思われる。しかしながら、超高齢化を背景に我が国の味覚障害者は増加している。高齢者を対象とした我々の調査では、約37%に味覚障害が認められた。味覚障害と唾液分泌の関係について調べた結果、味覚正常者の総唾液分泌量は正常範囲であったのに対し、味覚障害者では全員が低下していた（Journal of Health Science 55, 689-698, 2009）。この結果から、高齢者における味覚障害には唾液分泌低下が深く関与していることが分かり、味覚障害の治療として唾液分泌を促進する方法に取り組んでいる。

味覚障害を訴える患者さんのなかに、「味は分かるが、おいしく感じない」と訴える方がいる。現行の味質検査法は、うま味を除く基本4味（甘味・酸味・塩味・苦味）を対象としたもので、第5の基本味である「うま味」に対する検査法は開発されていない。そこで、グルタミン酸ナトリウム（MSG）を用いたうま味感受性検査法を開発し、臨床応用を試みた（PLOS ONE, Doi: 10.1371/journal.pone.0095177, 2014）。調査の結果、基本4味は正常でありながら、うま味感受性のみ低下している患者さんが16%も存在することが明らかとなった。これらうま味障害者は、全員が高齢者で、食欲低下と体重減少がみられた。治療の結果、うま味感受性は高まり、同時に食欲が高まり全身状態が改善する例が多くみられた。

さて、味覚障害に対する治療は、その原因により様々であるが、先に述べたように味覚障害と唾液分泌量は非常に関連が深い。唾液分泌量を増加させるための治療法としてM3ムスカリン受容体作動薬が一部保険適用となり使用されるようになった。しかし、この薬は全身の副交感神経に作動するため嘔吐、発汗、消化器症状などの副作用が強い。我々は、味覚刺激による唾液分泌反射を応用し、唾液分泌機能を改善する治療法に取り組んでいる。味覚刺激のなかで、「うま味」刺激は他の4味よりも持続的に多くの唾液分泌を促すことが分かり、臨床に取り入れている。

味覚障害、とくに「うま味」障害は、単に感覚障害にとどまらず、食欲不振や栄養障害など全身の健康に深く関わると考えられる。健康長寿の観点から、うま味障害の診断と治療の普及が今日の歯科医療に求められていると思われる。

LS2

分子イメージングの可能性：歯学分野
での応用と今後の展望

江國 大輔

岡大 病院 予防歯科

近年、分子イメージングの研究やその実用化に注目が集まっています。この「分子イメージング」とは、生体内で起こる様々な生命現象を分子レベルで捉えて、その動きを可視化する技術であり、生きのまま体内の様子を観察できるのが特徴です。欧米諸国だけでなく、日本でも産・官・学の連携体制の下、活発な分子イメージングの研究が行われており、専門の学会も存在します。

私の所属する岡山大学予防歯科学分野では、「分子イメージング」の取り組みとして、酸化ストレス可視化モデル (OKD-Luc マウス、(株)トランスジェニック、熊本) を用いた研究を始めました。酸化ストレスとは、生体内で生成された活性酸素種の酸化損傷力が宿主の抗酸化システムを上回った状態のことで、歯周病の進行に関与していることが分かっています。また、酸化ストレスが歯周病と全身疾患との共通のリスクファクターであることから、我々は歯周病による全身への影響に関する機序の解明に、世界に先駆けて酸化ストレスに着目してきました。

本セミナーでは、分子イメージングの可能性について講演するとともに、我々の教室での研究成果を紹介する予定です。さらに、歯科と医科領域を繋ぐツールとしての応用と今後の展望についても触れてみたいと考えています。

【協賛企業より】

本ランチョンセミナーでは、新たに開発された病態可視化マウスを用いた研究をご紹介します。この病態可視化マウスでは、酸化ストレスに応答する因子 (Nrf2) の発現制御メカニズムを利用し、酸化ストレス存在下でルシフェラーゼが安定発現いたします。IVIS 等、最近のイメージング機器により、生体で継時的に病態を観察することが可能になりました。

この他、病態可視化マウスのラインアップについてもご紹介をさせていただきます。

LS3

若手研究者のための Author Workshop : 学術論文作成の基本と英語らしい論文の書き方

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言える。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、日本人がセンスのいい英語の科学論文を書くためには、英語的発想を知ることが重要である。そのために必要なことは「コンテクスト (context)」を理解することである。コンテクストとは「文脈」とか「前後関係」などの訳語があてられているが、「ある文化や状況の中だけで通用する了解事項」である (ジャン・プレゲンズ著:「ジャンさんの『英語の頭』をつくる本」、インターメディカル、東京、1997年より引用)。自分の言いたいことを正確に伝えるためには、英語のコンテクストに対して注意を払うべきである。英語らしい論文の書き方についても話をしたい。

O1-C1

Syk の分解を介した β 1-3 グルカンによる破骨細胞分化制御機構

○有吉 渉¹、沖永 敏則¹、西原 達次¹
(¹九歯大 感染分子生物)

これまで我々は、破骨細胞前駆細胞が特定の糖鎖構造を認識して、破骨細胞分化・骨吸収活性を変化させることを証明してきた。その中で、破骨細胞前駆細胞をはじめ、樹状細胞やマクロファージに特異的に発現している C-type レクチン受容体の一つである dectin-1 のリガンドで、直鎖の β -1,3 glucan である curdlan が、破骨細胞分化のマスター遺伝子である NFATc1 の発現抑制を介して、破骨細胞の形成を負に制御すること、さらに、そのメカニズムとして、syk タンパクの分解が関与していることを報告した (J. Biol. Chem. 2014)。

破骨細胞前駆細胞 RAW264.7 細胞の dectin-1 過剰発現株 (d-RAW) を樹立し、curdlan を添加して培養を行ったところ、dectin-1 とともに syk のタンパク発現量が著明に減少した。この現象は curdlan 添加後、1 時間以内に生じ、real-time RT-PCR 法による解析では、dectin-1、syk とともに curdlan による遺伝子レベルでの発現抑制は観察されなかった。

そこで、細胞内分解系による制御を考え、同培養系に対し、オートファジー・リソソーム系の阻害薬である bafilomycin A1 で前処理を行ったところ、curdlan 添加による dectin-1、syk タンパクの発現減少は回復した。その一方で、プロテアソーム阻害薬である MG132 の前処理群では dectin-1、syk タンパクの発現はともに変化が観察されず、curdlan の添加による dectin-1、syk タンパクの分解が、オートファジー・リソソーム系に依存している可能性が示唆された。このことは curdlan の添加により、d-RAW において、オートファゴソーム・オートリソソームのマーカーである LC3II の形成が増加することからも支持された。

今回の研究で、curdlan-dectin-1 の相互作用による破骨細胞分化抑制に、オートファジー・リソソーム系の活性化が関与しているという新たな知見が得られた。現在、この分解システムの細胞内シグナルを中心とした詳細な制御機構について検討中である。

O1-C3

ユビキチンリガーゼ SCF/ β -TRCP は、脱ユビキチン化酵素 CYLD の量的制御を介し破骨細胞分化を制御する

○福島 秀文¹、長岡 良礼¹、永嶋 勝之¹、
鍛冶屋 浩¹、岡本 富士雄¹、岡部 幸司¹
(¹福歯大 細胞生理)

【背景と目的】SCF (Skp1-cullin-F-box) 型 E3 ユビキチンリガーゼの代表的コンプレックスである SCF/ β -TRCP は、リン酸化依存的に NF- κ B シグナル分子をユビキチン化することにより正に制御しているが、破骨細胞の分化における役割は不明である。今回我々は、破骨細胞分化における SCF/ β -TRCP の機能解明と SCF/ β -TRCP の標的となる新規基質の探索を目的に検討を行った。【方法と結果】1. 破骨細胞分化の際に β -TRCP をノックダウンすると、破骨細胞の形成が抑制され、2. その際に NF- κ B シグナル分子の活性化が抑制されていた。3. β -TRCP ノックダウン依存的に上昇する分子、および β -TRCP に結合する分子を網羅的に解析した結果、 β -TRCP の新規基質として RANK のアダプター分子である TRAF6 などの脱ユビキチン化により破骨細胞分化シグナルを負に制御する CYLD (Cylindromatosis) を同定した。4. CYLD は、IKK 依存的に SCF/ β -TRCP によりユビキチン化され分解された。5. CYLD の β -TRCP による認識配列に変異入れると、CYLD の発現が安定化し破骨細胞分化は抑制され、6. RANKL により活性化される破骨細胞分化に必要な TRAF6 のユビキチン化および下流の NF- κ B シグナル分子の活性化も抑制されていた。【結論と考察】 β -TRCP は、CYLD による TRAF6 の活性化抑制機構を解除し、破骨細胞分化を調節することで、NF- κ B シグナルを正に制御する分子である事が明らかになった。また、 β -TRCP は CYLD のみならず広く RANK シグナルの NF- κ B 分子を制御することから、破骨細胞形成の中心的ユビキチンライゲースである事が示唆された。

O1-C2

新たな CCN2 結合因子 DCL-1 の破骨細胞分化における役割

○青山 絵理子¹、星島 光博¹、服部 高子²、
久保田 聡¹、滝川 正春^{1,2} (¹岡大 歯 先端領域
研究七、²岡大 院医歯薬 口腔生化学)

CCN2 (CCN family protein2, CTGF) は骨、軟骨組織をはじめ、様々な組織において細胞の分化、増殖、遊走などを制御する分泌タンパク質であり、その特徴として他の生理活性因子などと結合してその作用を制御することが挙げられる。これまで様々な方法で CCN2 の結合因子をスクリーニングしたところ、その中に DCL-1 (DEC-205-associated C-type lectin-1, CD302, CLEC13A) が含まれていることが分かった。この因子はマクロファージで抗原食貪に関与していることが報告されているが、破骨細胞の分化、機能における役割やその発現変化などについてはまだ報告がない。CCN2 は多方面から破骨細胞の分化、成熟を制御していることから、本研究では DCL-1 が CCN2 による破骨細胞分化を制御する新たなキーファクターである可能性を検証した。まず、DCL-1、CCN2 のそれぞれに対する抗体を用いて免疫沈降およびウエスタンブロット法を行い、CCN2 および DCL-1 の両者が結合していることを示した。また、マウス骨髄由来の破骨細胞前駆細胞を RANKL 刺激すると DCL-1 の発現が破骨細胞分化に伴って増加することを明らかにした。次にこの系で DCL-1 に対する siRNA を用いてこの発現を抑制したところ、成熟破骨細胞の形成および骨吸収能の低下が見られた。また免疫染色の結果、DCL-1 およびアクチンは破骨細胞のアクチンリングにおいて共局在しており、リングを形成していないアクチンとは共局在が見られなかった。つまり、DCL-1 が破骨細胞の分化に伴って発現上昇し、そのアクチンリング形成に必要な不可欠な因子であることが示された。これらの結果から DCL-1 は新たな CCN2 結合因子であり、破骨細胞の成熟および骨吸収を正に制御する機能を有することが見いだされた。

O1-C4

破骨細胞におけるポドソームの形成に関与するタンパク質の同定とその機能解析

○岩竹 真弓¹、岡元 邦彰¹、筑波 隆幸¹
(¹長大 院医歯薬 歯科薬理)

ポドソームは癌細胞、マクロファージ、破骨細胞などで形成される動的細胞内オルガネラであり、細胞外マトリクス分解に関与する。ポドソームはアクチン線維で構成される浸潤突起を形成することで遊走能、接着能、さらに基質分解に関与する。破骨細胞では、波状縁と呼ばれるひだ状突起とアクチンリングと呼ばれる接着機構でポドソーム形成を行い、骨を吸収する。しかしながら、破骨細胞のポドソーム形成機構に関しては不明な点が多く残されている。

本研究では破骨細胞の成熟化とともに上昇する遺伝子の中から、ポドソーム形成に関与する遺伝子を同定し解析を行った。DNA マイクロアレイの解析により、マクロファージから破骨細胞に分化成熟する過程で上昇する遺伝子 Plekhg5 を同定した。Plekhg5 は 1 次構造から細胞骨格運動を制御する低分子 G タンパク質の Rho の活性化因子であることが予測された。siRNA ノックダウン解析を行ったところ、Plekhg5 をノックダウンした破骨細胞はコントロール細胞と比較して、骨吸収能を抑制した。またノックダウンした破骨細胞前駆細胞では、接着能の低下も認められた。しかしながら、これらのノックダウン細胞は細胞遊走能の向上を示し、RANKL 刺激により破骨細胞に分化させると多核巨細胞化が亢進した。共焦点顕微鏡により、細胞の形態維持や細胞骨格への影響を調べた結果、ノックダウン破骨細胞では、細胞接着面でのアクチン線維の量が減少していた。また細胞質微小管タンパク質局在については微小管密度の低下が認められた。

以上の結果から、Plekhg5 は破骨細胞のポドソーム形成に関与する遺伝子であり、骨吸収や細胞接着に正の制御を行う一方、遊走能や多核化に関しては負の制御を行う遺伝子であることが示唆された。

01-C5

ビスホスホネート製剤による破骨細胞の形成阻害のプレニル化物質による回復作用
 ○長岡 良礼^{1,2}、鍛冶屋 浩¹、佐々木 三奈^{1,2}、永沼 香織²、永嶋 勝之^{1,2}、岡本 富士雄¹、福島 秀文¹、岡部 幸司¹
 (¹福歯大 細胞生理、²福歯大 口腔外科)

【目的】 NBP は成熟破骨細胞の骨吸収活性の抑制以外に、骨芽細胞や歯肉上皮細胞の分化、生存を抑制すると報告があり、これは NBP によるタンパク質のプレニル化修飾物質(ゲラニルゲラニル酸(GGOH)、ゲラニルゲラニルピロリン酸(GGPP)など)の減少が関与すると考えられている。又、NBP の長期投与による顎骨壊死(ONJ)の多くの報告ばかりでなく、最近による破骨細胞の分化を抑制する抗 RANK 抗体デノスマブによる ONJ も報告されている。従って、これら薬剤による破骨細胞の分化や生存の抑制が最終的に骨リモデリングを障害した結果 ONJ の誘発の要因になると示唆される。本研究ではマウス破骨細胞の分化過程および NBP 投与マウス抜歯窩の再石灰化過程における NBP とプレニル化修飾物質の効果を検討した。
 【方法】 マウスより破骨細胞前駆細胞を誘導し、RANKL 存在下でゾレンドロン酸(ZOL)および GGOH、GGPP を加え破骨細胞の分化や融合分子の発現を検討した。6 週齢マウスに ZOL+リポポリ多糖(LPS)を 2 週間投与後に抜歯し、ZOL、LPS および GGOH、GGPP を 4 週間継続後、抜歯窩の再石灰化について μ CT を用い解析した。【結果と考察】 ZOL は破骨細胞分化関連分子 TRAP、細胞融合分子 DC-STAMP の発現を抑制し、TTRAP 陽性多核細胞数を濃度依存的に減少させた。しかし、GGOH、GGPP 共存下では TRAP、DC-STAMP の発現の部分的な回復と TRAP 陽性多核細胞の出現増加を認めた。抜歯窩の骨密度を含めた骨形成パラメーターは ZOL+LPS 投与群では非投与群に比べて有意減少した。一方、プレニル化修飾物質同時投与群では非投与群と有意差は認められなかった。以上より、NBP は破骨細胞の細胞融合および多核化の抑制に関与することが示唆され、プレニル化修飾物質はこれら抑制を部分的に回復させると考えられた。このプレニル化による回復作用は ONJ 発症の予防作用の一助になる可能性が示唆された。

01-C6

アレンドロネート連日投与中・投与中止後における骨の細胞群における組織化学的变化
 ○坪井 香奈子^{1,2}、佐々木 宗輝^{1,3}、長谷川 智香¹、虎谷 彌¹、織田 公光¹、北川 善政²、網塚 憲生¹(¹北大 院歯 硬組織、²北大 院歯 口腔内科、³長大 院医歯 インプラント、⁴新大 院医歯 口腔生化学)

【緒言】 ビスホスフォネートの中でも連日投与製剤であるアレンドロネート(以下、ALN)は主に骨吸収面に集積し骨吸収を行っている破骨細胞を抑制する。今回、我々は、ALN 投与中止による骨吸収のリバウンドの可能性また連日投与中の骨芽細胞系細胞への影響を考慮するため、ALN 連日投与による破骨細胞と骨形成系細胞の組織化学的検索を行った。【方法】 生後 6 週齢 ICR マウスに ALN を 10 日間連続皮下投与した。投与終了直後、12 時間、1、2、3、4 日後にアルデヒド固定し長管骨を採取、ALP、TRAP 等の組織化学、電子顕微鏡観察及び共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。【結果と考察】 ALN 連日投与中の骨幹端では、コントロール群に比べて多数の TRAP 陽性破骨細胞が存在していた。投与を中止すると破骨細胞は活発な骨吸収を行うのではなく、その数を減少させてゆき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。ところが、ALP 陽性反応は経時的に減弱し活性型骨芽細胞の数は減少していった。また骨細胞は委縮し骨小腔との間隙が拡大する傾向を示した。ローダミンフェロイジン染色を共焦点レーザー顕微鏡にて観察すると、ALN 投与により骨細管中の細胞突起が断裂する傾向を認めた。このような骨細胞への影響は、ALN による破骨細胞抑制に続く骨芽細胞の機能低下を介する経路と、骨細胞への直接作用の経路が考えられる。そこで、外頸静脈に ALN を 1 回投与して早期に観察したところ、破骨細胞や骨芽細胞が影響されるよりも早く骨細胞の委縮を認めたことから、ALN は骨細胞に対して直接作用を示す可能性が示唆された。以上、ALN 連日投与中止後では破骨細胞による骨吸収のリバウンドよりも、投与中あるいは投与後の骨芽細胞・骨細胞の機能低下に注意が必要と思われた。さらに ALN は骨細胞に対する直接作用を有する可能性が示唆された。

01-C7

ミノドロンの同位体顕微鏡を用いた骨組織分布の観察と骨の細胞群に対する影響
 ○佐々木 宗輝^{1,2}、本郷 裕美²、小林 幸雄³、坂本 尚義³、網塚 憲生²(¹長大 院医歯薬 口腔インプラント、²北大 院歯 硬組織発生生物、³北大 創成科学研 IIL3)

Minodronate, a third generation of bisphosphonate developed in Japan, has been recently highlighted for its high effects for the osteoporotic treatment, due to a sustained effect, at least, for one month. In this study, we have examined the localization of ¹⁵N-labeled minodronate (¹⁵N-minodronate) in murine bone by means of isotope microscopy, and also, histochemically investigated its biological effects to bone cells in mice. Eight-week old ICR male mice were injected with ¹⁵N-minodronate via the external jugular vein. Mice were fixed after the injection at 3 hrs, 24 hrs, 1 week and 1 month. Epoxy resin-embedded specimens were examined under the isotope microscopy and transmission electron microscope (TEM), while paraffin sections were used for detecting activities of alkaline phosphatase (ALP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). Isotope microscope demonstrated ¹⁵N-minodronate localized mainly onto bone surface beneath osteoblasts (bone forming surface), while alendronate has been reported to accumulate onto bone surface underlying osteoclasts (bone resorption surface). Thus, minodronate does not appear to directly target bone-resorbing osteoclasts. At 3 hrs after the minodronate administration, osteoclasts had well-developed ruffled borders. At 24 hrs after the minodronate administration, there were many osteoclasts on the bone surface. However, the treated osteoclasts attached partially to bone surfaces with their cell bodies, and did not form the ruffled border. Von Kossa staining and TEM observations demonstrated that, unlike intact osteoclasts, the osteoclasts treated with minodronate did not incorporate mineralized bone matrix. These findings indicate the possibility that minodronate tend to accumulate to the bone surface underneath osteoblasts, rather than bone resorbing surface underlying osteoclasts, and consequently, osteoclasts do not eat the bone matrices rich in minodronate. Osteoblasts neighboring the minodronate-treated osteoclasts were plump in shape, and looked as an active form of osteoblasts synthesizing bone matrices. Summarizing, it seems likely that minodronate is incorporated in the bone matrix beneath osteoblasts but not adjacent to bone-resorbing osteoclasts, and the bone matrix including minodronate would not be subjected to osteoclastic bone resorption for a long time.

01-C8

オステオポンチンは LMW-PTP を介して骨芽細胞の生理的応答性に影響を与える
 ○楠山 譲二^{1,2}、坂東 健二郎²、大西 智和²、仙波 伊知郎²、松口 徹也²(¹鹿大 院医歯 口腔病理解析、²鹿大 院医歯 口腔生化学)

骨芽細胞の機能である骨基質形成と破骨細胞制御は、サイトカインやメカニカルストレス等の細胞刺激因子で調節されている。しかし生体内の骨芽細胞の分化度や細胞外環境は一律ではなく、骨芽細胞が種々の細胞刺激因子に対して一律の反応を示しているとは限らない。我々は、LPS や不飽和脂肪酸を加えた分化培地で培養した骨芽細胞において、メカニカルストレスや増殖因子への応答性が著しく減弱していることに着目した。この骨芽細胞の持つ性質を解析したところ、多くの骨分化マーカー遺伝子の発現は低下しているにも関わらず、同じく分化マーカーとして重要な分泌タンパク質であるオステオポンチン(OPN)の発現レベルが極めて高いことを見出した。そこで、OPN が骨芽細胞の細胞刺激因子に対する応答性に与える影響について解析を行った。マウス骨芽細胞株である MC3T3-E1 細胞にリコンビナント OPN を作用させると、メカニカルストレスや HGF、PDGF で誘導される FAK のリン酸化が減弱し、標的遺伝子の発現が抑制された。MC3T3-E1 細胞に OPN を強発現させた場合も同様の結果を得た。一方、分化した MC3T3-E1 細胞に OPN siRNA や OPN 中和抗体によって内在性の OPN 機能を抑制させると、メカニカルストレスや HGF に対する FAK 活性化を介した応答性が上昇した。次に OPN によって発現が誘導され、FAK の活性化に影響を与える分子を探索したところ、OPN は LMW-PTP (Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase) と呼ばれるフォスファターゼの発現を上昇させることが分かった。そこで MC3T3-E1 細胞に LMW-PTP を強発現させると、メカニカルストレスや HGF への応答性が抑制された。更に LPS や不飽和脂肪酸によって OPN を高発現する骨芽細胞に、OPN siRNA 及び LMW-PTP siRNA を導入すると、細胞刺激因子への応答性が回復した。OPN は LMW-PTP の発現を上昇させることで、骨芽細胞の細胞刺激因子への応答性を調節する分子として骨代謝に影響を与える可能性がある。

O1-C9

細胞外無機リン酸は *Dmp1* の発現を誘導し骨細胞分化を促進する

○西野 仁^{1,2}、道上 敏美¹

(¹大阪府立母子保健総合医療センター 環境影響部門、²阪大 院歯 口腔外科一)

【背景・目的】骨細胞には FGF23、PHEX、DMP1、FAM20C などリン代謝制御に関連する種々の分子が発現している。しかしながら、細胞外無機リン酸 (Pi) 濃度変化が骨細胞や骨芽細胞の遺伝子発現や機能に及ぼす直接的な影響については不明な点が多い。そこで、本研究においては、マウス由来初代骨細胞及び骨芽細胞系細胞株 MC3T3-E1 細胞を用いて、Pi の直接作用を検討した。【方法・結果】マウス長管骨を微細化し、コラゲナーゼ処理及び EGTA 処理を反復することにより骨細胞を単離した。単離された骨細胞を I 型コラーゲンゲルに包埋し、1 mM ないし 10 mM の Pi 存在下で 24 時間培養し、遺伝子発現を検討した。その結果、*Fgf23*、*Phex*、*Fam20c* の発現には変化を認めなかったが、*Dmp1* の発現が高濃度 Pi 刺激により 4 倍以上に増強し、骨細胞が Pi の変化に応答することが示唆された。次に、Pi が骨芽細胞においても *Dmp1* 発現を誘導するかどうか検討するため、MC3T3-E1 を用いた解析を行った。MC3T3-E1 を 1~10 mM の Pi 存在下で 48 時間培養したところ、容量依存的に *Dmp1* の発現が誘導された。10 mM の Pi 刺激は、24 時間後から *Dmp1* の発現を 50 倍以上に強く誘導した。Pi 刺激による *Dmp1* の発現誘導は MEK 阻害剤である U0126 の添加により解除されたことから、MEK/ERK 経路の関与が推察された。さらに、MC3T3-E1 を I 型コラーゲンゲルに包埋し、1~10 mM Pi 存在下で 2 週間培養したところ、10 mM の Pi 存在下では *Dmp1* に加えて *Fgf23* や *Fam20c*、*Hif1a*、*Pit1*、*Fgf1*、*Fgf2*、*Cx43* の発現も増加していた。一方、骨芽細胞マーカーである *Keratocan* の発現は低下していた。【結論】Pi 刺激は骨細胞に直接作用し、MEK/ERK 経路を介して *Dmp1* の発現を増加させることが示唆された。また、MC3T3-E1 に対する長期的な Pi 刺激は *Dmp1* に加えて *Fgf23* など他の骨細胞に高発現する遺伝子の発現増加をもたらしたことから、Pi が骨芽細胞から骨細胞への分化を促進する可能性が推察された。

O1-C11

機械的伸展刺激により縫合部組織において変化する細胞増殖ならびに分化関連因子の検討

○池亀 美華¹、服部 淳彦²、河井 まりこ¹、山本 敏男¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔形態・医科歯科大 教養 生物)

Introduction: Tensile-stress stimulates osteoblastic cell proliferation and differentiation in mouse cranial sutures. To reveal the important factors concerning to this process, we performed a microarray analysis of tensile-stress regulated genes in the cranial suture.

Methods: Parietal bones from neonatal mice were cultured with or without tensile-stress on the mid-sagittal sutures. We compared global gene expression in the sutures by GeneChip microarrays. Real-time PCR was performed on the interested molecules which expressions were increased by more than 2-fold compared to those of controls cultured without tension, and also the expression levels were more than 200 in raw data in the repeated GeneChip results. We also performed immunohistochemical analysis on some interested factors.

Results and Discussion: As the results of repeated microarray analysis, sixteen factors which had various types of functions, such as cell growth, differentiation, intracellular trafficking, cytoskeleton regulation, membrane metabolism, endocytosis, were picked up. We could confirm up-regulated gene expression of some cell proliferation and differentiation factors. One of those factors, cysteine-rich, angiogenic inducer, 61 (Cyr61) is a member of CCN family and has been reported as a mechanical stress responsible factor in fibroblasts. It is also reported to stimulate differentiation of osteoblasts in vitro. However, the concerning of Cyr61 to mechanical stress induced osteoblastic differentiation is not known. Therefore we detected immunohistochemical localization of Cyr61 in cranial sutures. Immunoreactivity of Cyr61 seemed relatively stronger in preosteoblastic cells in the tensile-stressed sutures.

Conclusion: These results suggest the concerning of Cyr61 to tensile-stress induced osteoblastic cell proliferation and/or differentiation in the cranial suture.

O1-C10

MC3T3-E1 細胞において、MTA は ATF6 を介して石灰化を促進させる。

○前田 豊信¹、鈴木 厚子¹、湯澤 仁¹、阿部 匡聡²、加藤 靖正¹ (¹奥羽大 歯 口腔機能分子生物、²奥羽大 歯 口腔機能分子生物)

【目的】Mineral trioxide aggregate (MTA) は、我が国では直覆剤として用いられているが、海外では、根分岐部穿孔などにも適用され、良好な成績をおさめている。MTA は in vitro で骨芽細胞の石灰化を促進することが知られているが、この機序について不明な点が多い。本研究では in vitro において、小胞体ストレスセンサーとして知られる ATF6 への MTA の影響を中心に、MTA の石灰化促進機構の解析を試みた。【方法】White Type MTA (Pro ROOT MTA, DENTSPLY) を α MEM 培地に十分な時間混和して、これを MC3T3-E1 細胞に添加した。経時的に mRNA 発現を RT-qPCR で、タンパク発現をウエスタンブロット法と ELISA により解析を行った。【結果と考察】MTA の 1.0 または 2.5 μ g/mL の添加で、MC3T3-E1 細胞は培養 16 日目で有意な石灰化を示した。この石灰化は、ALP 活性の亢進、コラーゲンの蓄積、コラゲナーゼの発現とオステオカルシンの発現を伴うものであった。しかし、BMP-2 や Osterix、Runx2 の発現には影響を及ぼさなかった。そこで、オステオカルシンの遺伝子発現に着目し、転写因子として ATF6 への MTA の影響について解析を行った。その結果、MTA の添加で有意な ATF6 の発現亢進が認められた。そして、MC3T3-E1 細胞で ATF6 の shRNA 発現は、MTA 添加による石灰化の促進作用を消失させた。また、site-2 proteases (S2P) の特異的インヒビター添加でも、MTA による影響は消失した。さらに ATF6 の強制発現は、オステオカルシンの発現が促進されることを確認した。これらのことから、MTA による骨芽細胞の石灰化促進機構の 1 つは、ATF6 の発現とそれに連続して起こるオステオカルシンの発現促進であることが示唆された。

O1-C12

骨芽細胞に対する圧縮刺激により分泌される IL-33 を介した破骨細胞分化抑制メカニズム

○清宮 弘康^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、西原 達次¹ (¹九歯大 感染生物、²九歯大 顎顔面外科)

【目的】我々は、骨芽細胞に機械的圧縮刺激を負荷することにより破骨細胞分化抑制因子 OPG の分泌が亢進し、その結果、破骨細胞分化が負に制御されることを報告した。しかし、負の制御メカニズムを詳細に検討したところ、この現象を OPG の分泌亢進のみで説明することはできないという考えに至った。そこで、機械的圧縮刺激により未知の液性因子が分泌されると想定し、関連因子をスクリーニングしたところ、IL-33 がその役割を担う可能性を示唆するデータが得られた。【方法】3次元培養ゲルに培養骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を包埋し、チタン製プレートを用いて、0~10 g/cm² の範囲で圧縮力を負荷した。圧縮刺激後の培養上清中の IL-33 濃度を ELISA にて分析した。また、単層培養した破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞を RANKL、IL-33 にて刺激し、TRAP 染色、Real-time RT-PCR、Western blot 法、蛍光免疫染色法にて破骨細胞分化に及ぼす影響を検討した。【結果および結論】3次元培養ゲル圧縮刺激後の培養上清中に IL-33 の分泌の亢進が観察された。また RAW264.7 細胞に対する IL-33 添加より、RANKL に誘導される破骨細胞分化および、破骨細胞分化関連遺伝子 (NFATc1、TRAP、OC-STAMP、CTSK) および関連タンパク (NFATc1) の抑制が認められた。さらに、IL-33 に誘導される破骨細胞分化の抑制メカニズムとして破骨細胞分化抑制遺伝子 IRF-8 の発現亢進による NFATc1 の転写抑制が示唆され、これは IRF-8 の抑制因子である Blimp1 の発現抑制を介すると考えられた。以上の結果から、機械的圧縮刺激が骨芽細胞からの IL-33 産生を亢進し、破骨細胞分化に対し抑制的に作用するメカニズムの一端が明らかとなった。

01-C13

チャーガマッシュルーム水抽出エキスの経口投与によるラット大腿骨欠損部位の修復に及ぼす影響
 ○Aldartsogt Dolgorsuren¹、山下 菊治¹、
 Dalkhsuren Shine-od¹、角田 佳折¹、関 伸一郎¹、
 北村 清一郎¹ (徳大 院 HBS 口腔顎顔面形態)

Introduction: Chaga is a type of fungus that grows in white birch trees in colder northern climates such as Siberian, Norton Europe and Mongolia. Chaga mushroom extract contains SOD, Triterpenoid, Ergosterol, and Saponin with antitumor, immunomodulation, antiviral and antioxidant effects. Chaga has been used as a folk remedy in Siberian and treated for several disease in Mongolian. However, the effects on bone regeneration have not been well documented. **Objective:** The aim of our study was to clarify how the water extract of chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) promoted bone healing. **Material and methods:** Twenty-four male Sprague Dawley rats (SPF/VAF) of four week old were used. Bone defects were caused in both femurs of each rat. The chaga water extract was daily administered for 28 days in chaga group and the samples were examined by micro CT and RT-PCR analysis after two, three and four weeks. On the other hand, control group with water were same analyzed. Still more, we examined the effects of chaga extract on the cell proliferation, metabolic activity and gene expression of MC3T3-E1 cells by using WST8, Apizym test, and microarray assay. **Results and discussion:** The micro CT data showed that BMD and BV/TV significantly increased with time compared with control group. The proliferation of MC3T3-E1 cells was activated by 14% in 3 days and by 10.5% in 10 days by Chaga extracts administration. The calcification of MC3T3-E1 cells was activated by 74.8% from 5 days of Chaga group and increased by 87.2% on 7 days and 84.2% 10 days in the compared with CTR group. **Conclusion:** It was considered that Chaga mushroom extract activated the bone healing process.

01-C15

副甲状腺ホルモン投与ならびに授乳期・カルシウム欠乏食で誘導される骨細胞周囲の骨基質解析について
 ○本郷 裕美¹、佐々木 宗輝²、斎藤 雅美³、
 虎谷 彌¹、宇田川 信之⁴、網塚 憲生¹ (北大 院 歯 硬組織、²長大 院 医歯薬 口腔インプラント、³ブルカー AXS、⁴松歯大 口腔生化学)

【目的】 1960年代に Bélanger により骨細胞性骨溶解が提唱されており、我々は、その可能性について明らかにするため、骨細胞およびその周囲の骨基質の変化について組織化学的に解析した。
【材料と方法】 生後 11 週齢の雄性 ICR マウスおよび RANKL^{-/-}マウスに hPTH(1-34; 80 μg/kg) を外頸静脈から投与し、数時間後における骨細胞とその周囲の骨基質を原子間力顕微鏡 (AFM) によるナノインデンテーション、透過型電子顕微鏡観察、免疫電顕観察、各種の組織化学、血中 Ca 濃度測定およびカルセイン投与による蛍光顕微鏡観察を行った。さらに授乳期マウスに対して Ca 欠乏食 (Ca 含有量: 0.018%) を与え、12・24・36・48 時間後に固定し、von Kossa 染色を行った。
【結果と考察】 野生型マウスおよび RANKL^{-/-}マウスともに、PTH 投与 1 時間後で血中 Ca 濃度は上昇した。PTH 投与 6 時間後で皮質骨の骨小腔が拡大し、その周囲に von Kossa 陰性の未石灰化骨基質が認められた。さらに AFM 観察により、骨細胞周囲にこのような形状変化がなくとも、弾性率は著しく低下していることが示唆された。電顕観察では、骨小腔壁は凹凸を認め、拡大した骨小腔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。このような皮質骨骨細胞は、破骨細胞とは異なるプロトンポンプ・サブユニット陽性反応を示した。また、蛍光顕微鏡観察すると、骨小腔周囲にカルセイン標識を認めたことから、骨小腔壁へ石灰化沈着することが推察された。授乳期マウスに Ca 欠乏食を与えると皮質骨の骨細胞周囲に von Kossa 陰性の未石灰化骨基質が広がっている領域が観察された。以上より、骨細胞は PTH 投与ならびに血中カルシウム濃度に対応して、骨小腔周囲の骨基質を溶解し、また石灰化沈着を行う可能性が示唆された。

01-C14

副甲状腺ホルモン (PTH) 間歇投与の投与量・投与頻度の違いによる骨の細胞群の変化について
 ○山本 知真也¹、長谷川 智香¹、佐々木 宗輝²、
 虎谷 彌¹、織田 公光³、網塚 憲生¹
 (¹北大 院 歯 硬組織、²長大 院 医歯薬 口腔インプラント、³新大 院 医歯 生化学)

【目的】 副甲状腺ホルモン (PTH) は骨形成を誘導する骨粗鬆症治療薬であるが、その間歇投与頻度の違いが骨形成にどのように影響するか未解明である。我々はマウスに hPTH(1-34) を異なる投与量および投与頻度で投与した骨の微細構造について組織化学的に解析した。**【材料と方法】** 生後 6 週雄性マウスに PTH (20 μg/kg/日、20 μg/kg/回、80 μg/kg/日、80 μg/kg/回) を 4 回/日、2 回/日 (高頻度群)、1 回/日、1 回/2 日 (低頻度群) で 2 週間、腹腔内投与した。同マウスをアルデヒド固定後、通常法にてパラフィンまたは Epon 樹脂に包埋し、各種の組織化学ならびに透過型電子顕微鏡観察を行った。**【結果と考察】** PTH 投与により形成される骨は、1 日当たりの総投与量ではなく、投与頻度が増加するほど上昇する傾向が認められた。また高頻度群を観察すると多数の不規則な骨梁が形成されており、鋸歯状の骨表面やセメントラインを観察した。骨梁周囲に ALP 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ており、活発なリモデリングが推測された。一方、低頻度群を観察すると前骨芽細胞の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、太い骨梁が形成されていた。また、TRAP 陽性破骨細胞の数はコントロール群と比較して明らかな差は認められなかった。以上から、高頻度投与では活発なリモデリングにより細い多数の鋸歯状の骨梁が形成されるのに対し、低頻度投与では滑らかで太い骨梁が形成される可能性が示唆された。

01-D1

咀嚼筋の下顎骨への付着形態獲得プロセス
 ○山本 将仁¹、北村 啓¹、山根 茂樹¹、
 梅澤 貴志¹、阿部 伸一¹ (東歯大 解剖)

【目的】 筋と腱の結合には、中間径フィラメントである desmin が重要な役割を担っている。これまで我々は、この desmin を指標とすることで、胎生期の顎舌骨筋がメッケル軟骨と下顎骨の両方に付着している可能性を見出した。しかしながら、筋と骨の付着を評価するには、筋腱接合部の調査だけでは不十分であると考えられる。近年、腱に特異的な発現をする Tenomodulin が、その分化に重要であることがわかってきた。腱の発生を観察することは、筋と骨の付着を裏付ける証拠となる。しかしながら、咀嚼筋の腱発生を検索した報告は少なく、不明な点が残されている。そこで今回は、筋腱接合部と腱の発生を検索することで、咀嚼筋が下顎骨に付着する過程を明らかにした。
【方法】 試料として ICR 系マウス (胎生 11 日から 15 日) を用いた。通常法に従いパラフィン包埋を行い、連続切片を作製した。形態学的観察のため H-E 染色を、タンパクの局在を検索するため、免疫組織化学的染色を行った。**【結果および考察】** 各咀嚼筋の desmin は胎生 12 日から筋腱接合部に集積ははじめ、その傾向は胎生 15 日まで変わらなかった。また、Tenomodulin も胎生 12 日より発現しており、この傾向は胎生 15 日まで変わらなかった。中でも、胎生 12、13 日の内側翼突筋のみ、desmin の集積部位と Tenomodulin が発現する腱にメッケル軟骨が接していた。胎生 14 日になると、全ての咀嚼筋が下顎骨に付着するようになった。研究結果から、胎生初期において、内側翼突筋のみがメッケル軟骨と接触していた。したがって、下顎骨が発生する前の内側翼突筋はメッケル軟骨の位置を維持するのに重要であると考えられた。また、他の咀嚼筋は下顎骨が発生するまでは付着する構造物がないことも確認できた。このことから、咬筋、側頭筋、外側翼突筋の筋腱接合部ならびに腱は、下顎骨発生以前には付着の準備をしている可能性が示唆された。

O1-D2

CT画像計測法を用いた無歯顎症例における上顎洞の容積

○高橋 雄輔¹、一條 幹史¹、土屋 真人¹、渡辺 孝夫¹、熊坂 さつき²、高橋 常男¹
(¹神歯大 院3次元画像解剖、²駒大)

【目的】上顎洞は副鼻腔の中で最大の容積を占めているが、その容積については人種差、年齢差など、個体差の大きい含気洞として知られている。近年ではインプラント埋入など歯科臨床との関わりが極めて深い構造物となっている。本研究では上顎洞の容積をCTダイコムデータを用いて計測し、無歯顎群と有歯顎群との比較を行い、歯の残存状態が上顎洞の容積に影響を与える可能性について検討した。【方法】解剖実習に供されるご遺体をご遺族の了解のもと4列マルチスライスCT装置にて撮影した(スライス幅1mm、スライス間隔1mm) 全症例のうち画像上で粘膜に肥厚が存在しない100症例について検索対象とした。容積計測はOsilixプログラム3Dリージョンローイングを用いた。【結果と考察】上顎洞容積は無歯顎になると縮小する傾向が見られ、男性では無歯顎群と有歯顎群の洞容積に統計的に有意な差が得られた($p < 0.05$)横断的研究から左右の上顎洞の大きさには差が先行研究で明らかにされているが、片側の臼歯部が欠損している症例では臼歯部が残存している側の上顎洞容積と差がでる傾向が見られ洞容積が臼歯の欠損による咬合力の減少により容積が縮小する可能性が示唆された。

O1-D3

切歯管周囲の骨内部構造～三次元立体構築像を用いた定量的評価～

○福田 真之¹、松永 智¹、大峰 悠矢¹、笠原 正彰¹、小高 研人¹、阿部 伸一¹
(¹東歯大 解剖)

【目的】上顎前歯部における欠損部補綴治療では、インプラント手術を選択することが可能であるが、審美性、メカノバイオロジー、発音などの様々な要素に配慮する必要性が術者に要求される。切歯管(IC)は血管や神経が通過し、その周囲ではそれぞれの分枝が走行しているため、解剖学的に重要な構造物である。しかしながら、IC周囲の骨内部構造についての解剖学的研究は、未だ報告が少ない。そこで本研究は、マイクロCTを用いて無歯上顎骨におけるIC周囲の基礎的データを取得し、有歯上顎骨との比較検討をするを目的とした。【方法】東歯大解剖学講座所蔵の有歯上顎骨20体、無歯上顎骨20体を用いた。これらの試料をマイクロCTにて撮像し、得られたデータを用いて三次元立体構築像を作製した。計測は、TRI-3D/BONを用いて、(1)長さ(ICの前方歯槽部、IC、ICの後方歯槽部)(2)骨幅(ICの前方歯槽部、ICの後方歯槽部)(3)ICの直径(4)ICの体積(5)BV/TV(6)BMDの計測項目を設定し、行った。【結果および考察】多くの場合において、ICの口腔側における開口部は、切歯窩が1つ存在していた。一方鼻腔側における開口部は途中で骨壁により2つに区切られ、鼻腔底に開口する切歯孔の存在が観察された。また、有歯上顎骨において上顎中切歯の歯根とICとの距離は、非常に近接していることを確認した。ICの長さは計測した結果、無歯上顎骨において、最も短い値を示した。またICの唇側、口蓋側の歯槽骨の高さ・幅は、無歯上顎骨の方が低値を示した。一方ICの直径は、有歯・無歯上顎骨共に同様の値を示した。BV/TV、BMDは、無歯上顎骨の方が、低値を示した。以上により、IC周囲の骨内部構造は、口腔内の歯の有無によって有意に異なることが考察された。またインプラント治療では術前の評価として、三次元のイメージ画像が治療計画の立案に重要であると示唆された。

O1-D4

ヒト舌骨の3次元画像解剖学的検討～下顎骨形態との相関～

○一條 幹史¹、土屋 真人¹、高橋 雄輔¹、高橋 常男¹(¹神歯大 院 3次元画像解剖)

【目的】ヒト舌骨は舌骨体および左右1対の大角と小角から構成され、外観はU字型をなす。位置はほぼ第3頸椎の高さで甲状軟骨上端の直上にあり、他の頭蓋骨とは分離・独立した小骨である。頭蓋や下顎骨とは頸部筋や靭帯を介し連結している。先行研究としてCT画像を使用した舌骨の形態学的研究は散見されるが、下顎骨との形態学的関係を明らかにした報告はない。本研究ではヒト舌骨の形態学的特徴をより明確にするため、下顎骨形態との類似性および身長との関係を検討した。【資料および方法】神歯大歯学部解剖学実習遺体、男性50名(平均84.5歳)、女性53名(平均84.4歳)の舌骨・下顎骨を検索対象とした。4列マルチスライスX線CT装置(Asteion S4)を用い、管電圧120kV、管電流100mA、スライス厚1.0mmにて、解剖遺体の全身撮影を行なった。CT画像データを医用画像ソフトウェア「OsiriX Ver.5.5.6」を用いて、3DMPRから画像における測定部位の座標を抽出し、三角関数を用いて舌骨・下顎骨の3次元上の2点間の距離・角度を計測した。また、身長はlocalizer上にて工藤の計算式を使用し推定した。舌骨各部位と下顎骨、身長について統計学的検討を行った。【結果および考察】舌骨前後長(大角遠心端～舌骨体前端)と下顎骨全体長(下顎頭上端中点～オトガイ下点)に有意な相関を認めた($R=0.49, P<0.01$)。舌骨大角幅と下顎角幅に有意な相関を認めた($R=0.48, P<0.01$)。両大角遠心端と舌骨体前端のなす角度と両下顎角とオトガイ下点のなす角度に有意な相関を認めた($R=0.41, P<0.01$)。また身長に関しては舌骨前後長と有意な相関を認めた($R=0.61, P<0.01$)。以上より、舌骨と下顎骨は類似の形態学的特徴を有していること、また前後長は身長と関与することが明らかとなった。類似・相関関係に関わる一つの因子として、舌骨と下顎骨を連結する舌骨上筋群の張力パランスの影響が予測される。

O1-D5

間葉系細胞の共培養が骨格筋芽細胞のMHCに与える影響

○梅澤 貴志¹、芹川 雅光¹、山根 茂樹¹、阿部 伸一¹(¹東歯大 解剖)

目的上皮と間葉の相互作用が様々な器官の発生、形態形成において重要であることは知られているが、筋組織に対して間葉系細胞がどのような影響を与えるのかという報告は少なく、不明な点が多い。我々はこれまで上皮細胞シートと骨格筋芽細胞シートの間で間葉系細胞の層を挟んだ正常組織に模した三層構造の積層シートを開発し、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。そこで今回は日本家兎骨格筋芽細胞と間葉系細胞を共培養し、間葉系細胞が骨格筋芽細胞の発生学的に重要なミオシン重鎖(MHC)の発現パターンに影響を与えるかどうか検討した。方法日本家兎口腔粘膜下組織から分離した骨格筋芽細胞は6ウェルプレートインサート上に播種し、シート状になるまで培養した。次に間葉系細胞の有無による影響を検討するため、コラーゲンゲルのみ、または日本家兎より採取した間葉系細胞を含んだコラーゲンゲルを用意し、骨格筋芽細胞シート上に積層した。培養後積層シートを回収し形態学的観察のためH-E染色を、MHCの発現パターンを観察するため、遅筋、速筋それぞれを認識する抗体で免疫組織化学的染色を行った。またmRNAレベルでのMHC確認のためRT-PCR法を行いMHCタンパクの定量化のためウェスタンブロット法を行った。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。免疫組織化学的染色及びRT-PCR法により遅筋で多く観察されるMHCタイプ1、速筋で多く観察されるMHCタイプ2の存在を確認できた。ウェスタンブロット法において、MHCタイプ1ならびにタイプ2の発現パターンは間葉系細胞との共培養によって異なることが考えられた。

01-D6

Grocho/TLE は MyoD の転写活性を調節し筋分化を制御する

○古株 彰一郎¹、杉山 悟郎¹、佐藤 毅²、依田 哲也²、片桐 岳信³、自見 英治郎¹
(¹九歯大 分子情報生化学、²埼玉大 医 口腔外科、³埼玉大 ゲノム医学研究セ 病態生理)

Osteoblasts, adipocytes and myoblasts are all derived from a common mesenchymal stem cells precursor. The Groucho/TLE family are transcriptional co-repressor proteins that do not bind DNA directly, but are recruited by transcription factors, and play critical roles during development and cell differentiation events. We recently reported that TLE3, a Groucho/TLE family member, induces adipogenesis and suppresses osteoblastogenesis of bone-marrow mesenchymal stem cells. TLE3 performs these functions by acting on PPARγ and Runx2, which are master regulators of adipogenesis and osteoblastogenesis, respectively. In this study, we demonstrate that TLE3 represses transcriptional activity of MyoD, a master regulator of myogenesis, thereby suppressing myoblast differentiation in vitro. Firstly we examined the effect of TLE3 on the expression levels of MyoD in C2C12 myoblasts. Over-expression of TLE3 did not affect mRNA levels of MyoD. Next we determined the effect of TLE3 on transcriptional activity of MyoD assessed by myogenin luciferase (MyoG-luc) activity. Over-expression of TLE3 repressed MyoG-luc activity induced by transfection of MyoD in 10T1/2 fibroblasts. Over-expression TLE3 also suppressed mRNA levels of myogenin, muscle creatine kinase, and myosin heavy chain 14 induced by MyoD while these mRNA levels were elevated in the TLE3 knocked down cells by using shRNA against TLE3. Moreover, immunoprecipitation assay revealed that TLE3 interacted with MyoD in 10T1/2 cells. And also introduction of a point mutation in the WD40 domain of TLE3 diminished the ability of TLE3 to affect MyoD transcription in 10T1/2 cells, suggesting TLE3 interacts with MyoD via WD40 domain to modulate transcriptional activity. In conclusion, we identify TLE3 as a transcriptional regulator of MyoD in vitro. These data also suggests that TLE3 may transcriptionally control the global cell fate of mesenchymal stem cells across all three potential lineages of osteoblast, adipocyte and myoblast by simultaneously regulating MyoD, PPARγ and Runx2.

01-D8

老化の病態の根底に生物学的事象
○Bhawal Ujjal¹ (日大 松戸歯 生化学・分子生物)

Objective: Human differentiated embryo chondrocyte expressed gene 1 (DEC1), also known as BHLHE40/Bhlhb2/Stral3/Sharp-2, is a basic helix-loop-helix transcription factor that is widely used as a marker of senescence in vivo, and it could directly induce senescence in cultured cells. The exciting premise that activation of epithelial-mesenchymal transition (EMT) might be linked to suppression of cellular senescence has been proposed in the context of EMT-regulating transcription factor, Twist1. We sought to elucidate the hypothesis that DEC1 might play an important role in a connection between Twist1, and senescence. Method: Transient Transfection, Luciferase Reporter Assay, Chromatin Immunoprecipitation, siRNA transfection, Real-time RT-PCR, Immunohistochemistry. Result: We showed that DEC1 binds to the E-box of Twist1 and suppresses its activity. Twist1 knockdown resulted in a moderate increase in senescence-associated beta-galactosidase activity. Immunohistochemical analysis revealed a notably higher expression of DEC1 in the 2-year-old mice gingival tissues compared with that in tissues derived from 3-month-old mice. Conclusion: These findings suggest that DEC1 is involved in regulating cellular senescence, contributing to aging.

01-D7

β₂アドレナリン受容体刺激による咬筋肥大に対する cAMP 活性化因子 Epac の役割
○大貫 芳樹¹、梅木 大輔¹、奥村 敏¹
(¹鶴見大 歯 生理)

【目的】β₂アドレナリン受容体 (β₂-AR) の慢性刺激が骨格筋の肥大を誘発することは多く報告されているが、その作用機序には不明な点が多い。一方、β-AR シグナル伝達経路のセカンドメッセンジャーである cAMP により活性化される因子として、Protein kinase A 以外に Epac (exchange protein activated by cAMP) が近年報告された。Epac は種々の細胞において分泌、増殖、細胞接着等への関与が示唆されているが、骨格筋肥大に対する役割については未だ報告がない。今回の実験では、Epac1 遺伝子欠損マウス (Epac1KO) を用い、クレンブテロール (CB、β₂-AR 作動薬) 投与による咬筋肥大に対する Epac の役割を明らかにすることを目的とした。【方法】Wild type (WT) および Epac1KO (KO) マウスを、それぞれ対照群と CB 投与群 (2 mg/kg/day) に分け、計 4 群 (WT 群、WT+CB 群、KO 群、KO+CB 群) とした。3 週間後、咬筋 (両側) を摘出し、筋重量を測定した。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 (MHC) アイソフォームの構成を SDS-PAGE 法にて定量的に解析した。また、Akt や CaMKII などの筋肥大に関与する可能性のあるシグナル因子のリン酸化レベルをウェスタンブロッティング法にて定量的に解析した。【結果】CB 投与により、WT では咬筋の重量および筋線維直径が有意に増加したのに対し、KO では有意な増加は観察されなかった。同様に、WT では、CB 投与により、Akt とその下流のシグナル因子 S6K1、4E-BP-1、GSK-3β、および CaMKII とその標的因子 HDAC4 のリン酸化レベルが有意に増加したのに対し、KO では有意な増加は観察されなかった。一方、WT と KO 共に、CB 投与による MHC IId/x の減少と MHC IIb の増加が観察された。【結論】β₂-AR 刺激は、Epac1 を介して Akt および CaMKII シグナル伝達経路を活性化し、咬筋の肥大を誘発することが示唆された。

01-D9

N-BPs は alkyl 型・heterocyclic 型を問わずリン酸トランスポーター SLC20/34 を介して細胞内に取り込まれ炎症壊死を起こす
○佐藤 衣莉^{1,2}、土谷 昌広^{1,3}、木山 朋美¹、大泉 丈史¹、山口 晃史¹、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 病院、³東北福祉大)

【背景・目的】骨吸収抑制薬 bisphosphonates (BPs) には窒素含有 N-BPs と非含有 non-N-BPs があり、作用は N-BPs >> non-N-BPs だが、N-BPs には炎症・顎骨壊死の副作用がある。例えば、zoledronate (Zol, 2001 年認可) と minodronate (Min, 2009 年認可) の骨吸収抑制作用は同等だが、顎骨壊死は Zol で多数報告され、Min での報告はない。Zol と Min は heterocyclic 型 N-BPs である。一方、ibandronate (Iba, 2005 年認可) と alendronate (Ale, 1997 年認可) は alkyl 型 N-BPs であり、いずれも顎骨壊死の報告がある。しかし、N-BPs の処方はそのそれぞれ異なるため、臨床結果で N-BPs の副作用を相対的に評価できない。N-BPs の副作用の予測と相対的評価には、動物実験が必要である。私達は、(i) マウスでの N-BPs の作用はヒトと相関し、(ii) non-N-BPs の etidronate (Eti) と clodronate (Clo) はリン酸トランスポーター SLC20/34 の抑制により、マウスでの N-BPs の炎症壊死作用を抑制することを報告した。本研究では、上記 N-BPs の炎症壊死作用をマウスで比較した。【方法】各薬物またはその混合液をマウス耳介に注射し、炎症壊死を測定した。骨吸収抑制作用は若いマウスへの BP 一回投与で脛骨に生じる高骨密度帯 (BP-band) により評価した。【結果】N-BPs の炎症壊死作用と骨吸収抑制は Zol ≒ Min > Iba > Ale であり、Eti, Clo, phosphonoformate (SLC20/34 抑制薬) は N-BPs 全ての炎症壊死作用を抑制した。マウス耳介に SLC20 を確認した。【考察】Alkyl 型・heterocyclic 型を問わず、N-BPs は SLC20/34 を介して細胞内に取り込まれ、炎症壊死を起こす潜在効果があり、副作用の予防に投与方法は極めて重要である。

01-D10

Interleukin-17 刺激により誘導された滑膜細胞の生物学的活性の解明

○櫻井 拓真^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、西原 達次¹
(¹九歯大 感染生物、²九歯大 顎顔面外科)

【目的】関節リウマチ (RA) をはじめとする自己免疫疾患や慢性炎症で重要な役割を果たす Interleukin-17 (IL-17) は、広範囲の細胞に作用し、慢性炎症の惹起や骨破壊に関与している。しかし、RA の顎関節を含む関節滑液内で IL-17 の上昇が知られているが、生物学的活性については不明な点が多い。本研究では、滑膜細胞における IL-17 の作用に着目し、検討を行った。【方法】ヒト滑膜肉腫細胞株 (HS-SY-2) を用いて、IL-17 受容体である IL-17R の局在を免疫染色法で検討した。HS-SY-2 を IL-17 で刺激し、炎症性サイトカインである IL-1 β および軟骨マトリックス破壊に関与する主な酵素である Matrix Metalloproteinase-3 (MMP3) の発現を real time RT-PCR 法、Western blotting 法 (W.B) で検討し、さらに抗 IL-17 中和抗体により IL-17 による MMP3 発現亢進の抑制を検討した。HS-SY-2 において IL-17 により誘導されるシグナル経路について W.B で解析し、活性が確認できた分子について選択的阻害剤を用いてシグナルを特定した。【結果】免疫染色法により HS-SY-2 細胞表層に IL-17R の局在が観察された。IL-17 刺激により HS-SY-2 細胞内の IL-1 β 、MMP3 の mRNA およびタンパクレベルの発現が亢進し、抗 IL-17 中和抗体により MMP3 発現亢進が抑制された。MMP3 の発現に関与するシグナル伝達の解析より JNK、ERK、P38 の関与が認められた。HS-SY-2 に対する JNK 選択的阻害剤の前処理により IL-17 による MMP3 の発現の亢進が抑制された。【考察】HS-SY-2 において IL-17 が JNK の活性を介し、IL-1 β および MMP3 の発現を亢進し、関節の慢性炎症、関節破壊へ関与する可能性が示唆された。現在、MAPK の関与について詳細に検討しているところである。

01-D12

歯科基礎医学教育におけるメモリーツリーを用いたチーム基盤型学習システム

○葛城 啓彰¹ (日歯大 新潟生命歯 微生物)

【目的】学習者をより能動学習に導くため、ICT を活用したチーム基盤型学習 (TBL) を従来の微生物学一斉講義に替えて 2011 年度より導入し 3 年が経過し学生から一定の評価を得たので報告する。【方法】TBL 導入に際し、予習リストに基づくノート作成、予習準備確認プレテスト (RAT)、グループ討論によるメモリーツリー作成と発表、ピアレビュー、ポートフォリオの 5P システムを学生に説明し同意を得て実施した。学生は 6-7 名ずつ 10-12 グループに分割した。RAT には即時反応解析システムを備えた携帯電話による授業集計システムを使用した。グループの学習成果は、メモリーツリー作成とポスタープレゼンテーション形式による全グループ同時発表および携帯電話による授業集計システムを利用した相互評価とした。コース全体の評価は TBL の形成的評価 (50%) と後期試験の総括評価 (50%) を等分に合算した。【結果】講義への出席状況は、3 年間とも 96% 以上で講義中心の前期と TBL 主体の後期との間に有意差は認められなかった。TBL における RAT の成績は、個人よりグループ討論後で有意に上昇した。ピアレビューの結果は、2011-2012 年では、グループ内でほとんど同一であったが、2013 年では予習ノート、IRAT の成績と関連していた。授業支援システムへのアクセス数は後期 TBL で有意に増加し、再試験該当者は 3 年間とも減少した。TBL の形成的評価と後期試験の総括評価の間には、有意な相関が認められた。【結論】TBL は学生に能動学習を促す有効な手段であり、メモリーツリーの相互評価は能動学習のモチベーションに寄与し、ピアレビューの明確化に直結するものと考えられた。

01-D11

免疫調節膜表面分子 Tim-3 の破骨細胞での発現と炎症性骨破壊制御

森山 加奈子^{1,3}、久木田 明子²、上原 範久¹、原 旌旗¹、久本 由香里¹、高橋 一郎³、
○久木田 敏夫¹ (¹九大 院歯 分子口腔解剖、²佐賀大 医 微生物、³九大 院歯 矯正)

【目的】歯周病や関節炎では炎症性の骨吸収・骨破壊が起こるが、Th1 細胞等がこれらの慢性炎症の制御においても重要であることが知られている。Tim-3 (T cell immunoglobulin and mucin domain 3) という膜表面分子が Th1 細胞特異的細胞表面マーカーとして発見された。Tim-3 のリガンドである galectin-9 が炎症を抑制することが報告されているが、Tim-3 の骨代謝への関与については不明の点が多い。本研究では、炎症性骨破壊の制御に Tim-3 が関与する可能性について検討した。【方法】炎症性骨破壊の系としてアジュバント関節炎ラット (AA ラット) を用い、凍結切片を作成し免疫染色、TRAP 染色等を行った。破骨細胞分化系として破骨前駆細胞株 RAW-D 細胞及び、マウス・ラットの骨髄細胞を用いた。【結果と考察】炎症性骨破壊部位の骨髄腔において広範囲に渡って多数の Tim-3 陽性細胞が認められ、骨破壊部位に Th1 細胞等が多数存在することが示唆された。正常ラットの同部位での Tim-3 の発現を検討したところ、Tim-3 の発現が TRAP 陽性細胞にしばしば一致して認められ、正常ラットでは破骨細胞 (あるいはその前駆細胞) が Tim-3 を発現することが示唆された。RAW-D 細胞及び骨髄細胞を用いた破骨細胞分化系を用いて解析したところ、破骨細胞及び単核の前駆細胞が Tim-3 陽性であり、Tim-3 の mRNA と蛋白質を発現することを確認した。また、galectin-9 は糖鎖結合部位を介して破骨細胞分化を顕著に抑制した。AA ラット距腿関節近傍に galectin-9 を投与したところ、関節周囲の骨の破壊が顕著に抑制された。本研究により破骨細胞及びその前駆細胞が Tim-3 を発現し、リガンドである galectin-9 により炎症性骨破壊が制御されることが明らかになった。

01-D13

3D-CT 画像を併用した解剖学教育と社会貢献

○高橋 常男¹ (神歯大 院 三次元画像解剖)

本学内に監察医による法医解剖、事件・事故性が強く疑われる変死体の行政解剖や承諾解剖を行うための法医解剖施設 (神奈川県死因調査事務所) が学内に開設されて 10 年、遺体専用 CT が稼働を開始して 5 年が経過した。解剖学教育への利用を主たる目的として導入された装置であるが、Autopsy imaging (死亡時画像診断) のための撮影も少数ながら経験してきた。引き続き、地域への貢献策の一つとして利用促進を図っていく方針である。解剖学実習では、剥皮-皮神経-皮静脈、そして次第に深層の筋や付随する血管神経の剖出を進め、後半は体腔内諸臓器の解剖など、臓器を中心とした解剖を学ぶのが一般的であり、学生たちのメス先 1cm に実際に何があるのかをイメージさせるという観点での教育は行われてこなかった。臨床とは逆の従来のアプローチを見直し、メスを用いた解剖と断面と透過像など三次元画像を併用し、自身が担当する解剖体への関心をより高めることが我々の真のねらいである。本学ではご遺族の同意を得てすべてのご遺体の CT データを蓄積しており、画像情報は時を経てもいつでも教育現場へフィードバックできる体制が確立されている。現状では、設備上の制限もあり、実習中に目の前の解剖体の CT 像を随時参照するところまでは実現し得ていない。しかし、近年のタブレット型端末の普及はその敷居を低くしてくれるものと確信する。成書では把握しにくい三次元的な構造を Computer graphics ベースで把握しやすくなる教材の開発と利用も数年来取り組んできたもう一つのテーマである。三次元画像を介在させて座学と実習を繋ぐシステム教育を夢見ながら、現在も作業は続いている。本口演では、運用上の具体例や問題点を示しつつ、今後ますます広がると考えられる遺体専用 CT の教育への効果を中心として論じるつもりである。

01-D14

歯学部薬理学教育における学生主体型ロールプレ
イの有用性
○山崎 純¹、柳田 俊彦² (福歯大 分子機能制
御、²宮崎大 医 臨床薬理)

薬理学教育では薬物治療の基本的概念を教えるが、対象となる学生にとっては基本知識の暗記に偏りがちである。しかしながら、全身疾患により多剤を処方される患者が歯科を受診する状況下で、禁忌症や薬物相互作用に関する意識付けが臨床医歯学との橋渡しとして不可欠である。これまで、宮崎大学医学部を中心に、臨床を意識した薬理学教育を目指して学生主体型ロールプレイを医学部、薬学部、歯学部の共通プログラムで行ってきた。福岡歯科大学での学生主体型ロールプレイ演習は、平成 24 年度から臨床薬理学講義 (学部 3 年生) の最終回に実施してきた。全身疾患を有する患者に歯科で処方するという内容の症例を予め学生に提示して、症例と治療薬などについての事前学習をさせた。実施当日には、歯科医師グループ (主治医と補佐的医師) は患者らにこれまでの経過や病状、今後の薬物治療方針などを説明し、患者グループ (患者と家族または友人) は自らが患者あるいは家族であるという立場で服用法、副作用などについて質問した。司会は見学学生からの質問や意見を受け付け、ロール体験学生からの感想を聞いて最後にロールプレイの総括をした。過去に実施したアンケートの結果によると、80%以上のロール体験学生から学習姿勢とモチベーションの向上があるとの回答があったが、見学学生においてはその効果は限定的であった。他方、他学部との比較において勉強の質の変化が必要とする意見が多いことが本学部の特徴であった。この調査を受けての教育効果向上のための工夫を紹介する。

01-E1

味蕾と唾液腺に分化する多能性上皮幹細胞の局在
領域の同定
○太田 正人^{1,2} (日女大 家政 食物 食物生
物、²医科歯科大 院医歯 分子発生)

Molecular candidates as marker for adult stem cells have been reported for many regenerative mammalian tissues. Hes1 (hairy and enhancer of split-1) has been identified as a marker for tissue stem cells in neuron, pancreatic beta cells, and other tissues. Hes1 null mutants indicated some phenotypes of cell differentiation in these tissues. Taste epithelium regenerates constantly, but the identification of localization of adult taste stem cells remains elusive. In this study, we found that BrdU-label retaining cells were remained at the bottom of trench areas at the base of circumvallate papillae and mesenchymal cells derived from cranial neural crest cells weakly expressed in the basal area of taste buds and that BrdU label-retaining cells in posterior tongue are a subset of pankeratin-positive epithelial cells. Supportingly, recent lineage-tracing experiments using an inducible Cre knock-in allele in combination with Rosa26-LacZ and Rosa26-tdTomato reporter strains showed that Lgr5-expressing cells gave rise to taste cells, perigemmal cells, along with self-renewing cells at the bottom of trench areas at the base of circumvallate papillae. According to immuno-staining, it is suggested that translocation of Hes1 protein from nucleus to cytoplasm may impact maintenance of adult taste stem cells or progenitor cells in the posterior portion of the tongue.

01-D15

災害医療歯科学講座の役割
○山田 良広¹ (神歯大 院災害医 法医歯科)

【目的】神奈川県歯科大学では、文科省の私立大学戦略的基盤形成支援事業の地域に根ざした研究で、横須賀湘南地域における大規模災害時の歯科医療実践モデルの創出と人材育成拠点の形成を課題とした大学院災害医療歯科学講座を開講した。【方法】研究では震災関連死の分析と口腔ケアの関連についての研究を学内に公募し、基礎・臨床・身元確認に関する 30 のプロジェクトを各分野が担当し、今年度末までにまとめる計画である。教育では災害医療歯科学講座が中心となり大学院に災害歯科医療の臨床コースを開講するとともに歯学部の教育に災害歯科医療の講義を行う。【結果と考察】新講座では災害時の歯科医療と歯科所見による身元確認作業を総合的に研究する。具体的には、阪神淡路・東日本大震災などで必要であった歯科医療の調査と分析・最小限の診療回数で効果的な保存・補綴・口腔外科治療の検討と習得である。身元確認作業では遺体の検死経験が必要不可欠であるため、大学の解剖室で行われている法医学解剖への参加。照合作業に有効な生前歯科資料の選択とその保管とデータベース化の検討。さらに、確実な身元確認法の確立のための、生前の DNA の保管と遺体資料の迅速な DNA 鑑定法の開発である。これらを効率的に可能にするため歯科医師だけではなく歯科技工士、歯科衛生士に加え、歯科関係以外の医療従事者も参加して、地域の行政および歯科医師会との協力体制を形成し、災害に強い人材を育てていきたい。

01-E2

Shh シグナリングと Wnt シグナリングの相互関
係が口唇の癒合に果たす役割
○黒坂 寛¹ (ストワーズ医学研)

Cleft lip, which results from impaired facial process growth and fusion, is one of the most common craniofacial birth defects. Many genes are known to be involved in the etiology of this disorder; however, our understanding of cleft lip pathogenesis remains incomplete. In the present study, we uncovered a role for sonic hedgehog (SHH) signaling during lip fusion. Mice carrying compound mutations in hedgehog acyltransferase (Hhat) and patched1 (Ptch1) exhibited perturbations in the SHH gradient during frontonasal development, which led to hypoplastic nasal process outgrowth, epithelial seam persistence, and cleft lip. Further investigation revealed that enhanced SHH signaling restricts canonical WNT signaling in the lambdoidal region by promoting expression of genes encoding WNT inhibitors. Moreover, reduction of canonical WNT signaling perturbed p63/interferon regulatory factor 6 (p63/IRF6) signaling, resulting in increased proliferation and decreased cell death, which was followed by persistence of the epithelial seam and cleft lip. Consistent with our results, mutations in genes that disrupt SHH and WNT signaling have been identified in both mice and humans with cleft lip. Collectively, our data illustrate that altered SHH signaling contributes to the etiology and pathogenesis of cleft lip through antagonistic interactions with other gene regulatory networks, including the canonical WNT and p63/IRF6 signaling pathways.

O1-E3

歯周靭帯形成を解析するための *in vivo* モデルの構築

○吉本 由紀¹、宿南 知佐¹
(¹ 広大院医歯薬保 生体分子機能)

歯周靭帯は歯根と歯槽骨の間に存在し、歯を歯槽骨に固定する石灰化しない線維性結合組織である。咬合力に対する抵抗性を付与し、触感を感知するための感覚受容器としても機能している。歯周靭帯は、歯根形成と連動して形成されるが、その形成メカニズムには不明な点が多い。そこで、本研究では、歯周靭帯及び歯根の形成に関わる分子メカニズムを明らかにするために有用な *in vivo* モデルを構築するために、歯周靭帯形成領域で *Enhanced Green fluorescent protein (GFP)* あるいは *Cre-recombinase (Cre)* を発現するトランスジェニックマウス (Tg マウス) の系統を樹立した。Scleraxis (*Scx*) は basic helix-loop-helix (b-HLH) 型の転写因子で、前駆髄・靭帯細胞と髄・靭帯細胞で発現する。髄・靭帯特異的な遺伝子発現を担う転写制御領域は上流約 4 kb 及び下流約 5 kb に存在するので、この転写制御領域を用いて *Scx* の発現領域で *GFP* または *Cre* を発現する *ScxGFP* Tg マウスと *ScxCre* Tg マウスを作成した。確立された *ScxGFP* では、前駆髄・靭帯細胞、髄・靭帯細胞、歯周靭帯細胞だけでなく象牙芽細胞においても *GFP* の発現が認められた。*ScxCre* Tg マウスと *Tandem (td) Tomato* を発現するレポーターマウス *Cg-Gt(ROSA)26Sortm14(CAG-TdTomato)Hze/J (Ai14)* を交配して得られた *ScxCre;Ai14* の新生仔マウスでは、将来、歯根や歯周靭帯を形成する歯小嚢や歯乳頭において *Cre* の発現が認められた。以上の結果より、歯周靭帯の可視化、細胞系譜や解析、コンディショナルノックアウトマウスの作成に有用な Tg マウスの系統を確立することができたと考えられる

O1-E5

髄細胞の発生分化におけるヒストンメチル化酵素 G9a の機能

○和田 悟史¹、出野 尚²、島田 明美²、
上運天 太一¹、中島 和久²、中村 芳樹¹、
二藤 彰²
(¹ 鶴見大 歯 矯正、² 鶴見大 歯 薬理)

【目的】 髄・靭帯はコラーゲンに富み、Scleraxis などの髄・靭帯特異的分子を発現する。髄・靭帯組織の発生・分化過程ならびにその遺伝子発現制御機構は不明な点が多い。ヒストン末端のメチル化修飾が遺伝子発現制御や細胞分化に関わることが知られており、本研究では、特にヒストン H3 の 9 番目のリジン残基 (H3K9) のメチル化を触媒する酵素である G9a に着目し、G9a が髄細胞の分化制御に関わるか否かについて検討した。【方法】 髄・靭帯細胞の発生・分化過程でヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の発現を調べるために、マウス胎児組織における whole mount in situ hybridization (WISH) と初代培養髄細胞から抽出した RNA での qPCR を行った。生後の G9a flox/flox マウスから尾由来靭帯細胞の単離、培養を行い、この細胞に Cre 発現アデノウイルスを感染させることで G9a の機能を消失させたノックアウト細胞を作成した。さらに *in vivo* においても髄発生部位で G9a を欠損させ、その影響を野生型と比較した。【結果】 G9a は胎生 13.5 日の指の髄・靭帯原基相当領域に発現が認められた。初代培養髄細胞において G9a の発現が認められた。G9a 欠損髄細胞の多くは扁平な細胞形態を示した。qPCR においてはコントロール細胞に比べ Scleraxis, Collagen1a1, Six1 および Six2 などの髄細胞関連遺伝子の発現減少が認められた。さらに *in vivo* においても髄発生部位で G9a を欠損させると、同様に Scleraxis, Collagen1a1 および Six1 の発現減少が認められた。以上はヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a が髄細胞の発生分化を制御することを示唆する。(学会員外共同演者 立花誠 京大)

O1-E4

ヒストンメチル化酵素 G9a による間葉系細胞の増殖と分化の調節

○出野 尚^{1,3}、島田 明美¹、上運天 太一²、
和田 悟史²、小松 浩一郎¹、中村 芳樹²、
安倍 真澄³、中島 和久¹、二藤 彰^{1,3}
(¹ 鶴見大 歯 薬理、² 鶴見大 歯 歯科矯正、³ 放医研 研基 C 遺伝子細胞情報)

【目的】 細胞分化に伴った分化系譜特異的遺伝子の発現や機能には、ヒストンの翻訳後修飾を介する多様なエピジェネティック制御が関わると考えられている。なかでも我々は、ヒストン H3、9 番目のリジン残基 (H3K9) のメチル化に着目している。これまでに軟骨細胞の分化過程では H3K9 メチル化酵素群の発現が分化段階特異的に局在し、H3K9 メチル化修飾の局在もそれらと協調的に変化することを報告した (Ideno et al. Gene Exp Patt. 2013)。本研究では、H3K9 メチル化酵素の一つ G9a の間葉系細胞における機能を詳細に調べる事を目的とした。【方法】 G9aflox/flox マウスから取り出した初代培養間葉系細胞 (頭蓋骨骨芽細胞、肋軟骨細胞、褐色脂肪前駆細胞) に Cre 発現アデノウイルスを感染して作出した各 G9a-K/O 細胞を *in vitro* で分化させ、G9a 欠損が細胞増殖・分化へ及ぼす影響を調べた。【結果】 G9a-K/O 骨芽細胞を増殖培地で培養すると、細胞形態の扁平・肥大化、増殖抑制、SA-β-Gal (Senescence-associated β-galactosidase) 活性の増強、p21 の発現増強など細胞老化の表現型が認められた。一方、分化条件下では G9a-K/O 骨芽細胞の Runx2, ALP, Osx の発現が G9a-WT 骨芽細胞に比べて抑制された。肋軟骨細胞、褐色脂肪前駆細胞においても同様で、増殖培地で細胞増殖が抑制された。さらに *in vitro* で分化させると、軟骨や脂肪の分化系譜特異的遺伝子の発現が抑制された。【考察】 *in vitro* において我々が調べた間葉系細胞すべてにおいて G9a 欠損で増殖抑制が起きた。さらに、各分化に伴う細胞系譜特異的遺伝子の発現も G9a 欠損によって抑制された。このことから G9a が間葉系細胞の分化・増殖制御に関わる可能性が示唆された。

O1-E6

歯の発生分化におけるヒストンメチル化酵素の発現と機能

○上運天 太一¹、出野 尚²、島田 明美²、
中島 和久²、中村 芳樹¹、二藤 彰¹
(¹ 鶴見大 歯 矯正、² 鶴見大 歯 薬理)

さまざまな組織の発生分化において、ヒストン末端の翻訳後修飾はエピジェネティック制御として、遺伝子の発現と機能調節に関わることが知られている。本研究では翻訳後修飾の一つであるヒストン 3 (H3) リジン 9 (K) のメチル化に着目し、歯牙発生への関与を明らかにすることを目的とした。そのために H3K9 メチル化酵素 (H3K9MTases) である G9a, Glp, Suv39h1, Prdm2 の発現とそれらによって修飾を受ける H3K9 モノ (me1)、ジ (me2)、トリメチル化 (me3) の発現局在を観察した。また G9a cKO マウス歯胚の表現型や細胞増殖能を観察した。E13.5~18.5 日の胎児の歯胚から RNA を抽出し RT-PCR を行った。H3K9MTases の発現は E 13.5 と E 18.5 では低く、E16.5 の歯胚間葉で高かった。免疫染色では、H3K9MTases が E16.5 の歯胚間葉、上皮、星状網に局在し、そこには H3K9me1、2、3 も局在していた。ウェスタンブロットでは G9a, Glp、そしてそれらの産物である H3K9me2 が歯胚間葉に多かった。つぎに Sox9 cre マウスと G9a fl/fl マウスの交配による conditional KO 行い、機能解析を行った。歯の発生途中での機能を解析するため、E16.5、E17.5 での表現型を解析した。歯牙を含む切片を作成し、G9a の発現を観察したところ、間葉でのみ G9a のタンパク質レベルが低下した。また q-PCR でも間葉でのみ G9a mRNA が低下した。HE 染色では G9a cKO マウス (E17.5) の歯胚は野生型マウスと比較して小さかった。また BrdU ラベルを行ったところ、歯胚間葉の内エナメル上皮に接する細胞の増殖能が減少していた。これらの結果から、H3K9MTases は E16.5 の歯胚間葉で発現のピークをむかえ、H3K9me1、2、3 の分布はそれらと一部オーバーラップしていた。また間葉の G9a は間葉細胞の増殖能に影響を与えていた。よって H3K9 メチル化酵素が歯胚の発生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。(学会員外共同演者 立花誠)

01-E7

ACTH 産生腺腫で低発現を認めた miR-551b の腺腫発症への関与

○小野 信二¹、岩田 武男¹、水澤 典子¹、岩脇 有軌²、吉本 勝彦¹ (徳大 院 HBS 分子薬理、²徳大 院口腔教育 口腔顎顔面補綴)

下垂体腺腫は、各下垂体前葉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。我々はマイクロアレイおよび qRT-PCR を用いて、各タイプの下垂体腺腫に特徴的な発現を示す miRNA の同定を行っており、前回の本大会で、ACTH 産生腺腫で発現低下が認められる miR-132 および miR-551b が ACTH 産生細胞特異的に増殖を抑制することを報告した。今回、miR-551b の下垂体における標的遺伝子候補を *in silico* 解析により検討し、ルシフェラーゼアッセイにより EGF 受容体の一つである ERBB4 が miR-551b の標的であることを明らかにした。そこで miR-551b の ACTH 産生細胞増殖抑制機構への ERBB4 の関与を検討した。さらに ACTH 産生腺腫での miR-551b プロモーター領域の DNA メチル化について検討を行った。

01-E9

歯髄幹細胞由来スフェロイドはマトリゲル上に自発的な多分化能を示す

○肖 黎¹、熊澤 康雄²、岡村 尚²
(¹日歯大 生命歯 薬理、²日歯大 生命歯 病院)

Human dental pulp stem cells (DPSCs) could form large sized spheroid on matrigel *in vitro*. Inside the spheroids, hypoxia probe was positive in the core suggesting that cells inside were lack of oxygen. Massive cells dead after a few days of cultivation. Some of the surviving cells were positive to alkaline phosphatase staining and expressed stem cell marker STRO-1. When the spheroids were cultivated in osteogenic medium for about two weeks, cavities were formed and vascular markers CD146 and CD34 were expressed along the wall. Four weeks later, 28.8% of cells expressed neuronal marker HuC/D; 33.3% expressed vascular marker CD34; 46.7% expressed osteogenic marker DSPP; 80.3% expressed another osteogenic marker RUNX II, and 72.0% expressed cartilaginous marker collagen II. The data suggested that cells in the spheroid underwent cell death, cavitation and spontaneous multi-differentiation that were similar to the developmental process of organogenesis. This work allows for further studies to investigate stem cell microenvironment, cavitation, multi-differentiation and organ regeneration *in vitro*.

01-E8

核初期化タンパク質複合体の分離法の確立

○鎌野 優弥^{1,2}、佐伯 万騎男³、矢谷 博文²、江草 宏¹ (東北大 院歯 分子・再生歯科補綴、²阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴、³新大 院歯 歯科薬理)

患者の体細胞から作製可能な iPS 細胞は、新たな歯科医療技術の確立に貢献するものと期待されている。しかしながら、体細胞の初期化効率は非常に低いため、iPS 細胞を臨床応用するためには初期化効率向上に向けた核初期化機構の解明が重要である。初期化機構の研究は、これまで初期化因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) における遺伝子レベルの発現解析が中心に行われてきた。しかしながら、初期化遺伝子発現後に生じるタンパク質の翻訳・修飾や、その後に形成される蛋白質複合体については未だ不明な点が多い。また、これまでの研究で解析された初期化関連タンパク質は、分離精製の過程で変性されており、細胞内で実際に起こっている現象を正確に再現しているとは言い難い。本研究では、細胞内から変性させずに抽出した初期化タンパク質およびその複合体の解析を目的とし、これを可能とするプロトコルの作成を行った。Native pure ベクター (Invitrogen 社) を用いて作製した初期化因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4) 発現ベクターを HEK293 細胞に遺伝子導入し、3 日後の目的タンパク質の発現を Western blotting 法で確認した。また、目的タンパク質の大量生産を可能にする細胞培養方法を検討した結果、浮遊型 HEK293 細胞を用いた振盪培養法が有効であった。次に、得られた細胞試料に液体窒素による凍結融解法を用い、非変性でタンパク質を複合体として抽出する試みを行った。抽出タンパク質を Blue Native PAGE で分離し、目的タンパク質を Western blotting 法により検出した結果、目的タンパク質の分子量は複合体の形成を示す大きさ (約 1,200 kDa) であった。以上の結果から、細胞内で初期化因子タンパク質を大量に作製し、非変性で抽出した上で複合体として検出する一連のプロトコルが示された。

01-E10

ヒト抜去歯由来幹細胞の採取組織と分離法に関する再生医療学的検討

○大浜 令^{1,2}、須田 直人¹、中原 貴² (明海大 歯 歯科矯正、²日歯大 生命歯 発生・再生医科)

【緒言】抜去歯由来幹細胞の分離には、酵素処理による方法 (酵素法: EZ) と採取組織を静置培養する方法 (outgrowth 法: OG) が広く用いられている。本研究は、ヒト抜去歯から上記 2 種類の分離法により得た歯小囊および歯根膜由来幹細胞の特性を比較解析した。

【試料および方法】健康な 15~29 歳男女の智歯の根完成歯、未完成歯から各々歯根膜と歯小囊を採取した。EZ と OG により歯小囊細胞 (DF) および歯根膜細胞 (PDL) を分離し、各々 DF-EZ 群、DF-OG 群、PDL-EZ 群、PDL-OG 群とした。EZ では collagenase/dispase 溶液による酵素処理後 10-cm dish に 1×10^5 個を播種し、OG では各組織片を静置培養し細胞を分離した。15% FBS 含有 DMEM/F12 培地で培養し、継代数 3~4 で実験に供した。各群について、*in vitro* では増殖能、表面抗原、遺伝子発現、多分化能を検討した。*in vivo* では各細胞を免疫不全マウスへ移植し、硬組織形成を組織学的に観察した。

【結果】DF 群は PDL 群よりも有意に高い細胞増殖能を認めたが、EZ 群と OG 群間に差はなかった。表面抗原解析では、全群で間葉系幹細胞マーカーの発現を認め、血管内皮接着分子と pericyte マーカーの発現率は DF 群、PDL 群共に、OG 群と比べて EZ 群で高かった。遺伝子発現解析では、全群で骨関連遺伝子と未分化維持関連遺伝子の発現をみた。歯根膜関連遺伝子とセメント質関連遺伝子の発現は PDL 群で高かった。各分化誘導においては DF 群、脂肪分化誘導においては EZ 群で、各々石灰化物と脂肪小滴の形成量が多かった。免疫不全マウスへの移植の結果、全群で移植細胞に由来する硬組織様構造物の形成が観察された。

【考察】分離法に関わらず、DF 群は PDL 群と比較して高い増殖能を有し、未分化な細胞が多く存在すると考えられた。EZ 群は pericyte 様の表現型を持ち、PDL 群はセメント質形成への関与が示唆された。

01-E11

骨修復に対する効果的なサイトカイン投与法と血管新生とのかかわり

○増田 智幸¹、大津 圭史²、藤原 尚樹²、熊上 深香²、原田 英光² (岩医大 歯 口腔外科、²岩医大 解剖 発生・再生)

【目的】骨再生の促進は、治療期間の短縮と治療効果の向上が期待できる。現在、骨再生に対して種々のサイトカインの有効性が示されており、より効果的な投与条件を見出すことが求められている。本研究では、骨再生におけるサイトカインの組み合わせの探索とその作用機序の解明を目的とした。【方法】マウスの頭頂骨に骨欠損を形成し、種々のサイトカイン(FGF-2, BMP-2, HGF)およびその組み合わせを徐放性ゼラチンと埋入、経時的にマイクロCT撮影と組織学的解析を行った。骨再生時の新生血管を評価するために、血管内皮前駆細胞がGFP蛍光をもつFlk1-GFPマウスを用いて同様の実験を行い、術後3日のFlk1-GFP発現を観察した。さらに術後7日に、Flk1-GFP/Ki67陽性細胞の発現を観察した。また、大腿骨骨髄よりFlk1-GFP陽性細胞を採取し、HGF刺激による増殖効果を検討した。【結果】マイクロCT解析から、HGFとBMP-2の同時投与群(HGF/BMP-2群)が他の投与群よりも骨再生を促進することがわかった。組織学的解析では、BMP-2単独投与と比較して、HGF/BMP-2群で術後1週からMedGelの分解吸収、細胞の侵入、新生骨の形成が進んでいた。また、術後7日の骨欠損部でのFlk1-GFP陽性細胞の面積、Ki67陽性細胞の数は、BMP-2群よりも高い値を示した。術後3週の骨芽細胞マーカー免疫染色により、HGF/BMP-2群はBMP-2群よりもその発現が有意に増加していた。さらにFLK1-GFP陽性培養細胞は、HGF濃度依存的に増殖が促進されることが分かった。【考察】HGFには、血管新生作用とBMPシグナル増強効果があるため、これらの効果が相乗的に作用したことが示唆される。今後臨床応用に向け、この二つのサイトカインの組み合わせを用いた骨修復促進作用の更なる分子メカニズムの解明を行う予定である。

01-E12

肺魚(南米産)のアメロジェニン遺伝子の分子生物学的解析-1

○石山 巳喜夫¹、三上 正人²、岡 俊哉³、中富 満城⁴、田畑 純⁵、佐藤 秋絵⁶、井上 孝二⁷、佐藤 哲二⁶ (日歯大 新潟生命歯 解剖²、²日歯大 新潟生命歯 微生物³、³日歯大 新潟生命歯 生物⁴、⁴九歯大 頭頸部構造解析、⁵医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物⁶、⁶鶴見大 歯 解剖組織細胞⁷、⁷鶴見大 歯 電顕セ)

アメロジェニン遺伝子の系統発生的分布に関しては、陸生動物である爬虫類および両生類まで明らかにされ、遺伝子配列が決定されている。ところが、数種類の硬骨魚類では、エナメル質の存在が形態的、免疫組織化学的に証明されているものの、エナメル蛋白遺伝子についての情報はこれまでほとんど認められない。今回、我々はアメロジェニン遺伝子の起原ともみなされる、魚類における遺伝子クローニングを肺魚を標的として試みた。全長10cmの南米産肺魚の幼魚を冷水麻酔後、歯板を摘出し、total RNAを抽出した。その後、oligo-dTプライマーを用い、逆転写反応によりcDNAライブラリーを構築し、テンプレートとしてRT-PCRに供した。プライマーはこれまでで読んできた数種の両生類および爬虫類の塩基配列の相同性をもとに作製した。PCRの結果、約600塩基の産物を得てこれをシーケンスしアミノ酸配列に翻訳すると、ヒトのアメロジェニン遺伝子と44%、ワニと39%、両生類各種と30~40%一致した。この遺伝子の特徴として、他の脊椎動物と比較して、構成するアミノ残基数がきわめて少ない事があげられる。両生類以上では残基数が180~200なのに対し、本種では128残基しか存在しない。この残基数の少なさの原因はexon 6にあり、73残基という数値であった。このことは、肺魚の段階では、陸生の動物のようなPQリピートの獲得がなされていない事と関連する。しかし、他の部位の基本的な遺伝子構造はアメロジェニンの性質が良く保存されている事から考えて、この遺伝子は肺魚のアメロジェニン遺伝子と同定した。この報告は魚類の段階でのアメロジェニン遺伝子の初めてのクローニング成果である。なお、本研究はペンシルバニア州立大学の川崎和彦博士との共同研究である。

01-E13

肺魚(南米産)のアメロジェニン遺伝子の分子生物学的解析-2

○佐藤 秋絵¹、井上 孝二²、石山 巳喜夫³、三上 正人⁴、岡 俊哉⁵、中富 満城⁶、田畑 純⁷、佐藤 哲二¹ (鶴見大 歯 解剖組織細胞⁷、²鶴見大 歯 電顕セ、³日歯大 新潟生命歯 解剖²、⁴日歯大 新潟生命歯 微生物³、⁵日歯大 新潟生命歯 生物⁴、⁶九歯大 頭頸部構造解析、⁷医科歯科大 院医歯 硬組織構造生物)

Objectives: Medical researchers study teeth from the oral health point of view. There is, however, also another perspective in dental research, namely biological, specifically evolutionary. For evolutionary biologists teeth are important signposts in their attempts to decipher major transitions in animal phylogeny. The divergence of ray-finned fish (Actinopterygii) and lobe-finned fish (Sarcopterygii) is one example of such transition. To elucidate the evolutionary emergence of such complex structures as the teeth one must begin by studying the expression of the genes controlling the principal structural components such as enamel and dentin. The present study is a part of a broader effort to clarify the tooth genesis in Sarcopterygii by molecular methods (see abstract by Ishiyama et al.). It demonstrates the expression of the *amelogenin* gene in the lobe-finned fish.

Method: The dental plates from both upper and lower jaws of a juvenile lobe-finned fish were fixed with 2% paraformaldehyde including picric acid, decalcified in 10% EDTA (pH 7.3), and embedded in paraffin. Six micrometers thick sections of the tissue containing teeth and tooth buds were used for in situ hybridization. *Amelogenin* antisense or sense RNA probe was transcribed from the linearized plasmid DNA by using SP6 or T7 RNA polymerase with the help of the DIG RNA labeling kit (Roche). In situ hybridization was performed in the HX System Discovery (Roche Diagnostics) using the RiboMap System (Ventana) and DISCOVERY BlueMap Kit (Ventana) which is Streptavidin-biotin alkaline phosphatase detection system with BlueMap NBT and BlueMap BCIP Activator.

Results: *Amelogenin* anti-sense probe signal was detected in the putative ameloblast layer surrounding the outermost face of enamel.

Conclusion: Although the presence of enamel and *amelogenin* gene in lobe-finned fishes was postulated earlier, our study provides the first direct evidence for *amelogenin* gene expression during tooth formation in these fishes.

This is a collaboration with Dr. Kazuhiko Kawasaki at Penn State Univ.

01-E14

発生過程における骨髄間葉系幹細胞の起源

○溝口 利英¹、宇田川 信之²、高橋 直之¹ (松歯大 総歯研、²松歯大 口腔生化)

【目的】骨髄間葉系幹細胞(Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: BM-MSCs)は、骨芽細胞、脂肪細胞、そして軟骨細胞に分化するのみならず、造血幹細胞の支持も担う。このように、BM-MSCsは骨髄環境の維持において中心的な役割を果たすが、生体内での局在と挙動については不明である。今回、BM-MSCsを生体内で同定し、挙動を調べた。【方法】マウス発生初期の骨形成予定領域に、Osterix(Osx)陽性細胞の広範な分布を見出した。そこで、発生初期のOsx陽性細胞はBM-MSCsを含むことを予想し、Osx陽性細胞の系譜を解析した。タモキシフェン投与依存的にOsx陽性細胞でTomato蛍光が発現する遺伝子改変マウス(Osx-cre^{ERT2}/flox-stop-flox-tdTomato)を作製した。このマウスでは、Osx陽性細胞の子孫細胞がTomato陽性として検出できる。タモキシフェンを、胎児、新生児、そして成体期のマウスに投与し、それぞれについてOsx陽性細胞の子孫を調べた。【結果】(1)胎児期におけるOsx陽性細胞の子孫は、骨芽細胞だけでなく骨髄間質細胞としても認められた。しかし、成長に伴い子孫細胞は減少した。(2)新生児期におけるOsx陽性細胞の子孫の一部は、BM-MSCsとして認められた。さらに生体内で骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞に分化した。(3)成体期におけるOsx陽性細胞は、一時的な骨芽細胞への寄与のみが認められた。【結論】以上より、(1)Osxの発現は、発生時期依存的に3種類の間葉系細胞で認められること、(2)新生児期のOsx陽性細胞は、成体のBM-MSCsの起源を含むことが明らかになった。会員外共同研究者: Paul S. Frenette (Albert Einstein College of Medicine, USA)

01-E15

脂肪細胞分化におけるプロテインホスファターゼ PP2A C α の役割

○岡村 裕彦¹、寺町 順平¹、羽地 達次¹
(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ホスファターゼである。PP2A は触媒サブユニット (PP2A C α) 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、脂肪細胞分化における PP2A C α 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間葉系前駆細胞 C3H10T1/2 と脂肪前駆細胞 3T3-L1 からサンプルを調製し、PP2A C α の発現および PP2A の活性を調べた。2. PP2A C α の発現を抑制した C3H10T1/2 細胞 (shPP2A) を樹立し、リアルタイム PCR、Oil red O 染色、Triglyceride assay 用いて、脂肪細胞分化能を調べた。3. siRNA 導入により脂肪細胞分化に関わる転写調節因子 PPAR γ の発現を抑制し、shPP2A 細胞の脂肪細胞分化能を評価した。4. shPP2A 細胞での Wnt/GSK-3 β / β -catenin 経路の役割について、ウエスタンブロットを用いて検討した。[結果と考察] 脂肪細胞分化に伴い PP2A C α の発現および PP2A 活性が低下した。shPP2A 細胞では PPAR γ 、C/EBP α および Adiponectin 等の脂肪分化マーカーの発現が増加し、脂肪細胞分化能が亢進していた。PPAR γ の発現抑制により shPP2A 細胞の分化能が抑制された。shPP2A 細胞では、Wnt10b 発現の低下、GSK-3 β 活性の増加、 β -catenin の活性の低下が認められた。GSK-3 β 阻害剤は shPP2A 細胞における脂肪分化マーカーの発現と分化能を抑制した。以上の結果から、PP2A C α は、PPAR γ を含む転写調節因子の発現と Wnt/GSK-3 β / β -catenin 経路を介して脂肪細胞分化を調節する重要な因子であることがわかった。

01-F2

ストレス環境下における *Streptococcus anginosus* の硫化水素産生能の増大

○佐藤 節子¹、山口 泰平²、於保 孝彦²
(¹鹿大 病院 口腔保健、²鹿大 院医歯 予防)

【目的】*Streptococcus anginosus* は歯垢常在細菌であるが、感染症患者の膿瘍から度々検出され、膿瘍形成に関与していると考えられている。その病原因子として硫化水素産生能があげられる。硫化水素は強い細胞毒性を示す一方、NO や CO と同様なシグナル因子として作用することが、近年知られるようになってきた。*S. anginosus* の硫化水素産生酵素 (LCD) の遺伝子解析は既に報告されているが、発現調節機構については不明である。これを明らかにするため、ストレスのかかる生育環境において、硫化水素産生能がどのように変化するかを調べた。【方法】低濃度の抗菌剤や EDTA あるいは過酸化水素を添加した培地と無添加培地にて、*S. anginosus* FW73 をそれぞれ一晩培養し、集菌した後、L-システイン・ビスマス溶液に懸濁して、37°C にて 2 時間反応させた。また、リアルタイム PCR 法によって、EDTA 等添加培地と無添加培地での培養菌の LCD の mRNA 発現レベルを比較した。【結果と考察】添加培地の細菌濁度は、無添加培地使用時の約 1/2 から 1/4 に減少していた。無添加培地での培養菌は、L-システイン・ビスマスと 2 時間反応させても反応溶液の色調にほぼ変化はなく、硫化水素産生量がわずかだったのに対し、添加培地での培養菌の反応溶液は濃い黒褐色の不溶物を生じ、硫化水素が多量に産生されたことが分かった。この結果は、増殖が阻害された細菌の硫化水素産生能が高まっていることを示している。EDTA 添加培地で生育した細菌の LCD の mRNA 発現レベルは、無添加培地使用時のほぼ 5 倍高かった。これらの結果から、増殖が阻害されるような条件下で生育した *S. anginosus* は、硫化水素産生能が増大することが明らかになった。

01-F1

Streptococcus mutans におけるマルトース代謝の解析

○佐藤 裕¹、東 俊文¹ (¹東大 生化)

目的：*S. mutans* はデンプンを直接利用出来ないが、唾液アミラーゼ共存下では水解されたマルトースを利用し見かけ上デンプンを代謝する。しかし、本菌のマルトース代謝機構は未だ不明の点が多くある。今回これに関与すると考えられるグルコキナーゼ、man および celPTS 輸送系、ホスホグルコムターゼ (*glk*, *manL*, *celD*, *pgm*) 遺伝子の失活変異株を構築し、そのマルトース代謝能を調べた。

方法：上記遺伝子を標的とし、Merritt らの markerless mutagenesis 法を用い、複数遺伝子失活変異株を構築した。グルコキナーゼ (Gik) 活性、グルコースの測定は NADPH による 340 nm の吸光度を指標とする分光分析法による。

結果：*S. mutans* のマルトース代謝には *malQ* 遺伝子産物グルカノトランスフェラーゼが必須であることを昨年報告した。同酵素の産物として細胞内に遊離のグルコースが生じるので、この代謝には *glk* 遺伝子産物が必須と考えられた。しかし、*glk* 変異株の粗抽出液は Gik 活性が親株の 1/100 程であったにも関わらず同変異株はマルトースを比較的良く代謝した。本菌の Gik 活性は ATP がリン酸供与体であり、GTP、ポリリン酸、PEP は供与体とならなかった。これらのことからグルコースのリン酸化は細胞内では行われず、一度細胞外へ出た後、グルコース PTS 輸送系の働きで細胞内にグルコース 6-リン酸 (G6P) が生じる可能性が考えられた。そこで *glk* 変異において同輸送系遺伝子の 1 つである *manL* の失活変異株 (*glk*, *manL*) を構築した。*glk*, *manL* 変異株はマルトースを唯一の炭素源として培養時、増殖途中で細胞外にグルコースが検出され、これがもうひとつのグルコース PTS 輸送系である *cel* 遺伝子群の産物により細胞内の G6P となり解糖系で代謝されたものと考えられた。また、*glk*, *manL*, *celD*, *pgm4* 変異株はマルトースを唯一の炭素源として増殖できなかった。

結論：*S. mutans* において少なくとも上記 4 つの遺伝子がマルトース代謝に関与している。

01-F3

A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素が病原性に果たす役割

○山口 雅也¹、中田 匡宣¹、住友 倫子¹、川端 重忠¹ (¹阪大 院歯 口腔細菌)

A 群レンサ球菌は、咽頭炎や劇症型の壊死性筋膜炎など様々な炎症性の疾患を引き起こすグラム陽性細菌である。A 群レンサ球菌の劇症型感染症由来株は主に血清型 M1 が優勢であった。しかしながら、近年オーストラリアにおいて M4 型による劇症型感染症のアウトブレイクが報告された。本研究では、M4 型 A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素 HylA が他の M 血清型と異なり活性型である点に着目し、その病原性に果たす役割を解析した。

まず、M1 型ならびに M4 型 A 群レンサ球菌のゲノムを用いて組換え HylA を作製した。そして組換え HylA のヒアルロン酸分解活性について、吸光度計で分解産物量を算定することで比較した。その結果、M4 株由来組換え HylA がヒアルロン酸分解活性を持ち、M1 株由来組換え HylA は活性を持たないことが示された。一方、いずれの HylA も、ヒアルロン酸に近い構造を持つヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸に対して分解活性を示さなかった。次に、M4 型 A 群レンサ球菌について *hylA* 欠失株を作製し、ヒト皮膚角化細胞へ感染させ、細胞内における生存率を比較した。その結果、*hylA* 欠失により細胞内生存率が有意に低下することが示された。さらに、*Lactococcus lactis* について M4HylA 発現株と空ベクター導入株を比較したところ、HylA 発現株が有意に高い細胞内生存率を示した。

また、M1 型 A 群レンサ球菌について *hylA* 欠失株を作製し、マウスの腹腔に M1 型、あるいは M4 型それぞれの菌株を感染させ生存率を比較した。M4 型の A 群レンサ球菌の *hylA* 欠失株は、野生株と比較してマウスにおける病原性が大きく低下することが示された。一方、M1 型では病原性に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、M4 型由来の HylA がヒアルロン酸特異的な分解活性を持つこと、ならびに細菌の細胞内生存に寄与することが示された。さらに、M4 型 A 群レンサ球菌において、HylA が *in vivo* における病原因子として働くことが示唆された。

O1-F4

緑膿菌臨床分離株における抗菌薬抵抗性と病原性との関連

○村上 圭史¹、弘田 克彦¹、三宅 洋一郎¹
(¹徳大 院 HBS 口腔微生物)

【目的】我々はこれまで、緑膿菌 PAO1 株を用いて、抗菌薬抵抗性のメカニズムについて検討してきた。抗菌薬抵抗性とは、抗菌薬存在下では増殖しないものの、死滅しない現象であり、バイオフィーム感染症などの慢性難治性感染症の原因の1つとして注目されている。そこで今回、抗菌薬抵抗性の評価として、附着菌における最小発育阻止濃度 (MIC^{AD})、最小殺菌濃度 (MBC^{AD}) の比 (MBC^{AD}/MIC^{AD}) に着目し、緑膿菌臨床分離株を用いて、病原因子の発現、バイオフィーム形成能、臨床経過等との関連について検討を行った。【方法】平成 23 年 4 月以降分離された緑膿菌臨床分離株のうち、イミペネム (IPM) に感受性である 108 株と PAO1 株を使用した。附着菌における薬剤感受性試験では、菌液を 96 穴平底プレートに遠心により附着させ、IPM に対する MIC^{AD}、MBC^{AD} を判定し、MBC^{AD}/MIC^{AD} 比を抗菌薬抵抗性とした。病原因子として、ピオシアニン産生、ゼラチナーゼ活性、swimming 活性、twitching motility 活性、バイオフィーム形成能の測定を行った。【結果と考察】附着菌における薬剤感受性試験の結果、MBC^{AD}/MIC^{AD} 比が 64 倍以上と高い抵抗性を示す株が約 60% 存在した。抗菌薬抵抗性とゼラチナーゼ活性、swimming 活性、twitching 活性、バイオフィーム形成能との間には正の相関が認められた。また、慢性呼吸器感染症により治療を受けた患者について検討したところ、抗菌薬抵抗性やバイオフィーム形成能が高い患者群では、それらが低い患者群と比較し、重症化している傾向が見られた。このことから、抗菌薬抵抗性と病原因子の発現、臨床経過には何らかの関連がある可能性が示唆された。(会員外研究協力者：徳大大学院感染制御部、東桃代)

O1-F5

黄色ブドウ球菌の 3 組の 2 成分制御系因子による class I バクテリオシン耐性機構

○松尾 美樹¹、小松澤 均¹
(¹鹿大 院医歯 口腔微生物)

【目的】生体常在菌は、自らの生存領域の確保のための一つの手段として、抗菌性物質であるバクテリオシンを産生し、他の細菌を排除していると考えられる。一方、バクテリオシン産生菌と共存する細菌はバクテリオシンに対する耐性機構を持つことが考えられる。本研究では、黄色ブドウ球菌の 2 成分制御系 (TCS) によるバクテリオシン耐性機構を検証した。【方法】黄色ブドウ球菌 MW2 株について、必須遺伝子を除くすべての TCS 欠損株を用いて、種々のバクテリオシンに対する感受性試験を direct 法にて行った。さらに、バクテリオシン産生菌と黄色ブドウ球菌を用いた共培養試験を行い、共培養時における黄色ブドウ球菌の占める割合について検証した。TCS 制御下にある遺伝子発現検証は、定量性 PCR にて行った。【結果】感受性試験の結果、*L. lactis* ならびに *S. warneri* が産生する class I バクテリオシン感受性に 3 組の TCS (*apsRS*, *vraSR*, *bceRS*) の関与が認められた。*L. lactis* もしくは *S. warneri* との共培養試験の結果、3 組の TCS 変異株は親株に比べ低い占有率を示し、特に *bceRS* 欠損株は低い占有率を示した。定量性 PCR の結果、class I バクテリオシン作用時に、BceRS は ABC トランスポーターである *vraDE* 発現を誘導することが明らかになった。【考察】本研究から、黄色ブドウ球菌の class I バクテリオシン耐性に 3 組の TCS が関与することが明らかになり、そのうち BceRS-VraDE システムが class I バクテリオシン産生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。黄色ブドウ球菌は鼻腔、皮膚、口腔に定着する常在細菌であり、本菌が生体に常在化するために複数の TCS によるバクテリオシン耐性機構を獲得することが、生体内共生環境 (エコシステム) の形成に重要であることが考えられる。

O1-F6

Veillonella tobetsuensis 由来の Autoinducer の検出と精製

○真島 いづみ¹、鎌口 有秀²、宮川 博史²、
藤田 真理²、中澤 太²
(¹北医大 院歯、²北医大 院 微生物)

[Backgrounds] It is suggested that oral *Veillonella* has important roles in the biofilm formation at early stage. Our previous study demonstrated that supernatants from *V. tobetsuensis* had inhibiting effects for the biofilm formed by *Streptococcus gordonii*, but in case of existing bacterial cells of *V. tobetsuensis*, the biofilm formation was promoted. It was suggested that some factors in supernatants may affect the biofilm formed by *S. gordonii*. [Purpose] In this study, autoinducer-1 and Autoinducer-2 (AI-1 and AI-2) were focused as one of the factors in the supernatants and tried to detect and purify from the supernatants. [Method] The crude AI-1 was extracted by ethyl acetate from the culture supernatants of *V. tobetsuensis*. Then these extracts were evaporated to dryness after filtration. The residues that were dissolved in ethanol were used in bioassay using *C. violaceum* CV026 and *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4) to detect AI-1. AI-2 activities in the supernatants were detected by using Vibrio assay as already reported previously. The supernatants were filtered through a 0.2- μ m-pore-size filter and subsequently through an Amicon Ultra Centrifugal Filters Ultracel-3K (Millipore). The filtrate was lyophilized, suspended in cold sodium phosphate buffer, and chromatographed on a C18 Sep-Pak reverse-phase column (Waters Co.) according to the manufacturer's instructions. AI-2 activity in the column fractions was followed by monitoring the induction of bioluminescence of *Vibrio harveyi* BB170 (sensor 1- sensor 2 +). [Results] AI-1 was detected in the supernatants from *V. tobetsuensis* when only *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4) was used. Also, AI-2 was detected strongly in the supernatants from *V. tobetsuensis*. Partial purification of AI-2 was succeeded and the bioluminescence level was about 10 times compared with that of supernatants. [Discussion & Conclusion] According to prosperity of *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4), *V. tobetsuensis* may produce long chain N-acyl Homoserine Lactone as AI-1. It is the first report that AI-1 and AI-2 from *V. tobetsuensis* has affected biofilm formation.

O1-F7

口腔顔面感覚の三叉神経感覚核への入力制御する前頭前皮質からの下行投射

○佐藤 文彦¹、藤尾 隆史¹、加藤 隆史¹、
吉田 篤¹ (¹阪大 院歯 口腔解剖 2)

【背景と目的】情動や自律神経活動を司る前頭前皮質が口腔顔面の痛覚の制御に関与していることが考えられる。しかし、前頭前皮質が口腔顔面感覚が入力する三叉神経感覚核にどのような投射をしているかはよくわかっていない。【方法】ラットを用い、ペントバルビタール麻酔下で実験を行った。口腔顔面の主に痛覚が入力する三叉神経尾側亜核 (Vc) および吻側亜核 (Vo) への FG (逆行性トレーサー) の注入と、前頭前皮質への BDA (順行性トレーサー) の注入を行った。【結果】その結果、前頭前皮質外側部の顆粒性島皮質 (GI) と不全顆粒性島皮質 (DI) の吻側部 2/3 から Vc の I/II 層の吻背内側部 (rdm-I/II-Vc) と Vo の背側部への投射が認められた。また、GI/DI の尾側部 1/3 から Vc の I/II 層の腹外側部と Vo の腹側部への反対側優位の投射が認められた。一方、前頭前皮質内側部からは、背側脚皮質 (dorsal peduncular cortex, DP) の吻尾の中央部 (mid-DP) のみから rdm-I/II-Vc への同側優位の投射が認められた。さらに、GI/DI の尾側部と mid-DP 間に双方向性の投射が認められた。【考察】本研究結果は、口腔顔面の主に痛覚の伝達で、GI/DI と mid-DP から Vc または Vo への部位特異的な投射によって修飾されていることを示唆している。また、GI/DI の尾側部と mid-DP による修飾は相互に影響しあっていることを示唆している。

O1-F8

顎運動に關与する三叉神経運動前ニューロンへの
大脳皮質一次体性感覚野からの投射とその機能と
の關連

○内野 勝郎¹、東山 景一郎¹、加藤 隆文¹、
佐藤 文彦¹、山村 健介²、吉田 篤¹ (阪大 院
歯 口腔解剖、²新大 院医歯 口腔生理)

【背景と目的】顎運動に關与する開口筋運動前ニューロンと閉
開口筋運動前ニューロンが混在する三叉神経傍域と三叉神経吻側
核は、大脳皮質一次体性感覚野 (S1) の吻側部からの直接投射
を受けることが知られている (Yoshida et al., 2009)。この下行
性直接投射の顎運動への関与を明らかにするため、S1 の電気
刺激で顎運動を誘発する部位を同定し、下行投射との關連を檢
討した。【方法】ラットを用い、塩酸ケタミンと塩酸キシラジ
ンの筋注による麻酔下で行った。ガラス被覆したエルジロイ単極
電極を S1 に刺入し、高頻度短刺激と低頻度長刺激を与えた。
顎運動誘発部位と三叉神経傍域と三叉神経吻側核への投射部位
とを比較検討した。【結果】S1 吻側部の低頻度長刺激で、持続
性の開口が誘発され、両側の顎二腹筋前腹から EMG 活動が記
録された。刺激閾値の低い部位が S1 の最吻側部に認められ
た。これらの刺激部位は、高頻度短刺激によって開口と両側の
(少なくとも反対側の) 顎二腹筋前腹からの EMG 活動が記録
された部位と近似していた。【考察】ラットの S1 吻側部には、
三叉神経傍域と三叉神経吻側核に投射するニューロンが多数存
在し、また、三叉神経傍域に投射するニューロンは、S1 最吻側
部に特に多く存在することが明らかになっている (Yoshida et
al., 2009)。よって、本研究ではラット S1 の吻側部の高頻度短
刺激ばかりでなく低頻度長刺激で顎運動が誘発されたが、その
誘発には開口筋運動前ニューロンと閉開口筋運動前ニューロンを
含む三叉神経傍域と三叉神経吻側核への投射が関与し、特に三
叉神経傍域への投射がより強く関与していることが示唆され
た。

O1-F10

カプサイシンの辛味認知およびそれに伴う自律神
経系の活性化に關与する神経機構

○佐藤 元¹、川上 晋平²、豊田 博紀¹、
齋藤 充¹、河野 奨¹、姜 英男¹
(¹阪大 院歯 高次脳口腔機能、²森永製菓)

カプサイシン (CAP) を含む食物を摂取すると、顔面からの発
汗、唾液分泌、呼吸数・心拍数上昇等の様々な生体反応が生じ
る。これらの現象は、消化器粘膜内の痛覚線維が CAP 刺激に
より活性化され、その結果、交感神経系が活性化される自律神
経反射であると考えられている。一方、舌味蕾細胞や口腔内粘
膜にも、TRPV1 受容体を発現する CAP 感受性求心性神経終末
が高密度に存在する。CAP 含有食物の摂取が、こうした求心
性神経を活性化し、島皮質味覚野 (中部島短回) で辛味として
認知される可能性がある。島皮質右側前部 (前部島短回) およ
び島皮質左側後部は内臓感覚運動野でもあることから、島皮質
内での両領野間の機能協関により辛味認知に伴う自律神経反応
が生じる可能性も考えられる。そこで、ヒト被験者の舌背にト
ウガラシエキス (香辛料抽出物 65 μM)、食塩水 (0.75 M) の味
溶液および人工唾液を滴下し、その際の脳賦活領域を測定した。
20 名の被験者において、舌への味溶液滴下を感知した感覚野の
活動、その事を知るボタン押しを反映した運動野の活動、
さらに、味溶液により引き起こされた味覚野の活動のすべてが
認められた。島皮質味覚野および右側前部、左側後部の ROI
analysis を行った結果、トウガラシエキス投与は他の溶液投与
に比べて有意に強い賦活を味覚野および右側前部で引き起こし
たが、食塩水あるいは人工唾液では味覚野のみに反応が認めら
れた。さらに、味覚野での time-course analysis を行った結果、
食塩水および人工唾液では、ともに投与後約 5 秒でピークに達
する percent signal change (PSC) を引き起こすが、トウガラ
シエキスでは、投与後約 10 秒でピークに達し、その後、緩やか
に減衰した。こうした所見は、トウガラシエキスの味覚受容に
より、島皮質味覚野および島皮質右側前方部間で同期化した神
経活動が引き起こされたことを示唆する。

O1-F9

甘味溶液継続摂取マウスにおける鼓索神経および
舌咽神経全線維束応答の解析

○安松 啓子^{1,2}、碓 哲崇³、二ノ宮 裕三^{1,2}
(¹九大 院歯 口腔機能解析、²九大 味覚嗅覚セ
ンサ研究開発セ 感覚生理、³朝日大 歯 口腔
生理)

【目的】近年の食生活の変化により、摂取する栄養バランスの崩
れから生活習慣病や味覚異常が引き起こされていると言われ
る。しかし、味覚研究において食生活による味覚異常や味覚異
常に伴う生活習慣病発症を裏付けるデータはほとんど報告され
ていない。そこで本研究では、継続的な甘味溶液摂取による味
覚感受性の変化を調べるため、マウスに一定期間甘味溶液を与
えた後、味覚神経応答を記録した。【方法】動物は C57BL/6J マ
ウスを用い、2 mM saccharin を 3 日間、7 日間、そして 14 日間
水の代わりに与え、鼓索神経と舌咽神経の全神経線維束におけ
る応答を記録した。試験溶液は、NaCl、KCl、HCl、sucrose、
SC45647、saccharin、glucose、glycine、キニーネ塩酸塩、den
atonium、monopotassium glutamate (MPG) およびその 0.5
mM inosine monophosphate (IMP) 混合液を用いた。さらに 2
mM saccharin の代わりに 0.3 mM SC45647 を 7 日間与え、人
工甘味料間で違いがあるかについて検討した。また動物の肥満
との關連を検索するため、食事誘導性肥満 (DIO) マウスを用
い同様の実験を行った。【結果と考察】C57BL/6J マウス (体重
22-25 g) において甘味溶液を摂取する期間いずれにおいても
甘味 (sucrose, SC45647) に対する応答が減少する傾向が見ら
れ、水を摂取したマウスと比べると 7 日後から有意に減少した。
saccharin を 7 日間与えた 13 週齢 DIO マウスは、水を摂取し
た DIO マウスと比べ甘味応答が有意に増加した。これらの結
果から、甘味を継続摂取することにより甘味感受性が変化し、
変化の方向性は肥満によって影響を受ける可能性が示唆され
た。

O1-F11

温度感受性 TRP チャネル活性化による新しい口
腔上皮治癒機構の解明

○合島 怜奈^{1,2,3,4}、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 組織神経解剖、⁴日本学
術振興会)

【目的】TRPV3 (transient receptor potential vanilloid 3) チャ
ネルは、32℃以上の温かい温度で活性化されるカルシウム透過性
の非選択的陽イオンチャネルである。我々はこれまでに口腔内
の温度環境を積極的に感知する機能的な TRPV3 が口腔上皮に
発現し、口腔粘膜の速やかな治癒に關与する可能性を示してき
た。粘膜治癒の際には、上皮成長因子受容体 (EGFR) の活性化
による上皮細胞の増殖や遊走の促進が重要な役割を担うことが
知られている。そこで、本研究では TRPV3 と EGFR の活性化
に着目しそのメカニズム解明を試みた。【方法】C57BL/6N 野
生型マウス (WT) と TRPV3 遺伝子欠失マウス (TRPV3KO) より
初代口腔上皮細胞を単離・培養し TRPV3 アゴニスト刺激が
EGFR 活性化に与える影響を調べた。また上顎第一臼歯を抜歯
する創傷モデルを作製し、WT と TRPV3KO の粘膜における
EGFR の活性化を比較した。【結果と考察】WT より単離した
初代培養口腔上皮細胞に TRPV3 のアゴニストを添加すると
EGFR のリン酸化が促進された。抜歯前および抜歯後 3 日目の
創部において TRPV3KO では WT と比較し口腔粘膜の EGFR
の活性化の程度が減弱していた。よって、TRPV3 を介した口
腔粘膜の速やかな治癒に EGFR のリン酸化が関与しているこ
とが示唆された。(会員外共同研究者：高尾知佳、三原 弘、加
塩麻紀子、富永真琴)

01-F12

ケラチノサイト遊走時におけるインテグリン及び TRPV1 チャネルの関与
 ○宮崎 綾子¹、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 分子機能制御)

創傷治癒において細胞遊走は大きな役割を持っており、その際、接着分子インテグリン (ITG) と細胞外基質との接着が重要とされている。一方、Ca²⁺シグナルは、方向性を持つ細胞移動や接着を調節することによって細胞遊走を制御すると考えられているが、Ca²⁺シグナルがどのようにして細胞の運動性を促進する変化を起こすのかよくわかっていない。本研究では、ケラチノサイト (KC) 遊走への ITGβ4 分子の関与について検討を行い、さらに Ca²⁺シグナル発生に寄与する Ca²⁺流入チャネルの候補として KC に発現するとされる非選択性陽イオンチャネル TRPV1 との関連について検討した。細胞を播種し集密的な状態になった後、細胞層を傷つけ、傷つけ後に遊走してくる細胞に発現する ITG について蛍光免疫染色による検討を行った。遊走先端部の細胞では ITGβ4 および β5 の発現が認められた。上皮成長因子 EGF は、KC の遊走を有意に促進したが、その際、遊走先端部においては β4 の発現増加が観察され、β5 では変化が認められなかった。また ITGβ4 の siRNA によるノックダウンによって、遊走は有意に抑制された。これらのことから、β4 の発現増加が細胞の遊走性に関与することが示唆された。一方、TRPV1 の発現について免疫染色にて観察を行ったところ、ITGβ4 と TRPV1 の両者が遊走先端部の細胞で一致して発現増加していることが観察された。また、TRPV1 アゴニストは KC の遊走を促進し、TRPV1 特異的拮抗薬によってその促進作用が拮抗された。さらに siRNA による TRPV1 のノックダウンによって、遊走は有意に抑制されたことから、TRPV1 が遊走促進に働くことが考えられた。以上のことから、KC の遊走には ITGβ4 と TRPV1 が影響を与える可能性が示唆された。

02-C1

Sox21 による歯と骨形成への影響
 ○齋藤 幹¹、福本 敏¹
 (¹東北大 院歯 小児発達歯科)

【背景】我々は以前にエナメル芽細胞を用いてマイクロアレイを行い、特異的に発現が増加している遺伝子を検討した所、Sex determining region Y-box 21 (Sox21) が上昇している事を発見した。Sox21 はヒト 13 番染色体に位置し、13q 症候群はヒト 13 番染色体の長腕の一部が欠損する疾患で、エナメル質形成不全や顎頭蓋の劣成長などがほとんどの症例に見られる。そこで Sox21 がエナメル質や骨格の形成へ影響を与えているのではないかと推測し、検討を行う事にした。【材料と方法】Sox21 欠損 (Sox21KO) マウスは慶應義塾大学医学部生理学教室から譲渡された。Sox21KO マウスと野生型 (WT) マウスを用いて H-E 染色、走査型電子顕微鏡 (SEM)、マイクロ CT、透明骨格標本にて歯と骨の形態を調査した。また、Sox21KO と WT マウスのエナメル芽細胞を基にマイクロアレイにて発現差がある遺伝子を検討し、Sox21 下流の分子の検討を行った。【結果】SEM ではエナメル質表面が粗造となり、エナメル小柱構造は失われていた。H-E 染色ではエナメル芽細胞の細胞極性が失われ、エナメル質が薄くなっていた。マイクロ CT では象牙質の石灰化には影響が見られなかったが、エナメル質及び大腿骨は石灰化の低下が見られた。また、エナメル芽細胞のマイクロアレイの結果はアメロジュニンやエナメルリンに影響は見られなかったが、KLK4 やアメロチンの発現抑制が見られた。【考察】臨床的にエナメル質形成不全を引き起こす常染色体異常の原因遺伝子として、エナメルリン、Dlx3、Klk4、Mmp20 が知られているが、すべて 13 番染色体以外に存在する。今回の結果は、13 番染色体上に存在する Sox21 がエナメル質形成だけではなく、全体的な硬組織の調節を行っている可能性が示唆された。

01-F13

Merkel 細胞は機械刺激を受容し神経伝達を行う
 ○東川 明日香¹、小島 佑貴¹、木村 麻記¹、佐藤 正樹¹、小倉 一宏¹、望月 浩幸¹、澁川 義幸¹、田崎 雅和¹ (東歯大 生理)

口腔粘膜上皮で圧受容に関与しているメルケル細胞 (MC) は、自由神経終末と複合体を形成している。しかし、その圧受容と神経伝達メカニズムについては明らかにされていない。近年、MC における圧受容メカニズムに transient receptor potential (TRP)-V1、-V2、-V4、-A1 チャネルが関与していることが報告された。しかし、MC-ニューロン間の神経伝達様式については解明されぬまま残されている。そこで、MC と三叉神経節 (TG) ニューロンの共培養系を作製し、MC への直接機械刺激による応答を記録した。ゴールデンハムスター (4 週齢) に、MC マーカーのキナクリンを腹腔内投与し、頬粘膜触小体中存在する MC を急性単離した。TG ニューロンは、ウイスターラット (6-9 日齢) から単離し初代培養を行った。単離 MC と TG ニューロンの細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) 変化を計測した。細胞外 Ca²⁺存在下で MC に直接機械刺激を与えると [Ca²⁺]_i は増加した。この増加は、TRPV1、V2、V4、A1 チャネルアゴニストで有意に抑制された。MC と TG ニューロンの共培養系で、キナクリン陽性細胞に直接機械刺激を加えると、周囲に存在している大きな直径を有する TG ニューロンにも [Ca²⁺]_i 増加が観察された。MC は機械刺激を受容すると、拡散可能な伝達物質を放出し、ニューロンとの神経伝達を確立する事が示唆された。

02-C2

DMP1 の翻訳後修飾に関する形態学的検討
 ○大家 香織^{1,2}、佐藤 淳¹、宇佐美 悠³、岸野 万伸¹、野田 百合¹、廣瀬 勝俊¹、小川 裕三¹、小守 壽文¹、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 歯病院 検査、⁴長大 院医歯薬 細胞生物)

【背景・目的】骨細胞が産生する骨基質蛋白質 DMP1 は、骨形成に重要であると考えられている。DMP1 はその分泌過程でいくつかの翻訳後修飾を受けることが知られており、C 端断片 (57kDa) と N 端断片 (37kDa) への切断やリン酸化が骨形成に必要で、特に C 端断片のリン酸化は骨の石灰化に重要であると考えられている。最近、細胞内ゴルジ装置に局在する分泌型リン酸化酵素 Fam20C が発見され、in vitro 実験で DMP1 をリン酸化することが報告された。そこで、本研究では、DMP1 の C 端断片と N 端断片への切断や、DMP1 のリン酸化過程を形態学的に観察し、DMP1 の翻訳後修飾について免疫組織化学的に検討した。【方法】4 週齢 Wistar ラットを 4% PFA で灌流固定し、10% EDTA で脱灰後パラフィン包埋して薄切した組織切片を作製した。免疫染色には、DMP1 (C 端断片と N 端断片)、ホスホセリン、Fam20C に対する抗体を用いて局在分布を検討した。DMP1 のリン酸化は DMP1 とホスホセリンの蛍光二重染色を用いてその分布を検討した。【結果と考察】DMP1 の C 端断片は主に骨細管周囲基質に分布し、N 端断片は主に骨小腔周囲基質に分布し、両者の局在分布に違いが認められた。また、骨細管周囲に分布する DMP1 C 端断片はホスホセリンと共局在しており、骨基質に分布する DMP1 C 端断片はリン酸化されていることが分かった。また、幼弱骨細胞では Fam20C と DMP1 がゴルジ域に共局在しており、骨細胞の成熟に伴ってゴルジ域にホスホセリンの局在が加わることから、DMP1 は Fam20C により細胞内ゴルジ域でリン酸化されていることが示唆された。以上から、骨細胞内でリン酸化された DMP1 C 端断片が骨細管周囲に分布することが推測された。

O2-C3

ラットの血中 DMP1 値の加齢に伴う変化

○佐藤 淳¹、宇佐美 悠²、大家 香織¹、岸野 万伸¹、野田 百合¹、廣瀬 勝俊¹、小川 裕三¹、小守 壽文³、豊澤 悟¹
(¹阪大 院歯 口腔病理、²阪大 歯病院 検査、³長大 院医歯薬 細胞生物)

【目的】Dentin matrix protein 1 (DMP1)は、骨細胞が産生する骨基質蛋白質で、骨の石灰化促進やリン代謝制御に関与すると考えられているが、その生物学的意義は完全には解明にされていない。本研究では、全身骨格における DMP1 の発現変化をモニタリングできるように血中 DMP1 測定用サンドイッチ ELISA を作製し、DMP1 の生物学的意義の解明を目的に、加齢による血中 DMP1 値の変化を検討した。【方法】血中に DMP1 が存在することを、ELISA に使用した抗 DMP1 抗体を用いたアフィニティークラムを用いてラット血漿中から免疫反応物を回収し、液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS/MS) によりペプチドマッピングして確認を行った。次に、DMP1 の N 端の 37kDa 断片を主に認識する ELISA1-2 と、C 端の 57kDa 断片を主に認識する ELISA4-3 を作製し、加齢における血中 DMP1 測定値の変化を検討するため、2-96 週齢雄ラットから採取した血漿を両方の ELISA にて測定した。また、他の骨代謝マーカー (osteocalcin, Trap5b, Dkk-1, SOST) も同時に測定した。【結果と考察】ELISA1-2 と ELISA4-3 にて測定した血中 DMP1 値は、両者共に加齢に伴い低下する傾向が認められた。また、2-12 週齢の骨格成長期には、ELISA 4-3 による DMP1 測定値は ELISA 1-2 による測定値より高値を示したが、骨格成長後にはその差は認められなくなった。DMP1 と他の骨代謝マーカーとの相関性を検討すると、DMP1 は Dkk-1 (ELISA1-2: r=0.921, ELISA4-3: r=0.910) と最も高い相関性を示し、次いで osteocalcin (ELISA1-2: r=0.8, ELISA4-3: r=0.833) と高い相関性を示したが、Trap5b (ELISA1-2: r=0.515, ELISA4-3: r=0.512) との相関性は高くなく、DMP1 は骨形成マーカーになると考えられた。以上から、血中の DMP1 値は骨細胞機能を反映する骨形成マーカーとなることが推測された。

*本研究は、旭化成ファーマと IBL との共同研究である。

O2-C5

スフィンゴシン 1 リン酸は *in vitro* の破骨細胞形成系において分化促進する。

○天野 均¹、納富 拓也¹、大浦 清¹
(¹大歯大 薬理)

【目的】破骨細胞は、造血幹細胞由来の破骨細胞前駆細胞が増殖・融合・最終分化することによって、骨吸収を行う。また主に赤血球由来であるスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) は、血漿中に多量に存在し、細胞間伝達物質として働く脂質メディエーターである。S1P は S1P 受容体を介して細胞増殖、細胞遊走、形態変化などの生理作用を示す。本研究では、活性脂質である S1P が破骨細胞形成および分化過程にどのような影響を及ぼすのかを詳細に検討した。【方法と結果】造血幹細胞画分を RANKL と CSF-1 で分化誘導し、6 日目に TRAP 陽性細胞数を測定した結果、赤血球を含まない群 (-E 群) は、含む群 (+E 群) に比べ、破骨細胞形成数は有意に少なくなった。次に赤血球を除去した造血幹細胞を用いて同様の実験を行い、S1P_{1/3} アントゴニスト添加群は破骨細胞形成数が有意に減少し、S1P₂ アントゴニスト添加群は、大きな破骨細胞が形成された。また、培養開始日から 3 日まで添加した群のほうが 4~6 日間添加群に比べ、S1P による破骨細胞形成数促進に対する抑制作用が顕著であった。さらに、骨髄造血幹細胞画分では S1P₁mRNA 発現が破骨細胞に比べ高かったのに対し、S1P₂mRNA は、逆に破骨細胞での発現が亢進していた。透折膜を用いた S1P 濃度勾配を培養皿中に作成すると、S1P に造血幹細胞は引き寄せられ、S1P 低濃度分画では、破骨細胞形成数が抑制された。【考察】破骨細胞形成には赤血球が供給している S1P が関与していることが示された。また、細胞増殖過程において S1P₁ が促進的に働き、逆に S1P₂ は抑制的に働くことが推測された。S1P は各受容体発現の変化により、造血幹細胞が前破骨細胞にいたる増殖過程に主に作用し、後半の分化過程では増殖抑制をすることも示唆された。【結論】以上の結果より、S1P が破骨細胞形成において重要な役割を果たすことが明らかになった。

O2-C4

レジスタンス運動直後のインスリン高刺激性糖摂取は、インスリン低刺激性糖摂取に比べて骨量・骨強度を増大させる

○納富 拓也^{1,2,3,4}、大浦 清¹、野田 政樹^{2,3}
(¹大歯大 薬理、²医科歯科大 難治疾患研 分子薬理、³医科歯科大 GCOE 歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点、⁴筑波大 体育科学 運動栄養)

Maximizing peak bone mass is an important factor in osteoporosis prevention. Resistance exercise increases bone mass and strength, while nutritional supplements have beneficial effects on bone loss reduction. We have previously shown that the combined intake of sucrose and amino acids mixture (AA), which is strongly insulinogenic, efficiently increased muscle protein synthesis in dogs. We also reported that chronic resistance exercise had beneficial effects on bone compared with chronic aerobic exercise in growing rats. To investigate the effects of sugar and an AA solution immediately after resistance exercise on bone, we compared insulinogenic sucrose and non-insulinogenic fructose combined with an AA solution with or without resistance exercise in growing rats. Squat jumping was used as the resistance exercise model. The rats were divided into 4 groups (Training-Sucrose (TS), Sedentary-Sucrose (SS), Training-Fructose (TF), and Sedentary-Fructose (SF)). Sucrose+AA intake immediately after resistance exercise increased the trabecular bone mass and compressive maximum load compared with fructose+AA intake after resistance exercise. Additionally, combined sucrose+AA and exercise increased trabecular bone formation and decreased bone resorption more than combined fructose and exercise. Without exercise, no parameters differed between the TF and SF groups. Serum insulin levels were greatly increased by sucrose+AA intake with exercise. In culture experiments, neither sugar affected the differentiation of osteoblast- and osteoclast-like cell. In a gene expression study, sucrose+AA intake after resistance exercise was shown to upregulate the Runx2 expression level. Insulin activates bone remodeling by downregulating OPG and increase RANKL/OPG ratio in previous reports, however, mRNA expression of the RANKL and RANKL/OPG ratio decreased in the TS- with the highest serum insulin level in the experimental- whereas the OPG was not different between the SF and TS groups. These results suggest that the combined intake of sucrose and an AA solution immediately after resistance exercise exerts anabolic effects on bone by altering gene expression related to bone remodeling. Although translation of our bone remodeling findings from animal to human studies has been challenging, our findings suggest that exercise with sugar+AA intake may contribute to improved bone health.

O2-C6

細胞外マトリックス分子ラミニン 332 は破骨細胞形成を負に制御する

○上原 範久¹、久木田 明子²、久本 由香里¹、久木田 敏夫¹ (¹九大 院歯 分子口腔解剖、²佐賀大 医 微生物)

【目的】ラミニンは細胞外マトリックス成分の一種であり、インテグリン等との結合を介して細胞の接着・運動・増殖・分化のシグナルを制御する。近年、ラミニン 332 (Lm-332) の構成分子である $\gamma 2$ 鎖がヒト骨髄間質細胞において発現すること、Lm-332 がヒト間葉系幹細胞を骨芽細胞へ分化誘導することが報告され、骨形成における Lm-332 の役割が注目されている。しかしながら Lm-332 の破骨細胞分化シグナルへの関与は知られていない。本研究では Lm-332 の破骨細胞分化への影響とその分子機構について検討を行った。【方法】マウス破骨細胞前駆細胞株 RAW-D およびマウス骨髄由来細胞を用い、Lm-332 コーティング培養容器上にて RANKL 刺激を行い TRAP 染色により多核破骨細胞の形成を、また細胞増殖能を MTT 法により評価した。また、破骨細胞分化マーカーの発現をウェスタンブロット法により検討した。【結果と考察】RAW-D およびマウス骨髄由来細胞の破骨細胞形成は Lm-332 濃度依存的に抑制された。またいずれの細胞も RANKL 刺激により Lm-332 濃度依存的に細胞増殖が誘導された。RAW-D 細胞の Lm-332 による多核細胞形成抑制において、TRAF6 と c-Fos タンパクの顕著な減少が認められた。RANKL 刺激による破骨細胞分化誘導において、ERK、JNK、p38MAPK の顕著なリン酸化亢進が認められたが、Lm-332 は ERK と JNK のリン酸化を顕著に抑制した。以上の結果より、Lm-332 は破骨細胞形成の負の制御因子であり、JNK-c-Jun シグナルを介してその調節をおこなうことが示唆された。会員外共同研究者: 保田尚孝: オリエンタル酵母工業株式会社・バイオ事業本部企画開発部

O2-C7

骨芽細胞における Klf4 の発現は破骨細胞成熟を抑制する

○藤川 順司^{1,2}、阿部 真士¹、竹内 優斗^{1,3}、脇坂 聡¹

(¹阪大 院歯 口腔解剖一、²阪大 歯病院 障害者歯科治療、³阪大 院歯 顎顔面口腔矯正)

骨格の正常な発生と恒常性の維持には骨芽細胞と破骨細胞間での精巧なカップリングが必須である。骨粗鬆症や骨ページェット病はこのカップリングのバランスの破綻、あるいは破骨細胞、骨芽細胞の無秩序な機能亢進により起こることが知られている。Krüppel-like factor 4 (Klf4) は zinc finger type の転写因子であり、骨芽細胞に発現していることは古くから知られている。以前我々は Klf4 が骨芽細胞分化マーカーの発現を抑制し、骨芽細胞の分化を抑制することを報告した。今回我々は骨芽細胞に発現する Klf4 が破骨細胞形成に及ぼす作用について検討した。骨芽細胞特異的に Klf4 を過剰発現させたトランスジェニックマウス (Coll-Klf4) においては、単核の TRAP 陽性細胞を認めるものの多核の破骨細胞はほとんど認められなかった。Klf4 を過剰発現させた骨芽細胞と野生型マウス由来の骨髄間質細胞の共培養においては、コントロール群の骨芽細胞と比較して多核破骨細胞の形成が抑制された。一方、骨芽細胞への Klf4 単独の導入で見られた破骨細胞形成能の低下は、骨芽細胞分化に必須の転写因子 Runx2 を Klf4 と共発現させると有意に回復した。また、Klf4 の骨芽細胞への導入では多くの細胞外基質の発現が低下したが Runx2 と共発現させると部分的に回復し、破骨細胞形成能の変化と相関を示した。また、Coll-Klf4 マウスで見られる単核の TRAP 陽性細胞は類骨上にとどまっていることが分かった。これらの結果は、骨芽細胞における Klf4 は細胞-細胞外基質間の接着を制御することで間接的に破骨細胞の成熟に作用することを示唆している。

O2-C9

ハニカム β -TCP を用いた細胞外微小環境再現による硬組織再生

○高島 清文¹、辻極 秀次²、武部 祐一郎¹、藤井 昌江¹、河合 穂高¹、于 湊¹、長塚 仁¹

(¹岡大 院医歯薬 口腔病理、²岡山理大 理 組織病態)

【緒言】硬組織形成過程における細胞の増殖や分化では、細胞外基質 (ECM) が作り出す微小環境が重要な役割を担うと考えられている。近年の再生医療では細胞外微小環境を再現するために様々な素材の人工生体材料が開発されてきた。しかし人工生体材料の幾何学的構造が細胞に及ぼす影響に着目した研究は少なく詳細は不明である。そこで本研究では人工生体材料としてハニカム β -TCP を用いて細胞外微小環境を再現し、その幾何学構造が硬組織形成過程に与える影響について解析、臨床応用の可能性について検討した。【材料および方法】ハニカム β -TCP は 75、300、500、1600 μm の各孔径の貫通孔をハニカム状に配列した構造に加工成形後、焼成作製した。その後ハニカム β -TCP 孔内に BMP-2 を含むマトリゲルを充填し、4 週齢 Wistar 系ラット大腿部筋肉内に埋入し組織学的に観察した。また最も骨形成能の高かった孔径のハニカム β -TCP に関しては上顎骨骨欠損モデルラットを作製し、骨欠損部に BMP-2 含有マトリゲルを充填したハニカム β -TCP を埋入した。埋入 3 週間後に組織を摘出し、マイクロ CT および組織学的に解析した。【結果】孔径 75 μm を有するハニカム β -TCP では孔内を充填するように軟骨組織の形成が認められた。孔径 300 μm および孔径 500 μm のハニカム β -TCP では軟骨組織は殆ど認められず旺盛な骨組織と骨髄様組織の形成が認められた。孔径 1600 μm では孔内中央部に孤立した骨組織の形成が僅かに認められた。孔径 300 μm のハニカム β -TCP を埋入した上顎骨骨欠損モデルラットにおいては、離断骨断端の連続性が新生骨により完全に回復した。【考察】生体材料の幾何学的構造により組織形成制御が可能であり、頭頸部領域の骨組織再生においてハニカム β -TCP は非常に優れた生体材料となりえる可能性が示唆された。

O2-C8

PKR は歯周病における LPS および TNF- α による破骨細胞形成促進の重要な因子である

○寺町 順平¹、森本 景之²、岡村 裕彦¹、羽地 達次¹ (¹徳大 院 HBS 口腔組織、²産業医大 医 解剖)

【背景・目的】蛋白質リ酸化酵素である二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (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。歯周病微小環境で過剰産生される LPS や TNF- α は骨破壊や歯周病の進行に重要な役割を演じている。我々は昨年の本学会で歯周炎局所において PKR が過剰に発現誘導され、in vitro において PKR が LPS 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、TNF- α による破骨細胞形成における役割や in vivo における PKR の役割については不明である。そこで歯周病における PKR の役割をラット歯周炎モデルおよび各種細胞培養系を用いて以下の検討を行った。【方法・結果】ラット上顎第二大臼歯を結紮して実験的歯周炎を惹起させ歯周組織における PKR の発現を検討したところ、歯周炎を惹起させた歯周組織においてその発現が上昇した。破骨前駆細胞において LPS と TNF- α は PKR の発現を誘導した。次に LPS および TNF- α 誘導破骨細胞形成における PKR の発現を検討したところ、破骨細胞分化に伴ってその発現は誘導された。さらに LPS および TNF- α による破骨細胞形成における PKR の役割を PKR 阻害剤である 2AP を用いて検討したところ破骨細胞形成は顕著に抑制され、NFATc1 および c-fos の発現も抑制された。LPS および TNF- α による破骨前駆細胞の NF- κB 経路や MAP キナーゼ経路活性化は 2AP により著明に抑制された。PKR 阻害剤を用いた歯周炎治療効果を検討するために、歯周炎モデルラットに PKR 阻害剤を局所投与しマイクロ CT にて解析したところ骨破壊抑制効果が認められた。【まとめ・考察】LPS や TNF- α は破骨細胞の PKR 発現の強力な誘導因子であること、また PKR は破骨細胞の形成促進を媒介する重要な機能調節因子として作用していることが示された。

O2-C10

デンタルインプラント周囲顎骨における生体アパタイト結晶配向性

○小高 研人¹、笠原 正彰¹、木下 英明¹、松永 智¹、阿部 伸一¹ (¹東歯大 解剖)

【目的】骨を構成するアパタイトはナノ・イオン結晶子として存在し、その結晶構造は力学的、化学的、生物学的異方性の極めて強い六方晶をベースとしている。近年この生体アパタイト (BAP) 結晶の c 軸配向性と骨の力学機能との関連がみだされたことから、骨質解析の重要性に注目が集まっている。我々は阪大工学部との共同研究として有歯顎骨の BAP 結晶配向性解析を行い、歯を介して加わる機能圧に応じた配向性を示すことを考察した。これに対し、歯科インプラントは顎骨に直接埋入され、荷重は皮質骨および海綿骨に直接伝達、分散されることから、顎骨に与える生体力学的影響は極めて大きいと考えられる。しかし、いまだインプラント周囲骨の精細な骨質解析と力学機能の評価はほとんど行われていない。そこで今回我々は、インプラント周囲顎骨における荷重支持機能の評価を行うことを目的として、デンタルインプラントを有する顎骨と無歯顎骨の BAP 結晶配向性計測を行った。【方法】本実験では、ビーグル犬の上顎骨第 1 後臼歯部の有歯顎骨および無歯顎骨、デンタルインプラント埋入後 6ヶ月および 15ヶ月の顎骨を試料とし、BAP 結晶配向性の測定を行った。試料の作製にあたり、マイクロ CT にて撮影し 3D 骨梁構造計測ソフトウェアを用いて骨形態を確認したのちに、ビーグル犬上顎骨をレジン樹脂にて包埋し、切断、研磨を行った。BAP 結晶配向性の計測には微小領域 X 線回折装置を使用して透過型 X 線回折を行い、(002) と (310) の X 線回折ピークを用いて回折強度比を求めることにより算出した。【結果と考察】有歯顎では低い配向性が認められた上顎骨上部において、インプラント埋入後では高値が認められた。このことから、顎骨ではデンタルインプラントの荷重を伝達する経路が構築されており、これを支持する BAP 優先配向性が認められたと考えられる。

02-C11

チタンが骨内定着する生化学的機構：チタン結合
リン蛋白質の骨増生機能について
○久保木 芳徳¹、古澤 利武²、鶴沼 英郎²、
八上 公利³、滝田 裕子⁴、劉 闢¹、藏崎 正明¹
(¹北大 院地球環境科学 環境適応、²山形大 院
工、³松歯大 院歯、⁴北大 院歯)

【目的】現在、チタンが人工歯根・人工関節に広く用いられている理由は、約60年前にブレノマルクが「チタンが生きた骨と強く結合する」という驚くべき発見をしたからである。しかしながら、なぜ結合するかについての生化学的証明がなかった。【方法と結果】私たちは、チタンビーズ・クロマトグラフィーを開発してチタンに結合する蛋白を系統的に検索し、フォスフィチン、ホスホホリンなどの高リン酸化タンパク質のみがチタンに強く結合することを発見した(BioMed Mat Eng,22: 283-288, 2012)。そこで、直ちにウシ骨の非コラーゲン性マトリック蛋白質のチタン結合性を調べた結果、約2割が結合することがわかった。のみならず骨のチタン結合蛋白(TiBP)を、チタン細線維スキヤフォールドである Titanium Web (TW), (商品名ツエレット、Zellez, Hi-Lex 社)にコートシラットの頭頂骨内に埋植した結果、1週後の骨形成量が、非コート TW の100倍以上高くなる現象を観察した(BioMed Mat Eng, 24: 1539-1548, 2014)。ウシ骨 TiBP には、免疫電気泳動の結果、象牙質マトリックス蛋白質 1(DMP1)、骨シアロ蛋白質(BSP)などの、いわゆる SIBLING 蛋白質ファミリーが含まれることを確認した。【考察】元来、骨には4種類の SIBLING 蛋白質が存在し、何れもセリンリン酸を含む他、1個の細胞接着配列 RGD を含むことから、骨形成と石灰化に重要な役割を持つことが認められていた。これらの骨の SIBLING 蛋白質がチタンに結合するという今回の発見は、チタンがなぜ生きた骨と結合するか、言い換えればチタン表面になぜ骨形成が進行するかという長年の謎に解答を与えたと考えられる。

02-D1

細胞接着分子 CD44 が規定する血管内皮細胞増殖
制御機構
○常木 雅之¹ (イェール大 医 病理)

CD44, a transmembrane glycoprotein, has been implicated in a diverse array of cell behaviors and in a diverse range of signaling pathway activations under various physiological and pathophysiological conditions. Previously, we have documented a role for CD44 in mediating vascular barrier integrity via regulation of PECAM-1 (CD31) expression in vivo and in vitro (Angiogenesis 2013; 16: 689-705). Here we report our latest findings on the roles of CD44 in modulating proliferation and apoptosis of microvascular endothelial cells via its modulation of CD31 and VE-cadherin expression and the Hippo pathway. In this report, we demonstrate persistent increased proliferation and reduced activations of both effector and initiator caspases in post-confluent CD44 knock-out (CD44KO), and CD31KO endothelial cell cultures. It has been shown that reconstitution with murine CD44 or CD31 restored the proliferative and caspase activation rates to wild-type levels. Moreover, we have confirmed that the CD31 ecto-domain plays a key role in specific caspase cascades as well as cell adhesion-mediated cell growth and found that CD31 deficiency results in a reduction in VE-cadherin expression. Last, we have shown that both CD44KO and CD31KO endothelial cells exhibit a reduced VE-cadherin expression correlating with increased Survivin expression and YAP nuclear localization, consistent with inactivation of the Hippo pathway, resulting in increased proliferation and decreased apoptosis. These findings support the concept that CD44 mediates several of its effects on endothelia through modulation of adhesion protein expression, which, in addition to its known modulation of junctional integrity, matrix metalloproteinase (MMP) levels and activation, and selected signaling pathways, plays a key role as a critical regulator of vascular function. Mechanistic understandings of how CD44 alters each process via its modulation of CD31 and VE-cadherin are still ill defined. However, our data from CD44-deficient endothelial cells clarify a role for CD44 in modulating proliferation and apoptosis through several mechanisms that involve CD31 and VE-cadherin that may be applied to a variety of normal and disease states.

02-C12

拔牙即時埋入後早期咬合負荷を与えたチタンイン
プラント周囲骨組織の組織学的検索
○池田 欣希^{1,2}、長谷川 智香²、織田 公光³、
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、³新大 院歯 口腔生化)

In clinics, it is often seen that after the tooth extraction, dental implants are immediately inserted to the sockets, and then, applied with the optimal occlusal force expecting the early establishment for osseointegration. However, the cellular activities of bone tissue around the dental implants, which bear occlusal force immediately after the implantation, are still veiled. In this study, we have attempted to evaluate the biological effects on bone tissues around the titanium dental implants with early or immediate loading of occlusal force. First left molars in maxillae of four-week-old male Wistar rats were extracted, and then, titanium screws were immediately inserted into the sockets. In the experimental group, after the implantation, occlusal loading was given at 1 or 2 weeks by adding adhesive resin on the top of screw. In control group, no adhesive resin was added to the implants, giving less occlusal force to them. At 1 week after occlusal loading, rats were fixed with 4% paraformaldehyde solution under appropriate anesthesia prior to embedding into paraffin, and then, immunohistochemical detection for alkaline phosphatase (ALPase), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAPase), osteopontin and osteocalcin were examined. As a consequence, the newly formed bones directly contacted the most surfaces of the implants were found in both the control and experimental groups. However, the experimental group developed thicker trabeculae between the threads of titanium screw compared to those in the control groups. There were less numbers of TRAPase-positive osteoclasts and ALPase-reactive osteoblasts in bone between the threads of the experimental group, than those of the control group. Osteopontin- and osteocalcin-positive cement lines, histological hallmarks of bone remodeling, were observed as narrow and smooth lines in the experimental group, whereas they featured a complex meshwork with serrated lines in the control group. Taken together, the early occlusal loading appears to lessen the activities of bone remodeling, increasing the trabecular thickness in this rat model.

02-D2

グルタミン酸による象牙芽細胞-象牙芽細胞間シ
グナル伝達
○西山 明宏¹、佐藤 正樹²、木村 麻記²、
田崎 雅和²、片倉 朗²、澁川 義幸² (東歯大
オーラルメディシン・口腔外科、²東歯大 生理)

エナメル質欠損、歯肉退縮により露出した象牙質への温度・圧力・酸塩基等の刺激は象牙細管内液の移動を誘発し象牙質痛を誘発する。これらの刺激は象牙芽細胞が発現している transient receptor potential (TRP) チャネルによって受容される。しかし TRP チャネルの活性化による細胞内シグナルと、それによる隣接細胞への細胞間情報伝達機構については不明な点が多い。近年、象牙芽細胞にグルタミン酸受容体 (GluR) の発現が報告されており、象牙芽細胞間の情報伝達にグルタミン酸が関与している可能性が示唆されている。そこでグルタミン酸による象牙芽細胞間の情報伝達系を明らかにした。マウス由来象牙芽細胞系細胞 (mouse odontoblast lineage cells, OLC) を用いて、単一細胞に微小ガラス管電極で機械刺激を加え、この刺激 OLC と近傍 OLC の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変化を解析した。GluR 刺激及び阻害には GluR 選択的アゴニスト・アンタゴニストを用いた。また各 GluR の mRNA 発現を real time RT-PCR 法で評価した。単一機械刺激を加えると刺激象牙芽細胞のみならず近傍象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ も増加した。GluR 選択的アンタゴニストを投与すると、近傍象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加減少したが、刺激細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加は影響を受けなかった。また象牙芽細胞は NMDA 受容体、代謝調節型 GluR (Group I, Group II, Group III) の mRNA を発現し、これらのアゴニストは $[Ca^{2+}]_i$ を増加させた。機械刺激を受容した象牙芽細胞はグルタミン酸を放出し、細胞間シグナル伝達を確立することが明らかとなった。反応性象牙質形成及び感覚の制御に関与していると示唆された。

O2-D3

Smad8はBMPシグナルの新しいタイプの制御因子である

○片桐 岳信¹、藤本 舞¹、大澤 賢次¹、
自見 英治郎²、古株 彰一郎^{1,2} (1)埼玉大 ゲノム
病態生理 (2)九歯大 分子情報生化学)

【目的】転写調節因子のSmadは、BMPやTGF- β の細胞内シグナルを制御する。BMPを結合したセリン・スレオニンキナーゼ型のBMP受容体は、相同性の高い3種類のR-Smad (Smad1, Smad5, およびSmad8)のC末端をリン酸化する。リン酸化されたR-Smadは、Smad4と複合体を形成して核内へ移行し、標的遺伝子の転写を制御する。一方、Smad6とSmad7は受容体に結合し、キナーゼ活性を阻害してシグナル伝達を抑制する。我々は、R-Smadに分類されるSmad8の転写活性が低く、抑制型Smadと同様にmRNA発現が誘導され、Smad1やSmad5の転写活性を抑制する新しいタイプの制御因子であることを見いだした。

【方法・結果】R-Smadのリン酸化部位に変異を導入し、構成的活性型Smadを構築した。Smad8は、Smad4と複合体を形成しId1遺伝子のBMP応答配列に結合したが、Smad8はSmad1やSmad5に比べ転写活性が低かった。Smad8 mRNAの発現は、Smad6やSmad7同様に、BMP刺激後1時間以内に増加した。Smad1やSmad5の過剰発現はBMPによる細胞内シグナルを亢進した。一方、Smad8の過剰発現は、Smad1のリン酸化やDNA結合能を阻害せずにSmad依存的な転写活性を抑制した。Smad8は、Smad1と複合体を形成してBMP応答配列に結合した。

【考察】Smad8は、BMPシグナルに抑制的な転写調節因子であることが判明した。これは、Smad8がSmad1やSmad5と類似したR-Smadとしての生化学的性状を有し、標的遺伝子のBMP応答配列上に転写活性の低い複合体を形成するためと考えられた。

【結論】Smad8は、ドミナント・ネガティブ型のBMPシグナル抑制因子である。【会員外共同研究者】塚本 翔、水田誉人

O2-D5

新規分子PRIPによる細胞移動調節

○浅野 智志¹、兼松 隆¹
(1)広大院医歯薬保 細胞分子薬理)

創傷の治癒過程をコントロールする事が出来れば、患者の通院期間の短縮や感染リスクの低減など患者のQuality of Life (QOL)の向上につながる。組織が傷害されると、線維芽細胞は葉状仮足を形成し、創傷部位へ移動する。この仮足形成にはイノシトールリン脂質代謝[PI(4,5)P₂→PI(3,4,5)P₃]が関与することが分かっている。本研究では、イノシトールリン脂質結合性タンパク質として同定したPhospholipase C (PLC) related catalytically inactive protein (PRIP)が、細胞移動の調節に関与するかを検討した。まずPRIPノックアウト(KO)マウス胎仔由来線維芽細胞(MEF)の運動能をrandom migration、wound healing assay、2D-chemotaxis assayによって調べた。野生型に比べPRIP-KO MEFでは、血小板由来増殖因子(PDGF)誘導性の細胞移動が著しく促進し、葉状仮足の形成が亢進していることがわかった。この葉状仮足形成の亢進は、PRIP-DKO MEFにPRIP1を戻し発現させると野生型で観察された表現型へと回復した。リン脂質代謝の変調を検討するために、EGFP-PLC δ 1-PH [PI(4,5)P₂の特異的プローブ]を細胞に発現させPI(4,5)P₂の局在を調べたところ、PRIP-KO MEFでは細胞膜におけるPI(4,5)P₂量が減少していた。一方で、PI(3,4,5)P₃ (EGFP-Akt-PHを用いて確認)は、細胞膜で顕著に増加していることが明らかとなった。これらの結果は、PRIPが細胞膜におけるPI(4,5)P₂代謝を調節することで、仮足形成、細胞移動を負に制御している可能性を示唆している。

O2-D4

Smad4 MH1ドメインとNF-kBp65サブユニットTA2ドメインの相互作用

○杉山 悟郎¹、古株 彰一郎¹、多田 幸代¹、
自見 英治郎¹ (1)九歯大 分子情報生化学)

Bone morphogenic proteins (BMPs) are essential for bone formation in vivo and osteoblast differentiation in vitro via a Smad signaling pathway. The transcription factor NF-kB plays a key role in immune and inflammatory responses, proliferation and tumorigenesis. Recent findings revealed the importance of NF-kB in osteoblast differentiation and bone formation. We also showed that NF-kB inhibits BMP-induced osteoblast differentiation via interaction between MH1 domain (MH1) of Smad4 and TA2 domain (TA2) of NF-kB, p65 subunit. To identify the binding site between Smad4-MH1 and p65-TA2, we investigated interaction of these molecules using purified recombinant proteins of Smad4-MH1 and p65-TA2. GST-pull down experiment using recombinant GST-TA2 and his-tagged (His-) MH1 (WT) showed the direct binding of these proteins. In addition, we examined the effect of deletion mutant of His-MH1 (19-105, 19-68) on this binding. GST-TA2 bound to His-MH1 (19-105) as much as WT, but His-MH1 (19-68) didn't. Inhibition of BMP-induced Id-1 luciferase activity by p65 was restored by transfection of WT or MH1 (19-105), but not MH1 (19-68). These results suggest that Smad4-MH1 and p65-TA2 is directly bound within narrow amino sequences containing from Pro-69 to His-105, and the interaction site might be critical for inhibition of Smad signaling by p65. Thus, the interaction site of Smad4 and p65 would be a novel therapeutic target for diseases accompanied by bone loss, which needs BMP-inducing high bone mass.

O2-D6

エピプロフィンによる上皮細胞増殖制御機構

○中村 卓史^{1,2}、福本 敏¹
(1)東北大院歯小児発達歯科、(2)東北大院歯学イノベーションリエンジense)

Aim: Epiprofin (Epf) plays an important role in the development of ectodermal organs. Epf knockout (KO) mice exhibit a failure of tooth morphogenesis, supernumerary formation, and the lack of enamel as well as severe hair defect and impaired skin morphogenesis. In addition, we found that the number of rapidly proliferating epithelial cells in tooth, skin, and hair follicle of Epf KO mice was reduced compared to control mice. In addition, the number of apoptotic cells was significantly reduced. The aim of project is to clarify molecular mechanism of Epf in cell proliferation. **Methods:** The expression of proliferation marker proteins in Epf KO teeth and skin were analyzed by immunohistochemistry. Primary keratinocyte from Epf KO and HaCaT cell, a human immortalized keratinocyte cell line, were used for in vitro analysis. Western-blot analysis was performed to analyze the expression of cell cycle regulators. Immunoprecipitation analysis was performed to identify binding proteins of Epf. **Results:** The expression of PCNA and phosphorylation of Rb (Phos-Rb) were significantly reduced in Epf KO teeth and skin. The expression of Phos-Rb and p21 were reduced in Epf KO keratinocytes as well as in Epf knockdown HaCaT cells. Conversely the expression of Phos-Rb in Epf-overexpressing HaCaT cells was increased. Cell cycle analysis revealed that approximately 70% of Epf KO keratinocytes were in the quiescent G0/G1 phase. Immunoprecipitation analyses reveal that Epf interacts with CDK4 and E2F1. **Discussion:** Rb is phosphorylated by the hetero-complex of CyclinD/CDK during G1 to S cell cycle phase and phos-Rb is released by E2F1, which transcripts a set of cell cycle regulator genes for re-entry next cell cycle. Because Epf promotes Phos-Rb and binds both CDK4 and E2F1, we hypothesized that Epf promotes cell proliferation by stimulating Rb phosphorylation with CDK4 and then Epf blocks the reentry of cell cycle by binding with E2F1. Thus, Epf may simultaneously regulate cell proliferation and cell cycle exit including cell apoptosis. **Conclusions:** Our results strongly suggest that Epf involved in G1/S transition by interacting with CDK4 and maybe block cell cycle re-entry to bind E2F1.

O2-D7

マウスケラチノサイトにおける CLCA 遺伝子の発現調節因子

○廣松 亮¹、八田 光世²、坂上 竜資¹、山崎 純²

(¹福歯大 口腔治療、²福歯大 分子機能制御)

【目的】Ca²⁺活性化Cl⁻チャネル調節タンパクとして位置づけられているCLCAは腺上皮、表皮など、上皮組織に発現する。当研究室ではラット表皮の未分化上皮細胞においてCLCAアイソフォームが細胞接着に関与している可能性を明らかにした。しかし、CLCA遺伝子群の転写制御については不明である。本研究では、マウスケラチノサイトに発現するmCLCA2遺伝子のプロモーター領域に着目し発現調節に関わる因子を明らかにすることを目的とした。

【材料及び方法】マウスケラチノサイト株Pam212を用いてmCLCA2 mRNA発現をRT-PCRにより解析した。mCLCA2プロモーター領域についてはdeletion-mutantレポーターを用いてルシフェラーゼアッセイにて解析した。さらに転写因子NFκBの関与について、結合配列のmutantレポーター、各種薬剤(CAPEおよびTNF-α)を用いてルシフェラーゼアッセイにて解析した。NFκB p65の標的DNA結合はクロマチン免疫沈降法やELISAにて検討した。

【結果および考察】マウスケラチノサイトにmCLCA2 mRNA発現を認めた。mCLCA2遺伝子の転写開始点から-300 bp~-100 bp領域がプロモーター活性に重要であり、*in silico*解析を行ってNFκB結合配列を見出した。NFκB活性化阻害薬CAPEを作用させるとプロモーター活性は減少、活性化を促すTNF-αではわずかに上昇、NFκB結合配列変異では減少を認めた。NFκB p65のノックダウンを行って解析した結果ではmCLCA2のプロモーター活性は減少した。以上の結果からmCLCA2遺伝子の発現調節にはNFκB p65の活性が深く関与していることが明らかとなった。

O2-D9

Tet-offシステムを用いたBMP受容体ALK2発現ES細胞の樹立と機能解析

○藤本 舞^{1,2}、大澤 賢次¹、宮本 阿礼¹、古株 彰一郎¹、須田 直人²、片桐 岳信¹(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(Fibrodysplasia ossificans progressiva, FOP)は、小児期から全身の骨格筋組織内で異所性骨化を生じる難治性疾患であり、BMP受容体(ALK2)のアミノ酸変異が原因で発症する。FOPの異所性骨化は内軟骨性骨化から開始される。現在までに有効な治療法は確立されておらず、FOPを反映した実験系の確立とその治療法への応用が期待されている。我々はマウスES細胞を軟骨細胞へと分化誘導する新しい実験系を確立した。【方法】本研究では、培地中のドキシサイクリン(Dox)を除去すると、ROSA26遺伝子座から目的遺伝子の発現を制御できるマウスES細胞を用いた。本ES細胞に、ヒト野生型またはFOP変異(R206H)のALK2 cDNAを導入した。このES細胞を単層培養、または試験管内でペレット培養し、ALK2の発現による表現形質の変化を解析した。【結果】培地中のDoxを除去すると、ヒトALK2の発現がリアルタイムPCRとウエスタンブロットによって確認された。FACSを用いた解析から、細胞膜上にALK2が発現していることも確認した。変異ALK2を導入した細胞は、BMP非添加でもDoxを除去することでBMP特異的ルシフェラーゼレポーター活性が上昇した。一方、野生型ALK2発現細胞は、Dox除去では活性は誘導されなかった。野生型ALK2発現細胞は、培地にBMPとTGF-βを添加すると軟骨分化マーカー遺伝子の発現は上昇するが、Doxの有無でその発現量に差はなかった。一方、変異ALK2発現細胞でも、培地のDox除去によってTGF-βのみを添加した群でもCol2a1とColl1a1の発現が増加し、ペレット中にアルシアンブルー染色陽性の軟骨細胞が増加した。【考察】ALK2の発現を制御できるES細胞を用いて、*in vitro*で軟骨細胞分化を誘導できる新しい実験系を確立した。本実験系は、FOPにおける内軟骨性骨化の初期過程を反映すると考えられ、異所性骨化の発症機序の解明とFOPに対する有効な治療薬開発への貢献が期待できる。

O2-D8

前駆脂肪細胞におけるD-dopachrome tautomerase 遺伝子の転写調節

○岩田 武男¹、栗林 恭子²、吉本 勝彦¹
(¹徳大院 HBS 分子薬理、²徳大院 HBS 口腔顎顔面矯正)

【背景・目的】抗肥満作用を示すアディポカインD-dopachrome tautomerase (DDT)の脂肪細胞での発現は肥満者で低下することから、DDT発現調節の破綻が肥満によるインスリン抵抗性発症に関与する可能性がある。そこでDDT遺伝子の転写調節機序を明らかにするため、DDT遺伝子転写調節領域の同定を試みた。さらに脂肪組織が曝されている各種ストレスのDDT発現に与える影響について検討した。

【方法】ヒト前駆脂肪細胞株SGBS細胞を脂肪細胞に分化させた際のDDT発現について検討した。ルシフェラーゼレポーターアッセイによりDDT遺伝子上流の転写調節領域の同定を行い、その領域を含むレポーターベクターを作製した。SGBS細胞にレポーターベクターと脂肪分化の制御因子であるC/EBP familyを発現させ、DDT転写活性を測定した。また、低酸素条件下で培養することによる低酸素ストレス、過酸化水素添加による酸化ストレス、血清枯渇ストレスを、それぞれ与えた際のDDT遺伝子転写活性について検討した。

【結果】DDT mRNAの発現は脂肪細胞への分化に伴い上昇した。ルシフェラーゼアッセイにより、脂肪細胞への分化時におけるDDTの転写調節領域は転写開始点より-200~+23 bpに存在することがわかった。C/EBPα、β、δをそれぞれ発現させたSGBS細胞ではDDTの転写活性の上昇を認めなかった。低酸素ストレスはDDTの転写活性に影響を与えなかったが、酸化ストレス及び血清枯渇ストレスは前駆脂肪細胞でのDDT遺伝子の転写活性を上昇させた。さらにAMPKの活性化剤であるAICARはDDT遺伝子の転写活性を上昇させた。

O2-D10

Cbfbは軟骨細胞分化・増殖および骨芽細胞分化に必要である

○秦 昕¹、松尾 友紀¹、姜 晴¹、森石 武史¹、六反田 賢^{1,2}、宮崎 敏博¹、小守 壽文¹
(¹長大院 歯 歯科矯正、²長大院 歯 歯科矯正)

Cbfb was found in the breakpoint of inversion 16, which is related to human leukemia. Cbfb forms a heterodimer with Runx family proteins (Runx1, Runx2, and Runx3) and enhances their DNA-binding capacity. Cbfb-deficient (Cbfb^{-/-}) mice and Runx1^{-/-} mice die at mid-gestation due to the lack of fetal liver hematopoiesis, indicating that Runx1 and Cbfb are required for hematopoiesis in fetal liver. We previously reported that the partial rescue of hematopoiesis in Cbfb^{-/-} mice revealed the requirement of Cbfb in skeletal development. However, the precise functions of Cbfb still remain to be clarified. We deleted Cbfb in mesenchymal cells giving rise to both chondrocyte and osteoblast lineages by mating Cbfb^{fl/fl} mice with Derm1 Cre knock-in mice. In skeletal preparation at E15.5, mineralization was reduced in both intramembranous and endochondral bones in Cbfb^{fl/fl}/Cre mice compared with wild-type mice. *In situ* hybridization analysis showed a severe delay in the expression of Col10a1 and osteopontin in Cbfb^{fl/fl}/Cre mice at E16.5. RT-PCR analysis showed the reduction in Ihh, Col10a1, and osteopontin. The BrdU-positive chondrocytes were reduced in the proliferating layer in the femurs of Cbfb^{fl/fl}/Cre mice. In micromass culture of Cbfb^{fl/fl} primary chondrocytes, the deletion of Cbfb by Cre adenovirus severely reduced alcian blue staining and the expression of aggrecan, Ihh, and Col10a1. Further, the deletion of Cbfb by Cre adenovirus reduced the reporter activities of Ihh and Col10a1 promoter. These findings indicate that Cbfb is required for chondrocyte differentiation and proliferation, Cbfb directly regulates Ihh and Col10a1 expression. In the calvaria at E15.5, the expression of Col1a1, osteopontin, and osteocalcin was reduced, indicating that osteoblast differentiation is inhibited in Cbfb^{fl/fl}/Cre mice. Only two Cbfb^{fl/fl}/Cre mice survived until adulthood. They were examined at 20 and 33 weeks of age, respectively, by micro-CT. Both showed dwarfism, the ribs and vertebrae were deformed, and the trabecular bone in vertebrae and limb bones was severely reduced. These findings indicate that Cbfb is required not only for embryonic skeletal development but also for postnatal bone development by regulating chondrocyte differentiation and proliferation and osteoblast differentiation. (nonmember collaborator: Ichiro Taniuchi, Laboratory for Transcriptional Regulation, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences.)

O2-D11

22q11.2 欠失症候群の頭蓋底軟骨分化に関わる Dgcr2 遺伝子機能の解析
○梶原 景正¹ (東海大 医 基礎医)

22q11.2 欠失症候群はヒト 22 番染色体長腕の微小欠失を伴う疾患で、その欠失領域にコードされている 30 を超える遺伝子のヘテロ型欠失により、顎顔面領域の骨格異常を伴う頭部神経堤細胞遊走領域の広範な発生障害・発育異常がおこる。DGCR2 遺伝子は染色体欠失領域に存在し、頭部・第一鰓弓に発現を示すことから、22q11.2 欠失症候群の骨格系および神経系症状の原因遺伝子のひとつとして考えられる。既に Dgcr2 ノックアウトマウス (Dgcr2-KO マウス) を作製し、その骨格系表現型として生後マウスの尾骨や上顎骨・頭蓋骨の長軸方向の成長不全による尾の短縮や顔貌異常・鼻中隔湾曲が認められた。これら表現型と Dgcr2 遺伝子発現分布との関連性を検討するため、内在性 Sez12 プロモーターで制御されたノックイン GFP の発現動態を検討した。ノックイン GFP 発現は長骨関節で認められ、特に軟骨内骨化の静止軟骨細胞や肥大軟骨細胞で強い GFP シグナルを認めたが、増殖軟骨細胞ではほとんど認められなかった。今回、Dgcr2-KO マウスの頭蓋骨の形態異常について検討するため、前後軸方向への頭蓋底の伸長に寄与する頭蓋底軟骨結合に注目した。生後 5 日目の Dgcr2-KO マウス頭蓋底軟骨結合では、静止軟骨細胞層と肥大軟骨細胞層の短縮が認められ、ノックイン GFP 発現も静止軟骨細胞と肥大軟骨細胞で確認できた。一方、Dgcr2 遺伝子は糖鎖結合ドメインをもつ膜タンパク質をコードしており、相互作用をもつ膜タンパク質をアフィニティ解析などで検討したところ、BMP 受容体や TGF- β 受容体との相互作用が認められ、さらにシグナル解析でも Dgcr2 タンパク質が BMP および TGF- β シグナルを制御している可能性が考えられた。以上のことから、Sez12 遺伝子骨格形成を含めた細胞分化または分化細胞の維持・生存に何らかの役割を果たすことが示唆された。

O2-D13

軟骨特異的 CCN3 過剰発現は軟骨の最終分化の遅延だけでなく、変形性関節症を誘発する
○服部 高子¹、大野 充昭²、星島 光博^{1,3}、
角谷 宏一⁴、窪木 拓男²、滝川 正春³
(¹岡大 院医歯薬 口腔生化、²岡大 院医歯薬
インプラント再生補綴、³岡大 歯 先端領域、
⁴岡大 歯)

CCN ファミリータンパク質 3 / nephroblastoma overexpressed (CCN3/NOV) は 4 つの特徴的ドメイン構造を持つ分泌タンパク質である。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および関節軟骨の形成・維持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、胎生期、および成体における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。胎生期の CCN3^{Col2a1tg} マウスの長管骨は、骨化部分が太く短く、*in situ* hybridization によって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。成体長管骨においてマイクロ 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。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、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事が明らかとなった。さらに生後 2ヶ月齢の長管骨では、骨梁の骨化度の低下のみでなく、変形性関節症様の関節軟骨の著しい変性が認められた。この結果は CCN3 の関節軟骨の維持における負的作用を示している。

O2-D12

マウス下顎頭軟骨発生過程における Perlecan, DMP-1 および MEPE の発現に関する研究
○藤川 芳織¹、田巻 玉器¹、守田 剛¹、
柴田 俊一¹ (医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)

〔目的〕ヘパラン硫酸プロテオグリカンである Perlecan は、正常な軟骨形成に必須の分子である。また、石灰化において重要な働きを担う DMP-1 および MEPE は、非石灰化組織にも存在することが知られている。しかし、マウス下顎頭軟骨におけるこれらの分子の発現や局在は明らかになっていない。そこで我々は、マウス下顎頭軟骨発生過程における Perlecan, DMP-1 および MEPE の発現について検討した。

〔方法〕胎生 14.0-18.0 日齢のマウス下顎頭軟骨の連続切片を作成し、*in situ* hybridization および免疫組織化学により各分子の発現パターンを検索した。また、Real-time PCR を用いて遺伝子発現を定量的に解析した。

〔結果〕E14.0 の下顎頭軟骨原基は間葉凝集で構成されており、Perlecan の mRNA の弱い発現が認められた。E15.0 では、新しく形成された軟骨内に Perlecan の mRNA が発現しており、また、肥大軟骨細胞の一部で DMP-1 の発現が認められた。E16.0 において、Perlecan の mRNA は肥大軟骨層深層を除く軟骨領域で発現しており、DMP-1 は肥大軟骨細胞の一部および軟骨周囲に形成された bone collar に発現していた。いずれの日齢においても下顎頭軟骨での MEPE の mRNA 発現は認められなかったが、免疫組織化学では陽性反応が認められた。Real-time PCR 解析の結果は、*in situ* hybridization の結果を裏付けるものであった。

〔考察〕これらの結果から、Perlecan は軟骨形成前の段階から軟骨原基に発現し、下顎頭軟骨分化に関与していると推測された。また、DMP-1 は軟骨細胞の肥大化および石灰化に関与する可能性が示唆された。MEPE は遺伝子発現が認められなかったことから、軟骨基質とは認められないと考えられた。

O2-D14

ビタミン A・レチノイン酸の過剰・欠乏がマウス成長板軟骨の septoclast に及ぼす影響
○坂東 康彦¹、坂下 英¹、崎山 浩司¹、
天野 修¹ (明海大 歯 解剖)

【背景】我々はこれまで、成獣マウス脛骨骨端板において、septoclast が、表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP) を特異的に発現し、E-FABP が septoclast の細胞マーカーとして有用であることを示した。また、E-FABP は、骨代謝に影響を与える n-3 系不飽和脂肪酸とともに、レチノイン酸とも親和性があることが報告されている。今回、レチノイン酸またはビタミン A の過剰投与および不足が EFABP 陽性 septoclast の数や形態に及ぼす影響を、免疫組織化学的に調べた。【方法】レチノイン酸を過剰摂取させた生後 4 週齢 (P4w)、ビタミン A 欠乏食を離乳期より摂取させた P9w ddy マウスに対し、抗 E-FABP 抗体 (山口大学大学院大和田祐二教授供与) を用いて免疫組織化学および走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いた 3D 画像構築法を行い、細胞数および細胞形態を調べ、同週齢の正常飼育マウスと比較した。【結果】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、単位骨端板領域における E-FABP 陽性 septoclast 細胞数が減少した。また、両栄養状態で、septoclast の突起の短縮や減少などの形態不全が認められた。【考察】レチノイン酸の過剰または欠乏状態における septoclast 数の減少により、細胞増殖抑制または細胞死が誘導されたことが示唆される。また、septoclast は骨端板横隔に接触し、非石灰化軟骨基質の吸収に関与すると考えられているので、突起の短縮や数の減少により、軟骨吸収能が低下することが示唆される。従って、レチノイン酸の過剰または欠乏状態による septoclast の機能低下が、長管骨の骨端板の成熟や長径の成長抑制の要因となると考えられる。

O2-D15

液状飼料飼育による成長期ラット顎関節軟骨の変化に関する組織学的・免疫組織化学的研究
 ○上北 広樹^{1,2}、高橋 茂²、加藤 剛士²、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)

【緒言】成長期におけるソフトフード摂取は口腔顎顔面領域の骨、軟骨や唾液腺などの発育に影響を与えることが知られている。演者等はこれまでに成長期ラットに液状飼料を摂取させた場合、下顎頭や下顎窩軟骨の細胞増殖活性が低下し、顎関節の成長が阻害される事を報告した。今回さらに液状飼料飼育によって下顎頭および下顎窩の軟骨基質にどのような変化が起こるのかを組織学的、免疫組織化学的に検討した。【方法】Wistar 系雄性ラットを生後 21 日で離乳させ、対照群（固形飼料）と実験群（液状飼料）に分け 1、2、4、8 週間飼育した。実験期間が終了したラットを 4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定後、摘出した頭部を脱灰しパラフィン包埋した。試料から顎関節中央部付近の前頭断切片を作製し、HE 染色、アルシアンブルー染色、Azan 染色、I、II、X 型コラーゲン免疫染色を行った。【結果と考察】下顎頭軟骨では、2 週以降において対照群よりも実験群の方でその厚さが薄かった。免疫組織化学的には、I 型コラーゲンに関しては 2 週の成熟細胞層で、II 型コラーゲンに関しては 1~2 週の成熟細胞層と肥大細胞層で、X 型コラーゲンに関しては 8 週の肥大細胞層で実験群の方が弱い反応を示していた。一方、下顎窩軟骨では、2~4 週においてその厚さが実験群の方で薄く、2~4 週の成熟細胞層と肥大細胞層においてアルシアンブルー染色の染色性が低下していた。II 型と X 型コラーゲンに関しては 1~2 週の成熟細胞層と肥大細胞層において実験群の反応が弱かった。Azan 染色に関しては下顎頭および下顎窩ともに両群間にほとんど差異は認められなかった。以上の結果より、液状飼料飼育は下顎頭や下顎窩の軟骨基質の減少をもたらす、このような傾向は特に成長初期において強くみられることが明らかとなった。

O2-E2

ナノ粒子によるマクロファージ炎症の解析 2
 ○小笠原 康悦¹、古澤 慧美¹
 (¹東北大 院歯 難治・口腔免疫)

【目的】非晶質シリカによるナノ粒子（100 nm 以下の直径の粒子）は、医薬品、塗料、化粧品、食品などの製品、多種多様に使用されている。歯科領域においても、サンドブラスト法などでシリカ粒子は多用されており、その有用性は認識されているものの安全性については明らかになっておらず研究すべき課題として指摘されている。さらに、ナノ粒子の免疫毒性および炎症誘発性活性との関係は十分に理解されていない。そこで我々は、非晶質シリカの生体への影響を明らかにする目的で、マクロファージに着目してその炎症反応についての研究を行った。【方法】マウスよりマクロファージ細胞を単離、培養して、非晶質シリカ粒子を培養液中に添加した。マウスマクロファージの挙動を、分子生物学的解析、免疫学的解析を行って検討した。蛍光標識したナノ粒子を、培養液中に添加し、蛍光顕微鏡にて観察した。さらに、ナノ粒子をマウス肺に接種し、フローサイトメトリー、コンピューター断層撮影：Computed Tomography (CT) を用いて解析した。【結果と考察】ナノ粒子の接種により、マウス肺において、炎症反応が誘導されることが判明した。さらに前述のようにマウスマクロファージを用いた研究により、炎症性サイトカインが産生されることが明らかとなり、粒子のサイズによっても炎症反応が異なることも明らかとなった。この結果、ナノ粒子は肺への炎症を引き起こしていると考えられた。

O2-E1

ナノ粒子によるマクロファージ炎症の解析 1
 ○古澤 慧美、小笠原 康悦¹
 (¹東北大 院歯 難治・口腔免疫)

【目的】ナノ粒子（100 nm 以下の直径の粒子）などの非晶質シリカ粒子は、医薬品、塗料、化粧品、食品などの製品、多種多様に使用されている。以前から、シリカを含む微粒子を吸い込むと珪肺と呼ばれる肺疾患が引き起こされることが知られている。珪肺は世界で最も広くみられる職業性肺疾患であって、世界各地、特に途上国で多く発生している。サンドブラストの導入が珪肺有病率の増加につながったとの報告もあり、歯科領域においてもサンドブラストは利用されており注意が必要である。このようにシリカ粒子が多用される危険性は指摘されているものの、これらの粒子の免疫毒性および炎症誘発性活性との関係は十分に理解されていない。我々は、非晶質シリカのマクロファージにおける炎症反応を明らかにする目的で研究を行った。【方法】マウスマクロファージ細胞を培養し、非晶質シリカ粒子を培養液中に添加した。培養液中の炎症性サイトカインの量を ELISA 法により定量した。各種サイズのシリカ粒子について検討した。さらに、分子生物学的的手法により、炎症の分子機構について解析した。【結果と考察】マクロファージなど貪食細胞は生物粒子だけではなく、シリカのような無機粒子をも貪食することが明らかになった。非晶質シリカ粒子により、マウスマクロファージは、炎症性サイトカインを産生した。さらに、粒子のサイズによっても、炎症反応が異なることが判明した。本研究は、安全なナノ粒子の開発に向けての重要な情報となりうると考えられた。

O2-E3

Streptococcus sanguinis による NLRP3 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 (¹北大 院歯 口腔分子微生物、²北医大 歯 微生物)

Streptococcus sanguinis, a human oral inhabitant, is one of the most potent agents of infective endocarditis. However, the pathogenesis is not fully understood. Recently, the proinflammatory cytokine IL-1 consisting of IL-1alpha and IL-1beta has been shown to contribute to the pathogenesis. IL-1beta secretion is regulated by the activation of inflammasome. Recently, we found that whole cells of *S. sanguinis* induce IL-1beta secretion in the murine dendritic cell line XS-106 cells and the IL-1beta-inducing activity was inhibited by silencing of caspases-1 mRNA as well as the caspases-1 inhibitor z-YVAD-fmk and by silencing of NLRP3 mRNA. Therefore, to determine more conclusively the roles of caspase-1 and NLRP3 inflammasome in *S. sanguinis*-induced IL-1beta production, this study was designed to examine whether *S. sanguinis* induces IL-1beta production by bone marrow derived macrophages (BMMs) from C57BL/6 mice and caspase-1-, NLRP3- and ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain)-deficient mice. *S. sanguinis* induced production of IL-1beta by BMMs derived from C57BL/6 mice in dose- and time-dependent manners, but not by caspase-1-, NLRP3- and ASC- deficient BMMs. Thus, this study strongly suggests that *S. sanguinis* activates the NLRP3 inflammasome to produce IL-1beta in murine dendritic cells and macrophages. (Non-member coauthor: Prof. Toshihiko Suzuki, Graduate School of Medicine, Univ. of the Ryukyus)

O2-E4

β -1,3 glucan のインフラマソーム活性化制御メカニズムについて

○沖永 敏則¹、有吉 渉¹、西原 達次¹
(¹九歯大 感染分子)

【背景・目的】 β -1,3 glucan 受容体である Dectin-1 は、主に抗原提示細胞に発現し、自然免疫に深く関与している。さらに、病原細菌感染により誘導される炎症応答において、インフラマソームが重要な働きをしていることが近年注目されている。我々は、歯周病細菌侵入実験系において、マクロファージにおいてインフラマソームが活性化され、細胞死であるピロトーシスが誘導されることを報告してきた。そこで今回、 β -1,3 glucan の歯周病細菌が誘導するインフラマソーム活性化に及ぼす影響を詳細に検証した。【方法】通常に従い、歯周病細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 株をマウスマクロファージ RAW264.7 細胞および Dectin-1 過剰発現 RAW264.7 細胞に感染させた。遺伝子発現解析は Real-Time RT-PCR 解析、タンパク発現はウェスタンブロット解析を行い、RAW264.7 細胞および Dectin-1 過剰発現 RAW264.7 細胞において、ファゴサイトーシス能および β -1,3 glucan の取り込み能について検証した。【結果】Dectin-1 過剰発現細胞株を β -1,3 glucan で刺激したところ、歯周病細菌が誘導する炎症性サイトカイン IL-1 β の遺伝子およびタンパクの発現が著しく抑制された。さらに、細菌侵入マクロファージに誘導されるピロトーシスを抑制することも明らかになった。一方、インフラマソーム関連因子である NLRP3 発現に影響は認めなかった。以上の結果から、インフラマソーム活性の過程で、 β -1,3 glucan は IL-1 β 発現を特異的に抑制し、シグナル伝達系を介して歯周病細菌が誘導するピロトーシスを抑えることが示唆された。

O2-E6

Porphyromonas gingivalis によるヒト肉肉上皮細胞の LL-37 発現誘導は IL-33 により下方制御される

○多田 浩之¹、松下 健二²、高田 春比古¹
(¹東北大 院歯 口腔微生物、²国立長寿寺)

Objective Gingival epithelial cells play integral roles in innate immune defense by sensing pathogens, maintaining a physical barrier, and expressing antimicrobial peptides. LL-37 is a 37 amino acid peptide with two leucine residues derived from human cathelicidin that is a cationic antimicrobial peptide of 18-kDa (CAP18). The peptide is mainly produced by epithelial cells and detected in gingival crevicular fluid. Interleukin-33, a member of the IL-1 family, is constitutively expressed in epithelial cells. IL-33 is released as an alarmin following cell injury, and amplifies Th2-type inflammatory responses. We previously showed that IL-33 was detected in the inflamed gingival epithelium from chronic periodontitis patients, and periodontopathic *Porphyromonas gingivalis* strongly increased expression of IL-33 in human gingival epithelial cells. To address possible roles of IL-33 in development of chronic periodontitis, we examined the influence of *P. gingivalis*-mediated IL-33 production on the induction of LL-37 mRNA expression in human gingival epithelial cells in culture. **Methods** Human gingival epithelial cell line, Ca9-22 cells were stimulated with *P. gingivalis* W83, KDP136 (a gingipain-null mutant), or ATCC 33277 (a wild-type parent strain of KDP136). Total cellular RNA was reverse-transcribed, then the expressions of LL-37 mRNA transcript levels were quantified by real-time PCR. **Results** 1. The LL-37 mRNA expression was significantly increased at 48 h after stimulation with *P. gingivalis* W83 and ATCC 33277 in Ca9-22 cells. 2. The mutant strain *P. gingivalis* KDP136 induced higher LL-37 mRNA expression than wild-type parent strain. 3. Higher level of LL-37 mRNA expression by *P. gingivalis* W83 was induced in IL-33 siRNA-transfected cells as compared with intact cells. 4. **Conclusion** These results suggest that IL-33 may attenuate antimicrobial immune responses by epithelial cells against bacterial mucosal infections.

O2-E5

窒素含有 bisphosphonates による TLR4 リガンド誘導 IL-1 β 産生の増加に与える Smad3 活性化の影響

○玉井 利代子¹、清浦 有祐¹
(¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

【目的】骨吸収抑制薬である窒素含有 bisphosphonates (NBPs) は、様々な骨関連疾患の治療に用いられているが、炎症性副作用があり、NBPs 投与患者における顎骨壊死の報告がある。我々は、NBPs の一種であるアレンドロネート (ALD) の前処理が TLR4 リガンドによる IL-1 β 産生を増加することを報告した。また、ALD による Smad3 活性化によって、TLR4 リガンドが惹起するケモカイン産生は減少した。本研究では、ALD 前処理による IL-1 β 産生増加における Smad3 の関与について検討した。【方法】TLR4 リガンドである lipid A はペプチド研究所から購入した。マウスマクロファージ様細胞 J774.1 は、10%ウシ血清添加 RPMI1640 培地を用いて、5% CO₂ 37°C で 3 回から 6 回継代培養後、96 穴平底マイクロプレートに 1 穴あたり 2×10⁶ 個播種した。一晩後 1 回細胞を洗い、同細胞を ALD 含有または不含の培地で 24 時間培養後、2 回細胞を洗い、lipid A 含有または不含培地で 24 時間培養した。そして、上清中の IL-1 β 、MCP-1 および MIP-1 α の産生を ELISA 法で調べた。Smad3 抑制剤である SIS3 は ALD 添加または lipid A 添加 1 時間前に J774.1 細胞に加えた。【結果と考察】1. SIS3 は、lipid A による J774.1 細胞の IL-1 β 産生増加を濃度依存的に抑制した。2. SIS3 添加は、lipid A による J774.1 細胞の MCP-1 および MIP-1 α 産生減少を抑制した。以上の結果から、Smad3 活性化は ALD 前処理による IL-1 β 産生増加に関与すると考えられる。

O2-E7

A 群レンサ球菌 CAMP ファクターのマクロファージに対する病原性解析

○小田 真隆¹、黒澤 美絵¹、土門 久哲¹、
寺尾 豊¹ (¹新大 院医歯 微生物)

【目的】A 群レンサ球菌は、宿主免疫細胞の機能を低下させる分子群を産生し、同菌の組織内への侵入および組織内増殖を惹起する。A 群レンサ球菌の CAMP ファクターは、黄色ブドウ球菌の β ヘモリジンによる溶血作用の増強因子として報告されている。しかしながら、免疫細胞に対する作用については報告がない。本研究では、マウス腹腔マクロファージ系細胞 (RAW264.7 細胞) に対する CAMP ファクターの病原性について解析した。

【結果・考察】RAW264.7 細胞に CAMP ファクターを 37°C、24 時間、5% CO₂ 条件下で作用させた結果、細胞質に多くの空胞が濃度依存的に認められた。空胞化形成毒素であるピロリ菌 VacA は、細胞膜上で 7 量体を形成することが知られている。そこで、CAMP ファクター処理細胞における複合体形成について解析を行った結果、CAMP ファクターは、単量体の状態で空胞を誘発することが明らかとなった。また、VacA による空胞化で認められるニュートラルレッドの取込みは、CAMP ファクター処理条件下では認められなかった。近年、小胞体ストレスにより細胞周期が停止し、細胞内に空胞形成されると報告されている。そこで、CAMP ファクターの細胞周期に与える影響について解析した。その結果、空胞化を起こした細胞では、G2 期で停止状態になることが判明した。さらに、G2 期停止細胞の細胞質内に細胞分裂中の核が複数観察された。次に、空胞化した細胞の貪食能力を pHrodo Red *S. aureus* bioparticles の取込みを指標に測定した。その結果、CAMP ファクター処理により空胞化した細胞は、コントロール細胞と比較して、貪食能力が約 95% 低下した。以上の結果より、CAMP ファクターは、RAW 細胞に作用すると細胞周期を G2 期で停止させることで空胞を誘発し、貪食能を低下させることが明らかとなった。

O2-E8

脂質代謝異常におけるマクロファージのリゾリン脂質アシル転移酵素群の役割

○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 顎顔面外科、2九歯大 口腔機能支援、3九歯大 感染生物)

【目的】近年リゾリン脂質アシル転移酵素群は数多く同定され、炎症性脂質メディエーター産生および細胞膜主成分であるリン脂質生合成を調節する酵素として注目されている。マクロファージは肥満の脂肪組織に浸潤後、炎症性サイトカインを産生し低レベルの慢性炎症を引き起こす M1-like macrophage (以下 M1) と、脂肪組織の維持に働き、代謝異常を抑制する M2-like macrophage (以下 M2) の 2 種に分化することが知られている。さらに、この M1・M2 の比率が変化することにより脂質代謝異常が引き起こされると考えられるようになってきた。本研究では、マクロファージの M1・M2 分化や機能におけるリゾリン脂質アシル転移酵素群の役割について検討した。【方法】ヒト単球系細胞株 U937 細胞を PMA 処理し、さらに LPS あるいは IL-4 で刺激後、細胞の形態を観察した。M1・M2 それぞれの分化マーカーおよびリゾリン脂質アシル転移酵素群の遺伝子発現を qRT-PCR、western blot で確認した。さらに siRNA でリゾリン脂質アシル転移酵素遺伝子の一つをノックダウンさせた後、細胞の形態等を検証した。【結果】PMA 処理を行うことにより、U937 細胞は付着性が高まったが、著明な細胞増殖は認められなくなった。さらに M1、M2 に分化させると細胞全体が大きくなり明らかな形態の変化が認められた。次に、PMA 処理後 LPS 刺激したところ、M1 マーカー遺伝子およびタンパク発現が亢進した。また、PMA 処理後 IL-4 刺激することで、M2 マーカー遺伝子およびタンパク発現の亢進を確認することができた。また、リゾリン脂質アシル転移酵素群に関しては、M1 および M2 間で遺伝子発現レベルに差が認められた。siRNA でリゾリン脂質アシル転移酵素遺伝子の機能を抑制すると、PMA 処理した際に見られた細胞の形態に変化が認められた。【考察】リゾリン脂質アシル転移酵素群がマクロファージの分化過程において何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。

O2-E10

舌背および肉肉上皮の有棘細胞に恒常的に認められる免疫抑制 B7-H1 分子発現

○康 思雯¹、大野 建州¹、東 みゆき¹ (1医科歯科大 院医歯 分子免疫)

[Purpose] B7-H1/PD-L1 (CD274) is one of co-inhibitory ligands that bind to an immunoregulatory receptor PD-1 (CD279). B7-H1 is often induced on non-lymphoid cells at the inflammatory condition as well as lymphoid cells. B7-H1 is also induced on oral squamous cell carcinoma (OSCC) and blockade of the B7-H1-PD-1 inhibitory pathway efficiently enhanced antitumor immune responses. Epithelial surface in the whole body has distinct structure and functional roles. We here histologically examined expression of B7-H1 in various sites of epithelial surface. [Results and Discussion] B7-H1 was spontaneously expressed at high levels in the prickle-cell layers of dorsal surface of tongue and gingiva in intact adult BALB/c mice. Some of epithelial keratinocytes in hard palate also expressed B7-H1. No expression was observed in other oral mucosae including ventral surface of tongue, buccal, soft palate and lip mucosae, and other sites of epithelia including nasal, esophagus, tracheal, lung, gastrointestinal and vaginal mucosae and skin. We have tried to detect expression of a counter receptor PD-1, but the substantial expression was not observed. B7-H1 expression in the prickle-cell layers of dorsal surface of tongue and gingiva was consistently observed in aged mice. TPA-painting induced B7-H1 expression not only in prickle-cell layers but in all layers of cells with basal cell proliferation assessed by a proliferation marker Ki67. The dorsal surface of tongue and gingiva is masticatory mucosa that receive various dietary and microbial stimuli, thus expression of B7-H1 may play important roles to control unwanted excess immune responses. We found the unique spontaneous expression of B7-H1 in oral epithelia in mice.

O2-E9

新規抑制性共刺激分子 VITSA の T 細胞依存的あるいは非依存的免疫応答における役割解析

○大野 建州¹、東 みゆき¹ (1医科歯科大 院医歯 分子免疫)

【目的】 V-domain Ig suppressor of T cell activation (VISTA) は、PD-1 やそのリガンドである B7-H1 と相同性をもつ新規の T 細胞応答を抑制する共刺激分子である。しかしながら、T 細胞のみならずミエロイド系細胞にも高発現が認められるため、受容体として働いているのかりガンドとして働いているのか疑問な点も多い。本研究では、VISTA の機能を解明するためにマウス VISTA に対するモノクローナル抗体を作成し、T 細胞依存的免疫応答と非依存的免疫応答における、抗体の影響を検討した。【方法と結果】抗 VISTA 抗体 (MIH63) は、VISTA 遺伝子導入細胞とのみ反応し、他の CD20-B7 ファミリー分子遺伝子導入株とは反応しなかった。CD4+ T 細胞上の VISTA 発現は弱く、刺激により減弱した。培養系への MIH63 の添加では、CD4+ T 細胞応答や LPS 刺激による腹腔マクロファージからのサイトカイン産生に影響を与えなかった。DNFB ハプテンによって誘導される接触性過敏症 (CH) モデルにおける感作時の MIH63 投与は耳介腫脹を増大させた。MIH63 を投与された感作 T 細胞は DNFB に対して高い応答を示し、感作 T 細胞移入後の耳介チャレンジにおいても腫脹増大が認められた。LPS 誘導性のエンドトキシンショックモデルでは、MIH63 抗体投与は、血中 TNFα および IL-6 量をおよび肝逸脱酵素 (AST および ALT) 濃度を増加させ、致死率を上昇させた。T 細胞欠損ヌードマウスにおいても同様の結果が得られた。【考察】上記の結果から、VISTA 抗体投与は T 細胞依存的な免疫応答を増強させるだけでなく、T 細胞非依存的な自然免疫応答も増強することが示唆された。

O2-E11

マウス切歯 apical bud および臼歯発生過程における BrdU label-retaining cells (LRCs) と幹細胞マーカー発現との関係

○石川 裕子¹、大島 勇人² (1新大 院医歯 口腔生命福祉、2新大 院医歯 硬組織形態)

【目的】今回、我々はマウス切歯の上皮幹細胞ニッチである apical bud および臼歯歯髄幹細胞の局在とその維持機構を解明するために、マウス切歯 apical bud、臼歯発生過程における歯髄およびその他の口腔組織における BrdU label-retaining cells (LRCs) の局在と幹細胞マーカー発現との関連を免疫組織学的に解析した。

【方法】妊娠 ICR マウスに 3 日間 (胎生 15~17 日) BrdU を腹腔内投与し、生後 1 日~5 週齢まで経時的に仔マウスをアルデヒド系固定液にて灌流固定し、EDTA で脱灰・パラフィン包埋後、頭部矢状断パラフィン切片を作製した。引き続き、抗 BrdU 抗体と、幹細胞マーカーである抗 Oct3/4・抗 Yap・抗 Bmi1・抗 Sox2・抗 Sca-1・抗 SSEA1・抗 SSEA3・抗 Gli1 抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果と考察】動的な幹細胞と静的な幹細胞を持つ切歯では、apical bud の外エナメル上皮側に濃く染まる LRCs が局在していたが、幹細胞マーカー (Oct3/4, Yap, Sox2, SSEA3) は apical bud 全体に発現が見られた。静的な幹細胞を持つ臼歯では、生後 1 日では LRCs は歯髄広範囲に分布していたが、歯の発生の進行に伴い数が減少し、生後 1 週以降に濃く染まる LRCs は歯髄中央部血管周囲に維持されていた。Sox2 は口腔粘膜上皮基底層から有棘層および毛包上皮に加え、歯根、中間層、一部の星状網や内エナメル上皮 (cervical loop を含む) に発現が見られたが、歯乳頭および歯髄には発現は見られなかった。Oct3/4, Yap, SSEA3 は口腔粘膜上皮・毛包・歯根上皮に加え歯髄広範囲に発現が見られたが、生後 2 週以降に Yap 発現は減少した。以上より、上皮・間葉の違いや発生過程に伴い、LRCs における幹細胞マーカーの発現パターンが変化することが明らかになった。

O2-E12

マウス臼歯歯胚の発生におけるヒアルロン酸合成酵素 (HAS) の発現

○守田 剛¹、田巻 玉器¹、藤川 芳織¹、柴田 俊一¹ (¹医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)

【目的】ヒアルロン酸 (HA) は二糖の繰り返しからなるグリコサミノグリカン鎖であり、組織構造と機能を維持するとともに、細胞増殖、細胞分化および細胞遊走に重要な役割を果たすことが知られている。HA は三種類のヒアルロン酸合成酵素 hyaluronan synthase (HAS) により合成され、それぞれ異なる分子量の HA を合成することが報告されている。しかし、歯胚初期における HAS 発現に関する詳細な報告はほとんどされていない。そこで胎生期マウス臼歯歯胚における HAS1、2、3 の発現について検索することを目的とした。【方法】E11.5-18.0 日齢の ICR マウス下顎臼歯歯胚を HAS1、2、3 の in situ hybridization および real-time PCR を用いて、胎生期マウスの臼歯歯胚における HAS1、2、3 の mRNA 発現について検討した。また、E16.0 の歯胚においては、酵素処理を用いて上皮と間葉に分離して検討した。さらに、hyaluronan binding protein を用いて合成された HA の局在についても組織化学的に検討した。【結果および考察】real-timePCR では、実験期間を通して HAS1 の発現はほとんど認められず、HAS2 の発現は経時的に減少した。一方、HAS3 の発現は経時的に増加した。また、HAS2 は上皮よりも間葉で強く発現し、反対に、HAS3 は上皮でその発現が認められた。HAS2 の発現は E11.5 において間葉組織側で弱く認められ、E12.0 以降においては歯胚を囲むように観察された。E13.0 以降も同様に局在したが、E14.0 以降で HAS2 の発現は徐々に弱くなった。一方、HAS3 は E11.5 から口腔上皮に発現が認められ、帽状期から鐘状期において内エナメル上皮 (IEE) に発現し、E16.0 以降で星状網および中間層細胞においてもその発現が観察された。また、E18.0 では、IEE がエナメル芽細胞に分化すると、HAS3 の発現は認められなかった。以上のことから、HAS2 は歯胚の周囲の間葉組織に関与し、HAS3 は歯胚初期の形態形成時における上皮間葉の相互作用に関与する可能性が示唆された。

O2-F1

歯周病減菌ゲノム情報から紐解く細菌の競合・協調的相互作用

○丸山 史人¹、渡辺 孝康²、遠藤 亜希子²、和泉 雄一²、中川 一路¹ (¹京大 院医 微生物感染症、²医科歯科大 院医歯 歯周病)

口腔の重要な感染症である歯周病は「polymicrobial disease」の一つであり、その発症・進行には、複数の微生物間の相互作用が関与する。その中でも *P. gingivalis* (Pg)、*T. forsythia* (Tf)、*T. denticola* (Td) は最も病態の進行に関与していると考えられている。深い歯周ポケットという特殊な環境で共存している3菌種は、ヒトの免疫機構に対抗するために種間相互作用をしていると考えられるが、その相互作用は不明である。そこで、Tf 18 株のゲノム配列を新規に取得し、種間比較ゲノム・ネットワーク解析を行った。その結果、Tf、Td は Pg とは対照的に、可動性遺伝因子が少なく安定したゲノム構造であり、Tf では非同義置換 / 同義置換比が 1 以上の遺伝子が多かった (Tf 5.4%、Td 0.7%、Pg 2.6%)。また、外来遺伝因子排除システムである clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) 解析の結果、Td の CRISPR の一部は自己のゲノム上に、Tf の CRISPR の一部は Pg や Td の塩基配列に類似性が高く、3 菌種で異なる特徴を示した。さらに Tf (18 株中 7 株) の保有する CRISPR の一部は Pg の可動性遺伝因子 (全体の 2.8%) や制限修飾システムのメチル転移酵素 (全体の 3.8%) と類似性が高いことから、Pg 遺伝子の菌体内侵入を防ぎ、外来 DNA の侵入を妨げる制限修飾システムへの攻撃を行う競争関係が見出された。その一方で、3 菌種それぞれが、既知の病原性遺伝子を高度に保存し、それらは各種に特異的であることから宿主に抵抗する協力関係にあることが推察された。さらに、複数の代謝経路の遺伝子群を 3 菌種で補完する協力関係が推察されたが、この一部は、歯周病態の増悪に関わるものと考えられた。これらの結果は、同一環境における異菌種の新たな競争・協力関係から導かれるヒト恒常性破綻機構の一つといえる。

O2-E13

生後マウス切歯 apical bud にエナメル結節様構造が恒久的に維持されている

○中富 千尋¹、中富 満城²、齋藤 幹³、原田 英光⁴、大島 勇人⁵
(¹九歯大 分子情報生化学、²九歯大 頭頸部構造解析、³東北大 院歯 小児歯科、⁴岩医大 発生生物学・再生医学、⁵新大 院医歯 硬組織形態)

Objectives: The boundary where the inner and outer enamel epithelium meet is referred to as cervical loop (CL) in molar tooth germs. In contrast, rodent incisors are continuously growing teeth: the labial side of teeth is covered with enamel (crown-analog) whereas the lingual side is covered with cementum (root-analog), resulting in the appearance of CL in the transverse sections near the apical end. We have named "apical bud" for the epithelial bulge of the apical end of incisors, since this labial epithelial compartment includes stem cells and tooth bud structures. However, many researchers have used the term "labial CL" for indicating this special stem cell niche.

Methods: This study aimed to investigate the gene expression patterns in relation to the enamel knot (EK), signaling center in tooth morphogenesis, to clarify the existence of tooth germ structures in the apical bud. Prenatal and postnatal ICR mice, embryonic Days 14-18 and postnatal Day 3 (P3), were used in this experiment. The paraffin-embedded heads and incisors were cut at 4 micron meter sagittally and frontally, respectively. Immunohistochemistry was conducted with an anti-Ki-67 monoclonal antibody for cell proliferation assay. Furthermore, we examined the three-dimensional expression patterns of some markers for the EK such as *Fgf4*, *Shh*, *Msx2*, and *P21* in transverse sections of mandibular incisors of P3 mice.

Results: Serial transverse sections of the apical end of postnatal incisor clearly demonstrated the existence of EK-like structure composed of supra-inner enamel epithelium and stellate reticulum in the tooth germ structure in the apical bud. This structure includes the expression of all the examined markers for the EK such as *Fgf4*, *Shh*, *Msx2*, and *P21*, suggesting that the tooth germ is eternally maintained, although the domain of their expressions in the apical bud are not so clear in the incisor tooth germ, compared with the molar tooth germ.

Conclusions: The use of term "apical bud" is encouraged for the naming of the epithelial bulge of the apical end of incisors.

O2-F2

歯周病原性細菌の新規オリゴペプチダーゼ：基質特異性と分子集合性

○根本 孝幸¹、根本 優子¹、小野 俊雄¹、下山 佑²、木村 重信² (¹長大 院医歯 口腔分子生化学、²岩医大 分子微生物)

【目的】歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* はアミノ酸を炭素原とエネルギー原とする。私たちは菌体外ペプチド分解の最終段階において、基質特異性の異なる 4 種類のジペプチジルペプチダーゼ (DPP4, DPP5, DPP7, DPP11) が多様なジペプチドを産生することを明らかにした。さらに *dpp* 遺伝子 4 重破壊株では Met-Leu-MCA 分解活性が有意に上昇したことから、未知の DPP が補償的に誘導される可能性が示唆されていた。本研究では、この活性を担うペプチダーゼについて探索した。【方法】S9 セリンペプチダーゼファミリーに属する機能未知の PGN_1349 を大腸菌で発現精製した。組換え分子の活性を測定し、ゲルろ過 HPLC、及び免疫ブロットによって本分子の性状を決定した。【結果】PGN_1349 組換え分子は SDS-PAGE で 85 kDa であり、Met-Leu-MCA に分解活性を示したが、ジペプチド基質ではない Z-Val-Lys-Met-MCA をより高効率で分解した。他の結果と合わせ、PGN_1349 は疎水性アミノ酸に指向性を有する新規オリゴペプチダーゼ (OP) であると結論した。組換え OP は 400-kDa 以上のオリゴマーとして存在していたが、一部は可逆的に 85-kDa モノマーに解離した。一方本菌の菌体外画分では主にモノマーとして存在していた。全長 759 残基中、Phe88-Thr89, Gly101-Asn102, Phe108-Ser109 結合は切断されやすく、その結果生じた N 末欠損 75-kDa 分子はすべてモノマーになったことから、N 末 100 残基がオリゴマー形成に必須であることが示された。【結論】*P. gingivalis* においては疎水性アミノ酸を認識部位とする DPP5 と DPP7 がジペプチドを遊離し、PGN_1349 OP がトリペプチド以上を遊離した。この疎水性ペプチドに対する DPP5 と OP の分業関係は、それぞれ N 末より 2 番目と 3 番目の Pro を認識してジ、及びトリペプチドを遊離する DPP4 と PTP-A と類似していた。

O2-F3

歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* の第三の線毛に関する研究
 ○永野 恵司¹、吉田 康夫¹、長谷川 義明¹、吉村 文信¹ (愛院大 歯 微生物)

歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、FimA および MfaI と呼ばれる 2 つの線毛を産生し、バイオフィーム形成および歯周組織への定着に機能している。我々は、これら 2 つの線毛が検出されないにもかかわらず、線毛様構造物が観察される *P. gingivalis* 株が存在することを見出した。それらの菌株から線毛を精製し、構成タンパク質を解析したところ、すでにデータベースに登録されていた *P. gingivalis* の 53K タンパク質と一致した。53K タンパク質は、1990 年に、*P. gingivalis* の外膜タンパク質であると報告され、その後、線毛であると指摘されていたが、広く知られていなかった。53K タンパク質に対する抗体を作製し、検出頻度を検討したところ、84 株の *P. gingivalis* 中 34 株 (40%) に発現が認められた。一方、FimA および MfaI の検出頻度は、それぞれ、73 株 (87%) および 37 株 (44%) であった。また、53K と MfaI が共に検出される株は無く、これら 2 つの線毛は共存しないことが示された。ある 53K 線毛発現株 (Ando 株) の 53K タンパク質をコードする遺伝子 (53K 遺伝子) 周辺の塩基配列を解析し、ゲノム解析されている *P. gingivalis* ATCC 33277 株と比較した。Ando 株の 53K 遺伝子は、ATCC 33277 株の *mfaI* 遺伝子 (MfaI 線毛の主要構成タンパク質をコードする遺伝子) と置き換わったようなゲノム構造になっており、53K 遺伝子の下流には、MfaI 線毛の付随タンパク質をコードする遺伝子である *mfa2~5* に相当する遺伝子が、同じ順序で存在した。したがって、53K 線毛は、MfaI 線毛の亜型と考えられるが、53K と MfaI タンパク質は、N 末に短い相同性配列があるものの、全体的な相同性は低い。現在、53K 遺伝子変異株の作製および線毛機能解析を進めている。

O2-F5

歯周炎における TLR シグナル抑制因子の解析
 ○土門 久哲¹、小田 真隆¹、寺尾 豊¹
 (新大 病院歯 微生物)

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* LPS は、*Escherichia coli* LPS とは異なり、宿主細胞に対する炎症性サイトカイン誘導能が低いことが報告されている。近年、Toll-like receptor (TLR) シグナルの抑制因子の存在が報告されている。そこで我々は、*P. gingivalis* LPS に対する低応答性に、TLR 抑制因子が関与している可能性を推察して解析を行った。【方法】 (1) THP-1 をマクロファージ様細胞に分化させ、*P. gingivalis* もしくは *E. coli* 由来 LPS を培地に添加し刺激した。培養上清中の TNF- α 産生量を測定し、TLR シグナル抑制因子である IRAK-M の発現を解析した。また、siRNA にて IRAK-M 発現をノックダウン後、再度 TNF- α 産生量を測定した。(2) 新大病院歯周病科を受診し、インフォームドコンセントの得られた慢性歯周炎患者 59 名、歯肉炎患者 25 名から歯肉組織を採取し、IRAK-M の遺伝子発現を比較検討した。【結果】 (1) *E. coli* LPS と比較して、*P. gingivalis* LPS 刺激による TNF- α 産生量は有意に低かった一方、IRAK-M 発現は有意に高かった。IRAK-M のノックダウンにより *P. gingivalis* LPS 刺激による TNF- α 産生量が増加した。(2) 歯周炎罹患歯肉組織における IRAK-M 発現は歯肉炎と比較して有意に高かった。【考察と結論】 *In vitro* において、*P. gingivalis* LPS は IRAK-M 発現を上昇させて TLR シグナルを抑制し、炎症性サイトカイン産生を抑制することが明らかとなった。また、歯周炎罹患歯肉組織において IRAK-M 発現が上昇することから、IRAK-M は歯周炎の慢性化に関与していることが推察される。

O2-F4

口腔 Actinomyces 属および口腔 Rothia 属細菌用遺伝子改変システムの開発
 ○真下 千穂¹、南部 隆之¹、円山 由郷¹、山根 一芳¹、山中 武志¹、福島 久典¹
 (大歯大 細菌)

近年の研究により、Actinomyces 属や Rothia 属細菌は、健康人の口腔常在細菌叢のコアメンバーとして、初期歯垢形成に重要であることが明らかになっている。我々の研究室でも、*Porphyromonas gingivalis* に対して殺菌的に働く口腔善玉菌としての役割を解明してきた。今後、両者はこれまで以上に口腔環境の恒常性に寄与する重要な細菌になると考えている。したがって、Actinomyces や Rothia の口腔内での役割および病態との関連を遺伝子レベルで明らかにすることができれば、口腔感染症の治療法や創薬開発などの臨床分野に適用できる。本発表では、分子生物学的なアプローチにより両細菌に対して遺伝子改変システムの開発を試みたので、報告する。Actinomyces 属では、遺伝子破壊・欠失方法として、トランスポゾンを用いたミュタジェネシスを行い、染色体の遺伝子をランダムに破壊した。また galactokinase (*galK*) を用いた non-polar mutant の作製にも成功した。遺伝子発現方法として、Actinomyces で利用できる唯一のプラスミド pJRD215 を基に改良を行い、高い形質転換効率をもつプラスミドの開発を行った (pCMDk)。実際に、pCMDk を発現ベクターとして利用することで、complementation 試験に成功した。現在、プロモーター解析などに用いるレポーター遺伝子発現解析システムを構築している。Rothia 属では、我々の研究室で全ゲノム配列を決定した。トランスポゾンミュタジェネシスおよび遺伝子発現プラスミドの形質転換を試みたが、いまだ有効な遺伝子改変技術が確立できていない。口腔常在菌、特に臨床分離株では、遺伝子レベルでの分子生物学的解析を行うことが難しい場合がみられる。本発表が、それらの細菌に対する遺伝子改変技術の開発の一助になればと考える。

O2-F6

飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に関与する可能性
 ○四釜 洋介¹、工藤 保誠²、石丸 直澄²、船木 真理¹ (徳大 病院 糖尿病対策セ、²徳大院 HBS 口腔分子病態)

Type 2 diabetes (T2D) is characterized by decreased insulin sensitivity and higher concentrations of free fatty acids (FFAs) in plasma. Among FFAs, saturated fatty acids (SFAs), such as palmitate, have been proposed to promote inflammatory responses. Although many epidemiological studies have shown a link between periodontitis and T2D, little is known about the clinical significance of SFAs in periodontitis. In this study, we show that gingival fibroblasts in human and murine periodontal tissue express CD36, which is also known as FAT/fatty acid translocase. DNA microarray analysis revealed that palmitate increased mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and chemokines in human gingival fibroblasts (HGF). In accordance with the result, we confirmed that palmitate induced interleukin (IL)-6, IL-8, and CXCL1 secretion in HGF by a cytokine array and ELISA. Another saturated fatty acid, stearate, also induced IL-6 and IL-8. A CD36 specific inhibitor, sulfo-N-succinimidyl oleate (SSO), markedly inhibited palmitate-induced IL-6, IL-8, and CXCL1 secretion. Finally, we demonstrate that *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) LPS and heat killed *P.g* augment palmitate-induced chemokines secretion in HGF. These results implicate for the first time a potential link between the pathogenesis of periodontitis and SFAs in plasma.

O2-F7

口腔粘膜の角化におけるフィラグリンとカスパーゼ14の役割

○村上 弘¹、有田 晴一¹、岡村 和彦²、八田 光世³、丸尾 直樹¹、坂上 竜資¹、山崎 純³ (¹福歯大 口腔治療、²福歯大 病態構造、³福歯大 分子機能制御)

健全な歯周組織には角化した口腔粘膜の存在が必要不可欠である。その獲得のために遊離歯肉移植術を選択せざるを得ないことが少なくない。現在、日常臨床において侵襲の大きな移植術に代わる治療方法の確立が望まれている。また、口腔粘膜の角化のメカニズムの解明は今後の新しい治療法の確立に大きな役割を果たすと考えられる。そこで、本実験では皮膚の角化に関係すると考えられている caspase-14 とその基質である filaggrin に着目した。まず、角化様式の異なる皮膚、口蓋粘膜、頬粘膜、食道粘膜の4部位におけるこの二つのタンパクの局在、発現量を免疫染色、リアルタイム PCR にて確認した。その結果、これらのタンパクは口腔粘膜にも皮膚と同様に存在することが示され、その中でも特に角化の強い口蓋粘膜に多く存在することが示唆された。次に、口腔粘膜再構築モデルを作製し caspase-14 を強制発現させた。そして、この強制発現による角化への影響と filaggrin の局在と発現量への影響を検討するため、免疫染色、リアルタイム PCR、ウェスタンブロット法を行った。この結果、caspase-14 強制発現群において filaggrin の分解が促進して角化が促進することが示された。また、この傾向は頬粘膜由来のモデルと比較して口蓋粘膜由来のモデルで強いことが確認された。以上の結果から口腔粘膜の角化に caspase-14 による filaggrin の分解が関与することが示唆された。さらに、この分解機構を調整することで遊離歯肉移植術に代わる新しい治療方法の確立につながることを期待される。

O2-F9

脳由来神経栄養因子は歯肉上皮細胞の p-75-JNK シグナルカスケードを介してアポトーシスを誘導する

○柏井 桂¹、藤田 剛¹、柴 秀樹¹、栗原 英見¹
(¹廣大 院医歯薬保 歯周病態)

【目的】脳由来神経栄養因子(BDNF)が歯周組織再生を促進することを明らかにしてきた。BDNFは歯肉上皮細胞の増殖を促進せず、上皮の侵入を抑制するという重要な結果を得た。BDNFを歯周組織再生療法に臨床応用するために、この重要な知見をより詳細に検討し再生のメカニズムを解明する必要がある。一方、脳神経細胞において BDNF が apoptosis を誘導するという事実があるため、本研究では歯肉上皮細胞において BDNF が apoptosis cascade を活性化すると仮説を立て実験を行った。【材料と方法】細胞は阪大村上伸也教授から分与頂いたヒト歯肉上皮細胞株(OBA9)、及び広田高田隆教授から分与頂いたヒト歯周韌帯細胞株(HPLcells)を供試した。BDNF刺激後の細胞増殖を BrdU assay で測定し、apoptosis 細胞を TUNEL 染色によって検出した。BDNF の受容体である TrkB と p75 の発現、及び BDNF 刺激による JNK,ERK のリン酸化、caspase3 の活性化を Western blotting 法によって分析した。JNK 阻害剤や p75 の siRNA、及び p75 強制発現ベクターを用いて BDNF の作用機序を解析した。【結果と考察】BDNF 刺激は HPLcells の増殖を促進し、OBA9 の増殖には影響を与えなかった。一方、BDNF は OBA9 の apoptosis を誘導した。HPLcells は OBA9 に比べ p75 の発現が著しく低く、BDNF 刺激は HPLcells の ERK のリン酸化を促進したのに対し、OBA9 においては JNK のリン酸化を促進し、また caspase3 が活性化し、その活性化は JNK 阻害剤前処理により抑制された。また OBA9 において BDNF 刺激による JNK のリン酸化、caspase3 の活性化が p75siRNA 導入によって抑制された。さらに、p75 を強制発現させた HPLcells においてコントロール群と比較して、BDNF 刺激が JNK のリン酸化、caspase3 の活性化を促進することが示された。【結論】歯周韌帯細胞とは異なり、歯肉上皮細胞では BDNF 刺激に対して、p75 受容体を介した JNK シグナル伝達経路が優位に働き、caspase3 を活性化させ、apoptosis を促進する可能性が示唆された。

O2-F8

aklotho-/-マウスおよび kl/kl マウスの下顎臼歯部歯周組織における組織化学的解析

○彦根 久美子^{1,2}、長谷川 智香¹、佐々木 宗輝³、本郷 裕美¹、土屋 恵李佳^{1,4}、虎谷 彌¹、織田 公光³、飯田 順一郎²、網塚 憲生¹
(¹北大 院歯 硬組織発生生物、²北大 院歯 歯科矯正、³長大 院医歯薬 口腔インプラント、⁴北大 院歯 口腔内科、⁵新大 院歯 口腔生化学)

【緒言】咬合力などのメカニカルストレスが負荷される臼歯部歯槽骨や歯根膜において、老化に伴う組織変化の解明は重要である。老化モデルとして、aklotho 遺伝子が欠損したマウス (aklotho-/-マウス) および klotho 遺伝子プロモーターに変異が生じ、転写活性が低下した kl/kl マウスが存在する。我々は、これらマウスにおける下顎臼歯部の歯周組織を組織化学的に検索した。【材料と方法】生後7週齢の野生型マウスと aklotho-/-マウス kl/kl マウスをアルデヒド固定し、通法に従って、パラフィン包埋した。これらマウスの下顎第一臼歯部の歯槽骨・歯根膜における組織切片にて、アルカリフォスファターゼ (ALP)、スクレロステチン、DMP1 の免疫組織化学的解析を行った。【結果と考察】野生型マウスに比べて、aklotho-/-マウス・kl/kl マウスはほぼ同様の異常を示した。つまり、これら遺伝子欠損・変異マウスでは、槽間隔の歯根膜は幅がやや狭く、不均一な走行を示す歯根膜線維を有していた。また、骨表面には、ALP 強陽性反応を示す歯根膜細胞が散在しており、シャープ線維が歯槽骨に不規則に挿入されていた。歯根膜内部には、DMP-1 陽性を示す不定形構造物も認められた。野生型マウスの歯槽骨では、骨細胞・骨細管系は均一な DMP1 陽性またはスクレロステチン陽性反応を示したが、aklotho-/-マウス・kl/kl マウスでは、多くの空の骨小腔、骨小腔内に蓄積した DMP1 陽性反応、また、スクレロステチン陽性を示す骨細胞が不均一に局在する傾向が認められた。以上から、klotho が欠損または低下した aklotho-/-マウス・kl/kl マウスでは、歯槽骨・歯根膜といった歯周組織の基質構築および骨細胞・骨細管系の構築が無秩序になる可能性が示唆された。

O2-F10

ラット歯周組織の弾性系線維にみられる部位差とその意義

○井上 孝二¹、原 矢委子²、佐藤 哲二²
(¹鶴見大 歯 電顕七、²鶴見大 歯 解剖・組織細胞)

【背景と目的】歯の支持組織である歯周組織はセメント質、歯根膜、歯槽骨、歯肉からなる。歯根膜と歯肉の粘膜固有層は線維性密生結合組織であり、歯の固定・支持だけでなく、咀嚼や咬合圧に対する緩衝作用の役割も果たしている。組織の主体をなすのはコラーゲン線維であるが、その間に介在する弾性系線維の役割については十分に明らかにされていない。我々は、これまで、歯根膜に分布する弾性系線維の発達と機能について報告してきた (Inoue et al., 2012, 2013)。弾性系線維はオキシタラン線維、エラウニン線維、弾性線維の3種からなる。本研究では、歯根膜と歯肉に分布する3種の弾性系線維の関係を調べ、その分布様式について比較検討した。【材料と方法】ラットの切歯と臼歯の歯周組織について検討した。染色法ではオキシタラン線維は Oxone で酸化後、アルデヒドフクシン・ハルミ染色法で、弾性線維はワイゲルトの弾性線維染色を施して、それぞれ光学顕微鏡下で観察した。透過電子顕微鏡用の試料は通常の二重染色とタンニン酸を加えた三重染色を施して、3種の弾性系線維を鏡した。【結果】臼歯の歯根膜では、コラーゲン線維の走行方向に対して、オキシタラン線維はコラーゲン線維の間を縫うように交叉しながら歯軸に平行に配列し、歯槽骨側では血管壁と密着するように分布し、セメント質側ではセメント質内にコラーゲン線維とともに埋入していた。一方、無根歯である切歯の舌側では臼歯歯根に類似した分布様式を示したが、唇側ではコラーゲン線維は歯軸と平行に走行するのに対し、オキシタラン線維は歯槽骨側の血管壁に近接するように分布していた。歯根膜および歯肉に分布する3種の弾性系線維の分布様式の違いを解析するとともにその意義について考察を加えた。

O2-F11

オキシタラン線維形成における菌原性上皮細胞の関与

○吉良 迪子^{1,2}、板家 智¹、尾崎 正雄¹、
岡 暁子¹、沢 禎彦²
(¹福歯大 成育小児歯、²福歯大 機能構造)

【目的】我々は、歯根膜組織に特徴的に存在するオキシタラン線維の主要構成成分である Fibrillin 蛋白に着目し、マウス臼歯を用いて歯の発生期での局在を観察してきた。今回、ヒト歯根膜組織を用いて Fibrillin 発現を観察し、さらに、菌原性上皮細胞培養を用いて、オキシタラン線維形成における上皮細胞の関与について検討した。【対象と方法】ヒト歯根膜組織の観察；下顎第一小臼歯、上顎乳犬歯の歯根を、無固定、非脱灰にて埋理し、フィルム切片法にて凍結切片を作成。免疫組織化学染色法にて Fibrillin-1、Fibrillin-2、Cytokeratin14 の発現を観察した。マウス菌原性上皮細胞における観察；HERS cell line、HERS01a 細胞を用いて、Fibrillin-1、-2 の遺伝子発現量を Real-time PCR にて解析した。2% B-27 Supplement+DMEM/HAM F12 を基本培地として、FGF (100 µg/ml)+EGF (0.2 µl/µl) 添加、10% FBS 添加、TGFβ-3 (5 ng/ml) を添加した 3 種の培地にて比較検討を行った。【結果】ヒト歯根膜組織において、Fibrillin-1、-2 は歯根に平行に走行する線維として発現していた。両蛋白が一致する部分は、より太い線維として観察された。興味深い事に、マラッセ上皮遺残体の周囲には、Fibrillin-2 の発現を認めた。HERS01a 細胞では、基本培地では Fibrillin-1、-2 の発現を認めなかったのに対し、FBS 含有培地では Fibrillin-2 の発現が誘導され、さらに TGFβ-3 含有培地では Fibrillin-1、-2 共に発現が誘導されていた。【考察】本研究にて、HERS を含む菌原性上皮細胞は、分化過程の環境の変化によって Fibrillin を発現するようになり、オキシタラン線維形成及びその維持を担っている事が示唆された。

O2-F13

PRIP-1/2 ダブルノックアウトマウスのパレル皮質第 3 層錐体細胞における CICR 及び SOCE の増強のメカニズム

○河野 奨¹、齋藤 充¹、佐藤 元¹、豊田 博紀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 口腔細胞工学)

Phospholipase C-related but catalytically inactive protein (PRIP-1/2) の 2 つのサブタイプは IP₃ に結合する蛋白質である。PRIP-1 ノックアウト (KO) マウスの培養大脳皮質神経細胞においては、IP₃-induced Ca²⁺ release が減弱し、一方、PRIP-2 KO マウスの造血性 B 細胞では、Store-operated Ca²⁺ entry (SOCE) が増大すると報告されている。本研究では、細胞内 Ca²⁺ ストアからの Ca²⁺ 放出と SOCE が野生型 (WT) と PRIP-1/2 double KO (DKO) マウスのパレル皮質第 3 層錐体細胞間で異なるか否かを、Ca²⁺ イメージング法を用いて検討した。Fura-2 AM を負荷した第 3 層錐体細胞において、細胞内 Ca²⁺ 濃度の変化を F340/F380 Ratio の変化として測定した。20 mM K⁺ と 20 mM カフェインを含む人工脳脊髄液 (High K⁺/caffeine ACSF) を細胞外灌流すると、細胞内 Ca²⁺ 濃度の一過性の著しい上昇が生じた。これは Ca²⁺-induced Ca²⁺ release (CICR) として知られており、その最大振幅と半減期は PRIP-DKO 錐体細胞の方が WT に比較して大きかった。次に、CICR に続いて SOCE が生じるか否かを調べるために、High K⁺/caffeine ACSF の灌流により、CICR を 35~40 分の間隔をあけて 2 回引き起こした。第 1 回目の CICR が生じた直後に細胞外 Ca²⁺ 濃度を 0 mM にするか、あるいは、2-aminoethyl diphenyl borate (2APB) を与えた。第 2 回目の CICR の直後には High K⁺/caffeine ACSF から normal ACSF に変えた。1 回目の CICR の減衰は、2 回目の CICR の減衰と比べてより急峻であることが認められた。また、2APB の Washout 直後、もしくは細胞外 Ca²⁺ 濃度を 0 から 2 mM に上昇させた直後には、細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇が認められた。これらのことは、SOCE が CICR に引き続いて起こることを示している。PRIP-2 の調節ドメインが SOCE に対して負の調節因子として働くことが知られていることから、PRIP-1/2 DKO 第 3 層錐体細胞では SOCE が WT と比べて増強されている可能性が強く示唆される。

O2-F12

レム睡眠中の錐体路電気刺激に対する開口筋の応答特性

○東山 亮¹、加藤 隆史²、佐藤 文彦²、
矢谷 博文¹、吉田 篤² (¹阪大 院歯 クラウンブリッジ補綴、²阪大 院歯 解剖 2)

【緒言】ヒトや動物では、レム睡眠においてリズムカルな顎運動や、顎筋の単収縮 (twitch) が発生することが報告されている。しかし、レム睡眠中に発生する顎筋活動の発生機構の詳細は明らかではない。本実験では錐体路に電気刺激を与える実験モデルを用いて、レム睡眠における開口筋の応答特性を調べた。【方法】麻酔下にてモルモットに手術を施し、脳波、眼電図、心電図、筋電図 (顎筋・咬筋・顎二腹筋) を測定する電極を設置した。手術から回復した後、麻酔下にて電気刺激でリズムカルな顎二腹筋活動を誘発できる錐体路内に刺激電極を留置した。その後自由行動下で、長時間連続刺激 (200 µsec, 2 s, 30 Hz) と短時間連続刺激 (300 µsec, 3 発, 500 Hz) を与え、顎二腹筋の応答を記録した。【結果・考察】長時間連続刺激によって、覚醒・ノンレム睡眠では顎二腹筋と咬筋にリズムカルな活動を誘発できた。一方、レム睡眠では顎二腹筋のみリズムカルな活動を誘発できたが、その誘発率は覚醒・ノンレム睡眠の約 6 分の 1 であった。短時間連続刺激によって、覚醒・ノンレム睡眠では顎二腹筋に短潜時応答を誘発できた。レム睡眠での短潜時応答の誘発率は、覚醒・ノンレム睡眠の約 3 分の 1 で、短潜時応答の振幅は小さかった。以上の結果より、モルモットのレム睡眠では、錐体路を経由する顎二腹筋運動ニューロンへの興奮性入力完全に遮断されていないことが示唆された。

O2-F14

補酵素テトラヒドロピオプテリンのサルベージ経路前駆体セピアプテリンの末梢投与による、脳内補酵素の導入

○大橋 晶子¹、内藤 昌子¹、高橋 富久¹
(¹日大 歯 解剖 I)

テトラヒドロピオプテリン (BH4) は、セロトニン生合成における律速酵素であるトリプトファン水酸化酵素 (TPH: 反応 Trp → 5HTP を触媒) の補酵素である。神経細胞内の BH4 はホロ酵素 TPH の Km 程度であるため、BH4 レベルの上昇は活性化酵素を増加させることが知られており、我々も細胞レベル (in vitro) の実験で確かめている。ただし、活性化 BH4 を直接投与しても神経細胞にほとんど取り込まれない。in vitro では、BH4 再合成経路の前駆体であるセピアプテリン (SP) ならば細胞に取り込まれ、BH4 に転化して細胞内の TPH 活性を上げることが出来る。この事を利用して、我々は、SP の末梢からの投与で脳内神経細胞のセロトニン合成を促進する事を試みている。セロトニン合成活性は律速酵素である TPH の活性によって評価した。成体マウスに SP を投与した (20 mg/kg. i.p.) 後、脱炭酸反応を阻害して、5HTP 増加量を in vivo TPH 活性とした。定常状態におけるマウス脳内 TPH 活性は 3.5 nmol/g/hr であり、SP の投与によって約 16% 上昇した。定常状態での補酵素 BH4 濃度が Km 程度 (約 27 µM) との仮定に基づいて、ミカエリスメンテン式に従えば、細胞内 BH4 濃度は約 38 µM と算出された。SP 投与によって脳内 (セロトニン神経) の BH4 レベルが 40% 上昇したことが示唆された。基質は反応ごとに消費されるのに対して、補酵素は反応毎にリサイクルされるため SP による補酵素 BH4 量の増大の効果は持続的であり、TPH を強制発現させた神経細胞を導入するのと同様の効果を追求している。SP 投与による脳内の補酵素 BH4 濃度の上昇は、BH4 不足によるモノアミンレベルの低下によって引き起こされる疾患に対する有効な治療法となる可能性を強く示している。

O2-F15

オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態

○角野 公紀¹、本間 志保¹、脇坂 聡¹
(¹阪大 院歯 口腔解剖一)

末梢神経系のグリアであるサテライト細胞(SC)の、神経損傷後の動態変化が近年注目されている。感覚神経節において1次求心性ニューロンやその周囲のSCにおける分子発現が末梢神経損傷により変化し、知覚異常が発症すると考えられているが、これらの拡散機序や神経損傷の程度による違いについては不明な点が多い。本研究ではラットのオトガイ神経に結紮と切断の2種類の損傷を加え、三叉神経節の非神経細胞の動態を観察した。

正常動物の三叉神経節のIbal(ミクログリアの特異的マーカー)、ED1(貪食細胞の特異的マーカー)、SK3(SCの特異的マーカー)の発現を免疫組織化学的に観察すると、ニューロンを囲むSCの外側にIbalとED1を共発現する類円形の細胞を認めた。微細構造学的には複数のSCがニューロンの全周を緊密に囲み、その外側にIbal陽性細胞を認めた。神経結紮後1週では三叉神経第3枝支配ニューロン領域と第2、3枝支配ニューロン混合領域においてIbal陽性細胞の増加と突起の伸延が認められたが、その他の領域では変化が認められなかった。結紮後2週ではIbal陽性細胞は正常より多いが、1週より減少していた。微細構造学的にはSCとニューロンとの間に間隙を認め、そこにSCが突起を伸ばしていた。神経切断後1週では結紮後1週と同様の変化が認められたが、切断後2週では第3枝支配ニューロン領域においてIbal陽性細胞のさらなる増加を認めた。またSCとニューロンの間に広い間隙を認め、一部でニューロンとSCの変性が認められた。

以上よりIbal陽性細胞は神経損傷後に活性化して集積し、損傷を受けた細胞の貪食に関与している可能性が示唆された。また神経損傷の影響がニューロンからSCに波及し、両者間に間隙が生じることで分子の漏出が起り、近接するニューロン周囲の環境が変化し疼痛過敏の発症につながると考えられる。一方損傷が重度でニューロンやSCが細胞死に至る場合、知覚麻痺を発症すると考えられる。

O2-G2

ヒトの未咬耗の正中歯におけるエナメル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)

[目的] ヒトの未咬耗の正中歯におけるエナメル質の組織構造と元素組成について検討した。[材料と方法] 抜去後ただちに10%中性ホルマリンで固定した正中歯を使用した。切縁の中央部を通る唇舌側方向の研磨標本を作製し、偏光顕微鏡で観察した。その後、エナメル質表面にはほぼ平行な再研磨面を作製し、HClで腐蝕後、走査電顕(日立)で観察した。無処理の同様な唇舌側方向の研磨標本の、切縁部エナメル質深層・中層・表層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] 正中歯では、歯頸部エナメル質のシュレーゲルの条紋の不明瞭な領域が上顎中切歯よりも広く、エナメル象牙境が波状を呈していた。新産線のような特に石灰化度の低い成長線はみられず、上顎中切歯よりも矮小正中歯の方がエナメル質が厚かった。正中歯の中層エナメル質の小柱断面の形態は丸みのある四角形で、上顎中切歯にきわめて類似していたが、多孔質で、小柱断面の形態の歪みの強い領域が点在していた。中層のエナメル小柱の幅径の平均値は、正中歯で約7.0 μ m、上顎中切歯で約6.5 μ m、上顎側切歯で約6.0 μ mであった。Ca・P・Naの含有率は、大臼歯、小臼歯、犬歯、正中歯の順に高く、Oの含有率は逆の傾向を示した。象牙質の形成面の形態は上顎乳中切歯よりも代生歯に類似していた。[考察] 正中歯は、象牙質の形成面およびエナメル質の小柱鞘の特徴と新産線がみられない点から、永久歯群に属すると考えられる。正中歯のエナメル質は、多孔質で、小柱断面の形態の歪みの強い領域が点在していた点から、形成したエナメル芽細胞が衰弱状態にあったと推察される。Ca・P・Naの含有率は、歯種による中層エナメル質の組織構造の複雑さと正比例関係を、Oの含有率は反比例関係を示していると考えられる。[結論] 上顎中切歯を形成した歯胚の一部が完全分離し、不十分な成長空隙において正中歯を形成した、と推察される。

O2-G1

歯の動きと周期性、そして Zahnreihe

○小澤 幸重¹(¹触れてみる骨と歯の訪問研究室)

背景: ヒトの歯は萌出し近心へと移動する。この動きには様々な議論がなされて来たがいずれも曖昧模糊としたものである。演者は歯を体と比較解剖の視点から反省し形態要因を分析してきた。今回は同様の視点から歯の動きの一要因として Zahnreihe が重要であるという結果に達したので発表する。賢者の方々の議論を期待する。議論: Zahnreihe は Edmund(1960)によって唱えられた歯の交換様式である。それは連続する歯列の歯の原基が3本おきに形成され、萌出したがって斜めに配列する、というものであるが、これも各種の議論がある。演者は体の水平断の筋などの分節、消化管の断面における筋や神経節、腸陰窩が放射対称となる(分節)ことから、歯が第一鰓弓の分節であり放射対称的配置をすることと同様の原理であるとした。この視点からヤツメウナギや魚類などの歯の様式をみると、口腔周囲でやや曲線を描いた放射状となり、象牙の編構造とよく類似する。これは成長の紋様として植物界にも広く分布する。即ち、普遍性を持った成長リズムというべきものである。そして、同様の視点からこの紋様は我々の皮膚の毛流、皮膚紋様も同様と推定される。これを歯列に当てはめると、口腔周囲(第一鰓弓)の上皮の紋様が歯列に反映していることになる。しかし、Zahnreihe が認められない動物もいる。その原因は歯列を形成する歯はおもに上皮の分節に依存するが、間葉側の分節(主に骨によって示される)と形態的周期的ずれが生じるためと考えられそうである。これは歯冠と歯根の分節の相違(咬頭と歯根の違い)、切歯が上下顎にありながら、上顎に切歯骨(前顎骨)があり下顎にないことなどの現象から推定できる。このずれが種によって特殊化したのが哺乳類である。結論: 以上のことから歯の周期性をもった動きの一因として Zahnreihe の普遍的存在意義がある。

O2-G3

マウス臼歯における三種混合抗菌性薬剤と水酸化カルシウムセメント覆髄に対する感染歯髄の反応

○Quispe Salcedo Angela¹、佐藤 拓一²、
松山 順子³、大島 勇人¹
(¹新大院医歯 硬組織形態、²東北大院歯 口腔生化学、³新大院医歯 小児歯科)

Objectives: A mixture of ciprofloxacin, metronidazole, and minocycline (3Mix) has been reported to be effective against oral bacteria from carious and endodontic lesions *in vitro* and *in vivo*. Although several case reports have shown the effectiveness of 3Mix in the regenerative endodontic treatments, responses of the infected dental pulp to 3Mix remain to be fully clarified at the cellular level. This study aimed to elucidate responses of the infected dental pulp to capping with 3Mix in mouse molars, compared with those to calcium hydroxide cement.

Methods: A class I cavity was prepared on the maxillary first molars of 6-week-old mice to expose the dental pulp and maintained without any treatment for 24 hours. Subsequently, the exposed pulp was capped with 3Mix in ointment (macrolog mixed with propylene glycol: MP; 3Mix group) or calcium hydroxide cement (CH group), in addition to MP alone (control group), followed by a glass ionomer cement filling. The samples were collected at intervals of 1, 2, and 3 weeks. Immunohistochemistry for nestin and Ki-67 and TUNEL assay were performed to assess the progression of the pulpal healing after operation.

Results: The highest occurrence rate of pulp necrosis was found in the control group followed by the CH group at Weeks 2 and 3, whereas the highest occurrence rate of regenerated areas in the dental pulp was observed in the 3Mix group at each time point. Tertiary dentin formation was first observed in the dental pulp of 3Mix group at Week 2, particularly in the coronal pulp. In contrast, nestin-negative areas including bone-like and/or fibrous tissues were frequently observed in the teeth of the CH group at this stage.

Conclusions: The use of 3Mix-MP paste as a pulp-capping agent, compared with calcium hydroxide cement, positively affects the regeneration of infected dental pulp in mouse molars. Further studies are necessary to clarify the mechanisms eliciting pulpal responses to 3Mix-MP paste following tooth injuries and pulpal infection.

O2-G4

乳歯歯髄幹細胞由来組織再生因子を応用した間質性肺炎治療効果の検証
 ○若山 博隆¹、山本 朗仁¹、石川 純¹、
 山口 聡¹、上田 実¹ (名大院医 顎顔面外科)

【背景・目的】間質性肺炎は肺線維化をきたす重篤な炎症性疾患である。これまでに間葉系幹細胞移植が病態改善に有用であることが報告されてきた。しかしながら細胞生着率は低く、その治療効果の多くは細胞自身が分泌するパラクライン因子によるものと考えられている。我々はヒト乳歯歯髄幹細胞 (SHED) が組織再生に有効な因子を産生することを報告してきた。本研究では、SHED およびその無血清培養上清 (SHED-CM) として回収した組織再生因子群の投与による、間質性肺炎の病態改善効果および治療メカニズムを検証した。【方法】プレオマイシン誘導型間質性肺炎マウスを作製し、24 時間後に SHED あるいは SHED-CM を頸静脈に投与した。生存率・体重の評価に加え、組織学的評価、遺伝子学的評価を行った。【結果】SHED 移植群や CM 投与群では、生存率・体重減少と肺線維化について、同等かつ有意な改善を認めた。SHED および SHED-CM は、炎症性・組織破壊型環境を抗炎症性・組織再生型環境に転換することで線維化病態の改善を促した。【結論】SHED 移植および SHED-CM 投与は間質性肺炎モデルにおいて同等の治療効果を示した。SHED が産生する組織再生因子群の炎症制御能や抗線維化作用が病態の改善に重要な役割を果たすことが示唆された。本研究から、間質性肺炎に対して SHED 移植および CM 投与が新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

O2-G6

炎症性サイトカインによる象牙芽細胞様細胞における分化マーカー発現誘導に関する研究
 ○中川 愛加^{1,2}、沖永 敏則¹、有吉 渉¹、
 北村 知昭²、西原 達次¹
 (1)九歯大 感染生物、(2)九歯大 口腔保存)

【背景】我々のグループが樹立した象牙芽細胞様細胞 KN-3 細胞において、BMP-2 による Smad シグナル伝達経路の活性化や熱刺激による HSP25 および炎症性サイトカインの発現が誘導されることを見出した。その過程で炎症性サイトカインのうち、IL-1 β および TNF- α で興味深い知見が得られた。そこで、今回の研究では、炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α で KN-3 細胞を刺激した際に発現した象牙質分化マーカーの変化について検証した。【結果】KN-3 細胞の細胞増殖に対するサイトカインの影響を WST-1 assay によって検証したところ、IL-1 β および TNF- α は、KN-3 細胞の増殖に影響を及ぼさなかった。炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α 刺激した KN-3 細胞において、象牙質分化マーカーである象牙質シアロリントタンパク質 (DSPP) および象牙質マトリックスタンパク質 (DMP-1) の遺伝子発現の上昇が認められた。一方、IFN- γ 刺激群では、時間依存的に DSPP、DMP-1 の遺伝子発現が抑制された。また、興味深いことに、IFN- γ 前投与することにより、IL-1 β 投与群で認められた DSPP および DMP-1 の遺伝子発現の上昇が著しく抑制されることが明らかになった。【考察】象牙芽細胞様細胞 KN-3 細胞において、炎症性サイトカインによる刺激で象牙質分化マーカーの発現を誘導され、その発現誘導が IFN- γ により、著しく制御されることが明らかになった。現在、その抑制メカニズムを分子レベルで検討しているところである。

O2-G5

象牙質シアロタンパク質 (DSP) および象牙質リントタンパク質 (DPP) と象牙質中の TGF- β 1 の相互作用について
 ○山越 康雄¹、木下 冴子²、唐木田 丈夫¹、
 大井田 新一郎¹ (1)鶴見大 歯 分子生化学、(2)鶴見大 歯 小児歯科)

象牙質シアロタンパク質 (DSP) および象牙質リントタンパク質 (DPP) は象牙質の主要非コラーゲンタンパク質であり、象牙質形成に重要な役割を担っている。【目的】今回我々は DSP および DPP が細胞分化誘導因子としての生理活性機能を有しているかについて調べることを目的とした。【方法】生後約 5 か月のブタ永久歯歯胚より、幼若及び成熟エナメル質を削り取った後、硬組織粉砕機を用いて象牙質試料を調製した。この試料の脱灰不溶物を酢酸-食塩で抽出して可溶性画分 (AN 画分) を得た。AN 画分をイオン交換クロマトグラフィー (IEC) で分離して、得られた DSP および DPP 画分をさらに逆相 HPLC (RP-HPLC) で分離した。各溶出画分に対して歯根膜由来培養細胞 (PDL 細胞) に対するアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を調べ、ALP 活性の上昇した画分に対して ELISA および LC/MS 分析を行って生理活性物質を同定した。さらにこの生理活性物質と象牙質タンパク質との相互作用を調べるために in vitro 結合実験を行った。【結果】AN 画分の IEC で得られた DSP および DPP 画分を RP-HPLC で分離すると、PDL 細胞に対して ALP 活性を上昇させる物質が DSP および DPP の主ピークとは異なる位置に溶出することが判明した。この生理活性物質は LC/MS および ELISA 分析によって TGF- β 1 であることが同定され、微量の DSP および DPP と共存していた。リコンビナント TGF- β 1 を用いた主要象牙質タンパク質に対する in vitro 結合実験では、TGF- β 1 はコラーゲンにはほとんど結合しなかったが、DSP および DPP に結合することでその活性が維持されることが明らかになった。【結論】DSP および DPP は象牙質中の TGF- β 1 の活性維持に必要であり、象牙芽細胞の分化に何らかの役割を担っていることが示唆された。

O2-G7

細胞分裂期の象牙芽細胞における IFT88 の役割
 ○河田 かずみ¹、竹田 扇¹
 (山梨大 院医工 解剖細胞生物)

Intraflagellar transport protein 88 (IFT88) is known to be required for the ciliogenesis in most of the quiescent cells. We have previously reported that IFT88 suppression modulate the expression of differentiation marker such as dentin sialophosphoprotein and alkaline phosphatase activity, suggesting the importance of primary cilia in regulating the differentiation of odontoblasts. Moreover, as recent study shows the localization of IFT88 to the spindle poles in fibroblasts during mitosis, its roles other than ciliogenesis have been implicated. However, its functions in the mitosis of odontoblasts remain to be investigated. In this study, we employed RNAi strategy to knockdown *Ift88* in odontoblasts to test this hypothesis. Knockdown of *Ift88* in odontoblasts brought about decreased cell adhesion, impaired formation of lamellipodia, and proliferation defects. In addition, the number of primary cilium on the odontoblasts was not affected significantly during mitotic phase. Under this condition, we found that the activity of Rac1 was suppressed. In order to dissect the positions of Rac1 in light of IFT88-mediated signaling pathway, we inhibited Rac1 by a specific inhibitor, LY294002. In this case, we recapitulated the results obtained by the knockdown of *Ift88*, the results suggesting that Rac1 is in the downstream of IFT88. From another standpoint, knockdown of *Ift88* also changed the ratio of cells in G1-S transition. Collectively, IFT88 exerts its effects on mitotic profiles of odontoblasts through extraciliary pathway. We are now investigating the relationship between IFT88 and Rac1 in terms of controlling the cell cycle.

O2-G8

ラットの唾液腺分泌型 IgA への運動による影響
 ○栗本 勇輝¹、山本 裕子¹、東 雅啓¹、
 猿田 樹理¹、槻木 恵一¹
 (¹神歯大 院 環境病理)

【目的】唾液中の分泌型 IgA (sIgA) は、口腔内の局所免疫の主要な因子であり、運動によって変動するマーカーとして知られている。唾液は非侵襲的に採取でき、対象にストレスを与えることなく簡便にサンプリングが可能であるため、臨床やスポーツの現場においては、唾液 sIgA は免疫機能の評価やストレス測定のための検体としても期待されている。しかし、唾液 sIgA の分泌が、運動によってどのように変動しているかは明らかにされていない。このメカニズムを明らかにすることは、口腔内局所免疫を維持し、最も一般的な感染症である上気道感染症を予防するのに非常に重要である。そこで、運動による唾液 sIgA の分泌機構を明らかにするため、ラットを用いた実験計画を検討した。【方法】実験動物は、6 週令雄性 Wistar 系ラット 15 匹を用いた。個別の回転ホイールの付属したケージに入れ、最初の 1 週間は回転ホイールに通じる扉を閉めたまま、慣らしの期間として飼育した。その後、扉を開放し 3 週間自由運動をさせた。実験期間中の餌は、食餌由来の sIgA の変動を排除するため、繊維質を除去した特殊飼料を与えた。走行量は回転ホールに付いたカウンターで計測した。期間終了後、左右の顎下腺を採取し、Bethyl 社製測定キットを用いた ELISA 法により唾液腺 sIgA 濃度を測定した。【結果および考察】ラットの走行量 (84.26±7.03 km) と唾液腺 sIgA 濃度 (62.83±4.38 mg/L) について Spearman の相関分析を行った結果、相関係数 $r=0.607$ 、 $p=0.016<0.05$ で正の相関が認められた。走行量の多いラットの方が有意に唾液 sIgA 濃度も高いという結果が得られた。ストレスのない適度な自由運動は、口腔内の免疫機能を高める可能性を示唆した。

O2-G10

生体内イメージングによる開口分泌におけるアクチン重合機構の解析
 ○設楽 彰子¹、田隈 泰信² (¹米国立衛生研 歯科・頭蓋顔面研 膜輸送、²北医大 歯 生化)

【目的】アクチンは膜融合した分泌顆粒を被覆することにより開口分泌を促進する。我々は分泌顆粒上にアクチンが集積する機序を調べた。【方法】マウスをイソプロテレノール (Iso) 刺激した後、顎下腺を摘出して凍結切片を作製し、膜融合した分泌顆粒上に集積する分子を免疫染色により調べた。Cytosolic GFP と membrane Tomato を発現するトランスジェニックマウスの顎下腺開口部からアクチン重合阻害剤を注入して Iso 刺激をし、開口分泌を Intra vital microscope (IVM) にて解析した。【結果と考察】免疫組織化学的解析から腺腔側膜に融合した分泌顆粒上にはアクチン重合促進分子である mDia2, Profilin, Cortactin, Arp2/3 複合体, Myosin2A, WASP, WAVE が集積することがわかった。アクチン重合の仕組みを調べるため、直鎖状アクチンの形成を促進する mDia2 の阻害剤処理下で Iso 刺激をすると、腺腔側に融合した分泌顆粒の大きさが経時的に拡大し、空胞が形成された。一方アクチン線維の分枝形成を促進する Arp2/3 複合体の阻害剤処理下で Iso 刺激をすると、膜融合した分泌顆粒が通常の 3 倍以上長い時間、腺腔側膜に留まり分泌が遅延した。これらの結果から mDia2 は膜融合した顆粒上でアクチン線維の重合を促進することにより、膜融合に伴う分泌顆粒内圧の上昇による顆粒径の増大を抑制することが示された。Arp2/3 複合体は mDia2 を介して形成された直鎖状のアクチン線維上に集積し、Actin-myosin complex の形成を促進することにより分泌顆粒を収縮させ、開口分泌を促進することが示唆された。

O2-G9

耳下腺および膵外分泌腺アミラーゼ開口分泌における MARCKS シグナリングの関与
 ○佐藤 慶太郎¹、成田 貴則²、杉谷 博士² (¹獨協医大 医 生理、²日大 生物資源 獣医生化)

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) is known as a major cellular substrate for PKC. MARCKS has been implicated in the regulation of brain development and postnatal survival, cellular migration and adhesion, as well as phagocytosis, endocytosis, and exocytosis. Exocytotic amylase release is found in parotid and pancreatic acinar cells. In parotid acinar cells, the amylase release is regulated by intracellular cAMP levels. In contrast, the amylase release is regulated by intracellular Ca^{2+} levels in pancreatic acinar cells. Here, we investigated the role of MARCKS phosphorylation in cAMP- and Ca^{2+} -dependent amylase release. MARCKS and phosphorylated-MARCKS in the acinar cells were detected by Western blotting. Translocation of MARCKS in the acini was observed by immunohistochemistry. Amylase activity in the medium and the cell lysate was measured by Bernfeld's method. MARCKS protein was expressed in rat parotid and pancreatic acinar cells. In parotid acinar cells, the β -adrenergic agonist isoproterenol (IPR) induced MARCKS phosphorylation and MARCKS translocation from membrane to cytosol. The PKC δ inhibitor rottlerin and the cAMP-dependent protein kinase (PKA) inhibitor H89 inhibited the IPR-induced MARCKS phosphorylation and amylase release. MARCKS-related peptide (MANS) as the MARCKS inhibitor inhibited the IPR-induced amylase release. In pancreatic acinar cells, the gastrointestinal hormone cholecystokinin (CCK) induced MARCKS phosphorylation and MARCKS translocation from membrane to cytosol. Rottlerin inhibited the CCK-induced MARCKS phosphorylation and amylase release. MANS inhibited the CCK-induced amylase release. These results suggest that MARCKS phosphorylation via the activation of PKC δ is involved in the cAMP- and Ca^{2+} -dependent amylase release. In parotid acinar cells, the PKC δ activation is the downstream of the PKA activation. In conclusion, secretagogue-induced MARCKS phosphorylation is a common event in amylase release in exocrine cells such as parotid and pancreatic acinar cells.

O2-G11

唾液腺由来 BDNF の全身への移行についての検討 -第 1 報-

○東 雅啓¹、猿田 樹理¹、杉本 昌弘^{1,2}、
 近藤 裕介^{1,3}、林 隆司¹、山本 裕子¹、
 清水 智子¹、栗本 勇輝¹、斎藤 一郎⁴、
 槻木 恵一¹ (¹神歯大 院 環境病理、²慶応大 先端生命科学研、³東海大 医 病理診断、⁴鶴見大 歯 病理)

【目的】唾液腺産生物質が血中へ移行することで全身にどのような影響を及ぼすか検討するため、brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 遺伝子を唾液腺に特異的に発現させたトランスジェニック (Tg) マウスを作製した。コンストラクトは耳下腺特異的タンパク (PSP) をプロモーターとし、さらに生体存在しない HA タグを付加し設計した。これにより内因性 BDNF と区別でき、唾液腺産生物質の機能解析に貢献する実験系である。我々はこの系を用いて唾液腺産 BDNF が中枢へ移行しているかを確認し、それによる行動生理学的変化を検討した。さらに中枢における代謝系への影響を解析した。【方法】マウス PSP-BDNF-HA の遺伝子コンストラクトを用いて Tg マウスの作製を行った。ジェノタイプングで導入遺伝子が確認されたマウスを用いて、全身諸臓器における BDNF-HA の発現を RT-PCR で確認した。また、血中の BDNF 濃度を ELISA にて、海馬における BDNF 発現量をウェスタンブロットにて解析した。さらに open field test および高架式十字迷路を用いて行動生理学的変化を検討した。Tg マウスの全身諸臓器における代謝レベルの変化は、メタボローム解析にて分析した。【結果および考察】導入遺伝子は 3 大唾液腺に発現が認められ、耳下腺に特に強く認められた。また、Tg マウスではコントロールと比較し血中の BDNF 濃度が有意に高く、唾液中への移行も確認できた。さらに海馬における BDNF の発現量は Tg マウスで有意に高かった。また行動解析では、open field test における center 侵入回数・滞在時間が、高架式十字迷路においては open arm 侵入回数が Tg マウスで有意に高かった。そして代謝レベルでは Tg マウスの海馬において GABA の産生が亢進していた。以上の結果より、唾液腺産 BDNF が中枢へ移行することで抗不安効果を発揮することが示唆された。

O2-G12

第一世代抗ヒスタミン薬の鎮痛効果

○高橋 萌¹、島 和弘^{2,3}、土谷 昌広^{2,4,5}、
渡邊 誠⁵、菅原 俊二²、遠藤 康男²
(¹東北大学 歯 6年、²東北大学 院歯 口腔分子制御、³東北大学 院歯 顎口腔矯正、⁴東北大学 院歯 口腔診断、⁵東北福祉大)

【背景・目的】ヒスタミンはよく知られる痛みの mediator であるが、痛みは種々の mediator により伝達・修飾される。第一世代抗ヒスタミン薬 (1stAH) は、抗ヒスタミン作用以外にも、抗コリン・抗セロトニン・抗アドレナリン・局所麻酔・膜安定化など、鎮痛に関連する多彩な作用を持ち、鎮痛薬または鎮痛補助薬としての応用が試みられた。しかし、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) の登場によりその研究は途絶えた。私達は第一世代抗ヒスタミン薬の chlorpheniramine と diphenhydramine が顎関節症・骨粗鬆症・変形性関節症の患者で、NSAIDs (flurbiprofen, indomethacin) にまさる鎮痛効果を示すことを報告した (Watanabe et al. 1999; Fujita et al. 2013)。本研究では 1stAH と NSAIDs の鎮痛効果を動物実験で比較した。【方法】1stAH として diphenhydramine, promethazine (局所麻酔作用が強い), cyproheptadine (抗セロトニン作用が強い) を用いた。1stAH は水溶性であり、比較に用いた NSAIDs も水溶性の diclofenac と meloxicam を用いた。比較を容易にするため、薬物は全て静脈投与した。鎮痛効果はマウスへの 0.7 % 酢酸腹腔投与による writhing 反応の抑制を指標にした。また、ヒスタミンの関与しない鎮痛効果を評価するためヒスタミン H1 受容体欠損 (H1-KO) マウスでの効果も検討した。【結果】正常および H1-KO マウスで、1stAH (特に cyproheptadine) は上記 NSAIDs に匹敵またはそれ以上の鎮痛効果を示した。【考察】1stAH の鎮痛作用は H1-KO マウスでも発揮されたことから、その鎮痛作用には、抗ヒスタミン作用以外の作用も重要であることが示された。1stAH は抗アレルギー薬としてのみならず、優れた鎮痛薬としても評価されるべきと思われる。

O2-G14

オステオカルシン経口投与時の体内動態と糖代謝への作用

○溝上 颯子¹、安武 雄^{1,3}、東 泉²、
川久保-安河内 友世¹、高橋 一郎³、竹内 弘²、
平田 雅人¹ (¹九大 院歯 口腔細胞工学、²九歯大 応用薬理、³九大 院歯 矯正)

Osteocalcin is a bone-derived hormone that, in the uncarboxylated form (GluOC), plays an important role in glucose and energy metabolism, male fertility, and brain function. It regulates energy metabolism by stimulating insulin secretion and pancreatic beta-cell proliferation through its putative receptor GPRC6A. We previously reported that the effect of GluOC on insulin secretion is largely mediated by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) that secreted from the intestine in response to GluOC. In the present study, we examined the effect of GluOC oral administration on glucose utilization as well as the fate of such administered GluOC in mice. Long-term intermittent oral administration of GluOC reduced the fasting blood glucose level and improved glucose tolerance in mice without affecting insulin sensitivity and gluconeogenesis. It also increased the fasting serum insulin concentration as well as the beta-cell area in the pancreas. A small proportion of orally administered GluOC reached the small intestine and remained there for at least 24 h. GluOC also entered the general circulation, and the serum GLP-1 concentration was increased in association with the presence of GluOC in the intestine and systemic circulation. GPRC6A was detected in intestinal cells, and was colocalized with GLP-1 in some of these cells. These results indicate that orally administered GluOC improved glucose handling likely by acting from both the intestinal lumen and the general circulation, with this effect being mediated in part by stimulation of GLP-1 secretion. Oral administration of GluOC warrants further study as a safe and convenient option for the treatment or prevention of metabolic disorders.

O2-G13

窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) の炎症壊死作用：LPS による増強

○鈴木 飛佳理^{1,2}、島 和弘^{1,4}、佐藤 衣莉^{1,3}、
山口 晃史¹、大泉 丈史¹、菅原 俊二¹、
高橋 哲²、遠藤 康男¹ (¹東北大学 院歯 口腔分子制御、²東北大学 院歯 顎顔面・口腔外科、³東北大学 研修医、⁴東北大学 院歯 顎口腔矯正)

【背景と目的】Bisphosphonates (BPs, 骨吸収抑制薬) には窒素含有 N-BPs と非含有 non-N-BPs がある。骨吸収抑制作用は N-BPs >> non-N-BPs だが、N-BPs には発熱・顎骨壊死・消化管傷害などの副作用がある。私達はマウス実験で、N-BPs 自体が IL-1 産生を含む種々の炎症作用を示すことを発見し、また、投与局所で壊死を起こし、in vitro で細胞非特異的毒性を示すこと等を報告してきた。細菌膜成分 LPS による IL-1 産生・遊離は、N-BPs 投与マウスで激しく増強されることも発見した。本研究では口腔細菌を BP 関連顎骨壊死 (BRONJ) の誘発因子と想定し、マウスでの N-BPs の炎症・壊死作用に対する LPS の効果を検討した。【結果】(i) LPS は N-BPs の耳介や足趾投与による投与局所での炎症・壊死を顕著に増強し、この増強は C3H/HeJ マウス (TLR4 変異) ではみられなかった。(ii) IL-1 欠損マウスでは、低用量 N-BPs による炎症は弱い、高用量 N-BPs による壊死に、wild-type マウスとの有意差はなかった。【考察】N-BPs による炎症は IL-1 に依存し、壊死は IL-1 非依存と思われる。BRONJ は denosumab (抗 RANKL mAb) でも発症するが、大理石骨病に発症はないことから、骨吸収抑制のみで顎骨壊死は説明できない。N-BPs・non-N-BPs に関わらず、BPs は反復投与で骨に蓄積し、炎症骨への集積は特に顕著である。また、BRONJ 患者唾液中に N-BPs が検出されることから、顎骨に蓄積した N-BPs は感染や抜歯を契機に遊離すると予想される。以上より、N-BPs の顎骨への蓄積・遊離と N-BPs 自体の細胞毒性が BRONJ の原因であり、感染や抜歯は BRONJ 誘発因子と思われる。

O2-G15

C2C12 筋管における糖取り込みのオステオカルシンによる修飾

○柄 慎太郎^{1,2}、青沼 史子^{1,2}、細川 隆司²、
平田 雅人³、竹内 弘¹
(¹九歯大 口腔応用薬理、²九歯大 口腔再建リハビリ、³九大 院歯 口腔細胞工学)

Objectives: A close relationship between bone and systemic glucose metabolism has been studied extensively and uncarboxylated form (GluOC), but not the gamma-carboxylated form (GlaOC), of the bone-derived protein osteocalcin was recently shown to play an essential role in energy metabolism. However, the understanding of the actions of GluOC in a whole energy metabolism requires the examinations using a variety of organs as well as pancreatic beta-cells. In the present study, we examined the effect of OC on cell lines derived from skeletal muscle to explore the mechanisms by which OC regulates energy metabolism.

Methods: Mouse myoblast cell line C2C12 was grown to confluence in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, then induced differentiation to myotubes by culturing in DMEM containing 2% horse serum for 48hr, followed by replacement with DMEM containing 1% bovine serum albumin every 48hr. At 120 hr post induction, the cells were subjected to the experiments. Insulin stimulated glucose uptake of the cells was measured by a modified method using 2-deoxyglucose. Phosphorylation of the signaling molecule was analyzed by Western blotting. Results: GluOC, but not GlaOC, promoted insulin-induced glucose uptake of myotubes. Insulin stimulated phosphorylation of Akt, a major regulator of glucose uptake, was also slightly upregulated by GluOC treatment of the cells. Treatment of the cells with GluOC alone induced phosphorylation of Erk, but not Akt, with the maximum effect at the concentration ranging 5 to 10 ng/ml.

Conclusion: These results suggested that GluOC up-regulates insulin-induced glucose uptake in myotubes probably by upregulating Akt signaling.

P1-1

酸刺激で活性化した TRPV1 チャンネルに対する Eugenol の鎮静作用メカニズムの解明
○高橋 かつお¹、吉田 卓史²、若森 実²
(¹東北大 歯、²東北大 院歯 歯科薬理)

Eugenol (Eug) has been frequently used in the dental treatments for a pulp sedation. Since Eug has a vanillyl structure, it is an analogue of capsaicin, a pungent compound. TRPV1 known as capsaicin receptor is a channel protein that receives pain sensations at the sensory nerve endings. TRPV1 receives three noxious stimuli or more, specifically capsaicin, acid, and heat. It has been reported that antinociceptive effects of Eug are caused via the TRPV1 at the sensory nerve endings in the spinal cord¹. On the other hand, it has also been reported Eug activates TRPV1 in rat trigeminal ganglia and heterologous expression system². However, the mechanism of the sedative effect of Eug has not yet been elucidated. We tested the hypothesis that Eug inhibits the activity of TRPV1, and then exerts their sedative effects. Mouse TRPV1 was transiently expressed in HEK293 cells and they were stimulated with acid (pH 5.5). The intra-cellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) elevation was measured using fura-2, and TRPV1 channel currents were recorded by the whole-cell patch-clamp technique. After pretreatment of the cells with Eug (1 mM) for 2 min, $[Ca^{2+}]_i$ rises induced by acid were significantly reduced compared to the control. Eug inhibited $[Ca^{2+}]_i$ rises in a concentration-dependent manner. Inhibitory effect was not observed after the pretreatment of the cells for 2 min at low concentration of Eug (0.3 mM), whereas the pretreatment with 0.3-mM Eug for 3 hrs attenuated TRPV1 activity. When cells were stimulated with acid twice in a row in the presence of Eug, the stronger inhibitory effect of Eug was seen at the second application. Thus we conclude that Eug inhibits TRPV1 channel activity as a channel pore blocker in a short-term treatment, and reduces surface expression of TRPV1 channel in a long-term treatment. These two actions should be considered as mechanisms of sedative effect of Eug.

reference

- 1) Ohkubo T and Shibata M, J. Dent. Res. 76, 848-851 (1997)
- 2) Yang et al., J. Dent. Res. 82, 781-785 (2003)

P1-3

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の口腔内定着を阻害する口腔内細菌の探索
○泉 彩夏¹、松尾 美樹²、小松澤 均²
(¹鹿大 歯5年、²鹿大 院歯 口腔微生物)

【目的】日和見感染症の原因菌である黄色ブドウ球菌は、ヒトの鼻腔、口腔、皮膚等の常在菌として知られている。また、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による院内感染は臨床問題となっている。本菌の口腔内定着率は鼻腔に比べて低いことから、口腔内細菌が本菌の定着を阻害している可能性が考えられる。本研究は、口腔内から、黄色ブドウ球菌の増殖を阻害する細菌を分離・同定することを目的としている。【方法】口腔内に黄色ブドウ球菌が存在しないことを確認した被験者1名の唾液中から、ランダムに細菌96株を分離した。本菌群を用いてMRSAに対する生育阻害効果を direct 法にて検証した。菌の同定は、各種細菌用選択培地での増殖、グラム染色、菌種特異的なプライマーを用いたPCR法ならびに16SrRNAを標的としたシーケンス法により行った。【結果】direct法の結果、唾液から分離した96株のうち35株が、MRSAの生育を阻害した。35株の口腔内細菌はすべてグラム陽性レンサ球菌であり、PCR法とシーケンス法の結果から、*Streptococcus sanguinis* と *Streptococcus parasanguinis* であることが明らかになった。両菌は同じ Mitis group に属し、本 group に属する細菌は過酸化水素 (H_2O_2) を産生することが報告されている。そこで、*S. sanguinis* と *S. parasanguinis* を嫌気下ならびにカタラーゼ添加による好気下で培養し、MRSAに対する生育阻害を検証した。その結果、生育阻害効果の消失が認められた。【考察】*S. sanguinis* と *S. parasanguinis* は H_2O_2 を産生することでMRSAの口腔内定着を阻害することが示唆された。現在口腔内から黄色ブドウ球菌が分離・非分離される被験者群においてさらに検討している。(鹿児島大学疫学研究等倫理委員会承認番号：第372号)

P1-2

象牙芽細胞における酸・機械刺激誘発性 Ca^{2+} 流入は amiloride で抑制される
○倉澤 馨¹、佐藤 正樹²、木村 麻記²、小島 佑貴²、東川 明日香²、小倉 一宏²、望月 浩幸²、陽田 みゆき²、澁川 義幸²、田崎 雅和² (¹東歯大 学生、²東歯大 生理)

象牙芽細胞は transient receptor potential (TRP) channels で刺激 (pH・温度・機械など) を受容し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の一過性増加を示す。一方、近年 TRP channels 以外の pH・機械刺激感受性膜タンパク質の存在も示唆されている。そこで、本細胞における酸・機械刺激誘発性 Ca^{2+} 流入の詳細を検討した。実験にはマウス由来培養象牙芽細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) を用いた。細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化は、fura-2 によって評価した。標準細胞外液 (pH 7.4) に 0.1 M HCl を加え、pH 7.0 - 4.0 の酸刺激溶液を作成した。機械刺激は標準細胞外液 (333 mOsm/L) から 100 mM NaCl を除き (133 mOsm/L)、マンニトールで等浸透圧性・低浸透圧性刺激溶液 (200 mOsm/L) をそれぞれ作成した。酸刺激を与えると、象牙芽細胞内の Ca^{2+} 濃度は、pH 依存性の一過性に増加した。酸刺激誘発性 (pH 5.5) Ca^{2+} 流入は、amiloride (5 μ M) によって抑制された。低浸透圧刺激による一過性細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加も、同様に amiloride によって抑制された。これらの結果から、amiloride 感受性 Ca^{2+} 透過性イオンチャネルが酸・機械刺激の受容に関わることが示された。Amiloride は酸感受性イオンチャネル (acid sensing ion channel, ASICs) および上皮性 Na⁺チャネル (epithelial Na⁺ channel, ENaC) 等の非選択的陽イオンチャネルブロッカーであることから、酸・機械刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加は、これらに由来する可能性が示唆された。

P1-4

pH で活性化される TRPV1 チャンネルの電気生理学的解析
○宮本 英欧¹、荒木 健太郎¹、若森 実¹
(¹東北大 院歯 歯科薬理)

TRPV1 チャンネルは後根神経節や三叉神経節の小～中型の細胞に発現し、痛覚刺激の受容に深く関わっている。TRPV1 チャンネルはカプサイシン、酸 (H^+)、熱 (>43°C)、脱分極刺激などポリモーダルな活性化機構を備えている。TRPV1 チャンネルの生理的刺戟である酸と脱分極による同時刺戟時のチャンネルの生物物理学的性質は解明されていない。本研究ではマウス TRPV1 チャンネルをコードする遺伝子を HEK-293 細胞に強制発現し、パッチクランプ法ホールセルモードで膜電位固定下に膜電流を記録し、酸と脱分極による同時刺戟時のチャンネルの性質を解析した。脱感作を防止するために 1 mM EGTA を含む Ca^{2+} を添加していない細胞外液と、 K^+ を Cs^+ に置換し 10 mM EGTA を含む電極内液を用いて室温 (22-24°C) で TRPV1 チャンネル活性を記録した。保持電位を -60 mV に設定し、-100 mV から 100 mV まで 10 mV 毎に 350 ms のステップパルスで 0.33 Hz で与えて膜電流を記録し、TRPV1 チャンネルの電位依存性と活性化のキネティクスを詳細に解析した。カプサイシンや酸刺戟が無い状態では -100 mV から 100 mV までの範囲で電流-電圧関係はオームの法則に則り直線的であった。しかし、pH 6.0 の外液中では膜電位 -60 mV では小さな内向き電流が記録でき、電流-電圧関係は 40 mV より脱分極側で明らかな外向き整流性を示した。ステップパルスに対して、外向き電流は時間依存性に活性化し、その活性化相は 2 次指数関数でフィットできた。同一細胞で pH を 5.5 まで下げるとより明白な外向き整流性の電流-電圧関係を示した。その活性化相も 2 次指数関数でフィットできた。以上の結果より、酸刺戟下で TRPV1 チャンネルは 40 mV より脱分極側で電位依存性に活性化され、2 つの開状態と 1 つの開状態を持つことが判明した。

P1-5

骨組織における組織非特異型アルカリフォスファターゼ (TNALP) と ENPPI の免疫組織化学的解析

○小林 博和¹、本郷 裕美²、織田 公光³、
網塚 憲生² (¹北大 歯、²北大 院歯 硬組織、
³新大 院歯 口腔生化学)

【目的】 組織非特異型アルカリフォスファターゼ (TNALP) はリン酸エステルを加水分解する酵素であり、hydroxyapatite の結晶成長を阻害するピロリン酸を分解することが主要な役割として知られている。一方、ENPPI はヌクレオシド三リン酸などからピロリン酸を合成する酵素として知られている。しかし、骨組織におけるこれら酵素の詳細な局在は未解明である。そこで、今回我々は、TNALP および ENPPI の骨組織における局在について組織化学的に解析した。

【材料と方法】 生後 6-10 週齢雄性マウス (control 群) および hPTH (1-34; 80 µg/kg/日、2 回/日) を投与した雄性マウス (PTH 投与群) をアルデヒド固定し、大腿骨・脛骨を通常法に従ってパラフィン包埋した。組織切片上で TNALP および ENPPI の HRP 標識による免疫組織化学および FITC/RITC 標識による蛍光組織化学を行った。

【結果と考察】 control 群に比べて、PTH 投与群では多数の骨梁が形成されており、骨芽細胞の血管側には厚い前骨芽細胞の層が形成されていた。骨芽細胞および前骨芽細胞はともに TNALP/ENPPI 陽性を示したが、前骨芽細胞はより強い TNALP 陽性反応を示すのに対して、骨芽細胞は ENPPI 陽性反応が優位に認められた。さらに、control 群・PTH 投与群ともに、一部の骨細胞は ENPPI 陽性反応を示した。FITC/RITC の二重標識による蛍光組織化学を行うと、ENPPI 陽性反応は骨芽細胞の細胞全体的に観察されたのに対して、TNALP 陽性反応は骨芽細胞と前骨芽細胞の細胞膜に認められる傾向が示された。このことから、TNALP は骨芽細胞から前骨芽細胞にかけて強発現されているのに対して、ENPPI は前骨芽細胞・骨芽細胞だけでなく骨細胞にも発現すると推察された。

P1-7

唾液腺再生モデルにおけるサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素の発現誘導

○嶺岸 誠^{1,2}、赤松 徹也¹、姚 陳娟¹、
長谷川 敬展¹、吉村 弘¹ (¹徳大 院 HBS 口腔
分子生理、²徳大 歯 4 年)

【目的】 唾液腺の主導管結紮-再開放系は、唾液腺再生モデルとして知られるが、その分子機構は未解明である。我々は昨年、本再生過程へのサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 (SPC) の 1 つ、PACE4 の関与について報告した。今回、他の SPC ファミリーの関与について検討した。また、げっ歯類の唾液腺は雌雄差があることから、雌雄差の影響についても検討した。

【方法】 7 週齢雌雄の SD ラットを深麻酔下、顎下腺の右側主導管を結紮 (L) し、左側は非結紮対照 (CL) とした。結紮 1 日後 (L1d)、1-3 週間後 (L1-L3)、および結紮 1 週間後に再開放し、更に 1-2 週間後 (L1O1-L1O2) に各々顎下腺を摘出、解析した。

【結果・考察】 雌雄共に L1d では唾液の貯留を伴う顎下腺の腫脹と腺重量の増加が認められ、その後、結紮群 (L1-L3) では顎下腺の萎縮、腺重量の減少を確認した。この変化は再開放群 (L1O1, L1O2) も同様であったが、L1O2 ♀は L1O2 ♂より腺重量の回復が示唆された。一方、いずれの対照群 (CL) も変化は認められなかった。各顎下腺での PACE4 の発現を Western blot により解析したところ、発現の誘導が雌雄共に L1d から認められ、それ以降の結紮群、再開放群共に顕著に認められたが、いずれの対照群でも検出されなかった。他の SPC ファミリーについても解析した結果、PC6 の発現が主導管結紮により誘導される傾向が見られた。少なくとも主導管結紮により誘起される唾液腺再生過程には雌雄共に PACE4 および PC6 の関与が考えられた。

P1-6

象牙芽細胞後期分化過程での Osterix 過剰発現は、象牙芽細胞の成熟を抑制し基質産生能を低下させる

○井上 真愛弥¹、宮崎 敏博²、馬場 友巳³、
小守 壽文² (¹長大 歯、²長大 院医歯薬 細胞
生物、³長大 院医歯薬 口腔分子生化学)

【目的】 Runx2 の下流に存在し、Runx2 とともに骨芽細胞分化に必須の転写因子と知られている Osterix は象牙芽細胞にも発現する。そのノックアウト (Ko) マウスの歯牙形成は胎生期の鐘状期前期までは正常であるが、Ko マウスが出生後死亡するため、象牙芽細胞の後期分化および成熟過程における機能は不明である。本研究の目的は、象牙芽細胞の分化・成熟過程における Osterix の機能を解析することである。**【方法】** 今回我々は、I 型コラーゲンプロモーター (Colla1) を用いて Osterix を象牙芽細胞に過剰発現させたトランスジェニック (Tg) マウスにおける下顎臼歯の形成過程を組織学的に解析した。生後 0 日から 3 ヶ月齢までのマウスについて、(1) 光学顕微鏡による形態解析、(2) Osterix、象牙芽細胞特異的蛋白、および各種の石灰化関連蛋白の免疫組織化学的解析を行った。**【結果および考察】** 萌出後の Tg マウスの歯は脆くて破砕が見られた。光学顕微鏡で観察すると象牙質は非常に薄く、著しい形成不全を呈しており、歯髄内には異所性の石灰化等の異常が認められた。象牙芽細胞の形態や配列、および象牙細管の走行は乱れており、象牙質形成面は波状を呈していた。免疫組織学的に、野生型マウスにおいて Osterix は最終分化した象牙芽細胞に強く発現しており、成熟とともに発現の低下が認められた。Tg マウスにおいて、象牙芽細胞特異的蛋白であるネスチンの発現は若干低下しているものの正常に発現していたが、オステオカルシンの顕著な発現低下が認められた。このことから、象牙芽細胞の後期分化・成熟過程における Osterix の過剰発現は、象牙芽細胞の成熟を抑制し、基質産生能を低下させることが示唆された。

P1-8

Porphyromonas gingivalis (*P.g.*) 菌性感染は非アルコール性脂肪性肝炎の病態を進行させる - *P.g.* 感染や *P.g.*-LPS が肝細胞に及ぼす影響 -

○平田 真弓¹、古庄 寿子²、宮内 睦美²、
高田 隆² (¹長大 歯、²長大 院医歯薬保 口腔
顎顔面病理病態)

目的: 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は、肥満に伴う脂肪肝から発生し、10-25% が肝硬変、肝癌へと進展する重篤な健康問題であるが、その病態には、未解明の部分が多い。近年、我々は、*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) 菌性感染が NASH の病態を促進することを示した。本研究では *P.g.* や *P.g.* 由来 LPS (*P.g.*-LPS) が肝細胞に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

方法: パルミチン酸で処理したヒト肝細胞株 (HC3716-hTERT 株) を、脂肪化肝細胞モデルとして用い、以下の検討を行った。1. *P.g.* 感染がサイトカインや脂質代謝関連分子発現に及ぼす影響、2. パルミチン酸による脂肪化が Integrin α 5、 β 1 (*P.g.* の細胞内取込受容体) 発現や *P.g.* 感染量に及ぼす影響、3. 脂肪化が TLR2 (*P.g.*-LPS 受容体) 発現や *P.g.*-LPS の誘導する遺伝子発現に及ぼす影響、4. *P.g.* 頻回感染による影響

結果: 1. *P.g.* 感染は脂肪酸やリポ蛋白の取込関連分子 (FATP、LDLR) やサイトカイン (IL-6、MCP1) の発現を上昇させた。2. 脂肪化により Integrin α 5、 β 1 発現は増強し、*P.g.* 感染量が増加した。3. 脂肪化肝細胞では TLR2 発現が上昇し、*P.g.*-LPS によるサイトカイン産生が増強した。4. *P.g.* 感染回数の増加に伴い FATP、LDLR、脂質合成系 (FAS) 発現上昇と脂質分解系 (CPT-1) 発現抑制が誘導され、感染回数が増加するほど脂質沈着量も増加した。

考察: *P.g.* 感染や *P.g.*-LPS 刺激は肝細胞の脂質代謝に影響し、肝細胞の脂肪化を促進する一方で、脂肪化肝細胞では integrin や TLR2 発現上昇を介して、*P.g.* 感染量や *P.g.*-LPS に対する感受性が増加することが明らかとなった。脂肪肝では *P.g.* 感染と、肝細胞の脂肪化の間に悪循環が成立し、NASH の病態進行に関与することが示された。

共同研究者: 坂本真一、青木咲貴

P1-9

ヒト迷走神経下神経節と咽頭の神経支配
 ○浦田 悠輔¹、佐藤 匡¹、岡島 多翔幸¹、
 南野 雅一¹、清水 良央¹、市川 博之¹
 (¹東北大 院歯 口腔器官構造)

Immunohistochemistry for several neurochemical substances, the transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) and 2 (TRPV2), P2X3 receptor, and parvalbumin (PV), was performed on the nodose ganglion, pharynx, and epiglottis in human cadavers. The nodose ganglion was situated beneath the jugular foramen, and had a spindle shape with the long rostrocaudal axis. The pharyngeal branch (PB) issued from a rostral quarter of the nodose ganglion, whereas the superior laryngeal nerve (SLN) usually originated from a caudal half of the ganglion. In the nodose ganglion, sensory neurons were mostly immunoreactive for TRPV1 (89%) or P2X3 (93.9%). About 30% of nodose neurons contained TRPV2 (35.7%) or PV (29.9%) immunoreactivity (-IR). These neurons mainly had small to medium-sized cell bodies, and were distributed throughout the ganglion. Neurodegenerative profiles such as shrinkage or pyknosis could not be detected in the examined ganglion. Occasionally, TRPV2-IR nerve fibers surrounded blood vessels in the epiglottis as well as in the nasal and oral parts of the pharynx. Isolated TRPV2-IR nerve fibers were also located beneath the epithelium. TRPV1-, P2X3-, or PV-IR nerve endings could not be detected in the pharynx or epiglottis. In the PB and SLN, however, numerous nerve fibers contained TRPV1-, TRPV2-, P2X3-, and PV-IR. The present study suggests that TRPV1-, TRPV2-, P2X3-, and PV-IR neurons in the human nodose ganglion innervate the pharynx and epiglottis through the PB and SLN. These neurons may respond to chemical, thermal, and mechanical stimuli during respiration and swallowing. This work was collaborated with Mr. Daisuke Sato, Mr. Shota Kawamura, Mr. Manatsu Kurita, Mr. Kenta Takahashi, Ms. Asami Watahiki, Mr. Souichi Kokubun, Dr. Eriko Kasahara, Dr. Noriaki Shoji and Dr. Takashi Sasano.

P1-11

アレンドロネート連日投与中・投与中止後における骨の細胞群における組織化学的变化
 ○坪井 香奈子^{1,2}、佐々木 宗輝^{1,3}、
 長谷川 智香¹、虎谷 彌¹、織田 公光¹、
 北川 善政²、網塚 憲生¹ (¹北大 院歯 硬組織、
²北大 院歯 口腔内科、³長大 院医歯 インブ
 ラント、⁴新大 院医歯 口腔生化学)

【緒言】ビスフォスフォネートの中でも連日投与製剤であるアレンドロネート(以下、ALN)は主に骨吸収面に集積し骨吸収を行っている破骨細胞を抑制する。今回、我々は、ALN投与中止による骨吸収のリバウンドの可能性また連日投与中の骨芽細胞系細胞への影響を考慮するため、ALN連日投与による破骨細胞と骨形成系細胞の組織化学的検索を行った。【方法】生後6週齢ICRマウスにALNを10日間連続皮下投与した。投与終了直後、12時間、1、2、3、4日後にアルデヒド固定し長管骨を採取、ALP、TRAP等の組織化学、電子顕微鏡観察及び共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。【結果と考察】ALN連日投与中の骨幹端では、コントロール群に比べて多数のTRAP陽性破骨細胞が存在していた。投与を中止すると破骨細胞は活発な骨吸収を行うのではなく、その数を減少させてゆき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。ところが、ALP陽性反応は経時的に減弱し活性型骨芽細胞の数は減少していった。また骨細胞は委縮し骨小腔との間隙が拡大する傾向を示した。ローダミンフロイジン染色を共焦点レーザー顕微鏡にて観察すると、ALN投与により骨細管中の細胞突起が断裂する傾向を認めた。このような骨細胞への影響は、ALNによる破骨細胞抑制に続く骨芽細胞の機能低下を介する経路と、骨細胞への直接作用の経路が考えられる。そこで、外頸静脈にALNを1回投与して早期に観察したところ、破骨細胞や骨芽細胞が影響されるよりも早く骨細胞の委縮を認めたことから、ALNは骨細胞に対して直接作用を示す可能性が示唆された。以上、ALN連日投与中止後では破骨細胞による骨吸収のリバウンドよりも、投与中あるいは投与後の骨芽細胞・骨細胞の機能低下に注意が必要と思われる。さらにALNは骨細胞に対する直接作用を有する可能性が示唆された。

P1-10

ラットの根分岐部形成に関する組織学的研究
 ○大澤 枝里¹、山崎 高希²、山本 仁²、
 新谷 誠康¹
 (¹東歯大 小児歯科、²東歯大 組織・発生)

【目的】ヒトを始めとした大部分の哺乳類の臼歯は多根歯であるが、多根の形成メカニズムについては不明な点が多い。歯の形態形成研究に用いられることの多いマウスでは歯冠形成後に象牙質根間突起が癒合して根分岐部が形成されるが、ヒトでは将来の根分岐部に髓下葉が形成され、これが象牙質根間突起と癒合して根分岐部をつくることとされている。そこで髓下葉の形成を伴った根分岐部形成過程を明らかにするため、ヒトと同様に髓下葉が出現するラットの根分岐部形成について検索した。【材料と方法】生後8日から18日までのWistarラットの上顎第二臼歯(M2)を観察した。4%パラホルムアルデヒド溶液で固定後、M2を実体顕微鏡で観察した。一部の試料は10%EDTAで脱灰後通法に従って4μmのパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン重染色と抗heat shock protein (HSP) 27抗体による免疫組織化学を施した。【結果と考察】生後8日ではM2は歯冠の大部分が形成されており、歯頸部から歯髓中央に向かう上皮性根間突起が観察されたが、上皮性根間突起は多根形成の間癒合しなかった。生後11日では上皮性根間突起に面して低円柱形を示す細胞が部分的に出現し、それらの細胞は抗HSP27抗体に陽性反応を示した。生後11日以降に髓下葉が出現し、生後13日では2-4個が島状に存在した。髓下葉に面した細胞は高円柱形で抗HSP27抗体に強い陽性を示した。髓下葉は水平的に成長しかつ厚みを増し、生後18日には複数の髓下葉と象牙質根間突起が癒合して根分岐部を完成した。以上の結果から、ラット上顎第二臼歯の根分岐部は癒合することなく伸長した上皮性根間突起に面して部分的に分化した象牙質細胞により形成された髓下葉が互いに、あるいは象牙質根間突起と癒合して形成されることが示唆された。

P1-12

歯原性上皮細胞におけるCa²⁺を介した細胞接着メカニズム及び分化に及ぼす影響について
 ○宮崎 佳奈子¹、吉崎 恵悟¹、新井 智映子¹、
 張 麗麗¹、韓 雪¹、春山 直人¹、高橋 一郎¹
 (¹九大 院歯 歯科矯正)

エナメル芽細胞においてCa²⁺はエナメル質石灰化だけでなく、細胞間接着の安定化や細胞形態の維持などの役割を果たす。今回歯原性上皮細胞株(PDE cell)においてCa²⁺存在下で発現が上昇する因子を検索し、Plakophilin-1(Pkpl)に着目した。Pkplはdesmosomeを構成する分子であり、細胞間接着に関与する。同因子は外胚葉形成症の原因遺伝子の一つとして知られているが、歯における詳細な機能は未だ不明である。そこで本研究ではPkplの歯の発生時期における発現パターンおよびCa²⁺作用下で歯原性上皮細胞に及ぼす影響について解析を行ったので報告する。歯の発生におけるPkplの発現パターンをRT-qPCR法を用いて確認したところ、皮膚と歯に強く発現し、歯の発生過程においてはエナメル芽細胞の分化に伴い発現が著しく上昇していた。また、その局在を確認するため免疫染色をおこなったところ、マウス帽状期臼歯歯胚(胎齢14日)では歯原性上皮細胞間の結合領域に局在が認められた。エナメル芽細胞分化期における局在を確認するため、出生後1日齢切歯を用いて検討したところ、分化したエナメル芽細胞と中間層細胞の結合部に強い発現が認められた。In vitroでは、Ca²⁺作用下でPDE cellの細胞形態が叢石状に変化するとともに、エナメル芽細胞分化マーカーであるアメロブラスチンの発現が上昇した。そこでPkplの細胞内動態を検討するためPkpl-EGFP発現ベクターを作製し、PDE cellに導入したところ、細胞膜に強い局在を認め、特に細胞間接着部位に強く局在していることがわかった。さらに、Pkpl siRNAを導入するとtight junctionに関与する接着関連因子Zo-1の発現が抑制された。以上の結果よりPkplはCa²⁺存在下において、歯原性上皮細胞のdesmosomeを介する結合に関与することに加えてtight junctionでの細胞間結合に関与することで、エナメル芽細胞分化に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

P1-13

ラット歯・歯周組織における formyl peptide receptor 2 (Fpr2) の局在
 ○堀部 寛治¹、細矢 明宏¹、平賀 徹¹、
 中村 浩彰¹ (¹松歯大 第2解剖)

【目的】 formyl peptide receptor 2 (Fpr2) は、様々な組織で発現している 7 回膜貫通型の G タンパク質共役型受容体である。Fpr2 は抗炎症性物質 lipoxin A4、抗微生物ペプチド Cathelicidin などのリガンドと結合して、サイトカイン産生などを介して、炎症反応の抑制、単球・マクロファージの遊走および貪食能の活性化、血管新生を制御している。しかし、歯・歯周組織における Fpr2 の発現および作用については未だ不明な点が多い。そこで、我々はラットの歯胚、歯・歯周組織における Fpr2 陽性細胞の局在を明らかにするために免疫組織学的な検索をおこなった。**【実験方法】** 1 日齢、4 週齢ラットを 4% パラホルムアルデヒドで固定し、上顎・下顎を脱灰後、パラフィン包埋を行った。厚さ 4 μm のパラフィン切片を作製し、抗 Fpr2 抗体および血管内皮細胞マーカーとして抗 CD146 抗体を用いて歯・歯周組織における Fpr2、CD146 陽性細胞の局在を検索した。**【結果】** 1 日齢ラットの鐘状期歯胚では、歯乳頭の象牙細胞層および歯小囊において Fpr2 が発現していることが明らかとなった。4 週齢ラットの臼歯では、歯根膜細胞、象牙芽細胞、象牙芽細胞下層において Fpr2 陽性反応がみられた。また、Fpr2 陽性細胞に近接して CD146 陽性の血管が認められた。**【考察】** 歯の発生過程および歯・歯周組織に Fpr2 が発現することが明らかとなった。歯髓、歯根膜の血管周囲において Fpr2 陽性細胞がみられたことから、Fpr2 は血管誘導を制御することで、歯・歯周組織の発生と維持に関与していることが推測される。

P1-14

頭頸部骨格筋内を走行する血管と神経の距離測定
 ○北村 啓¹、山内 真人¹、山本 将仁¹、
 山根 茂樹¹、梅澤 貴志¹、芹川 雅光¹、
 阿部 伸一¹ (¹東歯大 解剖)

目的 骨格筋周囲における血管の走行ならびに血管の筋への進入部については、さまざまな報告がある。血管と同様に骨格筋内を走行する神経は、筋内に進入後すぐに枝分かれし、筋腹中央に神経筋接合部が一行に並ぶことが明らかにされている。しかしながら、筋内においてこの神経と血管の距離を示した報告はない。そこで今回我々は外側直筋、側頭筋、喉頭側筋に焦点を当て、筋肉内における血管、神経の分布を示し、さらに神経と血管の距離を明らかにした。方法 試料として札幌医科大学所蔵のご遺体 3 体より採取を行った。通法に従い、パラフィン包埋を行い、10 μm にて連続切片を作成した。血管の走行を観察するために抗 αSMA 抗体を、神経の走行を観察するために抗 S100 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。その後、画像入力解析システム (IAS) にて血管直径、血管神経間距離を測定した。その結果より血管神経間距離の平均値を導き、さらに縦軸を血管直径、横軸を血管神経間距離の散布図を作成した。成績および考察 外側直筋、側頭筋、喉頭側筋における血管直径と血管神経間距離は血管直径が大きくなると神経との距離も遠くなるという正の相関があることが分った。また血管神経間距離の平均値は外側直筋において 125 μm、側頭筋において 175 μm、喉頭側筋において 110 μm であった。以上の結果より、細い血管ほど神経との距離が近いことが分った。したがって細い血管は神経に対し栄養を供給している可能性が示唆された。一方、直径が大きな血管ほど神経との距離が遠いことが分った。この結果からこれらは筋線維を栄養する動脈であると考えられた。また、側頭筋や喉頭側筋より外側直筋のほうが、血管の数が多かった。これは、外側直筋が選筋主体であり、筋を栄養するためにより多くの血管が必要であるからだと考えられた。

P1-15

オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態
 ○角野 公紀¹、本間 志保¹、脇坂 聡¹
 (¹阪大 院歯 口腔解剖)

末梢神経系のグリアであるサテライト細胞 (SC) の、神経損傷後の動態変化が近年注目されている。感覚神経節において 1 次求心性ニューロンやその周囲の SC における分子発現が末梢神経損傷により変化し、知覚異常が発症すると考えられているが、これらの拡散機序や神経損傷の程度による違いについては不明な点が多い。本研究ではラットのオトガイ神経に結紮と切断の 2 種類の損傷を加え、三叉神経節の非神経細胞の動態を観察した。正常動物の三叉神経節の Ibal (ミクログリアの特異的マーカー)、ED1 (貪食細胞の特異的マーカー)、SK3 (SC の特異的マーカー) の発現を免疫組織化学的に観察すると、ニューロンを囲む SC の外側に Ibal と ED1 を共発現する類円形の小細胞を認めた。微細構造学的には複数の SC がニューロンの全周を緊密に囲み、その外側に Ibal 陽性細胞を認めた。神経結紮後 1 週では三叉神経第 3 枝支配ニューロン領域と第 2、3 枝支配ニューロン混合領域において Ibal 陽性細胞の増加と突起の伸延が認められたが、その他の領域では変化が認められなかった。結紮後 2 週では Ibal 陽性細胞は正常より多いが、1 週より減少していた。微細構造学的には SC とニューロンとの間に間隙を認め、そこに SC が突起を伸ばしていた。神経切断後 1 週では結紮後 1 週と同様の変化が認められたが、切断後 2 週では第 3 枝支配ニューロン領域において Ibal 陽性細胞のさらなる増加を認めた。また SC とニューロンとの間に広い間隙を認め、一部でニューロンと SC の変性が認められた。以上より Ibal 陽性細胞は神経損傷後に活性化して集積し、損傷を受けた細胞の貪食に関与している可能性が示唆された。また神経損傷の影響がニューロンから SC に波及し、両者間に間隙が生じることで分子の漏出が起こり、近接するニューロン周囲の環境が変化し疼痛過敏の発症につながると考えられる。一方損傷が重度でニューロンや SC が細胞死に至る場合、知覚麻痺を発症すると考えられる。

P1-16

マウス臼歯歯胚移植後の歯髓発生過程におけるホスト・ドナー相互作用について
 ○斎藤 浩太郎¹、依田 浩子¹、大島 勇人¹
 (¹新大 院歯 硬組織形態)

【目的】 今回我々は、マウス臼歯歯胚移植実験モデルを用いて、術後のホスト・ドナー相互作用について解析した。**【方法】** 胎生期 (胎生 15~17 日) に BrdU でラベリングした生後 1~2 日齢の野生型マウスおよび GFP マウスの下顎第一臼歯歯胚を摘出後、12~14 日齢の野生型および GFP マウスの上顎第一臼歯抜歯窩へ移植した。術後 3 日から 21 日に固定し、μCT 解析後、抗 BrdU、抗 nestin、抗 GFP、抗 Ki67、抗 VEGF、抗 Notch3、抗 Gli1 免疫組織化学、TUNEL 染色を施し光顕にて観察した。**【結果および考察】** 移植した歯胚は術後 2 週には萌出し、6 咬頭と 2 根を有する正常な構造を示していた。BrdU ラベル細胞は観察期間中にわたって歯乳頭/歯髓中央の血管近傍に維持されており、そのあるものは nestin 陽性の象牙芽細胞へコミットしていた。また、歯髓内の血管近傍に VEGF、Notch3、Gli1 陽性細胞が認められ、ラベル細胞のあるものは VEGF および Gli1 を共発現していた。Ki67 陽性細胞は術後 3 日において有意に増加し、TUNEL 陽性細胞は実験期間中に有意な増加は認められなかった。GFP マウスの歯胚を野生型マウスに移植したものの歯髓では、紡錘形をした間葉細胞や象牙芽細胞、内皮細胞に GFP 陽性反応が認められ、野生型マウスの歯胚を GFP マウスに移植したものの歯髓では、樹枝状の形態をした細胞と内皮細胞に GFP 陽性反応が認められた。また、移植歯胚の発生が進むにつれて、歯髓内におけるドナーおよびホストの双方に由来する血管の割合が増加した。以上より、生後に歯胚の歯乳頭/歯髓内には樹状細胞と思われる細胞が遊走し、歯髓細胞集団の構成が変化することが明らかになった。

P1-17

ラット真皮由来三次元細胞培養シートにおける石灰化物形成に対する無機リン酸イオンの効果
 ○陶山 大輝¹、秦 省三郎¹、石川 博之¹、山崎 純² (福歯大 成長発達歯、²福歯大 分子機能制御)

我々はこれまでに三次元培養系において、ラット皮膚組織より単離した線維芽細胞から TGF- β 1 による筋線維芽細胞 (α -SMA 陽性) への変換について報告してきた。他方、慢性腎不全を伴う血管中膜の石灰化病変では、平滑筋細胞 (α -SMA 陽性) が骨関連タンパク質の産生や石灰化に関与していることが知られており、無機リン酸 (Pi) イオン濃度が重要であると報告されている。本研究は、三次元培養シート内における線維芽細胞から骨芽細胞様細胞への分化および石灰化物形成に関わる因子として Pi について検討を行った。生後 2 日齢ラットの背部皮膚から単離した線維芽細胞をコラーゲンゲルに封入し、培地 (α -MEM, 10% fetal calf serum) に、さらに Pi および sodium phosphonoformate (PF) を添加し、三次元培養を行った。培養後、アルカリホスファターゼ (ALP) 染色、アリザリンレッド (Aliz) 染色、ならびにリアルタイム PCR 法による ALP、Runx2、Osteocalcin (Oc) の mRNA の検出にて検討を行った。対照群と比較して、Pi を添加した群で ALP、Runx2、Oc の mRNA の発現は増加した。Aliz 染色に関しては、Pi 群では陽性像を認めたのに対して、Pi と PF を添加した群では Aliz 染色陽性像が認められなかった。以上のことから、骨芽細胞様細胞への分化および石灰化物形成に細胞外の Pi 濃度が関与していること、また、石灰化物形成には Na⁺ 依存 Pi 共輸送体によるリン酸イオンの細胞内取り込みが関与していることが示唆された。三次元培養シート内における骨芽細胞様細胞への分化および石灰化物形成過程において、Pi が関与していることが明らかとなった。

P1-19

含菌性嚢胞の間葉系結合組織層が骨吸収に与える影響
 ○北村 尚正¹、杉本 明日菜¹、中川 弘²、赤澤 友基²、長谷川 智一¹、岩本 勉^{1,2} (徳大 院 HBS 小児歯、²徳大 病院 小児歯)

【背景】含菌性嚢胞のような発育性嚢胞による骨吸収の分子メカニズムは明らかにされておらず、嚢胞内圧上昇による周囲組織への圧迫により骨吸収が生じると考えられている。本研究では、細胞外圧力が嚢胞を構成する細胞にどのような影響を及ぼすか、圧迫培養法を用いて検討した。【方法】含菌性嚢胞の病理切片において、抗 RANKL 抗体を用いて免疫組織学的検討を行った。また、ラット歯原性上皮細胞株、ヒト歯肉線維芽細胞株 (HGF)、ヒト骨肉腫由来骨芽細胞株 (SaOs-2) を用いて、37°C 恒温槽内で 0.01 MPa (約 80 mmHg) の炭酸ガス圧迫条件下にて培養を行なった。Real time RT-PCR 法を用いて、骨形成および骨吸収に関連する遺伝子の mRNA 発現量の変化を解析した。【結果】免疫組織学的検討により、嚢胞裏層上皮には RANKL 陽性細胞は認められないが、間葉系結合組織において RANKL 陽性細胞を認めた。6 時間圧迫培養した HGF において、c-fos、c-jun、RANKL の mRNA 発現量が、圧迫していない HGF と比べ有意に増加した。また、SaOs-2 では元々みられた RANKL の発現が、圧迫していない SaOs-2 に比べ有意に減少し、一方で Col1A1 が有意に増加した。【考察】菌原性嚢胞を想定した圧迫培養系において、骨吸収に関連する分子群の解析を行ったところ、持続的な低圧に対して間葉系組織から骨吸収サイトカインが放出され、骨芽細胞においては、むしろ骨形成に関連する遺伝子の発現が認められた。このことは、嚢胞による緩徐な骨吸収には間葉系組織が中心的な役割を担っていることが示唆された。

P1-18

コラーゲン・クロスリンクの変化が骨芽細胞、破骨細胞に及ぼす影響
 ○井田 貴子¹、加来 賢¹、北見 恩美^{1,2}、魚島 勝美¹ (新大 院医歯 生体補綴、²日本学術振興会)

コラーゲン・クロスリンクはコラーゲン分子間の架橋結合であり、骨の機械的特性を規定する因子の 1 つとして重要な構造である。本研究では骨基質中のコラーゲン・クロスリンクの変化が骨芽細胞、破骨細胞に及ぼす影響を解析した。前骨芽細胞 (MC3T3-E1) をクロスリンク阻害剤である β -aminopropionitrile (BAPN) 存在下にて 2 週間培養し、クロスリンクの異なるマトリックスを作製した。細胞成分を除去した後に MC3T3-E1 または前破骨細胞 (RAW264.7) を播種し、骨芽細胞分化能、破骨細胞分化能をそれぞれ評価した。さらに C57BL/6J マウス (雌性、4 週齢) を BAPN 含有飼料またはコントロール飼料にて 8 週間飼育しクロスリンク形成不全マウスを作製した。通常飼料に戻した後、0, 1, 2, 4, 8 週後に屠殺し、大腿骨および全血を採取し、micro-CT による骨形態計測、血清骨代謝マーカーの解析を行った。クロスリンクの低下したマトリックス上における MC3T3-E1 の ALP 活性は上昇し、遺伝子発現解析では Runx2/Cbfa1 および Alpl の発現上昇が認められた。RAW264.7 においては TRAP 陽性細胞、Cathepsin K 陽性細胞数ともに減少が認められた。クロスリンク形成不全マウスにおいて、BAPN 摂取 8 週後の大腿骨における骨形態計測では、BAPN 摂取群の骨量変化に有意差は認められず、クロスリンク阻害剤の摂取は骨量に影響を及ぼさなかった。骨形成マーカーである Osteocalcin は BAPN 摂取群において著明な変化は認められなかったものの、骨吸収マーカーである TRACP-5b では 4 週後に BAPN 摂取群において増加が認められた。以上の結果より、コラーゲン・クロスリンクは骨の機械的特性を維持する構造としてのみならず、骨代謝に影響を及ぼす多機能構造として存在する可能性が示唆された。

P1-20

FIB-SEM を用いた骨細胞・骨細管系の 3 次元微細構造解析
 ○長谷川 智香¹、山本 知真也¹、虎谷 彌¹、網塚 憲生¹ (北大 院歯 硬組織)

Osteocytes extend their thin cytoplasmic processes through narrow passageway referred to as osteocytic canaliculi. Osteocytes establish the cellular network (osteocytic lacunar-canalicular system, OLCS) through gap junction of their cytoplasmic processes, by which they communicate not only neighboring osteocytes but also osteoblasts or bone-lining cells on bone surface. In order to elucidate the complicated cellular network of OLCS, we have investigated the three-dimensional (3D) ultrastructure of OLCS by using Focussed Ion Beam-Scanning Electron Microscope (FIB-SEM). Murine tibiae were fixed with OsO₄ following the infiltrating into an aqueous solution of uranyl acetate (block staining) appropriate for observation under FIB-SEM. FIB-SEM, one of the most powerful microscopy for the ultrastructural 3D reconstruction of the observing objects, was operated with an assistance of Dr. Takuma Kanesaki and Dr. Kawori Tanaka (Carl Zeiss Microscopy Co., Ltd., Tokyo, Japan), removing the superficial layer of the samples by radiating ion beam, and subsequent serial scanning images. As a consequence of 3D reconstruction, osteocytes were shown to expand their stout cytoplasmic processes from the cell bodies, and then, many fine cytoplasmic processes were extended from the stout processes and ran in all direction in the assumed vertical plane parallel to the bone surface. Among these fine processes, some turned at a right angle, running perpendicularly to the bone surface. Other fine cytoplasmic processes were directly extended from the cell bodies and ran perpendicularly to the bone surfaces. Thus, there seemed to be several pathways for cytoplasmic processes of osteocytes to reach the bone surfaces. Summarizing, FIB-SEM appears to demonstrate fine ultrastructural 3D reconstruction of osteocytes and their cytoplasmic processes.

P1-21

歯肉上皮バリア機能への TRPV4 の関与
 ○木附 智子^{1,2}、合島 怜央奈^{1,3}、畠山 純子¹、
 大崎 康吉¹、張 旌旗¹、城戸 瑞穂¹
 (¹九大 院歯 分子口腔解剖、²九大 院歯 口腔
 顎顔面外科、³佐賀大 医 歯科口腔外科)

【目的】TRP (transient receptor potential) チャネルファミリーは細胞内外のセンサーとして研究が始められ、研究の進展と共に恒常性の維持や疾患との関連が注目されている。TRPV4 チャネルは 27~35℃ の温度により活性化される非選択性の陽イオンチャネルである。皮膚角化細胞において、上皮細胞間接着結合の構成タンパクである β-カテニンと TRPV4 は直接相互作用をし、皮膚バリア機能を制御することが報告されている。そこで、歯肉上皮における上皮細胞間の結合に TRPV4 がどのように関与するのかを明らかにすることとした。【実験・方法】9 週齢の野生型マウス (WT) と TRPV4 遺伝子欠損マウス (V4KO) における組織染色および TRPV4 や接着結合関連タンパクの免疫染色を行った。さらに、左側上顎第 2 臼歯に 5-0 絹糸を結紮する歯周炎モデルマウスを作製し、Micro CT 及び組織学的に比較検討した。結紮した左側を結紮側、右側を対照側とした。【結果と考察】マウスの口腔上皮、特に付着上皮 (JE) において TRPV4 が強く発現していた。また、WT の歯肉付着上皮 (JE) にて E カドヘリン・β カテニン・アクチンが細胞膜あるいは細胞膜縁に線状に発現していたが、V4KO の対照側 JE では、それらの染色強度は弱く、細胞膜上の発現は不明瞭であった。さらに結紮側 JE では WT、V4KO とともにそれらの染色強度が低下していた。また歯周炎モデルでは結紮側の歯槽骨は粗造で水平的な骨吸収がみられた。さらに V4KO では結紮側の歯槽骨では WT と比較し有意に低下していた。このことにより、TRPV4 は JE における上皮細胞間の接着・バリア機能に関与し、歯周炎の進行に関与していることが示唆された。

P1-23

HaCaT 細胞のタイト結合形成誘導による基底細胞マーカー発現の変化
 ○北河 憲雄¹、稲井 哲一朗¹
 (¹福岡大 生体構造)

表皮角化細胞は基底層にて増殖し、有棘層、顆粒層、角質層へと分化・移動する。有棘層に分化した細胞では細胞増殖が停止し、中間径フィラメントの構成がサイトケラチン (CK)5/CK14 から CK1/CK10 に変化するとともに、中間径フィラメントと連結するデスモゾームの構成蛋白も変化する。皮膚表面に近い顆粒層まで分化した細胞では、タイト結合が発現し、細胞間物質透過特性を調節するバリア及び細胞膜を頂部領域と側底部領域に区分するフェンスとして機能する。SP600125 は mitogen-activated protein kinases (MAPKs) のメンバーである JNK (c-Jun N-terminal kinase) の阻害剤であり、HaCaT 細胞にタイト結合の形成を誘導することが報告されている。今回、SP600125 刺激によるタイト結合形成を誘導した HaCaT 細胞において、細胞増殖、中間径フィラメント、デスモゾーム蛋白の発現の変化を調べた。タイト結合を形成していない HaCaT 細胞は CK5/CK17 を均一に発現し、一部の細胞は CK1/CK10 を発現していたことから基底細胞と有棘細胞の性質を持つ細胞群であると考えられた。CK10 を発現している細胞では細胞増殖と関連する Ki67 の発現が見られなかった。SP600125 刺激によりタイト結合を形成した細胞では、CK5/CK17 の発現を失い、CK1/CK10 の発現を減弱ないし消失し、デスモゾーム構成膜蛋白である desmoglein-3 の発現も減弱した。さらに、細胞増殖と関連する Ki67-index の値が半分程度に減少した。このためタイト結合を形成した細胞は細胞増殖の低下および発現する分化マーカーから判断すると、顆粒層細胞に近い細胞に分化したと考えられた。以上の結果から、SP600125 刺激によるタイト結合形成誘導は、HaCaT 細胞の分化を伴うことがわかった。

P1-22

骨修復に対する効果的なサイトカイン投与方法と血管新生とのかわり
 ○増田 智幸¹、大津 圭史²、藤原 尚樹²、
 熊上 深香²、原田 英光² (¹岩医大 歯 口腔外科、²岩医大 解剖 発生・再生)

【目的】骨再生の促進は、治療期間の短縮と治療効果の向上が期待できる。現在、骨再生に対して種々のサイトカインの有効性が示されており、より効果的な投与方法を見出すことが求められている。本研究では、骨再生におけるサイトカインの組み合わせの探索とその作用機序の解明を目的とした。【方法】マウスの頭頂骨に骨欠損を形成し、種々のサイトカイン (FGF-2, BMP-2, HGF) およびその組み合わせを徐放性ゼラチンと埋入、経時的にマイクロ CT 撮影と組織学的解析を行った。骨再生時の新生血管を評価するために、血管内皮前駆細胞が GFP 蛍光をもつ Flk1-GFP マウスを用いて同様の実験を行い、術後 3 日の Flk1-GFP 発現を観察した。さらに術後 7 日に、Flk1-GFP/Ki67 陽性細胞の発現を観察した。また、大腿骨髄より Flk1-GFP 陽性細胞を採取し、HGF 刺激による増殖効果を検討した。【結果】マイクロ CT 解析から、HGF と BMP-2 の同時投与群 (HGF/BMP-2 群) が他の投与群よりも骨再生を促進することがわかった。組織学的解析では、BMP-2 単独投与と比較して、HGF/BMP-2 群で術後 1 週から MedGel の分解吸収、細胞の侵入、新生骨の形成が進んでいた。また、術後 7 日の骨欠損部での Flk1-GFP 陽性細胞の面積、Ki67 陽性細胞の数は、BMP-2 群よりも高い値を示した。術後 3 週の骨芽細胞マーカー免疫染色により、HGF/BMP-2 群は BMP-2 群よりもその発現が有意に増加していた。さらに FLK-1-GFP 陽性培養細胞は、HGF 濃度依存的に増殖が促進されることが分かった。【考察】HGF には、血管新生作用と BMP シグナル増強効果があるため、これらの効果が相乗的に作用したことが示唆される。今後臨床応用に向け、この二つのサイトカインの組み合わせを用いた骨修復促進作用の更なる分子メカニズムの解明を行う予定である。

P1-24

口蓋粘膜上皮におけるタイトジャンクションのバリア機能
 ○塩津 範子^{1,2}、川本 忠文³、河井 まりこ²、
 池亀 美華²、鳥井 康弘¹、山本 敏男²
 (¹岡大 病院 総合歯科、²岡大 院医歯薬 口腔形態、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。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、種々の異物に対する防御機能を有すると考えられる。最近、我々は咀嚼粘膜である口蓋粘膜上皮において顆粒層上部に TJ が存在することを明らかにした。今回、口蓋粘膜上皮の細胞間物質透過性について、ビオチンをトレーサーに用い TJ のバリア機能を検討した。【方法】マウスを用い、口蓋粘膜上皮の凍結切断法 (FF) での電顕観察を行った。また、生体マウスの口蓋の粘膜固有層にトレーサーとしてビオチン液を注入し、その浸透性および TJ の指標となるオクルディン (OCD) 局在を免疫組織学的に確認した。【結果】FF では数条の TJ ストランドが観察され、これらのストランドは直線的かつ断続的に走行していた。トレーサーであるビオチンは上皮細胞の細胞間隙を通過し、角化層方向に浸透していることが認められた。ビオチンは OCD 陽性部位で停止している部分と、OCD 陽性部位を越えて浸透している部分の両方が観察された。【結論】口蓋粘膜上皮における TJ のバリア機能は形態およびトレーサー浸透性の結果から強固なものではないと推測された。共同研究者：佐々木博之教授 (帝京平成大)

P1-25

Shh シグナリングと Wnt シグナリングの相互関係が口唇の癒合に果たす役割
○黒坂 寛¹ (1 ストワーズ医学研)

Cleft lip, which results from impaired facial process growth and fusion, is one of the most common craniofacial birth defects. Many genes are known to be involved in the etiology of this disorder; however, our understanding of cleft lip pathogenesis remains incomplete. In the present study, we uncovered a role for sonic hedgehog (SHH) signaling during lip fusion. Mice carrying compound mutations in hedgehog acyltransferase (Hhat) and patched1 (Ptch1) exhibited perturbations in the SHH gradient during frontonasal development, which led to hypoplastic nasal process outgrowth, epithelial seam persistence, and cleft lip. Further investigation revealed that enhanced SHH signaling restricts canonical WNT signaling in the lambdoidal region by promoting expression of genes encoding WNT inhibitors. Moreover, reduction of canonical WNT signaling perturbed p63/interferon regulatory factor 6 (p63/IRF6) signaling, resulting in increased proliferation and decreased cell death, which was followed by persistence of the epithelial seam and cleft lip. Consistent with our results, mutations in genes that disrupt SHH and WNT signaling have been identified in both mice and humans with cleft lip. Collectively, our data illustrate that altered SHH signaling contributes to the etiology and pathogenesis of cleft lip through antagonistic interactions with other gene regulatory networks, including the canonical WNT and p63/IRF6 signaling pathways.

P1-27

HaCaT 細胞におけるタイト結合形成と Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)
○水上 正彦¹、北河 憲雄²、阿南 壽¹、
稲井 哲一朗²
(¹福歯大 歯科保存、²福歯大 生体構造)

表皮および口腔粘膜上皮は重層扁平上皮であり、表層の細胞間に形成されるタイト結合により細胞間隙がシールされ、上皮下の結合組織を外界から隔離するバリアとして機能している。今回、ヒト角化重層扁平上皮細胞株である HaCaT 細胞の二次元培養を使って、ケラチノサイトでのタイト結合形成過程における Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) の働きを調べた。MAPK は、増殖刺激、物理化学的ストレス、炎症性サイトカインなどの外界刺激を受けて活性化されるセリン/スレオニンキナーゼであり、細胞増殖・分化、遺伝子発現、アポトーシス、癌などと関連すると言われている。MAPK のうちで、特に JNK (c-Jun N-terminal kinase) と p38 に注目して研究を行った。HaCaT 細胞を、SP600125 (JNK の阻害剤)、SB202190 (p38 の阻害剤)、anisomycin (JNK と p38 の活性化剤) の種々の組み合わせで 8 時間処理してタイト結合裏打ち蛋白である ZO-1 の局在を調べると、JNK の抑制、p38 の抑制、JNK と p38 の両者の抑制で ZO-1 が細胞接着部位に濃縮した。また、JNK と p38 の同時活性化、p38 の活性化でも ZO-1 が細胞接着部位に濃縮した。しかし、ZO-1 の濃縮のパターンはそれぞれ違いが認められ、細い線状 (太さは均一)、太い線状 (太さは不均一)、ジッパー状の 3 種のパターンがあることが分かった。さらに、薬剤で 24 時間処理をすると SP600125 では ZO-1 が細胞接着部位に濃縮したが、SB202190 および anisomycin では ZO-1 の細胞接着部位への濃縮は顕著に減少した。以上の結果から、HaCaT 細胞におけるタイト結合の形成は、JNK および p38 の抑制または活性化時間に依存し、ZO-1 の細胞接着部位への濃縮のパターンも異なることがわかった。

P1-26

小後頭直筋と下頭斜筋の筋線維特性について
○山内 真人¹、北村 啓¹、山本 将仁¹、
阿部 伸一¹ (1 東歯大 解剖)

【目的】後頭下筋群は頭部と頸椎の連結を担う小筋群で、大後頭直筋、小後頭直筋、上頭斜筋および下頭斜筋がこれに属す。この中で小後頭直筋は、環椎の後結節から下項線の内側下方で後頭骨に付着し、下頭斜筋は軸椎棘突起から環椎横突起に付着している。また付着部位より、下頭斜筋は回旋に大きく影響し、小後頭直筋は持続的に頭部の伸展に作用しているとの報告がある。これまで後頭下筋群については、付着形態の肉眼的ならびに組織学的観察から機能を推察しているが、それぞれの筋線維特性を明らかにした報告はみられない。そこで今回は、小後頭直筋と下頭斜筋に焦点を当て、それぞれの筋線維特性についての検討を試みた。【方法】観察材料は、東歯大解剖学講座所蔵の不固定新鮮遺体 1 体 2 側を用いた。後頭下筋群を剖出し、それらの走行を肉眼的に観察した。また、これらの筋を採取し、8 μm の凍結切片を作製した。ミオシン重鎖のアイソフォームについて検索するため、抗 myosin heavy chain fast (MHCf) 抗体、抗 myosin heavy chain slow (MHCs) 抗体を用い、免疫組織化学的染色をおこなった。さらに、各々の筋の、速筋線維、中間型線維、遅筋線維の割合について検索した。【結果および考察】小後頭直筋は、速筋線維が少なく、遅筋線維が多く認められた。一方、下頭斜筋は、速筋線維が多く、遅筋線維が少なく認められた。これまで遅筋線維は、収縮速度は遅いが持久性に優れ、速筋線維は、収縮速度は速いが疲労しやすいと報告されている。したがって、小後頭直筋に遅筋線維が多いことは、持続的に頭部を伸展させるという機能の裏付けとなった。また、下頭斜筋に速筋線維が多いことは、頭部を素早く回旋させる機能の裏付けとなった。

P1-28

乳歯歯髄幹細胞の胚臓分化における硫化水素の影響
○岡田 実緒¹、八重垣 健¹、今井 敏夫¹
(¹日歯大 院生命歯 衛生)

Adult stem cells are hugely safer for the practice of regenerative medicine than ES cells or iPS cells, because they have much less potential to produce malignant tumors or teratoma and never involve ethical problem. Hydrogen sulfide (H₂S), which works in several physiological processes, increases hepatic differentiation from human deciduous tooth pulp stem cells (hDTPSC). The present study assessed the differentiation of hDTPSC towards pancreatic lineages, and the effect of H₂S on the differentiation. The cells were isolated from deciduous tooth pulp and were grown in DMEM supplemented with 10% FBS. CD117⁺ cells were magnetically separated, and were subjected to differentiation protocol. Expression of a panel of pancreatic related transcription factors, Wnt/ beta catenin signaling pathway, and PI3K-Akt signaling pathway were determined with RT-PCR. Immunocytochemistry and flow cytometry of pancreatic related markers were carried out after the differentiation. Concentration of secreted insulin and c-peptide was determined with ELISA. During the differentiation the cultures were exposed to 0.1 ng/mL air of H₂S. The cells non-exposed to hydrogen sulfide were used as control. Insulin, glucagon, somatostatin, and pancreatic polypeptide were positive by immunofluorescence and flow-cytometry after differentiation. H₂S increased the expression of insulin. Wnt and PI3K-Akt signaling pathways were activated by H₂S. The concentrations of insulin and c-peptide in H₂S sample were increased compared with control. Conclusions: CD117⁺ fractions of hDTPSC are capable to regenerate of pancreatic cells, and the differentiation of pancreatic cells was increased by H₂S. Low concentration of H₂S differentiates the cells properly. Our method of pancreatic differentiation may lead to development of personalized regenerative or reverse aging medicine of pancreas.

P1-29

オキシタラン線維形成における菌原性上皮細胞の関与

○吉良 迪子^{1,2}、板家 智¹、尾崎 正雄¹、
岡 暁子¹、沢 禎彦²
(¹福歯大 成育小児歯、²福歯大 機能構造)

[目的]我々は、歯根膜組織に特徴的に存在するオキシタラン線維の主要構成成分である Fibrillin 蛋白に着目し、マウス臼歯を用いて歯の発生期での局在を観察してきた。今回、ヒト歯根膜組織を用いて Fibrillin 発現を観察し、さらに、菌原性上皮細胞培養を用いて、オキシタラン線維形成における上皮細胞の関与について検討した。[対象と方法]ヒト歯根膜組織の観察；下顎第一小臼歯、上顎乳犬歯の歯根を、無固定、非脱灰にて包埋し、フィルム切片法にて凍結切片を作成。免疫組織化学染色法にて Fibrillin-1、Fibrillin-2、Cytokeratin14 の発現を観察した。マウス菌原性上皮細胞における観察；HERS cell line、HERS01a 細胞を用いて、Fibrillin-1、-2 の遺伝子発現量を Real-time PCR にて解析した。2% B-27 Supplement+DMEM/HAM F12 を基本培地として、FGF (100 µg/ml)+EGF (0.2 µl/µl) 添加、10% FBS 添加、TGFβ-3 (5 ng/ml) を添加した 3 種の培地にて比較検討を行った。[結果]ヒト歯根膜組織において、Fibrillin-1、-2 は歯根に平行に走行する線維として発現していた。両蛋白が一致する部分は、より太い線維として観察された。興味深い事に、マラッセ上皮遺残体の周囲には、Fibrillin-2 の発現を認めた。HERS01a 細胞では、基本培地では Fibrillin-1、-2 の発現を認めなかったのに対し、FBS 含有培地では Fibrillin-2 の発現が誘導され、さらに TGFβ-3 含有培地では Fibrillin-1、-2 共に発現が誘導されていた。[考察]本研究にて、HERS を含む菌原性上皮細胞は、分化過程の環境の変化によって Fibrillin を発現するようになり、オキシタラン線維形成及びその維持を担っている事が示唆された。

P1-31

転写抑制因子 Trps1 の関節軟骨発現制御エンハンサーの探索

○竹内 優斗^{1,2}、阿部 真士¹、藤川 順司^{1,3}、
脇坂 聡¹、山城 隆²
(¹阪大 院歯 口腔解剖一、²阪大 院歯 顎顔面
口腔矯正、³阪大 歯病院 障害者歯科)

細く粗な毛髪、鼻翼形成による西洋梨状の鼻、短指趾症、低身長などを特徴とする Trichorhinophalangeal Syndrome (TRPS：毛髪鼻指節骨症候群)では、約 8 割の患者に転写抑制因子である TRPS1 遺伝子の変異が同定されている。TRPS の患者の中には著しい低身長、若年での頭髪の欠損・関節異常の出現など、重篤な表現型を呈する場合も報告されている。TRPS 様の症状があるにも関わらず、TRPS1 遺伝子の変異が認められない約 2 割の患者があり、この場合は TRPS1 の発現制御の過程で異常が起こっている可能性が考えられる。TRPS の発症頻度は非常に低く、発症メカニズムは不明な点も多く、これらを詳細に解明することはこの難病への対応に必須である。今回我々はマウス Trps1 遺伝子座の周囲で、ヒトのゲノム配列と相同性が高い領域を用いて個体レベルでの転写活性を調べた。Trps1 遺伝子転写開始部位上流 4 kb の遺伝子断片の下流に Cre リコンビナーゼを配置したコンストラクトにより 5 ラインのトランスジェニックマウス (Trps1-Cre) を確立した。これらのマウスを Cre レポーターマウスとの交配により Cre を発現している (もしくは、した) 細胞を可視化した。その結果、異なるラインによる発現の強弱はあるものの、いずれのラインにおいても関節表層の軟骨などきわめて限局した部位に染色が認められ、Trps1 発現の関節軟骨エンハンサーを含むことが示唆された。この 4 kb 遺伝子配列中で発現のために何らかの作用を持つ部位同定を目的とし、複数の欠失断片を製作し、培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、使用したいずれの細胞においても転写開始部位上流 0.1~0.7 kb に発現に必須の配列が含まれることが示唆された。今回我々が見出した Trps1 発現のエンハンサー活性は VISTA Enhancer DB に示されている TRPS1 遺伝子内断片の持つ活性と大きく異なり、Trps1 発現の新規の制御配列であると考えられた。

P1-30

ミノドロン酸の同位体顕微鏡を用いた骨組織分布の観察と骨の細胞群に対する影響

○佐々木 宗輝^{1,2}、本郷 裕美²、小林 幸雄³、
坂本 尚義³、網塚 憲生² (¹長大 院医歯薬 口
腔インプラント、²北大 院歯 硬組織発生生物、
³北大 創成科学研 IIL3)

Minodronate, a third generation of bisphosphonate developed in Japan, has been recently highlighted for its high effects for the osteoporotic treatment, due to a sustained effect, at least, for one month. In this study, we have examined the localization of 15N-labeled minodronate (15N-minodronate) in murine bone by means of isotope microscopy, and also, histochemically investigated its biological effects to bone cells in mice. Eight-week old ICR male mice were injected with 15N-minodronate via the external jugular vein. Mice were fixed after the injection at 3 hrs, 24 hrs, 1 week and 1 month. Epoxy resin-embedded specimens were examined under the isotope microscopy and transmission electron microscope (TEM), while paraffin sections were used for detecting activities of alkaline phosphatase (ALP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). Isotope microscope demonstrated 15N-minodronate localized mainly onto bone surface beneath osteoblasts (bone forming surface), while alendronate has been reported to accumulate onto bone surface underlying osteoclasts (bone resorption surface). Thus, minodronate does not appear to directly target bone-resorbing osteoclasts. At 3 hrs after the minodronate administration, osteoclasts had well-developed ruffled borders. At 24 hrs after the minodronate administration, there were many osteoclasts on the bone surface. However, the treated osteoclasts attached partially to bone surfaces with their cell bodies, and did not form the ruffled border. Von Kossa staining and TEM observations demonstrated that, unlike intact osteoclasts, the osteoclasts treated with minodronate did not incorporate mineralized bone matrix. These findings indicate the possibility that minodronate tend to accumulate to the bone surface underneath osteoblasts, rather than bone resorbing surface underlying osteoclasts, and consequently, osteoclasts do not eat the bone matrices rich in minodronate. Osteoblasts neighboring the minodronate-treated osteoclasts were plump in shape, and looked as an active form of osteoblasts synthesizing bone matrices. Summarizing, it seems likely that minodronate is incorporated in the bone matrix beneath osteoblasts but not adjacent to bone-resorbing osteoclasts, and the bone matrix including minodronate would not be subjected to osteoclastic bone resorption for a long time.

P1-32

歯槽骨再生を目的とするエレクトロポレーションを用いた歯周組織への遺伝子導入

○片岡 陽平^{1,2}、河井 まりこ¹、塩津 範子^{1,3}、
池亀 美華¹、飯田 征二²、山本 敏男¹
(¹岡大 院医歯薬 口腔形態、²岡大 院医歯薬
顎口腔顔面再建外科、³岡大 病院 総合歯科)

Introduction: Alveolar bone defects are generally reconstructed by bone grafts or artificial bone grafts. We aim to develop non-surgical methods for alveolar bone regeneration therapy, and previously we constructed gene transfer system using in vivo electroporation and succeeded to induce bone in the muscles by bone morphogenetic protein (BMP) gene transfer. In the present study, we applied to apply our gene transfer system on periodontal tissues for alveolar bone regeneration. Material and Methods: We injected GFP, lacZ or BMP gene expression vectors to periodontal tissues in the palatal region of 9 weeks male wistar rats and immediately electroporated. For histological analyses, we made time course samples and HE staining and immunohistochemical staining. To investigate how the gene transfer to periodontal tissues affects bone remodeling, we performed double bone staining using calcein and tetracycline. Results: One day after gene transfer to periodontal tissues, abundant inflammatory cells appeared. But, seven days after gene transfer, no differences was observed comparing with control side. Double bone staining also did not show any differences between gene transferred tissue and control site for 7 days. On the other hand, 21 days after BMP gene transfer, we found new bone like tissue was added on the alveolar bone. Conclusions: We succeeded to gene transfer to the periodontal tissues of rats safely and efficiently. And, we found new bone like tissue in the BMP gene transferred periodontal tissues. Therefore, our results make it possible to develop a new non-surgical therapy for alveolar bone regeneration.

P1-33

抜歯即時埋入後早期咬合負荷を与えたチタンインプラント周囲骨組織の組織学的検索
 ○池田 欣希^{1,2}、長谷川 智香²、織田 公光³、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、³新大 院歯 口腔生化学)

In clinics, it is often seen that after the tooth extraction, dental implants are immediately inserted to the sockets, and then, applied with the optimal occlusal force expecting the early establishment for osseointegration. However, the cellular activities of bone tissue around the dental implants, which bear occlusal force immediately after the implantation, are still veiled. In this study, we have attempted to evaluate the biological effects on bone tissues around the titanium dental implants with early or immediate loading of occlusal force. First left molars in maxillae of four-week-old male Wistar rats were extracted, and then, titanium screws were immediately inserted into the sockets. In the experimental group, after the implantation, occlusal loading was given at 1 or 2 weeks by adding adhesive resin on the top of screw. In control group, no adhesive resin was added to the implants, giving less occlusal force to them. At 1 week after occlusal loading, rats were fixed with 4% paraformaldehyde solution under appropriate anesthesia prior to embedding into paraffin, and then, immunohistochemical detection for alkaline phosphatase (ALPase), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAPase), osteopontin and osteocalcin were examined. As a consequence, the newly formed bones directly contacted the most surfaces of the implants were found in both the control and experimental groups. However, the experimental group developed thicker trabeculae between the threads of titanium screw compared to those in the control groups. There were less numbers of TRAPase-positive osteoclasts and ALPase-reactive osteoblasts in bone between the threads of the experimental group, than those of the control group. Osteopontin- and osteocalcin-positive cement lines, histological hallmarks of bone remodeling, were observed as narrow and smooth lines in the experimental group, whereas they featured a complex meshwork with serrated lines in the control group. Taken together, the early occlusal loading appears to lessen the activities of bone remodeling, increasing the trabecular thickness in this rat model.

P1-35

矯正治療に伴う疼痛に対する動物モデルの薬理学的評価
 ○佐々木 会¹、長谷川 尚哉¹、坂上 宏²、天野 修³、安達 一典²、須田 直人¹
 (¹明海大 歯 矯正、²明海大 歯 薬理、³明海大 歯 解剖)

【目的】 昨年の本学会で、我々は、歯の移動に伴う侵害受容機構や口腔内組織変性を定量評価可能なモデルを作製し報告した。今回、本モデルの有効性を鎮痛薬投与で検討した。【材料および方法】 Wistar 系雄性ラットの上顎側切歯と右側第一臼歯(M1)間にコイルスプリングを装着し 50g の矯正力を負荷し、アスピリン (100 mg/kg) または溶媒を 8 時間間隔で投与 (i.p.) した。装置装着 1, 3, 7 日後 (各々 D1, D3, D7 と表記) に全身麻酔下で咀嚼筋電図電極と刺激電極 (両側 M1 歯頸部) を留置し、M1 歯頸部刺激誘発開口反射閾値を左右で測定した。実験終了後、歯周組織と三叉神経節を摘出し、TRAP 染色と GFAP 染色で多核破骨細胞浸潤とサテライトグリア細胞 (SGC) 活性を観察した。【結果】 溶媒投与群では、右側開口反射誘発閾値が左側に比較して、D1 で有意に低下し、D3 で同程度になり、D7 で逆に上昇した。TRAP 陽性多核破骨細胞は、D1 では観察されず、D3-D7 間で増加した。右側開口反射誘発閾値低下は、両側三叉神経節の SGC 活性を伴った。アスピリン投与群では、溶媒投与群で開口反射閾値の低下した D1 における右側開口反射誘発閾値が左側より上昇した。【考察】 右側開口反射閾値の経日的変化や抗炎症薬による開口反射誘発閾値の上昇などは、歯の移動に伴う臨床症状や所見と類似し、本モデルの constructive validity と predictive validity が示された。更に、片側に負荷した矯正力により両側三叉神経節の SGC 活性が亢進され、感覚異常が両側性に惹起されている可能性が示唆された。【結論】 臨床的な歯の移動に伴う疼痛を再現した本モデルは、抗炎症薬の効果が左側と比較して右側の開口反射閾値を上昇させたことから、矯正治療に影響を与えない鎮痛薬の探索ならびに強度測定にも有効である。

P1-34

ヒト抜去歯由来幹細胞の採取組織と分離法に関する再生医療学的検討
 ○大浜 令^{1,2}、田巻 友一²、須田 直人¹、中原 貴² (¹明海大 歯 歯科矯正、²日歯大 生命歯 発生・再生医科)

【緒言】 抜去歯由来幹細胞の分離には、酵素処理による方法 (酵素法: EZ) と採取組織を静置培養する方法 (outgrowth 法: OG) が広く用いられている。本研究は、ヒト抜去歯から上記 2 種類の分離法により得た歯小囊および歯根膜由来幹細胞の特性を比較解析した。
 【試料および方法】 健康な 15~29 歳男女の智歯の根完成歯、未完成歯から各々歯根膜と歯小囊を採取した。EZ と OG により歯小囊細胞 (DF) および歯根膜細胞 (PDL) を分離し、各々 DF-EZ 群、DF-OG 群、PDL-EZ 群、PDL-OG 群とした。EZ では collagenase/dispase 溶液による酵素処理後 10-cm dish に 1×10⁵個を播種し、OG では各組織片を静置培養し細胞を分離した。15% FBS 含有 DMEM/F12 培地で培養し、継代数 3~4 で実験に供した。各群について、*in vitro* では増殖能、表面抗原、遺伝子発現、多分化能を検討した。*in vivo* では各細胞を免疫不全マウスへ移植し、硬組織形成を組織学的に観察した。
 【結果】 DF 群は PDL 群よりも有意に高い細胞増殖能を認め、EZ 群と OG 群間に差はなかった。表面抗原解析では、全群で間葉系幹細胞マーカーの発現を認め、血管内皮接着因子と pericyte マーカーの発現率は DF 群、PDL 群共に、OG 群と比べて EZ 群で高かった。遺伝子発現解析では、全群で骨関連遺伝子と未分化維持関連遺伝子の発現をみた。歯根膜関連遺伝子とセメント質関連遺伝子の発現は PDL 群で高かった。各分化誘導により、全群で組織特異的染色に陽性を示した。特に骨分化誘導においては DF 群、脂肪分化誘導においては EZ 群で、各々石灰化物和脂肪小滴の形成量が多かった。免疫不全マウスへの移植の結果、全群で移植細胞に由来する硬組織様構造物の形成が観察された。
 【考察】 分離法に関わらず、DF 群は PDL 群と比較して高い増殖能を有し、未分化な細胞が多く存在すると考えられた。EZ 群は pericyte 様の表現型を持ち、PDL 群はセメント質形成への関与が示唆された。

P1-36

ラット舌癌モデルにおけるエンドセリンの初期癌性疼痛抑制機構
 ○古川 明彦¹、篠田 雅路²、本田 訓也²、岩田 幸一²
 (¹日大 歯 口腔外科、²日大 歯 生理)

舌の癌性疼痛は癌の進展とともに増悪する。しかし、舌癌発症早期においてはほとんど疼痛がないことが臨床的に知られているが、そのメカニズムについてはほとんどわかっていない。今回われわれは、初期舌癌の末梢性疼痛抑制に対するエンドセリンの役割について検討した。ラット由来扁平上皮癌細胞 (SCC) を舌に接種した舌癌モデルラットを作成し、腫瘍の組織学的変化を観察した。浅麻酔下にて癌接種部に機械および熱刺激を与え、経時的に逃避反射閾値を計測した。さらに、SCC 接種群において舌へ endothelin A (ET-A) receptor antagonist または μ -opioid receptor antagonist の持続的投与を行い、逃避反射閾値の変化を解析した。SCC 接種後経時的に腫瘍の増大を認め、舌への熱刺激に対する逃避反射閾値に変化はみられなかった。SCC 接種後 8 日目において舌への機械刺激に対する逃避反射閾値に変化はみられなかったが、11 日目以降逃避反射閾値が有意に低下した。一方、SCC 接種後 6 日目において、ET-A receptor antagonist または μ -opioid receptor antagonist の持続的投与により、逃避反射閾値が有意に低下した。以上の結果より、舌癌の初期癌性疼痛の抑制には ET-A receptor または μ -opioid receptor を介したシグナルの関与が示唆された。

P1-37

グルタミン酸による象牙芽細胞-象牙芽細胞間シグナル伝達
 ○西山 明宏¹、佐藤 正樹²、木村 麻記²、田崎 雅和²、片倉 朗²、澁川 義幸² (¹東歯大オーラルメディスン・口腔外科、²東歯大 生理)

エナメル質欠損、歯肉退縮により露出した象牙質への温度・圧力・酸塩基等の刺激は象牙細管内液の移動を誘発し象牙質痛を誘発する。これらの刺激は象牙芽細胞が発現している transient receptor potential (TRP) チャネルによって受容される。しかし TRP チャネルの活性化による細胞内シグナルと、それによる隣接細胞への細胞間情報伝達機構については不明な点が多い。近年、象牙芽細胞にグルタミン酸受容体 (GluR) の発現が報告されており、象牙芽細胞間の情報伝達にグルタミン酸が関与している可能性が示唆されている。そこでグルタミン酸による象牙芽細胞間の情報伝達系を明らかにした。マウス由来象牙芽細胞系細胞 (mouse odontoblast lineage cells, OLC) を用いて、単一細胞に微小ガラス管電極で機械刺激を加え、この刺激 OLC と近傍 OLC の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変化を解析した。GluR 刺激及び阻害には GluR 選択的アゴニスト・アンタゴニストを用いた。また各 GluR の mRNA 発現を real time RT-PCR 法で評価した。単一機械刺激を加えると刺激象牙芽細胞のみならず近傍象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ も増加した。GluR 選択的アンタゴニストを投与すると、近傍象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加減少したが、刺激細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加は影響を受けなかった。また象牙芽細胞は NMDA 受容体、代謝調節型 GluR (Group I, Group II, Group III) の mRNA を発現し、これらのアゴニストは $[Ca^{2+}]_i$ を増加させた。機械刺激を受容した象牙芽細胞はグルタミン酸を放出し、細胞間シグナル伝達を確立することが明らかとなった。反応性象牙質形成及び感覚の制御に関与していると示唆された。

P1-39

二日酔いでの口渇感にはアセトアルデヒド誘発-レニン・アンジオテンシン系の活性化により起こる
 ○氏原 泉^{1,2}、人見 涼露¹、小野 堅太郎¹、柿木 保明²、稲永 清敏¹
 (¹九歯大 生理、²九歯大 老年障害)

二日酔い時には、吐き気や嘔吐などの症状に加え、強力な喉の渇きが生じることがある。一般的には、エタノールがバソプレ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、エタノールの代謝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性ラットを用いた。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。アルデヒド脱水素酵素阻害剤のシアナミドとの併用投与により、摂取量は増大した。また、シアナミド前投与後、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。水および食塩水摂取量の増加は、アンジオテンシン AT1 受容体拮抗剤の皮下および脳室内投与により減弱した。さらに、アセトアルデヒド投与後、血漿レニン活性が増加した。アセトアルデヒドにより血圧は低下した。一方、血漿浸透圧や尿量は、コントロールと比較変化はみとめられなかった。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、アセトアルデヒド投与により口渇中枢における神経活動が増加し、神経活動の増加は AT1 受容体拮抗剤の脳室内投与により抑制された。これらのことから、二日酔い時には、アセトアルデヒドによりレニン・アンジオテンシン系が活性化され、喉の渇きを誘発している可能性が考えられた。

P1-38

Merkel 細胞は機械刺激を受容し神経伝達を行う
 ○東川 明日香¹、小島 佑貴¹、木村 麻記¹、佐藤 正樹¹、小倉 一宏¹、望月 浩幸¹、澁川 義幸¹、田崎 雅和¹ (¹東歯大 生理)

口腔粘膜上皮で圧受容に関与しているメルケル細胞 (MC) は、自由神経終末と複合体を形成している。しかし、その圧受容と神経伝達のメカニズムについては明らかにされていない。近年、MC における圧受容メカニズムに transient receptor potential (TRP)-V1、-V2、-V4、-A1 チャネルが関与していることが報告された。しかし、MC-ニューロン間の神経伝達様式については解明されぬまま残されている。そこで、MC と三叉神経節 (TG) ニューロンの共培養系を作製し、MC への直接機械刺激による応答を記録した。ゴールデンハムスター (4 週齢) に、MC マーカーのキナクリンを腹腔内投与し、頬粘膜触小体に存在する MC を急性単離した。TG ニューロンは、ウイスターラット (6-9 日齢) から単離し初代培養を行った。単離 MC と TG ニューロンの細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 変化を計測した。細胞外 Ca^{2+} 存在下で MC に直接機械刺激を与えると $[Ca^{2+}]_i$ は増加した。この増加は、TRPV1、V2、V4、A1 チャネルアンタゴニストで有意に抑制された。MC と TG ニューロンの共培養系で、キナクリン陽性細胞に直接機械刺激を加えると、周囲に存在している大きな直径を有する TG ニューロンにも $[Ca^{2+}]_i$ 増加が観察された。MC は機械刺激を受容すると、拡散可能な伝達物質を放出し、ニューロンとの神経伝達を確立する事が示唆された。

P1-40

ラットにおける口内炎誘発疼痛に対する 5-fluorouracil の影響
 ○山口 喜一郎¹、人見 涼露¹、小野 堅太郎¹、原野 望^{1,2}、左合 徹平^{1,2}、稲永 清敏¹
 (¹九歯大 生理、²九歯大 侵襲制御)

抗がん剤治療の際に副作用として口内炎が発症し、接触により重篤な痛みが引き起こされることから食事ができず、ひどい場合には抗がん剤治療を中断する場合もある。本研究では、抗がん剤による口内炎誘発疼痛への影響を調べるために、7-8 週齢の雄性 Wistar ラットにあらかじめ抗がん剤を投与し、口内炎を作製した後の誘発性疼痛について評価した。抗がん剤としては、副作用として口内炎を頻発することで知られている 5-fluorouracil (5-FU, 40 mg/ml/kg, 隔日 3 回投与) を用いた。口内炎の作製は、ペントバルビタール (50 mg/kg, 腹腔内投与) 麻酔下にて 50% 酢酸に浸したる紙 (9 mm²) を下唇粘膜に 30 秒間留置することで行った。5-FU 前投与にて白血球数は有意に減少し、口内炎作製による白血球数の増加がみられなかった。肉眼的評価法における口内炎部位の炎症程度は、5-FU 投与群では有意に増悪しており、コントロール群では酢酸処理後 5 日目には治癒するものの、5-FU 投与群では依然口内炎の所見がみられた。酢酸処理後 2 日目において、口腔顔面領域の疼痛指標である顔面グルーミング時間を下唇粘膜部位へのカプサイシン溶液の滴下後に測定した。5-FU 投与群は、カプサイシン誘発性顔面グルーミング時間がコントロール群より有意に延長していた。さらに下唇粘膜部への機械刺激に対する逃避閾値を計測した。2 日目において、コントロール群と 5-FU 群では共に同程度の機械閾値の低下を示したが、5-FU 群は 4 日目でも口内炎による機械閾値の低下を示していた。これらの結果から 5-FU によって口内炎が増悪し、治癒が遅延することで、化学及び機械刺激による疼痛感受性が亢進することが示唆された。

P1-41

末梢の代謝型グルタミン酸受容体活性化により誘発される熱および機械痛覚過敏に対する TRP channel の関与

○本田 訓^{1,2}、篠田 雅路¹、古川 明彦²、岩田 幸一¹

(¹日大 歯 生理、²日大 歯 口腔外科)

Background and aims: Peripheral tissue inflammation or injury causes glutamate release from keratinocytes or Schwann cells, resulting in thermal hyperalgesia. We have reported that peripheral glutamate injection induces heat and cold hyperalgesia in the injection site. However, it is still not understood the mechanisms underlying hyperalgesia following peripheral glutamate injection. The aim is to clarify the involvement of peripheral transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1), TRP vanilloid 1 (TRPV1) and protein kinase C epsilon (PKC epsilon) in glutamate-induced thermal and mechanical hyperalgesia. **Methods:** We analyzed nocifensive behaviors to heat, cold and mechanical stimulation following metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) antagonist MPEP, TRPA1 antagonist HC-030031, TRPV1 antagonist SB366791 or PKC epsilon translocation inhibitor administration 1 week after continuous subcutaneous injection of glutamate into the facial skin. Next, we examined the expression of TRPA1- and mGluR5-immunoreactive (IR) and TRPV1- and mGluR5-IR trigeminal ganglion (TG) neurons innervated to facial skin. Moreover, we performed a neuronal recording from the TG neurons following glutamate injection into the facial skin. **Results:** Head-withdrawal threshold to cold, heat and mechanical stimulation 1 week after continuous glutamate injection into the facial skin were significantly decreased compared to vehicle-injected rats, and the decreased head-withdrawal threshold was significantly recovered by MPEP, HC-030031, SB366791 or PKC epsilon translocation inhibitor administration. TRPA1- and mGluR5-IR neurons and TRPV1- and mGluR5-IR neurons were observed in the TG. Neuronal activity in TG neurons was significantly increased following glutamate treatment. **Conclusions:** Present findings suggest that TRPA1 or TRPV1 activation through mGluR5 signaling via PKC epsilon is involved in facial thermal and mechanical hyperalgesia.

P1-42

口腔内外における切開処置後の温熱および機械痛覚過敏に対する TRPV1 と TRPA1 の関与

○浦田 健太郎¹、篠田 雅路²、岩田 幸一²
(¹日大 歯 歯科補綴 I、²日大 歯 生理)

The wearing of removable denture often causes oral mucosal injury. It is well known that the mucosal injury causes severe persistent intra-oral pain, which many patients suffer from. Previous studies have reported that transient receptor potential (TRP) channels are responsible for changes in pain perception following tissue injury. On the other hand, the involvement of TRP channels in persistent intra oral pain remains unclear. In this study, we determined if TRPV1, TRPV2 and/or TRPA1 was involved in altered mechanical and thermal sensitivity in the buccal mucosa or whisker pad skin following each tissue incision. Buccal mucosa or whisker pad skin incision was performed and the head-withdrawal reflex threshold (HWT) to mechanical or thermal stimulation of the buccal mucosa or whisker pad skin was measured in rats. On day 3 after each tissue incision, the expression of TRPV1, TRPV2 and TRPA1 in trigeminal ganglion (TG) neurons innervating the buccal mucosa or whisker pad skin and the effect of local administration of TRPV1, TRPV2 and TRPA1 antagonist on mechanical, heat or cool HWTs were examined. The HWTs to mechanical, heat or cool stimulation of the buccal mucosa or whisker pad skin significantly decreased and the number of TRPV1, TRPV2 and TRPA1-immunoreactive TG neurons innervating the buccal mucosa or whisker pad skin significantly increased on day 3 after each tissue incision. Local administration of TRPV2 antagonist significantly depressed the decrease of HWT to mechanical or heat stimulation. However, TRPV1 antagonist administration significantly depressed the decrease of HWT to heat but not mechanical stimulation of the buccal mucosa, and the decrease of HWT to heat and mechanical stimulation of whisker pad skin. Furthermore, TRPA1 antagonist administration significantly depressed the decrease of HWT to cool or mechanical stimulation. These findings suggest that the involvement of TRP channels in TG neurons in hyperalgesia associated with oral mucosa incision is different from that caused by facial skin incision.

P1-43

粉末食長期飼育はマウス糖代謝機構を障害し社会性行動の変化をもたらす

○千葉 航^{1,3}、土谷 昌広²、渡邊 誠¹、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 口腔診断、³東北大 院歯 口腔分子制御)

【背景・目的】食習慣の問題が将来的な生活習慣病の発症因子となることが報告されているが、そのメカニズムは不明である。食後血糖値はインスリンなどのホルモンで制御されるが、食習慣の悪化（軟食化など）が糖代謝に及ぼす影響は明らかではない。本研究では粉末食長期飼育がマウスの糖代謝と行動に与える効果を検討した。**【方法】**Balb/c マウス（3 週齢）に固形食（Pellet 群）または粉末食（Powder 群）を与え、長期飼育（20 週齢迄）した。各群について、血糖値動態、血中インスリン、カテコールアミン量、血圧を測定した。また、社会性行動の変化も検討し、2 型糖尿病治療薬リラグルチド（200 μg/kg）投与による血糖値改善の効果についても検討した。**【結果と考察】**Powder 群で平常血糖値の有意な上昇、血中インスリンレベルの低下、血中カテコールアミン量の上昇が確認された。また、これらの変化に一致して、拡張期血圧が上昇し、社会性行動が亢進した。これらの結果は、食生活の問題が糖代謝に影響し、血糖値と血圧を高め、生活習慣病をもたらす可能性を示唆する。リラグルチド投与は平常血糖値を改善し、Powder 群での社会性行動異常も改善した。粉末食は消化吸収が早く、食後血糖値の容易な上昇と空腹時血糖値の低下をもたらすことも示された。以上の結果は、食生活の慢性的な悪化が内分泌系を介して全身的な代謝機構を障害し、日常的な血糖・血圧の上昇をもたらすことを示唆する。加えて、食生活に起因した血糖値の問題は、血圧や精神状態と関連した社会性行動にまで影響する可能性も示された。適切な食生活を支える咀嚼機能の維持が生活習慣病の予防に重要であると思われる。

P1-44

唾液腺における V-ATPase の役割

○堀江 沙和^{1,2}、中西-松井 真弓³、佐原 資謙²
(¹岩医大 歯 歯科総合研 腫瘍生物、²岩医大 歯 病態生理、³岩医大 歯 機能生化学)

V-ATPase は、リソソーム、ゴルジ体、シナプス小胞などの細胞内膜に存在し、オルガネラの酸性化に関与するものとして、細胞膜に存在し、細胞外の酸性化に関与するものが知られている。V-ATPase は 13 のサブユニットがあり、組織・オルガネラ特異的なアイソフォームが存在する。これまで各大唾液腺の導管に局在して V-ATPase が局在している事を報告した。そこで本研究では、まず V-ATPase の B2 サブユニット・アイソフォームの細胞内局在を超解像度顕微鏡を用いて解析した。耳下腺では、線条部導管の導管細胞頂部細胞膜および細胞質底部に強い免疫蛍光が見られた。耳下腺の線条部導管以外の導管や、舌下腺や顎下腺の導管では、導管細胞の細胞質底部に局在が見られた。また、いずれの唾液腺においても、ライソソームのマーカーである Lamp1 との 2 重染色を行ったが、B2 と Lamp1 の局在は一致しなかった。さらに、V-ATPase の機能を調べる為に、a3 サブユニット・アイソフォームのノックアウト (a3-KO) マウスを用いた解析を行った。a3-KO マウスは唾液の分泌量が非常に少ないと、唾液の pH が原唾液に近くなっていた。さらに Pilocarpine 刺激による唾液分泌量が、a3-KO マウスで有意に減少していたが、isoproterenol 刺激時にはワイルドタイプマウスと a3-KO マウスではほとんど差が認められなかった。これらの結果より、唾液腺における V-ATPase は、導管頂部とライソソーム以外の細胞質基底側に局在し、未知の機構により、唾液の pH 調整や吸収に関与していると考えられる。

P1-45

新生仔ラット大腸筋層間神経叢における Nav1.9 ナトリウムチャンネルと transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) の共存
 ○田宮 旬子¹、井出 良治¹、高橋 誠之¹、佐伯 周子¹ (¹日歯大 生命歯 生理)

【目的】電位依存性ナトリウムチャンネルの中でテトロドトキシン非感受性のチャンネルの一つである Nav1.9 と transient receptor potential (TRP) チャンネルの一つである transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) は、ともに内臓感覚と運動に影響することが示唆されている。そこで今回我々は、新生仔ラットの大腸筋層間神経叢を対象に whole-mount preparation と免疫組織化学的手法を用いて、Nav1.9 と TRPA1 チャンネルが同一のニューロンに発現するか否かを調べた。【方法】深麻酔した乳幼仔ラット (生後 1-3 日齢、出生日 0 日齢) から大腸 (盲腸と肛門部を除く) を摘出し、whole-mount preparation を作製して抗 Nav1.9 と抗 TRPA1 抗体による二重染色を免疫組織化学的手法により行った。平行して、それぞれの抗体と pan-neuronal marker である PGP9.5 との二重染色を行い、筋層間神経叢と同神経叢における各チャンネルの存在について確認を行った。【結果】今回任意抽出した標本では、PGP 陽性細胞のうち Nav1.9 陽性細胞と TRPA1 陽性細胞はそれぞれ約 32% と 51% であり、一方、PGP 染色を参考に抽出した神経叢ニューロンのうち Nav1.9 と TRPA1 が共に陽性を示した細胞は約 34% だった。【結論】以上より、大腸筋層間神経叢に Nav1.9 と TRPA1 それぞれが比較的高率に存在し、またそれに対応して両者の共存も認められることが whole-mount preparation 上で確認された。

P1-46

上喉頭神経刺激時における開口反射と三叉神経核領域での神経伝達の変調への影響
 ○酒井 翔悟¹、辻 光順¹、真柄 仁¹、辻村 恭憲¹、井上 誠¹
 (¹新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

【背景・目的】口腔顔面領域への非侵害性刺激によって誘発される低閾値誘発性の開口反射は咀嚼中に抑制を受けることが知られている。下顎の位置を変化させる開口反射は、嚥下運動を阻害しないために、嚥下時においても抑制を受けることが予想される。本実験では、上喉頭神経を刺激して嚥下を誘発させた際の開口反射の変調効果について検証したので報告する。【方法】1. 動物 2.5-3.0 kg の雄性ウサギ (日本白色種) を使用し、ウレタン麻酔下 (1.0 g/kg, iv) にて実験を行った。2. 刺激開口反射誘発のために下歯槽神経を電気刺激 (単発刺激、パルス時間 0.2 ミリ秒、反射誘発閾値の 1.5 倍の強度) し、さらに下歯槽神経刺激に反応する三叉神経核領域の単一ニューロン活動を記録した。また嚥下誘発のために上喉頭神経を連続電気刺激 (30 Hz、パルス時間 0.2 ミリ秒) した。上喉頭神経の刺激強度は 10 秒間で 1 度嚥下が生じる強度の 1-4 倍とした。3. 記録・解析 開口反射記録のために顎二腹筋、嚥下反射記録のために顎舌骨筋に双極電極を係留し、筋活動電位を導出した。下歯槽神経刺激を 2 Hz にて 30 秒間行いながら、途中上喉頭神経刺激を 10 秒間行い、上喉頭神経刺激前 (Control)・刺激時・刺激終了後の開口反射の最大振幅および単一ニューロン活動を比較した。脳幹の記録部位は記録終了後に電気凝固し、摘出した脳幹の凍結切片を作製して刺激部位を組織学的に確認した。【結果および考察】開口反射の振幅は、Control と比較して上喉頭神経 2 倍および 4 倍の刺激時および刺激終了後に有意に減少していた。また、下歯槽神経刺激に反応する単一ニューロン活動は、上喉頭神経 2 倍および 4 倍刺激時および刺激終了後に消失するものが多数観察された。その記録部位は、三叉神経主感覚核および脊髄路核吻側亜核であった。以上より、上喉頭神経刺激時における開口反射の抑制は、三叉神経介在ニューロンの領域で生じている可能性が考えられた。

P1-47

渋味溶液の舌刺激によるラット舌神経と鼓索神経の応答と温度覚との関連
 ○美甘 真¹、兒玉 省紀²、美藤 純弘¹、小橋 基¹、皆木 省吾²、松尾 龍二¹
 (¹岡大 院医歯薬 口腔生理、²岡大 院医歯薬 咬合・有床義歯補綴)

【目的】渋味は従来より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。前回、味神経である鼓索神経と体性感覚神経である舌神経からタンニン酸による神経応答記録を報告し、タンニン酸反応神経束では冷刺激の反応も認められたためポリモーダル受容器の関与が考えられた。そこで、本研究ではタンニン酸以外の渋味溶液による舌神経と鼓索神経からの神経応答記録を試み、また渋味とポリモーダル受容器との関連を調べるため transient receptor potential channel (以下 TRP) アンタゴニストによる神経応答を調査することを目的とした。【方法】成熟 Wistar ラットを用い、ウレタン麻酔下にて大腿静脈カテーテル、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て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、渋味溶液としてタンニン酸と AIK (SO₄)₂・12H₂O (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。大腿静脈からは TRP アンタゴニストである AMG9810 (transient receptor potential channel vanilloid 1; TRPV1 アンタゴニスト)、HC-030031 (transient receptor potential channel ankyrin 1; TRPA1 アンタゴニスト) を投与しタンニン酸による舌神経での応答を記録した。【結果と考察】舌神経と鼓索神経は、タンニン酸同様、AIK (SO₄)₂・12H₂O 刺激でも濃度依存性に反応し、舌神経の渋味応答神経束は冷水にも反応した。しかし、AMG9810、HC-030031 投与後のタンニン酸による舌神経応答に有意差は認められなかった。このことから、渋味は味覚と体性感覚の複合感覚であるが、体性感覚において温度覚は関与していない可能性があることが示唆された。

P1-48

口内炎モデルラットに発症する口腔粘膜痛に対する半夏瀉心湯の効果
 ○人見 涼露¹、小野 堅太郎¹、稲永 清敏¹
 (¹九歯大 生理)

口内炎は抗がん剤治療や放射線治療の副作用の一つでもあり、食事等の物理的な接触や味刺激などにより激痛が生じる。最近、口内炎の痛みに対して漢方薬の半夏瀉心湯 (TJ-14) が有効であることが報告されたが、その鎮痛メカニズムは不明な点が多い。本研究では、以前我々が開発した覚醒下における口腔内刺激法を用いた疼痛評価法により、口内炎モデルラットに発症した口腔粘膜痛に対する半夏瀉心湯の効果を検討した。ペントバルビタール麻酔下にて下唇粘膜に 50% 酢酸を作用させることで口内炎モデルラットを作製した。さらに、あらかじめオトガイ部皮膚にリングを装着して下方へ牽引することによって、覚醒下において安定した口腔粘膜の露出が可能となり、直接粘膜への機械刺激および薬物塗布を行った。口内炎作製 2 日目において粘膜上皮が剥離し、炎症性細胞が多く浸潤していた。口内炎 2 日目において、半夏瀉心湯を下唇粘膜へ滴下した後の疼痛関連行動に変化は認められなかったことから、半夏瀉心湯自体に疼痛誘発作用がないことが考えられる。また、口内炎部の機械的逃避閾値は、口内炎発症 2 日以降において有意に低下したが、半夏瀉心湯塗布 30 分後より 3 時間後まで塗布前と比べて有意に閾値が上昇した。以上より、口内炎によって発症する機械的アロディニアは半夏瀉心湯により長時間抑制されることが示された。

P1-49

KK-Ay 糖尿病モデルマウスにおける顎下腺の組織学的および生理学的解析

○宗政 翔¹、向坊 太郎¹、近藤 祐介¹、
正木 千尋¹、中本 哲自¹、細川 隆司¹
(¹九歯大 口腔再建リハビリ)

Objectives: Diabetes has been discussed to have close relationships between xerostomia, however the detailed etiology is not well described. We explored histological and physiological property of submandibular salivary gland from KK-Ay diabetic model mice. Methods: Diabetic model KK-Ay and c57/Bl6J as control mice were explored for histological and physiological property of submandibular salivary gland. Histological analysis was performed with Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter protein (NKCC1), and a water channel protein, aquaporin 5 (AQP5). Physiological analysis was performed by an ex vivo submandibular gland perfusion technique under a muscarinic agonist, carbachol (0.3 μM), for 10 minutes at 37 degree. Results: KK-Ay mouse showed almost double the body weight compared with the control c57 mice (KK-Ay/ c57 control: Males 41.1 ± 4.6 / 21.8 ± 0.7 g, Females: 37.5 ± 6.3 / 18.7 ± 1.1 g), their submandibular gland weights showed only 20~40% difference (KK-Ay/ c57 control: Males 73.0 ± 10.7 / 53.9 ± 4.1 mg, Females: 40.5 ± 4.8 / 34.7 ± 3.6 mg). The expressions of NKCC1 and AQP5 unchanged between KK-Ay and control. However, the population of ductal cells slightly increased in KK-Ay diabetic mice. Physiological analysis revealed that total amount of saliva per each gland from 8-9 weeks old mice was unchanged, however, when normalized by gland weight or body weight, KK-Ay diabetic mice showed significant decrease from the control. This effect was much higher in 12 weeks old mice. Conclusions: These results suggest that the function of submandibular fluid secretion was diminished in KK-Ay diabetic mice.

P1-50

嚥下誘発における孤束核グルタミン酸受容体の役割

○辻村 恭憲¹、辻 光順¹、酒井 翔悟¹、
真柄 仁¹、井上 誠¹
(¹新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

Purpose: The nucleus of the solitary tract (nTS) plays an essential role in regulating coughing and swallowing, both of which playing roles as airway defensive reflexes. Previous report showed the involvement of glutamate receptors in the nTS in the regulation of coughing (Canning and Mori, 2011). We tested the hypothesis that glutamate receptors in the nTS also regulate initiation of swallowing. Materials and Methods: Urethane-anesthetized male Hartley guinea-pigs were used. Swallows were identified by suprahyoid electromyographic bursts accompanied by transient decreases in upper airway (UA)-flow or increases in esophageal pressure. The number of swallows was counted after microinjection of NMDA (0.1 nmol) or kainic acid (KA, 0.1 nmol) into six different nTS subnuclei (rostral-intermediate, caudal-intermediate, rostral-commissural, caudal-commissural, medial and ventrolateral, n = 10-22 in each group). The effect of AP5 (NMDA receptor antagonist, 0.2 nmol) and CNQX (non-NMDA receptor antagonist, 0.2 nmol) microinjection on UA distension evoked swallows was also evaluated (n = 5-9 in each group). Results & Discussion: Many swallows were evoked following NMDA or KA microinjection into the rostral-commissural, medial and ventrolateral subnuclei. The number of UA distension evoked swallows was significantly decreased by AP5 and CNQX microinjection into these areas. Conclusion: We speculate that glutamate receptors in the rostral-commissural, medial and ventrolateral nTS subnuclei regulate initiation of swallowing.

P1-51

ラット舌下腺における副交感神経性血流増加反応に関与する Ach と VIP の相互作用

○佐藤 寿哉¹、石井 久淑¹ (¹北医大 歯 生理)

【目的】我々はこれまでにラット顎下腺における副交感神経性血流増加反応の大部分はムスカリン受容体を介した反応であるが、舌下腺における血流増加反応ではコリン及び非コリン作動性神経が関与する可能性を報告した。今回は非コリン作動性神経の伝達物質のひとつである VIP のラット舌下腺における副交感神経性血流増加反応への関与について検討した。【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。副交感神経性血流増加反応は舌神経の求心性電気刺激で誘発させ、血流動態は二次元レーザースペックルイメージング血流計にて解析した。【結果と考察】舌下腺の舌神経刺激 (20 V, 20 Hz, 20 s) による血流増加反応は自律神経節遮断薬であるヘキサメソニウム (10 mg/kg) の静脈内投与によりほぼ完全に抑制された。またこの血流増加反応はアトロピン (0.1 mg/kg) の投与により約 45% に抑制され、アトロピンと VIP 受容体アンタゴニスト (0.1 mg/kg) の同時投与ではほぼ完全に抑制された。VIP (10 ng/kg) の静脈内投与は舌神経刺激と同様の舌下腺の血流増加反応を誘発し、この血流増加反応は VIP 受容体アンタゴニスト (0.1 mg/kg) の投与により有意に抑制された。したがって舌下腺における副交感神経性血流増加反応には Ach と非コリン作動性神経の伝達物質のひとつである VIP が関与することが示唆された。

P1-52

マウス顎下腺の概日リズム

○内田 仁司¹、阪井 丘芳²、斎藤 一郎¹、
中村 渉³ (¹鶴見大 歯 病理、²阪大 院歯 顎
口腔機能治療、³阪大 院歯 口腔時間生物)

【背景】唾液は味刺激や機械刺激によって分泌量が増加する。一方で、ヒトの安静時唾液の分泌量には日内変動が存在し、昼間に分泌量が増加し、夜間に減少する。しかしながら、この昼夜差を制御する機能は明らかでない。【目的】マウス顎下腺を用いて、遺伝子発現の時間変動を個体および培養組織で比較検討し、唾液腺の機能に日内変動を生じる機構を解明する。【方法】マウスは明期と暗期が 12 時間ずつの明暗環境サイクル下で飼育し、明期開始の 8:00 を Zeitgeber Time (ZT) 0、暗期開始の 20:00 を ZT12 とした。野生型 (C57BL/6) マウスと時計遺伝子 *Cry* を欠失した *Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}* マウスから、24 時間で 4 時間毎に顎下腺を採取し、時計遺伝子 *Per2*、*Bmal1*、時計制御遺伝子 *Dbp*、水チャネル *Aquaporin5* (*Aqp5*) と糖質分解酵素 *Amylase* (*Amy*) の mRNA の定量を行い時刻依存的な発現変動の検討を行った (*in vivo*)。顎下腺自体の概日リズムの測定には、*Per2* 発光レポーターマウスを用い、顎下腺を摘出して生物発光を連続的に測定した (*in vitro*)。【結果】*In vivo* において野生型マウスでは *Per2*、*Bmal1*、*Dbp* mRNA の発現量に日内変動を示し、最大値は各々 ZT15、ZT23、ZT11 であった。*Aqp5* mRNA の発現量は時刻依存的な変動を示し、最大値は ZT15 であった。一方で、*Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}* マウスでは、*Per2*、*Bmal1*、*Dbp*、*Aqp5* mRNA の発現に変動を示さなかった。*Amy* mRNA は野生型、*Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}* マウスともに発現変動を示さなかった。*In vitro* において、マウス顎下腺は明瞭な概日リズムを示した。【結論】マウス顎下腺には固有の概日リズムが存在し、唾液分泌に関与する *Aqp5* の発現変動が唾液分泌量の変動に関与していると考えられる。

P1-53

象牙芽細胞のアルカリ感受性象牙質形成機構の解明

○木村 麻記¹、佐藤 正樹¹、小島 佑貴¹、東川 明日香¹、陽田 みゆき²、小倉 一宏¹、望月 浩幸¹、田崎 雅和¹、澁川 義幸¹
(¹東歯大 生理、²東歯大 口腔健康臨床科学)

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 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) を計測した。アルカリ刺激は様々な pH 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 Ca²⁺ 存在下において、pH10 のクレブス溶液を投与すると [Ca²⁺]_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 [Ca²⁺]_i の増加は脱感作しなかった。pH8, 9, 10, 11 のクレブス溶液を投与すると pH 依存性に [Ca²⁺]_i が増加した。それぞれの pH7.5, 8.5, 9.5 のクレブス溶液投与による [Ca²⁺]_i の増加は細胞外 Ca²⁺ 濃度 (範囲: 0.01~5 mM) に依存性を示し、その EC₅₀ は pH 依存性であった。細胞外 Ca²⁺ 存在下において、pH10 のクレブス溶液による [Ca²⁺]_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。象牙芽細胞へのアルカリ刺激は TRPA1 チャネルにより受容され、[Ca²⁺]_i が増加する。これが水酸化カルシウム製剤などの薬理作用の一端と示唆された。

P1-55

L-ヒスチジン誘発の摂食抑制及び悪心誘発に対するノルアドレナリン作動性神経の関与

○奥舎 有加^{1,2}、平井 喜幸¹、前澤 仁志¹、山崎 裕²、船橋 誠¹
(¹北大 院歯 口腔生理、²北大 院歯 高齢者)

【目的】我々はこれまでに、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味覚異常は惹起されず、低濃度投与では摂食抑制が生じ高濃度投与では悪心が生じることを明らかにした。脳幹部 A2 領域におけるノルアドレナリン作動性ニューロンは視床下部に投射して摂食抑制に関与していることが知られているが、これらの細胞とヒスチジン誘発の摂食抑制との関連は不明である。そこでドーパミンβ水酸化酵素 (DBH) および c-Fos タンパクを標的とした免疫染色法を用いて L-ヒスチジン投与によって活性上昇するノルアドレナリン作動性ニューロンの局在を脳幹部で調べた。【方法】SD 系雄性ラット (250~350 g) を用い、生食群、低濃度ヒスチジン投与群 (0.75 g/kg)、高濃度ヒスチジン投与群 (2.0 g/kg) に分けた。L-ヒスチジン腹腔内投与 2 時間後、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 30 μm の連続切片を作成した。10% ウシ血清で 1 時間ブロッキング後ウサギ抗 c-Fos 抗体及びマウス抗 DBH 抗体にて 4℃ で 3 日反応させた。洗浄後 Alexa488 ヤギ抗ウサギ二次抗体及び Alexa594 ヤギ抗マウス二次抗体で 1 時間反応させ洗浄封入し、蛍光顕微鏡にて観察し計数した。【結果】孤束核では、生食群と比較してヒスチジン投与群 (0.75, 2.0 g/kg) の有意な c-Fos 陽性細胞数の増加が認められ、DBH の約 30% に c-Fos タンパクの産生を認めた。最後野では生食群と比較してヒスチジン高濃度投与群で有意な c-Fos 陽性細胞数の増加が認められ、DBH の約 15% に c-Fos タンパクの産生を認めた。【考察】ヒスチジン腹腔内投与による脳幹部ノルアドレナリン作動性ニューロンの神経活動の上昇が摂食抑制及び悪心誘発に関与していることが示唆された。

P1-54

CCK はマウスの苦味伝達に關与する

○進 美沙¹、重村 憲徳¹、高井 信吾¹、安松 啓子¹、二ノ宮 裕三¹
(¹九大 院歯 口腔機能解析)

マウスの味覚伝達機構において、味細胞と味神経間でどのような伝達物質が機能しているかは未だ明らかではない。これまでに ATP 受容体である P2X2/X3 欠損マウスが味神経応答を示さないこと、さらに甘味・うま味・苦味細胞 (2 型味細胞) から ATP の分泌が認められ、ATP が主要な神経伝達物質であることが報告されている。近年消化管ホルモンであるコレシストキニン (CCK)、VIP、GLP-1、GIP そして神経ペプチド (NPY) などの味蕾での発現が報告されている。また腸管内分泌細胞では、味覚関連分子を発現し、消化管の苦味刺激により、腸管内分泌細胞から CCK の分泌が認められている。このことから味細胞内においても、ATP が複数の味を伝達するのではなく、その他の味特異的な神経伝達物質が存在する可能性が示唆されている。

そこで本研究では CCK に着目し、C57BL/6 マウスの膝神経節における CCK、CCK-Ar (受容体)、CCK-Br の発現を RT-PCR 法・免疫組織学的手法を用いて調べた。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。その結果、膝神経節における CCK、CCK-Ar、CCK-Br の発現が認められた。ま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。さらに、CCK-Ar ノックアウト (KO) マウス、CCK-BrKO マウス、CCKArBrKO 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、また苦味・塩味・酸味においての行動応答を 10 秒間リック測定法で解析した。結果、野生型マウスに比べて、CCK 受容体 KO マウスでは、苦味物質に対して応答が有意に減少し、リック数が有意に上昇したが、他の物質への応答には差がないことがわかった。このことから、CCK が苦味伝達の modulator であ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)

P1-56

三叉神経脊髄路核尾側亜核におけるリン酸化 ERK の口腔乾燥による舌痛への関与

○中谷 有香¹、坪井 美行²、篠田 雅路²、岩田 幸一²
(¹日大 院歯 口腔診断、²日大 院歯 生理)

Some patients suffering from dry mouth complain of tongue pain. In this study, we intended to elucidate the mechanisms underlying tongue pain associated with dry mouth to develop the appropriate treatment. The dry-tongue rat was developed by receiving tongue exposure in the dry air for 2 hours per day for 14 days under light anesthesia (2% Isoflurane). Nocifensive behavior to Mechanical or heat stimulation, phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and neuronal excitability in the trigeminal spinal subnucleus caudalis (Vc) were examined in the dry-tongue rats on days 7 and 14. Head-withdrawal threshold (HWT) to mechanical but not heat stimulation of the tongue significantly decreased, and the mechanical but not heat responses of Vc nociceptive neurons were significantly enhanced on day 7 compared with sham rats. The number of pERK-immunoreactive (IR) cells in the Vc significantly increased compared with sham rats on day 7 after tongue dry. The decrement of the mechanical HWT and the increase of pERK-IR cells were depressed by successive intrathecal (i.t.) administration of MEK1 inhibitor PD98059. The enhancement of neuronal activity was also significantly decreased following i.t. PD98059 administration. This is the first documentation that mechanical but not heat hyperalgesia occurs in the dry-tongue rats and suggests that mechanical tongue pain associated with dry mouth is caused via ERK phosphorylation in Vc nociceptive neurons.

P1-57

咬合高径の挙上がモルモットの学習、記憶能に及ぼす影響

○藤浪 陽三¹、豊田 博紀¹、齋藤 充¹、佐藤 元¹、田中 千恵^{1,2}、河野 奨¹、姜 英男¹ (¹阪大 院歯 口腔生理、²阪大 院歯 有床義歯補綴・高齢者歯科)

老齢マウスにおいて、歯冠切除などによる咬合効率の低下が三叉神経系からの感覚情報入力の減少を引き起こし、前脳基底部や海馬の神経細胞死を促進し、学習記憶障害を引き起こすが、若齢或いは成熟動物ではそうしたことは観察されないと報告されている (Onozuka et al., Brain Res 1999)。我々はこれまで、中心咬合位での噛み締め運動時に、意図した筋張力の情報と実際に発揮された咬合力により引き起こされる歯根膜圧情報を比較校正する仕組みが脳に存在することを明らかにした (Tsukiboshi et al., J Neurophysiol 2012)。そこで本研究では、咬合高径を挙上することにより、筋張力情報と歯根膜圧情報の比較校正関係を参照する咀嚼運動機能に異常が生じると想定される成熟動物標本を作成し、老齢でなくとも学習記憶障害が生じるか否かを検証した。実験には 4-5 週齢の guinea pig を用い、臼歯部の咬合挙上を引き起こすための咬合挙上板を下顎前歯部に設置し、その 10-30 日後に、挺出した臼歯により咀嚼が行われていることを確認して実験を行った。ステップスルー型受動的回避試験を行い、学習、記憶能を評価した。まず、記憶を形成するための学習試行を行い、その 1-14 日後に、記憶の保持程度を評価する保持評価試行を行った。学習試行では 10 回の試行を行い、2 分以内に明室から暗室に入った時に電気刺激を与えた。各試行で明室に留まった時間および 10 回の試行で刺激を受けた回数を記録した。保持評価試行では、電気刺激は与えず、学習試行と同様に 10 回行った。その結果、咬合挙上群は対照群よりも、記憶形成能および記憶保持能が低い事が明らかになった。これらの結果は、咬合挙上による筋張力情報と歯根膜圧情報の比較校正関係を参照する咀嚼運動制御機構が機能しない場合には、成熟期においても学習、記憶能が低下する可能性を示唆する。

P1-59

温度感受性 TRP チャネル活性化による新しい口腔上皮治癒機構の解明

○合島 怜央奈^{1,2,3,4}、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 組織神経解剖、⁴日本学術振興会)

【目的】TRPV3(transient receptor potential vanilloid 3)チャネルは、32℃以上の温かい温度で活性化されるカルシウム透過性の非選択的陽イオンチャネルである。我々はこれまでに口腔内の温度環境を積極的に感知する機能的な TRPV3 が口腔上皮に発現し、口腔粘膜の速やかな治癒に関与する可能性を示してきた。粘膜治癒の際には、上皮成長因子受容体(EGFR)の活性化による上皮細胞の増殖や遊走の促進が重要な役割を担うことが知られている。そこで、本研究では TRPV3 と EGFR の活性化に着目しそのメカニズム解明を試みた。【方法】C57BL/6N 野生型マウス(WT)と TRPV3 遺伝子欠失マウス(TRPV3KO)より初代口腔上皮細胞を単離・培養し TRPV3 アゴニスト刺激が EGFR 活性化に与える影響を調べた。また上顎第一臼歯を抜歯する創傷モデルを作製し、WT と TRPV3KO の粘膜における EGFR の活性化を比較した。【結果と考察】WT より単離した初代培養口腔上皮細胞に TRPV3 のアゴニストを添加すると EGFR のリン酸化が促進された。抜歯前および抜歯後 3 日目の創部において TRPV3KO では WT と比較し口腔粘膜の EGFR の活性化の程度が減弱していた。よって、TRPV3 を介した口腔粘膜の速やかな治癒に EGFR のリン酸化が関与していることが示唆された。(会員外共同研究者：高尾知佳、三原 弘、加塩麻紀子、富永真琴)

P1-58

グリシンの三叉神経運動核への投与がラットの開口反射興奮性に及ぼす影響

○尾台 令奈¹、日野 峻輔²、渡部 茂¹、坂上 宏³、安達 一典³ (¹明海大 歯 口腔小児科学、²埼玉大 総合医療 セ 歯科口腔外科、³明海大 歯 薬理)

【目的】ラットやサルは睡眠時に活性が低下することが報告され、その背景には脳幹部の抑制が関与するものと考えられる。一方で、ラットにグリシンを全身投与すると、睡眠時の開口反射閾値の低下をもたらすことが明らかとなった。そこで、睡眠時の末梢刺激応答性と睡眠の質の向上に関与するグリシンの中枢作用部位の検討を行った。【材料および方法】5 週齢 SD 系雄性ラットに心電図、筋電図(顎二腹筋前腹、咬筋)、脳波、眼電図記録用電極と舌刺激用電極(オトガイ舌筋)を留置した。加えて、両側三叉神経運動核顎二腹筋領域にガイドカニューレを植立し、一週間の回復期間の後に実験を行った。安静覚醒時(QW)にオトガイ舌筋に電気刺激(200 μs, 0.2 Hz, 5 回)を加え、顎二腹筋活動を 3/5 以上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 (QWB1-3)。その後、安静睡眠時 (QS1-3) とその後の覚醒時 (QWA1-3) の TH を求めた後、グリシン (0.1-0.4 M, 0.2 μl/side) を投与し同様の検討を行った。【結果】低用量 (0.1 M) のグリシンは開口反射閾値、睡眠潜時、微小覚醒発現率に変化を及ぼさなかった。しかしながら高用量 (0.4 M) のグリシン投与群では有意な睡眠潜時の短縮と微小覚醒の減少が認められた。また、高用量グリシンは QWB 時の開口反射活性に影響を及ぼさないが、QS 時の開口反射誘発閾値を QWA 時ならびにグリシン非投与 QS 時と比較して有意に低下させた。【考察】本研究の結果から、三叉神経運動核のグリシン受容体機構が睡眠導入にも関与しており、さらに睡眠時末梢刺激応答性を高めることで微小覚醒を減少させ、睡眠の質を向上させている可能性が示唆された。

P1-60

生体内イメージングによる開口分泌におけるアクチン重合機構の解析

○設楽 彰子¹、田隈 泰信² (¹米国立衛生研 歯科・頭蓋顔面研 膜輸送、²北医大 歯 生化)

【目的】アクチンは膜融合した分泌顆粒を被覆することにより開口分泌を促進する。我々は分泌顆粒上にアクチンが集積する機序を調べた。【方法】マウスをイソプロテレノール(Iso)刺激した後、顎下腺を摘出して凍結切片を作製し、膜融合した分泌顆粒上に集積する分子を免疫染色により調べた。Cytosolic GFP と membrane Tomato を発現するトランスジェニックマウスの顎下腺開口部からアクチン重合阻害剤を注入して Iso 刺激をし、開口分泌を Intra vital microscope (IVM) にて解析した。【結果と考察】免疫組織化学的解析から腺腔側膜に融合した分泌顆粒上にはアクチン重合促進分子である mDia2, Profilin, Cortactin, Arp2/3 複合体、Myosin2A, WASP, WAVE が集積することがわかった。アクチン重合の仕組みを調べるため、直鎖状アクチンの形成を促進する mDia2 の阻害剤処理下で Iso 刺激をすると、腺腔側に融合した分泌顆粒の大きさが経時的に拡大し、空胞が形成された。一方アクチン線維の分枝形成を促進する Arp2/3 複合体の阻害剤処理下で Iso 刺激をすると、膜融合した分泌顆粒が通常の 3 倍以上長い時間、腺腔側膜に留まり分泌が遅延した。これらの結果から mDia2 は膜融合した顆粒上でアクチン線維の重合を促進することにより、膜融合に伴う分泌顆粒内圧の上昇による顆粒径の増大を抑制することが示された。Arp2/3 複合体は mDia2 を介して形成された直鎖状のアクチン線維上に集積し、Actin-myosin complex の形成を促進することにより分泌顆粒を収縮させ、開口分泌を促進することが示唆された。

P1-61

(演題取消)

P1-62

(演題取消)

P1-63

蛍光色素を用いた細菌の代謝活性リアルタイム・モニター法の確立

○石黒 和子^{1,2}、鷺尾 純平²、佐々木 啓一¹、高橋 信博² (¹東北大学 院歯 口腔システム補綴、²東北大学 院歯 口腔生)

【目的】細菌の代謝活性は歯周病の発症・進行と関係することから、歯周病関連細菌の代謝活性をモニターすることは歯周病の発症機構の解明に不可欠である。しかしこれまでは、その方法はなかった。そこで本研究では、*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)、*Fusobacterium nucleatum* (*Fn*)、*Prevotella intermedia* (*Pi*) を対象とし、代謝反応によって生ずる還元力と共役し蛍光強度が増加する蛍光色素「AlamarBlue[®]」を用いて、リアルタイム代謝活性測定法の確立を試みた。また、本法を用いて各種薬剤の細菌代謝への影響を検討した。

【方法】*Pg* (ATCC 33277)、*Fn* (JCM 8532)、および *Pi* (JCM11150) を培養後、菌懸濁液 (最終 OD=0.01) を調整し、予備温浴の後、AlamarBlue[®] (最終濃度 1%) 及び各代謝基質 (0.5% tryptone (*Pg*)、10 mM glutamate (*Fn*)、0.5% glucose (*Pi*)) を加え、37°C で蛍光強度 (励起波長 535 nm、測定波長 590 nm) の変化をモニターした。さらに、種々の濃度の薬剤 (塩化セチルピリジニウム (CPC)、ミノサイクリン (MC)) を添加し、同様に蛍光強度をモニターした。すべての操作は高度嫌気条件下で行った。

【結果・考察】使用した全菌種において代謝基質添加後に経時的に蛍光強度が増加したことから、本手法を用いて歯周病関連細菌の代謝活性をリアルタイムにモニターすることが可能であることが示された。CPC では 2.5 µg/mL の濃度で全菌種の代謝活性を有意に阻害したのに対し、MC では、既報の MIC (0.03-0.40 µg/mL) より高い 1 µg/mL でも、全菌種の代謝を阻害しなかった。以上の結果から、本法により歯周病関連細菌の代謝がリアルタイムにモニターできること、さらに、代謝阻害の観点から薬剤の作用を評価できることが示された。

P1-64

細胞分裂期の象牙芽細胞における IFT88 の役割

○河田 かずみ¹、竹田 扇¹
(¹山梨大学 院医工 解剖細胞生物)

Intraflagellar transport protein 88 (IFT88) is known to be required for the ciliogenesis in most of the quiescent cells. We have previously reported that IFT88 suppression modulate the expression of differentiation marker such as dentin sialophosphoprotein and alkaline phosphatase activity, suggesting the importance of primary cilia in regulating the differentiation of odontoblasts. Moreover, as recent study shows the localization of IFT88 to the spindle poles in fibroblasts during mitosis, its roles other than ciliogenesis have been implicated. However, its functions in the mitosis of odontoblasts remain to be investigated.

In this study, we employed RNAi strategy to knockdown *Ift88* in odontoblasts to test this hypothesis. Knockdown of *Ift88* in odontoblasts brought about decreased cell adhesion, impaired formation of lamellipodia, and proliferation defects. In addition, the number of primary cilium on the odontoblasts was not affected significantly during mitotic phase. Under this condition, we found that the activity of Rac1 was suppressed. In order to dissect the positions of Rac1 in light of IFT88-mediated signaling pathway, we inhibited Rac1 by a specific inhibitor, LY294002. In this case, we recapitulated the results obtained by the knockdown of *Ift88*, the results suggesting that Rac1 is in the downstream of IFT88. From another standpoint, knockdown of *Ift88* also changed the ratio of cells in G1-S transition.

Collectively, IFT88 exerts its effects on mitotic profiles of odontoblasts through extraciliary pathway. We are now investigating the relationship between IFT88 and Rac1 in terms of controlling the cell cycle.

P1-65

象牙質顆粒の骨補填材としての機能評価

○小栗 健策¹、川木 晴美²、田中 雅士¹、
森 春菜¹、神谷 真子²、河野 哲¹、高山 栄次²、
吉田 隆一¹、近藤 信夫² (朝日大 歯 歯科保
存、²朝日大 歯 口腔生化)

我々は生体材料として供給可能な象牙質に着目し、象牙質を粉碎して得た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、象牙質が根尖部で凝塊を形成し硬組織様の 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細胞応答、象牙質に対する幹細胞の応答については未だ不明である。そこで本研究では象牙質に対する細胞応答を検討するために、ヒト歯髓由来幹細胞 (hDPSC) および由来組織の異なる、ヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC)、ヒト脂肪由来幹細胞 (hASC) を用いて、単層培養条件下における象牙質顆粒または既存の骨補填材に対する、これら幹細胞の動態について解析した。比較対照とする骨補填材には、現在臨床の現場で応用されている水酸化アパタイト (hydroxyapatite: HA)、 β -リン酸三カルシウム (β -tricalcium phosphate: β -TCP) を用いた。その結果、播種後 48 時間では象牙質顆粒が他の材料と比較して有意に 3 種の幹細胞の増殖を促進した。7 日間培養後では 3 種の幹細胞は共存する骨補填材と骨補填材・幹細胞凝集複合体を形成した。そこで、各骨補填材・幹細胞凝集複合体における骨芽細胞マーカー遺伝子の発現解析およびアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性測定を行ったところ、これらの発現や活性は、HA で顕著な促進効果がみられ、象牙質顆粒でも β -TCP と比較して有意に高い値が示された。また、各種骨補填材を浸漬した培地上清でも、象牙質顆粒は 3 種の幹細胞の増殖、さらには遊走を促進した。これらの結果から、象牙質は骨補填材として十分に機能するとの示唆を得た。また、象牙質から溶出する成分が細胞の増殖および遊走に与している可能性が考えられ、現在象牙質中の液性成分等について分析を試みている。

P1-67

ブタ幼若エナメル質中の TGF- β 1 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)

ブタ幼若エナメル質中には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 TGF- β 様の活性物質が含まれている。【目的】今回われわれは TGF- β 様活性物質を (1) 同定すること、(2) エナメルプロテアーゼによる影響を調べることを目的とした。【方法】生後約 5 か月のブタ幼若エナメル質をリン酸緩衝液 (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、N 画分の硫酸分画試料 (N-1E) および AL 画分試料についてヘパリンクロマトグラフィーを行い、各溶出画分について PDL 細胞に対する ALP 活性を調べた。ALP 活性を上昇させる画分中に含まれる TGF- β 様活性物質を ELISA によって同定し、この物質のエナメルシン (MMP-20) およびカリクレイン 4 (KLK4) に対する分解作用について調べた。また、TGF- β 様活性物質を含む画分中に存在する主要エナメルタンパクを SDS-PAGE、Western Blot および LC/MS 分析にて特定した。【結果および考察】(1) 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、PDL 細胞に対して ALP 活性を上昇させる TGF- β 様活性物質が、AL 試料ではヘパリン未吸着画分および 50 mM NaCl 溶出画分に、N-1E 試料では 0.1 M NaCl 溶出画分に存在していた。それら TGF- β 様活性物質は ELISA によって TGF- β 1 であることが判明した。(2) リコンビナント TGF- β 1 を用いた MMP-20 および KLK4 の分解実験では、TGF- β 1 が両プロテアーゼによる分解を受けないことがわかった。現在、幼若エナメル質に見出される主要エナメルタンパクとの相互作用について検討中である。

P1-66

チタン基盤への真空紫外光照射がヒト骨髄由来間葉系幹細胞の活性に及ぼす効果

○新谷 耕平¹、川木 晴美²、神谷 真子²、
高山 英次²、堀田 正人¹、土井 豊³、近藤 信夫²
(朝日大 歯 歯冠修復、²朝日大 歯 口腔生
化、³朝日大 歯 歯科理工)

【目的】紫外光を歯科用インプラント体に照射する事で親水性が復元し、早期に骨結合すると言われている。我々は真空紫外光 (VUV, $\lambda=172$ nm) をチタン基盤に照射すると水酸基が導入され、シラン化合物の単分子成膜が容易になる事を報告してきた。水酸基導入で親水性は向上するが、その安定性や細胞に対する効果に関しては不明な点も多い。そこで、本研究では VUV 照射後のチタン基盤上でヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC) を培養し、活性に及ぼす影響を調べ、さらに保存条件を検討するために様々な保存状態における親水性の経時変化と細胞活性に及ぼす影響を検討した。【方法】チタン基盤を鏡面研磨後、#1000 のサンド紙で 30 分間研磨し、VUV を大気中で照射した。親水性は接触角を測定し評価した。まず、1 分から 30 分まで照射時間を変化させ、親水性との関係を経時的に調べた。さらに、照射後試料の保存条件が親水性ならびに hBMSC の増殖と骨芽細胞への分化に及ぼす影響を評価するために、VUV 照射 30 分後に異なる条件下で 1 ヶ月間保存したチタン基盤に hBMSC を播種し、細胞接着および増殖を検討し、細胞の形態とアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性染色性を観察した。【結果および考察】接触角は VUV 照射後急激に減少し、10 分以上の照射で、ほとんど変化がみられなくなった。そして、VUV 照射後のチタン基盤をリン酸緩衝液 (PBS) 中で保存すると、hBMSC の細胞増殖、接着性、ALP 活性が他の条件で保存した場合より優れ、VUV 照射直後のチタン基盤と同等の結果が得られた。以上の結果からインプラント体に 10 分以上 VUV を照射する事で高い親水性が得られ、製造直後に PBS 中に保存する事で骨伝導性の経時劣化を回避できる可能性が示唆された。

P1-68

炭酸含有アパタイト多孔体による骨様硬組織誘導能の評価

○高橋 潤¹、川木 晴美²、近藤 雄三¹、
大崎 公資¹、神谷 真子²、高山 英次²、
土井 豊³、永原 國央¹、近藤 信夫²
(朝日大 歯 インプラント、²朝日大 歯 口腔
生化、³朝日大 歯 歯科理工)

【目的】我々は生体吸収性に優れた骨補填材料として炭酸含有アパタイトを開発し、動物への移植実験を行い CA が骨伝導能を有することを報告してきた。本研究では CA の生体吸収性をさらに高めるために多孔体を作成し、CA 多孔体の移植部での細胞の足場としての機能を評価するために、CA 多孔体存在下でのラット骨髄由来間質細胞の動態を観察し、CA 多孔体のヌードマウス皮下への移植後の硬組織誘導能を評価した。【方法】Wister ラット脛骨および大腿骨より骨髄由来間質細胞を抽出して実験に用いた。この細胞を CA および比較対照の HA、 β -リン酸三カルシウム (β -TCP) の多孔体とともに培養し、増殖、骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現変化、およびアルカリホスファターゼ (ALP) 活性について検討した。CA、HA および β -TCP 多孔体をそれぞれ 20 mg ずつヌードマウス側腹皮下に移植し、一定期間の後に組織化学的観察を行った。【結果および考察】播種 72 時間後、それぞれの多孔体とともに培養した細胞の増殖は、CA 多孔体とともに培養したもので顕著であった。骨芽細胞への分化では、HA および CA 多孔体とともに培養した細胞の ALP 活性と ALP 発現の上昇が顕著であり、骨芽細胞の分化マーカーである ALP、オステオカルシンの発現が有意に上昇していた。さらにマウスに皮下移植後の組織より作成した切片の組織化学的観察結果では、移植した CA 多孔体周囲で硬組織様組織の形成が顕著であった。CA 多孔体は HA および β -TCP の多孔体と比較して良好な骨様硬組織の誘導能を有しており、ラット骨髄由来間質細胞の足場として優れた材料であることが示された。

P1-69

オステオポンチンはLMW-PTPを介して骨芽細胞の生理的応答性に影響を与える

○楠山 譲^{1,2}、坂東 健二郎²、大西 智和²、仙波 伊知郎¹、松口 徹也¹ (鹿大院医歯 口腔病理解析、²鹿大院医歯 口腔生化学)

骨芽細胞の機能である骨基質形成と破骨細胞制御は、サイトカインやメカニカルストレス等の細胞刺激因子で調節されている。しかし生体内の骨芽細胞の分化度や細胞外環境は一様ではなく、骨芽細胞が種々の細胞刺激因子に対して一律の反応をしているとは限らない。我々は、LPSや不飽和脂肪酸を加えた分化培地で培養した骨芽細胞において、メカニカルストレスや増殖因子への応答性が著しく減弱していることに着目した。この骨芽細胞の持つ性質を解析したところ、多くの骨分化マーカー遺伝子の発現は低下しているにも関わらず、同じく分化マーカーとして重要な分泌タンパク質であるオステオポンチン(OPN)の発現レベルが極めて高いことを見出した。そこで、OPNが骨芽細胞の細胞刺激因子に対する応答性に与える影響について解析を行った。マウス骨芽細胞株であるMC3T3-E1細胞にリコンビナントOPNを作用させると、メカニカルストレスやHGF、PDGFで誘導されるFAKのリン酸化が減弱し、標的遺伝子の発現が抑制された。MC3T3-E1細胞にOPNを強発現させた場合も同様の結果を得た。一方、分化したMC3T3-E1細胞にOPN siRNAやOPN中和抗体によって内在性のOPN機能を抑制させると、メカニカルストレスやHGFに対するFAK活性化を介した応答性が上昇した。次にOPNによって発現が誘導され、FAKの活性化に影響を与える分子を探索したところ、OPNはLMW-PTP(Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase)と呼ばれるフォスファターゼの発現を上昇させることが分かった。そこでMC3T3-E1細胞にLMW-PTPを強発現させると、メカニカルストレスやHGFへの応答性が抑制された。更にLPSや不飽和脂肪酸によってOPNを高発現する骨芽細胞に、OPN siRNA及びLMW-PTP siRNAを導入すると、細胞刺激因子への応答性が回復した。OPNはLMW-PTPの発現を上昇させることで、骨芽細胞の細胞刺激因子への応答性を調節する分子として骨代謝に影響を与える可能性がある。

P1-71

細胞外無機リン酸はDmp1の発現を誘導し骨細胞分化を促進する

○西野 仁^{1,2}、道上 敏美¹

(¹大阪府立母子保健総合医療センター 環境影響、²阪大院歯 口腔外科一)

【背景・目的】骨細胞にはFGF23、PHEX、DMP1、FAM20Cなどリン代謝制御に関連する種々の分子が発現している。しかしながら、細胞外無機リン酸(Pi)濃度変化が骨細胞や骨芽細胞の遺伝子発現や機能に及ぼす直接的な影響については不明な点が多い。そこで、本研究においては、マウス由来初代骨細胞及び骨芽細胞系細胞株MC3T3-E1細胞を用いて、Piの直接作用を検討した。【方法・結果】マウス長管骨を微細化し、コラーゲン処理及びEGTA処理を反復することにより骨細胞を単離した。単離された骨細胞をI型コラーゲンに包埋し、1 mMないし10 mMのPi存在下で24時間培養し、遺伝子発現を検討した。その結果、*Fgf23*、*PheX*、*Fam20c*の発現には変化を認めなかったが、*Dmp1*の発現が高濃度Pi刺激により4倍以上に増強し、骨細胞がPiの変化に反応することが示唆された。次に、Piが骨芽細胞においても*Dmp1*発現を誘導するかどうか検討するため、MC3T3-E1を用いた解析を行った。MC3T3-E1を1~10 mMのPi存在下で48時間培養したところ、容量依存的に*Dmp1*の発現が誘導された。10 mMのPi刺激は、24時間後から*Dmp1*の発現を50倍以上に強く誘導した。Pi刺激による*Dmp1*の発現誘導はMEK/ERK経路の関与が推察された。さらに、MC3T3-E1をI型コラーゲンに包埋し、1~10 mM Pi存在下で2週間培養したところ、10 mMのPi存在下では*Dmp1*に加えて*Fgf23*や*Fam20c*、*Hif1a*、*Pit1*、*Fgf2*、*Cx43*の発現も増加していた。一方、骨芽細胞マーカーである*Keratocan*の発現は低下していた。【結論】Pi刺激は骨細胞に直接作用し、MEK/ERK経路を介して*Dmp1*の発現を増加させることが示唆された。また、MC3T3-E1に対する長期的なPi刺激は*Dmp1*に加えて*Fgf23*など他の骨細胞に高発現する遺伝子の発現増加をもたらしたことから、Piが骨芽細胞から骨細胞への分化を促進する可能性が推察された。

P1-70

エナメル上皮腫細胞におけるNFATc1およびNFATc2を介した増殖および形態変化制御機構

○吉本 尚平¹、森田 浩光²、中村 誠司³、平田 雅人¹ (¹九大 院歯 口腔細胞工学、²福岡大 総合歯科、³九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

エナメル上皮腫による骨吸収は、エナメル上皮腫細胞から放出されるreceptor activator of nuclear factor kappa-B ligand(RANKL)によって周囲の破骨細胞が活性化されるためであると考えられてきた(Sandra F et al., Oral Oncol., 41(6): 637-44, 2005)。しかしながら、我々は、エナメル上皮腫自体も細胞膜表面にプロトンポンプ vacuolar ATPase と塩素トランスポーター ClC-7 を発現し、放出したプロトンによる酸性環境で骨溶解を引き起こすこと、加えてエナメル上皮腫自身も破骨細胞と同様にRANKを有し、RANKL(エナメル上皮腫および周囲の骨芽細胞が放出)によってRANK/RANKLシステムが活性化され、溶解した骨組織から遊離するCa²⁺イオンにより破骨細胞様に多核化・巨大化することを発表した(第54回および55回歯科基礎医学学会学術大会)。今回、我々は、エナメル上皮腫細胞(AM-1)を用い、細胞増殖および形態変化に、転写因子であるnuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1(NFATc1)およびNFATc2が関与しているという結果を得たので報告する。RANKL(50 ng/mL)およびCaCl₂(1 mM)の存在下でAM-1を培養し、ウエスタンブロットにてNFATc1およびNFATc2の発現を観察すると、対照に比して両者の発現亢進がみられた。次にRANKLおよびCa²⁺イオンの単独投与を行った。RANKL(50 ng/mL)を投与するとNFATc1の発現亢進がみられ、光学顕微鏡下にて樹状細胞様変化および細胞増殖速度の亢進が認められた。しかし、細胞の多核化は認められなかった。一方、CaCl₂(1 mM)を投与するとNFATc2の発現亢進と破骨細胞様の多核化が観察された。この際、細胞増殖速度に変化は見られなかった。以上の結果より、AM-1はNFATc1およびNFATc2を介して増殖および形態変化という二連の個別の制御が行われている可能性が示唆された。

P1-72

tdTomato 遺伝子導入マウス唾液腺由来間葉系幹細胞株の樹立

○古川 真司¹、桑島 幸紀¹、畠山 慧¹、帖佐 直幸²、佐藤 和朗³、大塚 正人³、石崎 明²、藤村 朗⁴、三浦 廣行¹

(¹岩医大 歯 歯科矯正、²岩医大 生化学 細胞情報科学、³東海大 医 分子生命科学、⁴岩医大 解剖 機能形態)

【目的】赤色蛍光強発現遺伝子導入マウス(tdTomatoマウス)より得られた細胞はリアルタイムのin vivoイメージングが可能であることから、移植実験などの再生医療研究において有用なツールとなり得る。本研究ではtdTomato唾液腺より間葉系幹細胞(MSC)株を樹立することを目的とし、唾液腺より得られた線維芽細胞様細胞から不死化細胞株を樹立して、その性状を評価した。【材料と方法】3週齢のtdTomatoマウス(岩医大動物実験承認番号23-075)の舌下腺ならびに顎下腺を摘出し、組織片よりout-growthした線維芽細胞様細胞を得た。この初代培養細胞の赤色蛍光をトレースすることで遊走能を評価した。さらに顎下腺由来細胞にhTERT(human telomerase reverse transcriptase)とSV40(simian vacuolating virus 40) large T-antigen 遺伝子を導入し、薬剤耐性選択後、限界希釈法にて単一細胞由来細胞株を樹立した。樹立された細胞株についてはflow cytometryによる表面マーカーの発現、ならびにalizarin red染色による骨芽細胞分化とoil red O染色による脂肪細胞分化能をそれぞれ評価した。【結果と考察】tdTomatoマウス唾液腺由来初代培養細胞においてMSCの指標の一つとなる遊走能を評価した結果、顎下腺由来細胞の遊走能は舌下腺由来のそれと比較して有意に高かった。そこで顎下腺由来にhTERTとSV40の遺伝子を導入することで不死化細胞株を樹立した。樹立された細胞株について表面マーカーの発現を解析した結果、MSCマーカー陽性(Sca-1⁺/CD44⁺/CD90⁺)のMSC様細胞株であることが示された。この細胞株を骨分化誘導培地ならびに脂肪分化誘導培地でそれぞれ培養することで、骨分化ならびに脂肪分化能を有することが確認された。したがってtdTomatoマウスの唾液腺よりMSC株を樹立することに成功した。本研究で得られた細胞株は、唾液腺におけるMSCの役割を明らかにするための研究ツールとして、極めて有用である。

P1-73

Sirt1 活性は骨肉扁平上皮癌 Ca9-22 細胞の増殖と遊走を抑制する

○室伏 貴久¹、津田 啓方¹、鈴木 直人¹
(¹日大 歯 生化)

口腔癌は初期で発見されると生存率は高いが、進行した状態で発見されると致死率が高くなる。本邦における口腔癌の約9割は扁平上皮癌であり、口腔扁平上皮癌の予防や進行を遅らせる方法論の開発が望まれている。Sirtuin タンパクは Sirt1-7 のファミリーを形成しており、NAD⁺依存性に脱アセチル化や ADP-リボシル化を行う酵素として働く。その中でも、Sirt1 遺伝子産物はアンチエイジングに寄与するということが注目されている。癌における Sirt1 の役割については、癌の種類によって、促進的に作用するものや抑制的に作用するものが報告されているが、骨肉扁平上皮癌における Sirt1 活性の役割に関する報告は現在までに存在しない。それ故、口腔扁平上皮癌における Sirt1 活性の役割を知ることは口腔癌の予防や進行遅延を考える上で、非常に重要な情報となりうる。そこで我々は骨肉扁平上皮癌細胞株 Ca9-22 細胞における Sirt1 activator 3 の効果を調べた。まず、創傷治癒アッセイにより細胞浸潤における Sirt1 activator 3 の効果を確かめたところ、濃度依存的に細胞浸潤を抑制した。次に、細胞増殖と細胞遊走における Sirt1 activator 3 の効果を調べたところ、両者とも Sirt1 activator 3 濃度依存的に抑制された。さらに、サイクリン依存性キナーゼを抑制的に調節する p21 遺伝子の発現とその産物産生を確認したところ、両者とも Sirt1 activator 3 濃度依存的に抑制された。これらことから、骨肉扁平上皮癌において Sirt1 活性は細胞増殖能と遊走能を抑制する事が示唆された。また、そのうち、細胞増殖は p21 発現上昇によってもたらされる可能性が示唆された。

P1-75

骨髄、脾臓および血液より分離した破骨前駆細胞の性質

○榎本 拓哉^{1,2}、高見 正道³、山本 松男²、
上條 竜太郎¹ (¹昭大 歯 口腔生化、²昭大 歯 歯周病、³昭大 歯 薬理)

【目的と方法】歯周病では、破骨前駆細胞が破骨細胞に分化し歯槽骨を吸収すると考えられているが、それらの破骨前駆細胞がどのような性質をもち、どのような組織から炎症部位に動員されるか詳細は不明である。これを解明するために我々は、生理食塩水または LPS を投与したマウスの骨髄、脾臓、および血液より CD11b や c-Fms などの単球・マクロファージ系細胞が発現する分子を指標として細胞を分離し、それぞれの破骨細胞分化能を解析した。【結果と考察】生理食塩水を投与したマウスの骨髄細胞、脾臓細胞および血液から CD11b を指標に細胞を分離したところ、骨髄の CD11b⁺細胞は破骨細胞分化誘導因子 RANKL の存在下でも破骨細胞に分化せず、CD11b 細胞が破骨細胞に分化した。我々は最終分化した破骨細胞が CD11b⁺であることから、この CD11b⁺細胞が CD11b⁺に変化する機序を検討するため、CD11b⁺細胞を骨芽細胞上で 24 時間培養した。その結果、CD11b 細胞は CD11b⁺に変化し、破骨細胞分化能を獲得したことから、骨芽細胞との接触が重要と推察された。一方、脾臓では、1 週齢まで CD11b⁺および CD11b⁺ともに破骨細胞に分化したが、6 週齢ではいずれも分化しなかった。即ち脾臓では、成長に伴って破骨細胞分化能を持つ細胞が減少すると推察された。血液では骨髄とは対照的に、CD11b⁺細胞が破骨細胞に分化し、CD11b 細胞は分化しなかった。次に LPS 投与とマウスを解析したところ、生理食塩水投与では分化しなかった骨髄や脾臓の CD11b⁺細胞が破骨細胞に分化した。従って、LPS による免疫の活性化が破骨細胞分化能を持たない CD11b⁺細胞に分化能を与えたか、分化能を有する新たな細胞集団が出現した可能性が考えられる。また、破骨細胞分化に必須の M-CSF 受容体を発現する細胞は、骨髄、脾臓および血液のいずれにおいても破骨細胞に分化したため、各組織の破骨前駆細胞に共通マーカーとして有用であることが判明した。

P1-74

Interleukin-17 刺激により誘導された滑膜細胞の生物学的活性の解明

○櫻井 拓真^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、
西原 達次¹
(¹九歯大 感染生物、²九歯大 顎顔面外科)

【目的】関節リウマチ (RA) をはじめとする自己免疫疾患や慢性炎症で重要な役割を果たす Interleukin-17 (IL-17) は、広範囲の細胞に作用し、慢性炎症の惹起や骨破壊に関与している。しかし、RA の顎関節を含む関節滑液内で IL-17 の上昇が知られているが、生物学的活性については不明な点が多い。本研究では、滑膜細胞における IL-17 の作用に着目し、検討を行った。【方法】ヒト滑膜肉腫細胞株 (HS-SY-2) を用いて、IL-17 受容体である IL-17R の局在を免疫染色法で検討した。HS-SY-2 を IL-17 で刺激し、炎症性サイトカインである IL-1 β および軟骨マトリックス破壊に関与する主な酵素である Matrix Metalloproteinase-3 (MMP3) の発現を real time RT-PCR 法、Western blotting 法 (W.B) で検討し、さらに抗 IL-17 中和抗体により IL-17 による MMP3 発現亢進の抑制を検討した。HS-SY-2 において IL-17 により誘導されるシグナル経路について W.B で解析し、活性が確認できた分子について選択的阻害剤を用いてシグナルを特定した。【結果】免疫染色法により HS-SY-2 細胞表面に IL-17R の局在が観察された。IL-17 刺激により HS-SY-2 細胞内の IL-1 β 、MMP3 の mRNA およびタンパクレベルの発現が亢進し、抗 IL-17 中和抗体により MMP3 発現亢進が抑制された。MMP3 の発現に関与するシグナル伝達の解析より JNK、ERK、P38 の関与が認められた。HS-SY-2 に対する JNK 選択的阻害剤の前処理により IL-17 による MMP3 の発現の亢進が抑制された。【考察】HS-SY-2 において IL-17 が JNK の活性を介し、IL-1 β および MMP3 の発現を亢進し、関節の慢性炎症、関節破壊へ関与する可能性が示唆された。現在、MAPK の関与について詳細に検討しているところである。

P1-76

マウス口腔扁平上皮癌と間質細胞による脾細胞インターフェロン γ 産生能の調節

○稲垣 俊弘¹、神谷 真子²、川木 晴美²、
高山 英次²、足立 充隆¹、村松 泰徳¹、近藤 信夫²
(¹朝日大 歯 口腔外科、²朝日大 歯 口腔生化)

【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ける脾細胞のインターフェロン 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 55 回学術大会、足立ら 56 回学術大会)。そこで本研究では、この分子機構を解明するために、in vitro 共培養系を用いて腫瘍組織を構成する癌細胞-免疫細胞-間質細胞相互作用を検討した。【方法】OSCC 細胞株は、C3H マウス由来類粘膜扁平上皮癌細胞株 (Sq1979, 理研 BRC) と、Sq1979 移植マウスの腫瘍原発巣より採取したサブクローン (Sq233 系列: Sq2331, Sq23311) および同マウスの転移リンパ節より採取したサブクローン (L 系列: L3, L5) を用いた。また、間質細胞として、C3H マウス胎児より採取した線維芽細胞株 (C3H/10T1/2) を用いた。これら OSCC 細胞や C3H/10T1/2 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量を ELISA 法にて測定した。【結果と考察】抗 CD3 抗体刺激で惹起される脾細胞の IFN- γ の産生量は、C3H/10T1/2 の存在下で有意に低下した。Sq1979 および Sq233 系列 OSCC は、OSCC 単独ではほとんど脾細胞の IFN- γ の産生量を変化させなかったが、C3H/10T1/2 との共培養で、C3H/10T1/2 による抑制効果を、OSCC 細胞数依存的に増強した。一方 L 系列 OSCC は C3H/10T1/2 の IFN- γ 産生抑制効果に全く影響を与えなかった。以上の結果から、Sq1979 および Sq233 系列 OSCC は C3H/10T1/2 と共同でマウス脾細胞に作用し、免疫応答能をさらに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。

P1-77

バイオフィルム-歯面インターフェイス pH 測定装置を用いた各種フッ化物の pH 低下抑制効果の評価

○石黒 朋子^{1,2}、真柳 弦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東北大 院歯 口腔生化学、³東北大 院歯 インターフェイス研究事業)

【目的】フッ化物は歯質の再石灰化を促進するとともに、近年ではバイオフィルムの酸産生を抑制することが理解されるようになった。しかし、歯面塗布したフッ化物がバイオフィルム-歯面インターフェイスで pH 低下を抑制するのかが不明である。本研究では、人工バイオフィルムとフッ化物を塗布した歯面とのインターフェイスにおける、細菌糖代謝による酸産生に伴う pH 変化を測定し、歯面塗布されたフッ化物による pH 低下抑制効果の評価した。

【方法】*Streptococcus mutans* NCTC 10449 を高度嫌気条件下で培養し、2 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) を用いて集菌・洗菌後、使用した。ウシの中切歯唇面の歯冠エナメル質および根面象牙質を 2% フッ化ナトリウム (NaF)、38% フッ化ジアンミン銀 (SDF) にそれぞれ 10 分間浸漬したもの、浸漬していないもの (コントロール) を準備した。実験装置の直径 4 mm、深さ 2 mm の well の底に歯面試料を固定し、ISFET 微小 pH 電極を歯面の直上に設置後、*S. mutans* を填入し well 内を満たした。*S. mutans* 上に 0.5% グルコース 500 μL を滴下し、120 分間の pH 変化を測定した。

【結果】エナメル質、根面ともに NaF および SDF に浸漬したものは、コントロールと比べて 120 分後の pH が有意に高く、さらに、SDF の方が NaF よりも pH が有意に高いことが示された (エナメル質: NaF, pH 4.34 ± 0.10 → 4.62 ± 0.06; SDF, pH 4.44 ± 0.16 → 5.23 ± 0.29; 根面: NaF, pH 4.54 ± 0.33 → 5.10 ± 0.11; SDF, pH 4.64 ± 0.39 → 6.65 ± 0.47)。また、SDF の pH 低下抑制効果はエナメル質よりも根面で有意に高かった。

【結論】バイオフィルム-歯面インターフェイスにおいて、フッ化物塗布歯面が細菌による pH 低下を有意に抑制することが明らかとなった。とくに根面に対する SDF の pH 低下抑制効果が高かったことから、フッ素による細菌の代謝抑制に加え、根面有機質に付着した銀の抗菌作用が考えられ、SDF が根面齲蝕予防に効果的であることを示唆する。

P1-79

マウス骨髄由来異種細胞共培養系の確立

○滝沢 尚希^{1,2}、客本 斉子²、大久保 直登³、帖佐 直幸²、衣斐 美歩¹、加茂 政晴²、大塚 正人³、八重柏 隆¹、石崎 明² (岩医大 歯 保存・歯周、²岩医大 生化学・細胞情報、³北大 院薬 臨床病態、⁴岩医大 歯 歯肉歯肉病態、⁵東海大 医 分子生命)

【目的】間葉系幹細胞 (MSC) は多分化能を有する体性幹細胞で、組織の修復や再生に働く。幹細胞を用いた組織再生療法のトランスレーショナルリサーチを推進するには、MSC を効率よく増殖させるための培養環境の確立が必要と考えられる。そこで我々は、マウス骨髄より MSC と血球系細胞を同時に採取しそれぞれ細胞の性状を調査すると共に、共培養下における両細胞の相互作用について検討した。

【材料及び方法】3 週齢の赤色蛍光強発現マウスの脛骨から通法により骨髄細胞を採取し、得られた細胞を市販の MSC 増殖培地を用いて 2 週間培養した。2 継代培養した骨髄細胞から Linage Cell Depletion Kit (Miltenyi 社) を用いて MSC 及び血球系細胞画分を分離し、各細胞の増殖能、分化能、ならびにフローサイトメトリー法によるマーカー発現を解析した。

【結果と考察】マウスの骨髄培養細胞を MSC と血球系細胞に分離して培養することにより、共培養で維持されていたそれぞれの細胞の増殖能は抑制された。この結果から、MSC と血球系細胞との間には増殖に関与する相互作用の存在が示唆された。また、分化能においては MSC 画分で骨、脂肪への分化能が認められた。さらに、表面抗原マーカー解析の結果、幹細胞マーカーである Sca-1 は両細胞とも高い割合で陽性であった。一方、CD45 と CD11b は血球系細胞のみに陽性であった。また興味深いことに、制御性マクロファージマーカーの CD206 が血球系細胞画分で約 40% に陽性であった。現在、上記共培養系に含まれる CD206 陽性細胞のマクロファージ系細胞への分化能力の有無について調査中である。

P1-78

α-TCP/Te-CP セメントの培養歯髄由来幹細胞に対する親和性の検討

○長谷川 智哉¹、川木 晴美²、神谷 真子²、河野 哲¹、高山 英次²、土井 豊³、玉置 幸道³、吉田 隆一¹、近藤 信夫² (朝日大 歯 歯科保存、²朝日大 歯 口腔生化学、³朝日大 歯 歯科理工)

偶発的な露髄症例では直接覆髄材として主に水酸化カルシウム製剤が用いられているが、歯髄の広範囲な壊死を引き起こす可能性が指摘されている。そこで我々は、炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウム二水塩を機械混合した後、加熱処理して得られる α-リン酸三カルシウム/リン酸四カルシウム (α-TCP/Te-CP) 粉末に、種々の練和液を組み合わせたセメントを覆髄材として応用するために、培養歯髄細胞を用いて評価した。練和液として、1M リン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比 2.0 で練和したもの (A 群)、2M リン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比 1.5 で練和したもの (B 群)、1M クエン酸水溶液と粉液比 2.5 で練和したもの (C 群) を用い、対照として水酸化カルシウム製剤であるダイカル®を用いた (D 群)。これらのセメントを浸漬した原培地および、それを順次 1/2 ずつ希釈し、1/64 までの培地を用いてヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) を培養し、細胞毒性および細胞増殖を評価した。その結果、A,B,C 群では細胞毒性はほとんど認められず、細胞増殖も通常培地 (NC) 群と同等であったが、D 群では原培地から 1/16 希釈培地に毒性が認められ、細胞増殖も阻害されていた。また、培養した hDPSC の形態を観察したところ、A,B,C 群ではいずれも NC 群と同様の伸展した細胞が多数認められたが、D 群では原培地で丸く萎縮した細胞が多数観察された。さらに、X 線回折による解析の結果、A,B 群では α-TCP/Te-CP セメントのヒドロキシアパタイト (HA) への移行が認められ、SEM 観察でも低結晶性のアパタイトに固有なフレーク状析出構造物が観察されたが、C 群では HA への移行はほとんど認められなかった。以上の結果より、α-TCP/Te-CP 粉末は水酸化カルシウム製剤と比較して細胞への親和性に優れた材料であることが示された。また、A, B 群でアパタイト相への移行が確認されたことから、練和液としてはリン酸二水素ナトリウム溶液が適していることが示唆された。

P1-80

成熟破骨細胞の細胞内骨格に対するカルデクリンの影響

○長谷川 紘也^{1,2}、須田 直人¹、友村 明人² (明海大 歯 歯科矯正、²明海大 歯 生化学)

【目的】骨代謝研究において、病的な骨破壊の成因となる破骨細胞の分化調節機構を明らかにすることは重要な研究課題である。これまでに成熟破骨細胞においてカルデクリンは細胞内 Ca²⁺ シグナル系の抑制により、アクチンリング形成が抑制されることを報告してきた。しかし、細胞内骨格構築に対するカルデクリンの影響は不明である。そこで今回、細胞内骨格に対するカルデクリンの影響を検討した。

【方法】成熟破骨細胞はマウス骨髄細胞およびマウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞に RANKL を添加し分化させた。成熟破骨細胞に種々の阻害剤またはカルデクリンを添加して培養し、固定したのちにアクチン、チューブリンを免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて比較検討した。

【結果】成熟破骨細胞は RANKL 存在下でアクチンリングが確認され、RANKL 非存在下ではアクチンリングがほとんど消滅した。また、種々の阻害剤またはカルデクリンを添加するとアクチンリング形成が阻害されて分断が認められた。細胞内骨格を構成するチューブリンではカルデクリンを添加すると集積が阻害される傾向が認められた。種々の阻害剤を添加した場合でも同様にチューブリンの集積が阻害される傾向が認められた。

【考察】カルデクリンは、成熟破骨細胞の細胞内骨格構築に対しアクチンリング形成およびチューブリンの集積を阻害し、sealing zone 形成を抑制することで骨吸収を抑制することが示唆された。

P1-81

骨芽細胞に対する圧縮刺激により分泌される IL-33 を介した破骨細胞分化抑制メカニズム
 ○清宮 弘康^{1,2}、有吉 渉¹、沖永 敏則¹、西原 達次¹
 (¹九歯大 感染生物、²九歯大 顎顔面外科)

【目的】我々は、骨芽細胞に機械的圧縮刺激を負荷することにより破骨細胞分化抑制因子 OPG の分泌が亢進し、その結果、破骨細胞分化が負に制御されることを報告した。しかし、負の制御メカニズムを詳細に検討したところ、この現象を OPG の分泌亢進のみで説明することはできないという考えに至った。そこで、機械的圧縮刺激により未知の液性因子が分泌されると想定し、関連因子をスクリーニングしたところ、IL-33 がその役割を担う可能性を示唆するデータが得られた。【方法】3 次元培養ゲルに培養骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を包埋し、チタン製プレートを用いて、0~10 g/cm² の範囲で圧縮力を負荷した。圧縮刺激後の培養上清中の IL-33 濃度を ELISA にて分析した。また、単層培養した破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞を RANKL、IL-33 にて刺激し、TRAP 染色、Real-time RT-PCR、Western blot 法、蛍光免疫染色法にて破骨細胞分化に及ぼす影響を検討した。【結果および結論】3 次元培養ゲル圧縮刺激後の培養上清中に IL-33 の分泌の亢進が観察された。また RAW264.7 細胞に対する IL-33 添加より、RANKL に誘導される破骨細胞分化および、破骨細胞分化関連遺伝子 (NFATc1、TRAP、OC-STAMP、CTSK) および関連タンパク (NFATc1) の抑制が認められた。さらに、IL-33 に誘導される破骨細胞分化の抑制メカニズムとして破骨細胞分化抑制遺伝子 IRF-8 の発現亢進による NFATc1 の転写抑制が示唆され、これは IRF-8 の抑制因子である Blimp1 の発現抑制を介すると考えられた。以上の結果から、機械的圧縮刺激が骨芽細胞からの IL-33 産生を亢進し、破骨細胞分化に対し抑制的に作用するメカニズムの一端が明らかとなった。

P1-83

象牙質・幹細胞凝集複合体の骨補填材としての機能評価
 ○田中 雅士¹、川木 晴美²、小栗 健策¹、森 春菜¹、神谷 真子²、河野 哲¹、高山 英次²、吉田 隆一¹、近藤 信夫²
 (¹朝日大 歯 歯科保存、²朝日大 歯 口腔生)

我々は、象牙質が骨に類似した硬組織であり、抜去歯から供給可能であることに着目し、様々な幹細胞と共培養し凝集させた象牙質・幹細胞凝集複合体を作成して骨補填材として用いる方法を考案した。そして、様々な培養条件を検討して作成した象牙質・幹細胞凝集複合体が操作性の点でも骨補填材として使用可能であることが確認され、本学会にて報告してきた。今回は、象牙質・幹細胞凝集複合体の特性を検討するために、既存の骨補填材・幹細胞凝集複合体を水酸化アパタイト (hydroxyapatite: HA)、β-リン酸三カルシウム (β-tricalcium phosphate: β-TCP) を用いて同様に骨補填材・幹細胞凝集複合体を作成し、ヌードマウス皮下に移植して、骨補填材単独で移植した試料との比較検討を行った。埋植 3 週間後に取り出した組織よりパラフィン包埋切片を作成して HE 染色、ビクロシウスレッド染色による組織化学的な観察を行い骨様組織誘導能を検討し、さらに抗 CD31 抗体を用いて免疫染色を行い、血管新生について検討した。その結果、象牙質顆粒を埋植した組織では他の骨補填材を用いた場合に比べ、硬組織様組織の形成および明瞭な血管の進入が観察された。そして、象牙質・幹細胞凝集複合体は、象牙質を単独で埋植した場合に比べ、顆粒周囲により緻密な硬組織様の形成を誘導し、血管の進入も多数みとめられ、組織全体に分布していた。そこで、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて各種骨補填材存在下での増殖および遊走性を確認したところ、象牙質顆粒では他の材料に比べ HUVEC の増殖と遊走を顕著に促進し、血管新生を誘導することが示唆され、生体由来の骨補填材としての抜去歯牙の有効性が示された。

P1-82

アポトーシス関連 p53 標的遺伝子の発現と細胞死誘導における DNA 結合因子 ARID3B の重要な役割
 ○Endrawan Pratama¹、井関 祥子¹、池田 正明¹ (¹医科歯科大 院医歯 分子発生)

【Background】The p53 tumor suppressor plays a critical role in the cellular response to genotoxic stress, and induces cell-cycle arrest or apoptosis by activating a wide range of its target genes. ARID3A and ARID3B are family members of the AT rich interaction domain (ARID) DNA-binding proteins. ARID3A has been shown to play a critical role in transcriptional activation of pro-arrest p53-target gene, *p21^{WAF1}*. However, the role of ARID3B in the p53 pathway remains unclear. 【Materials and Methods】To induce DNA damage, U2OS human osteosarcoma cells were treated with doxorubicin for 24 h. Gene silencing were performed by transfection with small interfering RNA (siRNA) that targets ARID3A, ARID3B and p53, and incubated for 48 h prior to doxorubicin treatment. Overexpression experiments were performed with recombinant adenoviruses expressing ARID3A, ARID3B, and p53. Gene expression levels were determined by quantitative real-time reverse transcription (RT)-PCR analysis. Cell viability was determined by trypan blue exclusion test. 【Results and Discussion】siRNA-based *ARID3B* silencing suppressed transcription of proapoptotic *PUMA* and *PIG3* after DNA damage, whereas *ARID3A* silencing suppressed the expression of *p21^{WAF1}*, but not proapoptotic genes. Overexpression of *ARID3B* induced transcription of proapoptotic p53-target genes. In line with this, *ARID3B*, but not *ARID3A*, silencing suppressed cell death induced by DNA damage. 【Conclusion】These results suggest that ARID3B plays critical roles in expression of proapoptotic p53-target genes and cell death following DNA damage.

P1-84

8-ニトロ-cGMP はマウス成長板の伸長を促進する内因性シグナル分子である
 ○星野 真理江^{1,2}、宮本 洋一¹、吉村 健太郎¹、田中 準一³、美島 健二³、馬場 一美²、上條 竜太郎¹ (¹昭大 歯 口腔生、²昭大 歯 歯科補綴、³昭大 歯 口腔病理)

長管骨の伸長は成長板軟骨細胞の増殖と分化の厳密な制御により進行する。成長板の伸長や軟骨細胞の肥大化分化に一酸化窒素 (NO) が重要な役割を果たすことが報告されているが、詳細なメカニズムは不明である。最近、NO 依存的にニトロ化された環状 GMP (cGMP) の代謝物である 8-ニトロ-cGMP が、様々な組織で遺伝子発現や細胞増殖を制御する新たな細胞内シグナル分子として同定された。しかし、骨あるいは軟骨における 8-ニトロ-cGMP の生成や機能に関する報告はない。一方、C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) は cGMP を介して軟骨細胞の増殖と肥大化分化を促進することが知られている。そこで我々は、軟骨における CNP の生物活性が 8-ニトロ-cGMP 産生を介して発揮される可能性を探った。NO 合成酵素 (NOS) 阻害剤存在下および非存在下で、胎生 16 日のマウス脛骨の器官培養系に CNP を添加し、4 日間培養後、脛骨の形態測定および成長板軟骨の組織化学的解析を行った。CNP は成長板における 8-ニトロ-cGMP 生成と成長板および脛骨の伸長を誘導したが、NOS 阻害剤はこれらを阻害した。マウス初代培養軟骨細胞を CNP で刺激したところ、8-ニトロ-cGMP の生成と細胞増殖が認められたが、NOS 阻害剤はこれらを抑制した。さらに、化学合成した 8-ニトロ-cGMP は、器官培養下の脛骨成長板の伸長およびマウス初代培養軟骨細胞の増殖を促進した。8-ニトロ-cGMP はタンパク質の SH 基を S-グアニル化することが知られているが、CNP あるいは合成 8-ニトロ-cGMP による脛骨の伸長および培養軟骨細胞の増殖は、硫化水素の影響を受けなかったことから、タンパク質グアニル化を介さない可能性が考えられた。以上の結果は、8-ニトロ-cGMP が成長板における CNP の生物活性の少なくとも一部を仲介し、成長板の伸長を促進する新たなシグナル分子であることを示唆する。会員外共同研究者：赤池孝章 (東北大学大学院医学系研究科医科学専攻社会医学講座環境保健医学分野)

P1-85

MAPK 経路を介した炭酸含有アパタイト焼結体の骨芽細胞増殖分化における作用の解析
 ○近藤 雄三¹、川木 晴美²、高橋 潤¹、大崎 公資¹、神谷 真子²、高山 英次²、土井 豊³、永原 國央¹、近藤 信夫²
 (¹朝日大 歯 インプラント、²朝日大 歯 口腔生化学、³朝日大 歯 歯科理工)

【目的】我々は、新しい骨補填材料として、骨アパタイトと同等の炭酸イオンを含む炭酸含有アパタイト焼結体(CA)を開発し、CA上で培養したラット骨髄由来間質細胞では細胞接着と増殖が促進され、これにはERK1/2経路が関与していることを見出し報告してきた。そこで今回はラット頭蓋冠由来骨芽細胞を用いてCA上での増殖分化を観察し、制御に関与するシグナル伝達経路について検討した。【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CA、水酸化アパタイト(HA)、およびβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)の各材料をコーティングした培養プレートに播種し、増殖、骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現変化、アルカリホスファターゼ(ALP)活性、および石灰化について検討した。さらにリン酸化ERK1/2、p38MAPK、JNKのウェスタンブロット解析とそれぞれの経路の阻害剤を用いて骨芽細胞の増殖、分化、および分化に関連する遺伝子の発現変化について検討した。【結果および考察】CAおよびHA上で培養した細胞ではp38MAPKが顕著にリン酸化され、さらにCA上では、他の材料に比べERK1/2、JNKのリン酸化も顕著であった。CAは他の材料に比べ、骨芽細胞の接着・増殖に優れており、その効果はERK1/2、JNK経路の阻害によって抑制された。またALP活性およびALPの染色性はHAとCA上で、β-TCP上に比べ顕著に高く、石灰化においてはCAが優れていた。そして、ALP活性はp38MAPK阻害剤添加で低下した。石灰化はp38MAPKおよびJNK経路を阻害することで抑制された。以上の結果から、骨芽細胞の接着と増殖に対するCAの効果の一部はERK1/2経路を介しており、分化誘導についてはp38MAPKとJNK経路が関与していることが示唆された。

P1-86

血管内皮細胞由来のNetrin4は破骨細胞分化を抑制し、骨量低下への予防効果
 ○榎木 祐一郎¹、佐藤 毅¹、大久保 正彦¹、古株 彰一郎²、白井 通彦³、依田 哲也¹
 (¹埼玉大 医 口腔外科、²九歯大 分子情報生化学、³九歯大 歯周病制御再建)

骨は、骨芽細胞と破骨細胞によりリモデリングを受けて調節されているが、骨代謝の不均衡による骨量の低下は、骨粗鬆症や歯周病などの骨減少症を引き起こす。近年、骨における血管系や神経系が骨代謝に重要である報告がされているがその制御機構については十分に解明されていない。本研究では、血管形成を促進し、神経の軸索伸長を誘導する分子であるNetrin4(Ntn4)に着目し、血管内皮細胞の破骨細胞分化に対する作用と、骨量低下モデルマウスに対するNtn4の予防効果を調べた。実験は、血管内皮細胞株のNtn4の発現をRT-PCRで確認し、マウス骨髄由来破骨細胞と血管内皮細胞株を用いて、非接触型共培養法(非接触培養)を行った。破骨細胞のTRAP染色、real-time PCR解析、培養上清のELISA法による解析を行った。さらに、血管内皮細胞株にRNA干渉によるNtn4-siRNAを導入し、破骨細胞との非接触培養を行った。また、RANKLを短期間投与して作製する骨量低下モデルマウスを用い、Ntn4を予防投与し、骨形態計測を行った。動物実験は、動物実験委員会の承認を得て行った。血管内皮細胞はNtn4を発現しており、血管内皮細胞との非接触培養で、破骨細胞の分化が抑制され、培養上清中にNtn4の発現を認めた。Ntn4のsiRNAを導入した血管内皮細胞との非接触培養で、破骨細胞の分化抑制が解除された。また、Ntn4を予防投与した骨量低下モデルマウスで、破骨細胞数の抑制を介して骨量低下が抑制された。従って、血管内皮細胞による破骨細胞分化抑制はNtn4を介することが示され、Ntn4は骨量低下モデルマウスの骨量を増加させることが明らかとなった。今回の結果を踏まえ、Ntn4は神経・血管形成と骨形成を促進させるサイトカインとして有用である可能性が示唆され、血管系による骨代謝の調節機構を担う分子である可能性が示唆された。

P1-87

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}、杉山 悟郎¹、福島 秀文³、古株 彰一郎¹、自見 英治郎¹
 (¹九歯大 分子情報生化学、²九歯大 歯科侵襲制御、³福歯大 細胞生理)

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common malignant tumor of the oral cavity, head and neck. The bone invasion by OSCC is a critical factor for metastasis, and affects the prognosis of patients. Nuclear factor-κB (NF-κB) is constitutively activated in many cancers including OSCC, and is involved in the invasive characteristics of OSCC. We previously reported that a selective inhibitor of NF-κB inhibited bone invasion by OSCC in mouse model. In this study, we examined the effects of novel NF-κB inhibitor, IMD-0560, which is known to use for the clinical trial for rheumatoid arthritis (RA), on bone invasion by OSCC *in vitro* and *in vivo*. IMD-0560 inhibited basal and TNFα-induced NF-κB activation in human OSCC, Ca9-22, HSC-2, and mouse SCC7. Moreover, IMD-0560 prevented TNFα-induced migration and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) activity of OSCC. We also investigated the effect of IMD-0560 on bone invasion by OSCC using bone invasion mouse model. Mice injected with OSCC to the mandibular region showed clearly tumor growth and zygomatic bone destruction after 4 weeks. IMD-0560 treatment started 1 week (early treatment) or 2 weeks (late treatment) after OSCC injection. Treatment with IMD-0560 (3 or 5 mg/kg) suppressed both tumor growth and zygomatic bone destruction in a dose dependent manner. Early treatment group significantly suppressed zygoma bone destruction by OSCC cells. In addition, late treatment also reduced tumor growth and bone invasion, suggesting that IMD-0560 might be more clinically applied to preventing bone invasion by OSCC.

P1-88

マウスに惹起したコレステリン肉芽腫における異物巨細胞の細胞性格
 ○坂井 謙三¹、松田 紗衣佳¹、正村 正仁²、大須賀 直人²、中野 敬介¹、川上 敏行¹
 (¹松歯大 総歯研 病態解析、²松歯大 口腔健康分析)

【目的】コレステリン肉芽腫には多数の多核巨細胞が出現し、一般的にacid phosphatase (ACP)の活性が高い事は衆知の事実である。しかし、その多核巨細胞の細胞性格についての知見は乏しい。そこで、マウスを用いて実験的コレステリン肉芽腫を惹起させ、その組織反応、とくに多核巨細胞を病理学的に検討した。【材料と方法】実験にはddYマウスを用い、その背部皮下組織内にcholesterin (Ch) 10 mgを埋入した。すなわち、イソフルランによる吸入麻酔下に、マウスの背部に切開を加え同部にChを埋入、一針縫合し実験を終了した。以後、2週および4週後に埋入部組織を一塊として摘出し、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋切片とし、病理組織学的に検討した。さらに、tartrate resistant acid phosphatase (TRAP)染色も行った。【結果と考察】病理組織学的に、埋入2週例では埋入部に多量の肉芽組織が増殖していた。詳細に観察すると、Chは各種の大きさの空隙として観察され、その周囲には線維芽細胞やマクロファージ(Mφ)が増殖していたが、線維芽細胞よりMφが優位であった。さらに、それらの増殖細胞群に存在するように毛細血管があり、その多くは充血していた。Chに接する部位にはMφの集簇があり、一部ではその癒合体により形成されたと考えられる多核巨細胞(異物巨細胞)がみられた。埋入4週例では、病理組織学的変化は乏しかった。しかし多核の異物巨細胞については、その核数の増加があり、その容積も増大していた。しかし、その数は減少していた。いずれの時期に出現したこれらの異物巨細胞も、TRAP染色において弱いながらも陽性に反応した。この事は、今回の実験系で惹起したChに対して出現する異物巨細胞は破骨細胞と同等とまで言えないまでもかなり強いACPを持っている事が示唆された。

P1-89

実験的に惹起させた歯根膜息肉の病理組織学的検討

○松田 紗衣佳¹、中野 敬介¹、正村 正仁²、大須賀 直人²、辻極 秀次³、川上 敏行¹
(¹松歯大 総歯研 病態解析、²松歯大 口腔健康分析、³岡山理大 理 臨床生命科学)

【緒言】根尖性歯周炎の成立機序に関し、同部に浸潤、増殖する細胞動態の詳細は明確になっていない。今回、Osugaら (J Hard Tissue Biol 22: 517-520, 2013) の方法に準じマウスを用い実験的に惹起させたところ歯根膜部に慢性肉芽組織の増殖が強く、歯根膜息肉が形成された。そこで、これをマイクロCT (m-CT) による観察にあわせて病理学的に検討した。【方法】実験には8週齢の ddY マウスを用いた。イソフルランによる吸入麻酔による、全身麻酔下で m-CT により術前撮影を行った。撮影後マウスを固定板に固定し上顎右側第一臼歯をヨードチンキにて消毒し、歯科用エンジンに 1/2 歯科用ラウンドパーを用いて上顎第一臼歯の歯冠部を露髄・髓床底部を穿通・開放した。開放後、処置状態の確認のため m-CT の術後撮影を行った。以後経時的に最大6ヶ月後まで m-CT で経時的に観察し透過性の病変を確認した該当部を一塊として摘出した。10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定後、通常に従い脱灰、パラフィン包埋の連続切片標本を作製した。以後は病理学的に検討した。【結果と考察】 m-CT 像について、術前・術直後と比較すると、術後2ヶ月では上顎臼歯の歯根分岐部に明瞭な透過像が認められた。この透過像は画像的に歯髓腔に連続していた。最長の6ヶ月経過例では、歯冠は完全に崩壊し、髓床直下歯槽骨は減少していた。当該領域の病理組織標本では、一部に若干の膿瘍が残存していたが、そのほとんどが肉芽組織と化し崩壊した歯髓腔内に増殖しており、それは重層扁平上皮で覆われていた。歯根分岐部のいわゆる歯槽骨部には若干不規則な骨梁で、ヘマトキシリンに染色された改造線のみられる新生骨であった。同時に行った同様の事例においてもほぼ同様の病理組織像であった。これは実験的に惹起させた歯根膜息肉の状態と考えられる。

P1-90

ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清を用いた急性心筋梗塞の治療効果の検討

○山口 聡¹、山本 朗仁¹、若山 博隆¹、石川 純¹、上田 実¹ (名大 院医 顎顔面外科)

【緒言】高齢化社会の到来により虚血性心疾患の患者数は顕著に増加している。近年、幹細胞の利用が新たな治療戦略の一つとして注目されている。我々は脱落乳歯より採取した歯髄幹細胞の無血清培養上清 (SHED-CM) の抗炎症効果や組織修復効果を報告してきた。【目的】マウス心筋虚血再灌流傷害モデル、新生ラット培養心筋細胞を用いて SHED-CM の急性心筋傷害に対する治療効果を検証した。【方法】マウスの冠動脈を結紮し、30分後に再灌流することにより心筋虚血再灌流傷害モデルを作製した。再灌流時に頸静脈より SHED-CM500 μL を単回投与した。24時間後、血液および心臓を採取し梗塞サイズの測定、血中トロポニンI値の測定、虚血組織における炎症性サイトカインの遺伝子発現の評価、心筋細胞のアポトーシスの評価を行った。10日後に心エコーにより心機能の評価を行った。また、新生ラットより心室心筋細胞を採取、培養し、LPSによる炎症惹起、低酸素培養、無血清培養を行った。これらに SHED-CM を添加し、炎症性サイトカイン遺伝子発現の評価、細胞のアポトーシスの評価を行った。【結果】SHED-CM 群では、虚血再灌流傷害後の心筋梗塞サイズの縮小、血中トロポニンI値の低下、炎症性サイトカイン遺伝子の発現抑制、アポトーシス抑制効果を認めた。心エコーでは左室内径短縮率の低下を抑制した。また、SHED-CM は培養心筋細胞においても炎症性サイトカイン遺伝子の発現抑制、アポトーシス抑制効果を示した。【結論】SHED-CM は心筋虚血後の単回投与で心筋傷害を減弱する効果を示した。その機序として、SHED-CM による抗炎症効果、抗アポトーシス効果の関与が示唆された。近年、幹細胞移植や細胞シートによる虚血性心疾患の治療効果が報告されているが、幹細胞培養上清の投与はより低侵襲で臨床的に応用しやすい方法である。以上から、SHED-CM 投与は虚血性心疾患の有望な治療法となりうる事が示された。

P1-91

ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清を用いた関節炎モデルマウスにおける治療効果の検討

○石川 純¹、山本 朗仁¹、若山 博隆¹、山口 聡¹、上田 実¹ (名大 院医 顎顔面外科)

【背景】関節リウマチ (RA) は多発性関節炎を主徴とする原因不明の炎症性自己免疫疾患である。関節に起きた炎症は、滑膜や軟骨にまで波及し、関節の破壊や変形をきたす。進行すると患者の QOL は著しく低下する。抗炎症剤、ステロイド、抗リウマチ薬に加えて、近年、生物学的製剤の登場により RA の治療成績は劇的に改善したが、それらの薬剤をもってしてもなお 2~3 割の RA 患者では治療の奏功が認められない。【目的】我々はヒト歯髄幹細胞無血清培養上清 (SHED-CM) に着目し、これまでに SHED-CM に含まれるパラクライン因子が抗炎症、抗線維化効果を有することを報告してきた。本研究では、関節炎モデルマウスに対する SHED-CM の治療効果の検討を行い、新規作用機序のリウマチ治療薬の開発を目的とした。【材料・方法】8週齢の雄性 DBA/1J マウスに対し、関節炎惹起用モノクローナル抗体カクテルを腹腔内投与し、関節炎モデルマウスを作製した。関節炎発症後、SHED-CM を尾静脈より単回 500 μL 投与した。治療効果を関節炎スコア、後肢の厚さ (hind paw thickness) の測定、組織学的解析および遺伝子学的解析にて評価した。【結果】関節炎スコアおよび hind paw thickness の測定で、SHED-CM 投与群で対照群に比較して有意な改善を認めた。組織学的解析において、炎症細胞浸潤および組織破壊の有意な抑制を認めた。遺伝子学的解析において、炎症性サイトカインおよび破骨細胞関連遺伝子の有意な発現抑制を認めた。【結論】SHED-CM は関節炎発症後、静脈内に単回投与することで症状を改善、組織破壊を抑制した。よって、SHED-CM の新たな関節リウマチ治療薬としての有効性が示唆された。

P1-92

歯周病原菌由来 TLR リガンドによる糖尿病性腎症の促進

○高田 俊輔¹、梶原 弘一郎¹、石川 博之¹、沢 積彦²
(¹福歯大 成長発達歯、²福歯大 生体構造)

【目的】糖尿病性腎症の一因の終末糖化産物 (advanced glycation endproducts; AGE) は単球や腎組織細胞に受容体で認識され、自然免疫受容体 toll-like receptor (TLR) の発現を誘導する。今回、糖尿病マウス腎糸球体における TLR の発現と歯周病原菌由来 TLR リガンドによる糖尿病マウス腎症の促進を検討した。【材料と方法】ICR マウスにストレプトゾトシンを投与した 1 型糖尿病マウスおよび KK/TaJcl マウスに高脂肪飼料を与えた 2 型糖尿病マウスを用い、血糖測定と尿検査によって糖尿病と腎症を観察した。蛍光免疫染色、in situ hybridization、組織リアルタイム PCR、また歯周病原菌 Porphyromonas gingivalis 由来 LPS 投与糖尿病マウスの生存試験を行なった。【結果】糖尿病マウス腎糸球体では、他の組織血管では見られない TLR2/4 の発現が見られた。LPS 投与糖尿病マウスは対照マウス全数生存期間に全数死亡し、その尿タンパク・尿糖は高値で、腎糸球体では IL-6, TNF-α, TGF-β および 1 型コラーゲンの顕著な増生が観察された。【考察】歯周病原菌 LPS が糖尿病マウスの生存期間を縮小し、糸球体硬化に特徴的な増生、また TLR 誘導性サイトカインの発現が見られたこと、および尿の所見から、血中 LPS が TLR を介して糸球体内皮を活性化させ、さらに糸球体血管に隣接するメサンギウムが内皮由来のサイトカインを受けて活性化し糸球体硬化を促進させると考えられた。重度歯周病ではブラッシングが容易に菌血症を招く。また糸球体の構造は血液物質を停滞させ易く、糖尿病により糸球体に AGE の蓄積と TLR 発現が誘発されることが考えられる。血中物質が門脈循環を介して肝臓に入る腸管と異なり、口腔からの血液は体循環を経由して直接腎循環に入るため、糖尿病患者では歯周病が腎症の発症リスクとなる可能性が考えられる。【結論】糖尿病環境下の腎糸球体は TLR2/4 を発現し血中の歯周病原菌由来 TLR リガンドを認識して腎症を促進させる。

P1-93

口腔扁平苔癬の悪性化にヒトパピローウイルス16型感染が関与する可能性についての検討
 ○加藤 世太¹、河合 遼子¹、磯村 まどか¹、
 佐藤 伸明¹、加藤 郁郎¹、吉田 和加^{1,2}、
 佐藤 恵美子^{1,2}、杉田 好彦^{1,2}、久保 勝俊^{1,2}、
 前田 初彦^{1,2} (¹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、悪性病変に関与する高リスク型のヒトパピローウイルス16型(HPV16)と、口腔前癌状態である口腔扁平苔癬(OLP)の悪性化との関係について考え、悪性化したOLPにおけるHPV16感染について検討した。

【材料および方法】愛知学院大学歯学部附属病院および関連施設にて1987~2010年に病理診断によりOLPと診断され、その後悪性化していない200症例および悪性化した8症例を対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋病理組織切片よりDNAを抽出し、3種類のコンセンサスプライマーを用いたPCRを実施し、陽性と判定された症例についてHPV16型特異的PCRを実施しその陽性率を算出した。また、*In-situ* hybridizationと免疫染色を実施した。

【結果】悪性化していないOLP(200症例)のHPV16の陽性率は25.5%であった。男女別陽性率は男性26.0%、女性25.2%で、臨床型別陽性率は最も高いのはびらん型で28.3%であり、続いて斑状型(25.9%)、網状型(18.6%)、萎縮型(0.0%)の順であった。また、悪性化した8症例のうち5症例(62.5%)においてHPV16が陽性と判定され、陽性となった症例の臨床型は全てびらん型であった。

【結論】悪性化したOLP症例において、悪性病変に関与する高リスク型のHPV16感染が高率にみられた。また、悪性化していないOLP症例においても、特にびらん型に多く感染していることが判明した。これらのことから、HPV16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。

P1-95

マウス下顎切歯歯胚の幹細胞におけるSox2およびOct4の発現
 ○丸尾 直樹¹、岡村 和彦²、沢 禎彦³、
 坂上 竜資¹ (¹福歯大 歯周病、²福歯大 病態構造、³福歯大 機能構造)

【目的】近年、齲蝕や咬耗・摩耗により喪失したエナメル質実質欠損、歯周病により喪失した歯根膜などに対して、組織再生療法の研究が注目されている。今回、生涯伸び続けるマウスの下顎切歯、特に未分化の幹細胞を有するその根尖部(cervical loop部)に着目しマウス下顎切歯根尖部に存在する幹細胞の位置と動態について観察、検討した。

【材料および方法】胎生13、15、17、19日齢、生後2日齢のマウスから下顎切歯を含むように組織を剖出し、直ちに10%ホルマリンに固定し、通常に従い切片の作製を行った。HE染色にて組織部位を確認後、Sex-determining region Y-box 2 (Sox2)とOctamer-binding transcription factor 4 (Oct4)にて免疫組織化学的評価を行った。

【結果および考察】Sox2は転写の調節やクロマチン構造の調節に重要な転写因子の一つである。Sox2の発現部位とその経時的变化について免疫組織化学的に検討し評価したところ、胎生期および生後マウスにおいてSox2は口腔粘膜上皮や歯胚に発現していた。さらに胎生期から生後までの間に、マウス下顎切歯のエナメル質形成に関与するLabial cervical loop部に限局して発現することが明らかとなった。また、Oct4に関しても免疫組織化学的に検討し評価したところ、Oct4ではLabial cervical loop部を含め、Sox2よりも広い細胞種に発現を認められた。さらに共焦点顕微鏡下にてSox2とOct4の共局在が確認でき、Sox2とOct4は協調して初期発生を制御している可能性が推察された。

P1-94

エナメル上皮腫におけるmTOR pathwayの機能解析
 ○馬場 貴¹、山下 善弘¹
 (¹宮崎大 医 顎顔面口腔外科)

Ameloblastoma is the second most common odontogenic tumor. It is a frequently encountered odontogenic tumor located in jaws, with a strong predilection for the posterior region of the mandible. Ameloblastoma is characterized by a benign but locally invasive behavior with a high risk of recurrence despite adequate surgical removal. Therefore, a radical resection, which often leads to a severe damage to patient's masticatory function and physiognomy owing to defect of the jaw, is usually the only choice. Traditional chemotherapy and radiation taken the place of surgical treatment have been unexplored or contraindicated for the treatment of Ameloblastoma. However, the recent identification of altered molecular signaling pathways has begun to elucidate mechanism of oncogenesis, differentiation, tumor progression, and plausible non surgical considerations for treatment. At recent study, mTOR pathway is present in Ameloblastoma, and, the p-mTOR expression had influence on Ameloblastoma recurrence. The aim of this study is assessment of chemotherapy in ameloblastoma treatment, and we show that the inhibition of mTOR by the Rapamycin displays a decrease of tumor proliferation in vitro, as it induces the apoptotic death of Ameloblastoma cells. These findings suggest the inhibition of mTOR pathway as a potential chemotherapeutic target for Ameloblastoma.

P1-96

がん転移における腫瘍血管内皮細胞と腫瘍細胞の相互作用
 ○間石 奈湖¹、進藤 正信²、樋田 京子¹
 (¹北大 遺制研 血管生物、²北大 院歯 口腔病理病態)

がんの血行性転移において、腫瘍細胞は血管内皮細胞間を通過して血液循環に入ることから、腫瘍細胞と血管内皮細胞(EC)の相互作用は重要である。我々はこれまでヌードマウスの皮下移植腫瘍(高転移性、低転移性)から2種類の腫瘍血管内皮細胞(高転移性腫瘍由来:HM-TEC、低転移性腫瘍由来:LM-TEC)を、正常マウスから正常皮膚由来EC(NEC)を分離培養し、TECがNECと比較して様々な差異があること、さらにはHM-TECとLM-TECのように転移能が異なる腫瘍由来のTEC間でも様々な性質の違いがあることを明らかにした。本研究では、高転移性腫瘍内のTECが、腫瘍細胞と相互作用し、がんの転移に関わる可能性について検討した。低転移性腫瘍細胞と各ECをマウス皮下に共移植すると、腫瘍細胞単独移植およびNEC、LM-TEC共移植マウスでは肺転移が見られないのに対し、HM-TECとの共移植において循環腫瘍細胞数の増加と肺転移の促進が認められた。そこでHM-TECが腫瘍細胞の血管内侵入の過程に関与するのではないかと考え、*in vitro*で腫瘍細胞の血管内侵入のステップをそれぞれ解析した。腫瘍細胞はHM-TECに対して最も高い走化性、接着能を示した。NECやLM-TECに比べ、HM-TECにおいて特異的に発現が亢進している分子Xに着目し、その遺伝子発現をRNAiによりノックダウンすると、腫瘍細胞の遊走および転移が有意に抑制された。腫瘍細胞培養上清処理により、LM-TECもHM-TECのような性質を獲得したことから、HM-TECの特異性質獲得には腫瘍細胞由来液性因子が関与することが示唆された。以上より、腫瘍微小環境内で変化した腫瘍血管内皮細胞が、がんの転移促進に関与することが示唆された。

P1-97

マウスに惹起した咬合性外傷の病理組織学的検討
 ○三村 泰亮¹、高谷 達夫¹、中野 敬介²、
 松田 紗衣佳²、岡藤 範正³、大須賀 直人¹、
 川上 敏行²、藤井 健男¹ (松歯大 口腔健康分
 析、²松歯大 病態解析、³松歯大 院 臨床病態
 評価)

【目的】外傷性咬合は歯周組織に大きな影響を与え、歯槽骨が急速に吸収するなど高度な歯周組織破壊を惹起すると考えられている。そこで、今回我々は咬合性外傷を誘発する動物実験モデルを新たに確立し、歯周組織における咬合性外傷を病理組織学的に検討した。【材料と方法】使用したマウスは7週齢の ddY および C57BL/6 で、ペントバルビタールナトリウムでの腹腔内麻酔下で上顎第一臼歯咬合面にマイクロプラスクリュー(頭部直径 1.7 mm、頭部厚さ 0.5 mm、呼び径 1.0 mm、全長 3.5 mm) を植立した。対合する下顎第一臼歯に咬合性外傷を誘発し、該当歯の根分岐部の歯根膜について、病理組織学的検討および必要に応じて TRAP 染色による検討を、無処置のマウスの同部位を対照群として、外傷性咬合による過重な負荷を加えた実験開始後 14 日までの経時的組織変化を探索した。【結果と考察】対照群の歯根膜線維芽細胞は、核と細胞質ともに紡錘形で比較的密に存在した。その間には微小毛細血管が介在しており、歯槽骨表面近傍に若干の多核巨細胞を認めた。実験 4 日群の歯根膜は充血傾向を示し、ヘマトキシリンに濃染する円形の細胞核を有する細胞の細胞密度が上昇していた。また、多核巨細胞は歯槽骨表面に散見された。実験 7 日群では実験 4 日群と比較し、歯根膜線維芽細胞の密度が低下した。さらに、歯根膜中央部における多核巨細胞の出現と、セメント質および歯槽骨表面には蝕食性吸収窩の形成を認めた。実験 14 日群では多核巨細胞を伴う硬組織吸収窩は拡大していた。また、今回観察した多核巨細胞は TRAP 染色で陽性反応を示した。以上の所見は、セメント質および歯槽骨がその表面から多核巨細胞によって活発に吸収された結果であり、実験的に過重に負荷した外傷性咬合により惹起されたものと考えられた。

P1-99

飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に関与する可能性
 ○四釜 洋介¹、工藤 保誠²、石丸 直澄²、
 船木 真理¹ (徳大 病院 糖尿病対策セ、²徳大
 院 HBS 口腔分子病態)

Type 2 diabetes (T2D) is characterized by decreased insulin sensitivity and higher concentrations of free fatty acids (FFAs) in plasma. Among FFAs, saturated fatty acids (SFAs), such as palmitate, have been proposed to promote inflammatory responses. Although many epidemiological studies have shown a link between periodontitis and T2D, little is known about the clinical significance of SFAs in periodontitis. In this study, we show that gingival fibroblasts in human and murine periodontal tissue express CD36, which is also known as FAT/fatty acid translocase. DNA microarray analysis revealed that palmitate increased mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and chemokines in human gingival fibroblasts (HGF). In accordance with the result, we confirmed that palmitate induced interleukin (IL)-6, IL-8, and CXCL1 secretion in HGF by a cytokine array and ELISA. Another saturated fatty acid, stearate, also induced IL-6 and IL-8. A CD36 specific inhibitor, sulfo-N-succinimidyl oleate (SSO), markedly inhibited palmitate-induced IL-6, IL-8, and CXCL1 secretion. Finally, we demonstrate that *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) LPS and heat killed *P.g* augment palmitate-induced chemokines secretion in HGF. These results implicate for the first time a potential link between the pathogenesis of periodontitis and SFAs in plasma.

P1-98

高血糖はヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を阻害し、炎症性サイトカインの産生を促進する
 ○嘉藤 弘仁¹、岡村 友玄¹、富永 和也¹、
 和唐 雅博¹、西川 哲成¹、田中 昭男¹
 (大歯大 口腔病理)

【目的】歯根膜幹細胞(PDLSCs)は歯周組織再生のカギとなる細胞であり、また糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターの一つである。しかし、糖尿病と歯周組織再生の関連はまだまだ明らかではない。本研究の目的は、糖尿病患者の血糖値を想定した各種グルコース濃度による PDLSCs の細胞増殖、骨芽細胞分化、炎症性サイトカイン産生への影響について検討した。さらに、糖尿病における骨組織破壊や炎症を誘導する因子である、Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) の遺伝子発現についても検討した。

【方法】PDLSCs は、ヒト抜去歯より歯根膜組織を採取し、分離・培養した。PDLSCs を各種グルコース濃度 (5.5 mM, 8.0 mM, 12.0 mM, 24.0 mM) に調整した培地で培養し、細胞増殖、細胞接着、Runx2、オステオネクチン(OSN)、RAGE mRNA 発現、ALP 活性、1 型コラーゲン (PIP) 産生量、オステオカルシン (OCN) 産生量、カルシウム析出量、Alizarin red 染色による石灰化物形成能、および炎症性サイトカイン (IL-6, IL-8) の産生量を検討した。

【結果】PDLSCs の細胞増殖、細胞接着、Runx2、OSN mRNA 発現、ALP 活性、PIP 産生量、OCN 産生量、カルシウム析出量および、石灰化はグルコース濃度依存的に抑制され、RAGE mRNA 発現および IL-6, IL-8 産生量は促進した。

【考察】PDLSCs に対する糖尿病患者の血糖値を想定した各種のグルコース濃度による影響を検討した結果、糖尿病による高血糖状態が歯周組織再生を阻害し、歯周組織破壊を誘導する可能性が示唆された。これらの結果は糖尿病患者の歯周治療を行う際の血糖値コントロールの重要性を示すエビデンスになると考えられる。

P1-100

LPS 長期刺激による炎症反応関連遺伝子の DNA メチル化
 ○高井 理衣¹、植原 治²、原田 文也¹、
 宇津宮 雅史¹、中條 貴俊¹、吉田 光希¹、
 佐藤 惇¹、西村 学子¹、千葉 逸朗²、
 安彦 善裕¹ (北医大 歯 臨床口腔病理、²北医
 大 歯 保健衛生)

【目的】エピジェネティクスは、DNA 塩基配列の変化を伴わず遺伝子発現を変化させるものであり、中でも DNA メチル化は、主要な因子の一つである。近年、エピジェネティクスは歯周炎の発症・進行への関与を示唆する報告があるものの、詳細は不明である。本研究では、歯周病原菌である *P.gingivalis* 由来の LPS で長期に亘り刺激されたヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDLs) における炎症反応関連遺伝子の DNA メチル化解析を行った。

【方法】HPDLs (LONZA) を LPS (WAKO, ATCC 33277, 1 μg/ml) 添加、非添加 DMEM (3 日毎に交換) にて、1 ヶ月間培養した。また、コントロールには LPS の代わりに滅菌水を用いた。抽出した DNA を超音波処理にて断片化、cytidine 5-dUTP および cytidine 3-dUTP にて蛍光ラベリング、Human CpG islands 224k array にハイブリダイズ、DNA Microarray Scanner (Agilent technology) にて検出・解析した。また、アレイ解析結果から炎症反応関連遺伝子のプロモーター領域に位置し、なおかつメチル化レベルが 4 倍以上を示すものを選び出し、定量的 real-time PCR (SYBR Green) による mRNA 発現解析を行った。さらに、DNA メチル化の再現性を確認するため、定量的 Methylation-Specific PCR (SYBR Green) を行った。得られた結果はすべて、Mann-Whitney U 検定にて比較・検討した (P < 0.05)。

【結果と考察】全遺伝子中、30,112 probes (5,952 genes) で 2 倍以上の高メチル化がみられ、25,878 probes (6,864 genes) で 1/2 以下の低メチル化が認められた。アレイ解析結果から選出した 33 遺伝子中、9 つの遺伝子で mRNA の発現が低下していた。これらの遺伝子はいずれも、定量的 Methylation-Specific PCR において、メチル化レベルの上昇が確認された。以上の結果から、炎症関連の 9 遺伝子は、LPS 長期刺激により DNA の高メチル化を介した発現低下のみられることが示唆された。

P1-101

HPV-16 型感染と口腔扁平上皮癌リンパ節転移について

○河合 遼子¹、磯村 まどか¹、佐藤 伸明¹、加藤 世太¹、吉田 和加¹、佐藤 恵美子¹、杉田 好彦¹、久保 勝俊¹、前田 初彦¹
(¹愛大院 歯 口腔病理)

【目的】中咽頭におけるヒトパピローマウイルス (HPV) 感染が関与した扁平上皮癌では予後が良いと報告されている。しかしながら、口腔領域の扁平上皮癌の HPV 感染と予後についての検索はほとんど行われていない。また、HPV 感染と口腔扁平上皮癌の転移についても現在までに報告はみられない。そこで、今回、我々は口腔内原発扁平上皮癌のリンパ節転移がみられた症例と、転移が認められなかった症例について、HPV-16 型感染を検索した。【対象・方法】リンパ節転移がみられた 30 症例と、転移が認められなかった扁平上皮癌 100 症例のホルマリン固定パラフィン包埋組織切片より、DNA を抽出した。コンセンサスプライマーを用いて PCR を実施し、陽性と判定した症例を対象として悪性病変に関与する HPV-16 型特異的プライマーを用いた検索を行った。【結果】リンパ節転移がみられた症例の原発巣のみ HPV-16 型陽性を示した症例は 16.7% (5/30 症例) となり、原発とリンパ節転移巣の両部位共に陽性を示した症例は 10% (3/30 症例) であった。また、転移が認められなかった扁平上皮癌では、陽性を示した症例は 43.0% (43/100 症例) であった。原発とリンパ節転移巣の両部位共に陽性を示した症例と転移が認められなかった扁平上皮癌症例では有意な差が認められた ($p < 0.05$)。【考察】以上より、リンパ節転移を示した口腔扁平上皮癌は転移が認められなかった扁平上皮癌より HPV 感染率が低いことが判明した。また、リンパ節転移がみられた症例の中でも、原発とリンパ節転移巣の両部位共に陽性を示した症例は少なかった。このことより、HPV 感染に関与した口腔扁平上皮癌では転移が少ないことが判明し、HPV 感染が転移の診断指標となりうる可能性が示唆された。

P1-103

Streptococcus sanguinis による NLRP3 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 (¹北大 院歯 口腔分子微生物、²北医大 歯 微生物)

Streptococcus sanguinis, a human oral inhabitant, is one of the most potent agents of infective endocarditis. However, the pathogenesis is not fully understood. Recently, the proinflammatory cytokine IL-1 consisting of IL-1alpha and IL-1beta has been shown to contribute to the pathogenesis. IL-1beta secretion is regulated by the activation of inflammasome. Recently, we found that whole cells of *S. sanguinis* induce IL-1beta secretion in the murine dendritic cell line XS-106 cells and the IL-1beta-inducing activity was inhibited by silencing of caspases-1 mRNA as well as the caspases-1 inhibitor z-YVAD-fmk and by silencing of NLRP3 mRNA. Therefore, to determine more conclusively the roles of caspase-1 and NLRP3 inflammasome in *S. sanguinis*-induced IL-1beta production, this study was designed to examine whether *S. sanguinis* induces IL-1beta production by bone marrow derived macrophages (BMMs) from C57BL/6 mice and caspase-1-, NLRP3- and ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain)-deficient mice. *S. sanguinis* induced production of IL-1beta by BMMs derived from C57BL/6 mice in dose- and time-dependent manners, but not by caspase-1-, NLRP3- and ASC- deficient BMMs. Thus, this study strongly suggests that *S. sanguinis* activates the NLRP3 inflammasome to produce IL-1beta in murine dendritic cells and macrophages.
(Non-member coauthor: Prof. Toshihiko Suzuki, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus)

P1-102

口腔癌の顎骨浸潤における TGFβ シグナルの役割

○中村 亮介^{1,2}、原田 清²、山口 朗¹
(¹医科歯科大 院医歯 口腔病理、²医科歯科大 院医歯 顎顔面外科)

口腔癌による骨浸潤・破壊の分子メカニズムは未だ明らかではない。Transforming growth factor-β (TGFβ) は骨基質中に豊富に蓄えられており、癌の顎骨浸潤に伴う骨破壊により放出され、様々な影響を及ぼすとされている。また TGFβ は癌細胞に上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) を誘導することで浸潤・転移能を高めることが知られている。今回、口腔癌骨微小環境における TGFβ シグナルの役割を明らかにすることを目的として検討を行った。

口腔扁平上皮癌による顎骨浸潤臨床検体において、p-Smad2 の免疫染色を行ったところ癌細胞、破骨細胞の核に陽性反応を認めた。そこで、口腔癌細胞株において TGFβ シグナルが関与しているか Western Blot にて検討した。TGFβ1 の添加により Smad2 のリン酸化が促進、TGFβ type I レセプター阻害剤の添加により抑制された。また RT-PCR において TGFβ1 を添加することで、間葉系マーカーである Vimentin、転写因子として知られている Slug の発現上昇を認めた。さらに、破骨細胞前駆細胞である Raw264 細胞に RANKL 存在下で TGFβ1 を添加することで TRAP 陽性多角細胞数の増加を確認した。この癌細胞をヌードマウス頭蓋骨へ移植したところ、免疫染色にて p-Smad2、Vimentin の発現を認めた。また、TGFβ type I レセプター阻害剤を添加することで骨吸収面積の低下を確認した。これらの結果から、口腔癌骨微小環境における TGFβ シグナルが Vimentin 発現と骨破壊に関与している可能性が示唆された。

P1-104

Veillonella tobetsuensis 由来の Autoinducer の検出と精製

○真島 いづみ¹、鎌口 有秀²、宮川 博史²、藤田 真理²、中澤 太²
(¹北医大 院歯、²北医大 歯 微生物)

[Backgrounds] It is suggested that oral *Veillonella* has important roles in the biofilm formation at early stage. Our previous study demonstrated that supernatants from *V. tobetsuensis* had inhibiting effects for the biofilm formed by *Streptococcus gordonii*, but in case of existing bacterial cells of *V. tobetsuensis*, the biofilm formation was promoted. It was suggested that some factors in supernatants may affect the biofilm formed by *S. gordonii*. [Purpose] In this study, autoinducer-1 and Autoinducer-2 (AI-1 and AI-2) were focused as one of the factors in the supernatants and tried to detect and purify from the supernatants. [Method] The crude AI-1 was extracted by ethyl acetate from the culture supernatants of *V. tobetsuensis*. Then these extracts were evaporated to dryness after filtration. The residues that were dissolved in ethanol were used in bioassay using *C. violaceum* CV026 and *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4) to detect AI-1. AI-2 activities in the supernatants were detected by using Vibrio assay as already reported previously. The supernatants were filtered through a 0.2-μm-pore-size filter and subsequently through an Amicon Ultra Centrifugal Filters Ultracel-3K (Millipore). The filtrate was lyophilized, suspended in cold sodium phosphate buffer, and chromatographed on a C18 Sep-Pak reverse-phase column (Waters Co.) according to the manufacturer's instructions. AI-2 activity in the column fractions was followed by monitoring the induction of bioluminescence of *Vibrio harveyi* BB170 (sensor 1- sensor 2 +). [Results] AI-1 was detected in the supernatants from *V. tobetsuensis* when only *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4) was used. Also, AI-2 was detected strongly in the supernatants from *V. tobetsuensis*. Partial purification of AI-2 was succeeded and the bioluminescence level was about 10 times compared with that of supernatants. [Discussion & Conclusion] According to prosperity of *R. radiobacter* NTL4 (pZLR4), *V. tobetsuensis* may produce long chain N-acyl Homoserine Lactone as AI-1. It is the first report that AI-1 and AI-2 from *V. tobetsuensis* has affected biofilm formation.

P1-105

舌背および歯肉上皮の有棘細胞に恒常的に認められる免疫抑制 B7-H1 分子発現
 ○康 思雯¹、大野 建州¹、東 みゆき¹
 (1)医科歯科大 院医歯 分子免疫)

[Purpose] B7-H1/PD-L1 (CD274) is one of co-inhibitory ligands that bind to an immunoregulatory receptor PD-1 (CD279). B7-H1 is often induced on non-lymphoid cells at the inflammatory condition as well as lymphoid cells. B7-H1 is also induced on oral squamous cell carcinoma (OSCC) and blockade of the B7-H1-PD-1 inhibitory pathway efficiently enhanced antitumor immune responses. Epithelial surface in the whole body has distinct structure and functional roles. We here histologically examined expression of B7-H1 in various sites of epithelial surface. [Results and Discussion] B7-H1 was spontaneously expressed at high levels in the prickle-cell layers of dorsal surface of tongue and gingiva in intact adult BALB/c mice. Some of epithelial keratinocytes in hard palate also expressed B7-H1. No expression was observed in other oral mucosae including ventral surface of tongue, buccal, soft palate and lip mucosae, and other sites of epithelia including nasal, esophagus, tracheal, lung, gastrointestinal and vaginal mucosae and skin. We have tried to detect expression of a counter receptor PD-1, but the substantial expression was not observed. B7-H1 expression in the prickle-cell layers of dorsal surface of tongue and gingiva was consistently observed in aged mice. TPA-painting induced B7-H1 expression not only in prickle-cell layers but in all layers of cells with basal cell proliferation assessed by a proliferation marker Ki67. The dorsal surface of tongue and gingiva is masticatory mucosa that receive various dietary and microbial stimuli, thus expression of B7-H1 may play important roles to control unwanted excess immune responses. We found the unique spontaneous expression of B7-H1 in oral epithelia in mice.

P1-107

16S rRNA 遺伝子解析を用いた唾液中の細菌群集の由来についての検討
 ○影山 伸哉¹、竹下 徹¹、柴田 幸江¹、
 山下 喜久¹ (1)九大 院歯 口腔予防医学)

【目的】唾液中の細菌構成は舌苔に比較的類似しているとされるが、その細菌群集の由来については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、緑上ブラークの細菌構成が大きく変化する歯周治療前後で、その変動パターンを唾液および舌苔の細菌構成の変動パターンと比較検討することで、唾液中の細菌群集の由来と歯周治療による口腔細菌叢の変化について考察した。【方法】歯科医院を訪れた歯周病患者 21 名より採取した唾液、舌苔、緑上ブラークより DNA の抽出を行った後、細菌共通配列であるプライマー 8F、806R を用い、16S rRNA 領域の遺伝子を増幅し、Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 法を用いてそれぞれの細菌構成の差異を比較した。さらに、歯周治療終了時に唾液、舌苔、ブラークを再採取し、歯周治療前後のブラークの細菌構成の変動と唾液および舌苔の細菌構成の変動との関連性について検討を行った。【結果と考察】T-RFLP 法により得られた歯周治療前のピークパターンの類似度 (1-Bray-curtis 指数) は、緑上ブラークと唾液間よりも舌苔と唾液間の方が有意に大きく、唾液中の細菌構成は緑上ブラークよりも舌苔により類似していることが示唆された。緑上ブラークの変動が認められる治療前後では、緑上ブラークと唾液で有意な相関を示すピークの唾液中の割合は 1.1% で、緑上ブラークの変化が唾液に与える影響は極めて小さいことが示唆された。一方、唾液と舌苔では、唾液中のピークの 13.0% で有意な相関を示した。以上より唾液の細菌群集の構成には緑上ブラークよりも舌苔が大きく影響していることが示唆された。今後は、歯周治療に伴う舌苔と唾液の細菌構成の変化の詳細を明らかにすることで、歯周治療が口腔の細菌叢の全体の構成に及ぼす影響について検討を進める予定である。

P1-106

細菌感染時のオートファジーにおける Bcl-2 タンパク質群の機能解析
 ○中島 慎太郎¹、渡辺 孝康¹、野澤 孝志²、
 相川 知宏²、丸山 史人²、中川 一路²
 (1)医科歯科大 院医歯 細菌感染制御、2)京大 院医 微生物感染症)

【目的】オートファジー (自食作用) は、栄養飢餓時に著しく誘導され、細胞質成分を分解することで栄養源の確保に働いている。また近年になって、本機構が細胞内に侵入した病原細菌を分解・排除する新たな免疫機構として機能していることも明らかとなった。栄養飢餓時のオートファジーの誘導には、細胞死の制御を司る Bcl タンパク質群とオートファジー関連 (Atg) タンパク質群の相互作用が重要であることが報告されている。一方、細菌感染時のオートファジーの誘導におけるこれら分子の機能や相互作用の重要性は明らかではない。そこで、感染によってオートファジーと細胞死を引き起こす A 群レンサ球菌を用い、感染時の細胞死及びオートファジー解析から、2 つの細胞応答の双方を制御する Bcl タンパク質の同定を試みた。【方法】Bcl タンパク質群のうち、細胞死抑制因子である Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Mcl-1、Bcl-2-A1 の強発現細胞において、1. 感染細胞の細胞死の定量、2. オートファゴソーム形成率及び細胞内生菌数の測定、3. LC3-II 量の経時的検出、を行った。【結果】これまでに、Bcl-2 強発現細胞においては、過剰な Bcl-2 が Beclin1 (Atg6) の哺乳類でのホモログ) に直接結合することで、栄養飢餓時のオートファジーの誘導を抑制することが報告されている。しかし、本研究においては、Bcl-2 強発現細胞での本菌感染による細胞死は抑制されたが、オートファジーの誘導や細胞内生菌数に変化はみられなかった。一方で、Bcl-xL、Bcl-w、Bcl-2-A1 の強発現細胞では、細胞死の抑制だけでなく、オートファゴソーム形成率の低下と細胞内生菌数の増加が観察された。【考察】Bcl-xL、Bcl-w 及び Bcl-2-A1 が、細菌感染時の細胞死とオートファジーの双方を制御する「司令塔」として機能していることが示唆された。

P1-108

Mild heat stress 下で発現する *Candida albicans* の表層抗原探索
 ○田崎 園子¹、長 環¹、橋本 麻利江¹、
 今吉 理恵子¹、永尾 潤一¹、小島 寛²、
 田中 芳彦¹ (1)福歯大 感染生物、2)福歯大 障害者歯科)

Candida albicans は口腔カンジダ症だけでなく医療の分野においてインプラントや血管カテーテル上にバイオフィルムを形成し、バイオフィルム関連の感染症や全身のカンジダ症を患者に引き起こすことが問題となっている。バイオフィルム形態の *C. albicans* は浮遊性のものよりも抗真菌薬に耐性を示し、抗真菌薬を効きにくくすることもこの問題を増悪させる要因となっている。一方、熱刺激は医療の現場では筋肉・骨損傷や悪性腫瘍の治療効果を上げる物理的方法として広く用いられているほか、感染に対する宿主の反応である発熱としてはサイトカインの誘導と病原体除去の最適化を誘発することで知られている。我々はこれまでに、バイオフィルム形態を示す *C. albicans* が 37℃ の環境と比較し 39℃ の環境下において抗真菌薬、とくに細胞壁合成酵素阻害作用のミカファンギン (エキノキサンディン系) が奏効することを報告した。これは 37℃ の環境下と比較して、39℃ の環境下では *C. albicans* が酵母形細胞より菌糸形優位の細胞構成を取ることと、その菌糸構造上に抗真菌薬の標的となる酵母形態には無い分子を発現することによる薬剤感受性の変化のためであると考えられた。しかしながら、その温度上昇に伴い菌体表層に特異的に発現する分子が何であるかは明らかとなっていない。今回、*C. albicans* SC5314 株を用い、温度上昇による遺伝子発現の変化をマイクロアレイ法を用いて解析することで、mild heat stress (39℃) に特異的な分子として細胞表層構造に関わる遺伝子に発現の変化を見出した。この温度・菌形態変化により発現すると考えられている分子は薬剤感受性だけでなく、免疫細胞に対しても有利な抗原となる可能性が考えられる。

P1-109

舌下免疫療法における抗原取り込み機構と処理に関わる細胞の解析

○白石 大祐^{1,2}、田中 志典^{2,3}、島内 英俊¹、菅原 俊二² (¹東北大院歯 歯内周治療、²東北大院歯 口腔分子制御、³東北大院歯 小児発達歯科)

【目的】舌下免疫療法は、抗原を舌下粘膜から吸収させ免疫寛容を誘導することによりアレルギー症状の改善をはかる、簡易で安全な治療法として近年注目されている。本研究は、舌下組織での抗原取り込み機構と、抗原の処理に関わる細胞のサブセットを解明することを目的とした。【方法】マウス舌下に Ovalbumin (OVA)、DQ OVA、蛍光ビーズ等を投与し、抗原と MHCII⁺細胞の局在を免疫組織学的に解析した。また、抗原処理に関わる抗原提示細胞のサブセットをフローサイトメトリーで解析した。【結果】マウス舌下に OVA 投与後、唾液腺開口部付近の導管上皮に OVA の強陽性反応が見られた。蛍光ビーズ等の粒子状抗原も導管細胞内に検出された。さらに、導管上皮直下の MHCII⁺細胞が DQ OVA を取り込んだ。また、導管周囲の CD45⁺ MHCII⁺細胞集団のうち、主に CD11b⁺ CD11c⁻ マクロファージ様細胞による蛍光色素標識 OVA 抗原の取り込みが、in vitro で示された。【考察】以上の結果は、1) 舌下粘膜に投与された抗原は唾液腺導管開口部から侵入し、導管上皮細胞を通過して導管周囲の抗原提示細胞へと受け渡される、という新たな機構の存在と、2) 導管を含めた舌下組織は、従来考えられていた以上に粘膜免疫組織として重要であり積極的に利用できる可能性を示唆する。

P1-111

CRISPR による *Porphyromonas gingivalis* のゲノム進化制御

○渡辺 孝康¹、野澤 孝志²、相川 知宏²、丸山 史人²、中川 一路² (¹医科歯科大 院歯内周病、²京大院医 微生物感染症)

細菌の進化において、ゲノム再構成および遺伝的組換えのような核酸の移動が重要である一方、プラスミドなどの移動を抑制する clustered interspaced short palindromic repeat (CRISPR) が近年注目されている。我々は歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* 55 株において、4ヶ所の CRISPR 領域の PCR 検出・塩基配列同定によって、*P. gingivalis* では CRISPR がゲノム再構成と菌体間組換えを抑制するという進化仮説を示してきた。今回、ドラフトゲノム配列の新規取得により、*P. gingivalis* 62 株のゲノム情報から CRISPR 領域を詳細に解析した。その結果、62 株から同定した CRISPR のスペーサー領域は 3,223 個で、クラスタリングにより 2,018 種類の non-redundant なスペーサーセットを得た。このうち 615 種類 (30.5%) は塩基配列データベース 7 種において標的配列を同定した。さらに、615 種類のうち 98.0% (603 種類) は、*P. gingivalis* のゲノムを標的としており、他の株のゲノム上に標的が存在するスペーサーが 93% を占めていた。また、全ゲノム配列が明らかでない 3 株と、その他 51 株との間におけるゲノム再構成の検出により、全ゲノム配列によるドットプロットと同様に複雑・大規模なゲノム再構成が起きていることが示され、3 株のゲノムにおける CRISPR スペーサーの標的部位のうち、ゲノム再構成の起点を含む 10 kbp 領域に存在しているものが有意に多かった (84.9 ± 12.3 loci)。以上より、ゲノム再構成および菌体間組換えを CRISPR が制御するという進化仮説がゲノム解析からも示された。

P1-110

Capnocytophaga ochracea の滑走運動とバイオフィーム形成への IX 型分泌機構の関与

○喜田 大智¹、菊池 有一郎²、国分 栄仁²、柴山 和子²、齋藤 淳^{1,3}、中山 浩次¹、石原 和幸^{2,3} (¹東歯大 歯周病、²東歯大 微生物、³東歯大 口腔科学研究セ、⁴長大院歯内周病 口腔病原微生物)

【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、滑走運動関連蛋白質分泌に関わる IX 型分泌機構をもつものがあり、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 Coch_1748 遺伝子と、それにより分泌される滑走運動関連蛋白質のオルソログ Coch_0203 遺伝子の変異株を作製し、IX 型分泌機構が、*C. ochracea* の滑走運動とバイオフィーム形成に与える影響を検討した。

【方法】*C. ochracea* ATCC 27872 株の Coch_1748、Coch_0203 に *ermF-ermAM* cassette を挿入した変異株を作製した。滑走運動は、0.1% Yeast extract 含有 Tryptic soy agar (TSAYE) 上とガラス平面上で、位相差顕微鏡を用い観察した。バイオフィーム形成量は、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°C、嫌気培養下で 6 ~ 48 時間培養後、クリスタルバイオレット染色により定量した。

【結果と考察】両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、Coch_1748 変異株では、培養後 6 時間で 45%、8 時間で 57%、24 時間で 52%、48 時間で 81% 程度の減少を認めた ($P < 0.05$)。Coch_0203 変異株では、48 時間において有意に減少し、32% 程度の減少を認めた。以上の結果より、*C. ochracea* の滑走運動とバイオフィーム形成に IX 型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。(会員外共同研究者：長大院 口腔病原微生物、柴田敏史)

P1-112

歯磨剤の抗菌効果および歯槽骨吸収抑制効果の検討

○佐藤 武則¹、早坂 奈美²、遠山 歳三¹、高橋 俊介³、浜田 信城¹ (¹神歯大院 微生物感染学、²小林製薬 オーラルケア開発、³神歯大院 口腔科学)

【目的】ピクノジェノール (PYC) は優れた抗酸化作用を持つ天然の植物成分であり、口腔ケアへの応用が期待されている。今回、我々は PYC 含有歯磨剤の *Streptococcus mutans* と *Porphyromonas gingivalis* に対する殺菌および増殖抑制効果、加齢ラットモデルを用いた歯肉血流量と歯槽骨吸収量について評価した。【方法】供試菌：BHI 培地で嫌気培養した *S. mutans* Ingbritt 株と *P. gingivalis* ATCC 33277 株を用いた。殺菌効果：各供試菌を BHI 培地に塗抹後、歯磨剤を含有した滅菌ディスクを静置し、発育阻止円の直径を測定した。増殖抑制効果：PYC を添加した BHI 培地に、供試菌を培地に対して 1/100 量接種後、経時的に濁度測定した。加齢ラットモデルを用いた歯槽骨吸収量および歯肉血流量の測定：7 週齢 SD 系雄性ラット口腔内に歯磨剤を週 5 日間、経口用ゾンデで投与し、実験開始から 60 日後に上顎骨を摘出後、実体顕微鏡による骨吸収量測定とマイクロ CT 撮影による形態変化ならびに TRAP 染色による病理組織学的検索を行なった。歯肉血流量は、実験開始前と終了時にレーザードップラー血流計で口蓋血流量を測定した。【結果と考察】歯磨剤は *S. mutans* と *P. gingivalis* に対して殺菌効果を示し、さらに含有成分である PYC により増殖抑制効果が認められた。加齢ラットモデルでは、歯磨剤投与群により歯周組織への破骨細胞の出現抑制とともに歯槽骨吸収量の抑制が有意に認められ、口蓋歯肉血流量も低下傾向を示した。以上の結果から、本研究で供試した歯磨剤は口腔ケアに有用であることが示唆された。

P1-113

Streptococcus sanguinis の細胞壁架橋型スクレアーゼの酵素活性

○森田 知里^{1,4}、住岡 龍一¹、中田 匡宣¹、
和田 聖史¹、岡橋 暢夫²、住友 倫子¹、
山口 雅也¹、浜田 茂幸³、山城 隆¹、
川端 重忠¹

(¹阪大 院歯 口腔細菌、²阪大 院歯 口腔フロ
ンティア、³阪大 微研、⁴阪大 院歯 矯正)

【目的】 *Streptococcus sanguinis* は亜急性細菌性心内膜炎の病巣から高頻度に分離される口腔レンサ球菌である。本菌が産生する多様な細胞壁架橋型表層タンパクは菌体の血液中への侵入や病態形成に関与すると考えられる。これまで、我々は推定スクレアーゼドメインを有する表層タンパクを Swan (*S. sanguinis* wall-anchored nuclease) と名付け、機能解析を行ってきた。本研究では、Swan の局在とスクレアーゼ活性に必要なアミノ酸残基の検索を行った。さらに、他の口腔レンサ球菌における細胞外 DNase 活性について検討した。

【方法】 Swan の活性部位を検討するため、スクレアーゼドメインに保存される推定活性残基と推定 Ca²⁺/Mg²⁺ 結合残基の点変異組換え体および部分組換え体を作製し、DNase 活性を一元放射状酵素拡散法により測定した。*S. sanguinis* SK36 株を親株として swan 欠失株を作製し、DNA 含有寒天培地上にて培養を行った後、菌体の細胞外 DNase 活性を検討した。また、*S. salivarius*、*S. mutans*、*S. sobrinus*、*S. parasanguinis*、および *S. oralis* の細胞外 DNase 活性についても同様の方法で検討を行った。

【結果と考察】 スクレアーゼドメインを有する部分組換え体のみがスクレアーゼ活性を呈した。さらに、推定活性残基および推定 Ca²⁺/Mg²⁺ イオン結合残基について、全ての点変異組換え体の酵素活性が消失あるいは減弱した。よって、スクレアーゼドメインとこれらの残基は活性に重要であることが明らかとなった。全菌体を用いた DNase 活性の解析において、swan 欠失により DNase 活性が顕著に減少したため、細胞表層の Swan が主に *S. sanguinis* の細胞外 DNase 活性に寄与することが示唆された。また、*S. sanguinis* の近縁種である *S. oralis* と *S. parasanguinis* の 2 菌種について、細胞外 DNase 活性が認められたことから、細胞外 DNase 活性は Mitis レンサ球菌群に共通する特徴であることが示唆された。

P1-115

Porphyromonas gingivalis はインフルエンザウイルスの感染性獲得に関与する

○神尾 宜昌¹、今井 健一¹、齋藤 夕子¹、
落合 邦康¹ (¹日大 歯 細菌)

【目的】 A 型インフルエンザウイルス (IAV) は、ウイルス表面のヘマグルチニン (HA) が宿主細胞のレセプターであるシアル酸に結合して感染を開始する。しかしながら、HA はそのままの状態 (HA0) では、シアル酸と結合できるものの膜融合できないため感染することはない。感染性を獲得するには、HA0 がプロテアーゼにより HA1 と HA2 に開裂しなければならない。このプロテアーゼは主に宿主由来であるが、黄色ブドウ球菌の産生するプロテアーゼでも開裂することが報告されている。口腔ケアはインフルエンザ発症のリスクを低下させることから、口腔細菌由来のプロテアーゼが HA を開裂し、IAV 感染に関与している可能性が考えられる。そこで本研究では、*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) が産生するジンジバインに注目し、IAV の感染性獲得に関与するかどうかについて検討を行った。

【方法】 *Pg* 培養上清 (Sup) が HA の開裂に及ぼす影響をウエスタンブロットにより検討した。また、*Pg* が HA を開裂させたことにより IAV が感染性を獲得したかどうかの検討は、IAV を MDCK 細胞に吸着させた後、*Pg*-Sup 存在下で培養し、蛍光免疫染色により感染細胞数を評価した。ジンジバイン阻害薬として、Rgp 阻害薬 (KYT-1) と Kgp 阻害薬 (KYT-36) を用いた。【結果と考察】 *Pg*-Sup による HA の開裂状態を調べた結果、HA の開裂が確認された。*Pg*-Sup 存在下で IAV 感染実験を行ったところ、非存在下ではほとんど感染が成立しないものの、存在下では多くの細胞に感染した。また、ジンジバイン阻害薬、KYT-1 処理により HA の開裂は抑制されたものの、KYT-36 処理では抑制されなかった。以上の結果から、*Pg* が産生する Rgp が HA を開裂し、IAV は感染性を獲得することが示唆された。

P1-114

ヒト歯肉上皮細胞におけるバクテリアによるアポトーシスと smad2 の関与

○吉本 哲也¹、藤田 剛¹、柴 秀樹¹、
栗原 英見¹ (¹広大 院歯歯保 歯周病態)

【目的】 歯周病原細菌による歯肉接合上皮表層細胞のアポトーシスの増強は歯周炎発症の一端を担う。しかしこのアポトーシスのメカニズムは不明な点が多く、このメカニズムを解明することは歯周病の病態の解明につながる。smad2 のリン酸化は胃上皮表層細胞の生理学的アポトーシスに関与する。本研究では、歯肉上皮細胞におけるリン酸化 smad2 と歯周病原細菌によって惹起されるアポトーシスとの関連性に着目し、その分子メカニズムを明らかにすることとした。

【方法】 不死化したヒト歯肉上皮細胞 OBA9 (阪大、村上伸也教授から供与) を培養し、精製した *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-outer membrane protein (Omp29) を使用した。recombinant Omp29 (1.0 μg/ml) を作用させた後、リン酸化 smad2、cleaved caspase-3、TGF-β は Western blotting 法、アポトーシスは TUNEL 法により評価した。また TGF-β type I receptor (TGF-βRI)、Integrin β1 (Itgβ1) siRNA transfection を用いて阻害実験を行った。

【結果】 Omp29 刺激下の OBA9 はリン酸化 smad2 が上昇しアポトーシス陽性細胞が増加した。TGF-βRI knockdown は Omp29 刺激下の OBA9 のリン酸化 smad2 上昇 とアポトーシスを著しく抑制した。OBA9 を TGF-β 中和抗体で前処理後に Omp29 で刺激すると smad2 のリン酸化は著しく減少した。また OBA9 細胞膜上の不活性化 TGF-β の発現量は Omp29 によって上昇していた。Itgβ1 が TGF-β を活性化させることから、Itgβ1 knockdown を行ったところ Omp29 刺激後の OBA9 では smad2 リン酸化とアポトーシスが著しく低下した。

【考察】 ヒト歯肉上皮細胞は Omp29 刺激によって不活性化 TGF-β を放出し、放出された不活性化 TGF-β は Integrin β1 によって活性化され、その結果 TGF-βR/smad2 シグナル伝達経路を活性化することでアポトーシスが亢進することを示した。これらの結果は、歯肉上皮細胞における細菌感染システムの新しい知見を示唆している。

P1-116

細菌性複合感染症における種多様性と機能頑強性

○加地 博一¹、丸山 史人²、道 泰之³、
渡辺 孝康³、中川 一路²、原田 清¹

(¹医科歯科大 院歯歯保 顎顔面外科、²京大 院医
研 微生物感染症、³医科歯科大 院歯歯保 歯周病)

顎骨骨髓炎は口腔内細菌が原因で発症する炎症性疾患であり、骨病変に於けるバイオフィーム形成が報告されていることから細菌性複合感染症と考えられる。口腔衛生状態の向上・抗菌薬の発達等にも関わらず、慢性化・重症化する症例も依然認められる。従来治療に抵抗性を示す慢性顎骨骨髓炎の発症機序・病態解明と有効な治療プロトコル作製のためには、その基盤となる細菌学的病因を解明する必要がある。本研究では、慢性顎骨骨髓炎患者を対象とし、採取した骨検体から全 DNA・RNA を同時に抽出後、16S rDNA・RNA を共通プライマーで増幅して高速シーケンサで塩基配列取得した。獲得した配列を系統分類解析し、DNA・RNA サンプル間の比較により検出された菌の活性を評価し、慢性化の原因となる細菌の同定を試みた。また、骨検体から抽出した全 DNA についてメタゲノム解析にて細菌叢が保有する全機能遺伝子情報を取得した。さらに、16S rRNA に基づく細菌叢解析から全ゲノムを予測して機能遺伝子の発現量を定量化し、メタゲノム解析からの情報と比較することで、疾患の発症・慢性化に寄与する主要な機能遺伝子の同定を試みた。その結果、i) 全ての病期に共通して検出される菌種、すなわち、顎骨骨髓炎のコア・マイクロバイームであっても、その全てが高い活性を有しているわけではないこと、ii) 活性の高い菌種がサンプル毎に異なるにも関わらず、細菌叢が保有する機能遺伝子自体は類似していた。このことから、複数の細菌種が類似の機能を保有することで、抗菌薬等により一部の細菌が除去されても、残存する細菌種が細菌叢の機能を保持することによって顎骨骨髓炎の症状が維持されている可能性が示唆された。

P1-117

イムノプロットによるバイオフィーム定量法を用いた軟性床用材料におけるバイオフィーム形成の評価

○金野 弘靖^{1,2}、吉田 康夫²、永野 恵司¹、長谷川 義明¹、中村 好徳²、田中 貴信²、吉村 文信¹
(¹愛院大 歯 微生物、²愛院大 歯 有床義歯)

【目的】近年、金属製クラスプによる審美性の低下やアレルギーへの対応として、ノンメタルクラスプデンチャーと呼ばれるクラスプを維持装置とせず、軟性床用材料の弾性を維持に応用した義歯が普及している。これらの材料の基礎的物性については様々な報告があるが、口腔内細菌によるバイオフィーム形成に関する検討はあまりない。そこで、今回我々は、軟性床用材料へのバイオフィームの定量に関する検討を行った。【方法】実験材料には軟性床用材料であるポリアミド系樹脂 (Valplast)、ポリエチレンテレフタレート系樹脂 (Estheshot)、ポリカーボネート系樹脂 (Jet Carbo Resin) を用いた。比較対照にはアクリルレジン (Acron) を用いた。シャーレに液体培地 BHI 22 ml に 25% 希釈ヒト唾液と口腔内レンサ球菌の *S. sanguinis* SK1 株を調整した菌液 0.5 ml を入れ、その中に各試料を浸し、37°C にて 24 時間培養した。培養後、各試料を取り出し、水洗後、20 ml PBS を入れた 50 ml コニカルチューブに移し超音波処理にて付着した細菌を剥離した。その後、10 倍希釈したサンプルを 100 μ l ニトロセルロース膜に吸着させ、特異的なウサギ抗体を用い、ECL を用いて化学発光後、その強度を ImageJ にて定量化し、CFU に換算した。【結果と考察】当初、従来頻繁に用いられてきた色素による付着細菌の定量を行ったが、色素により試料そのものが染められるため、正確なバイオフィームの定量を行えなかった。そこで、イムノプロット法によるバイオフィーム定量法を行ったところ、各試料において研磨なしとバフ研磨間において細菌付着量に有意な差を認める結果となった。異なる材料間による細菌付着の検討を行う際、従来の方法では比較が困難であったが、今回我々が行ったバイオフィームの定量法が有用である事が示唆された。

P1-119

Hemin 濃度が *Porphyromonas gingivalis* の増殖と生理活性に及ぼす影響

○大屋 学^{1,2}、田村 宗明^{2,3}、Cueno Marni²、落合 邦康^{2,3} (¹日大 歯 口腔健康科学、²日大 歯 細菌、³日大 総歯研 生体防御)

【目的】代表的な歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* は、慢性および侵襲性歯周炎の発症に深く関与し、性状や病原性などについての多数の研究結果が報告されている。今回、*P. gingivalis* の発育の必須成分である hemin 濃度が、菌の増殖に及ぼす影響について検討した。すなわち、培養後の増殖量、菌数を比較し、菌体内の生理活性を評価する目的で菌体内 R-gingipain 活性、過酸化水素量および SOD 量への影響について検討した。【方法】実験には *P. gingivalis* ATCC49417 株、W83 株および FDC381 株を用いた。培養は Brain Heart Infusion broth に各種濃度の hemin を添加した培地に各菌株を接種し、37°C、24 時間、嫌気条件下にて培養を行った。培養完了後、菌体量 (OD) を定量した。その後、OD 値を元に細胞数を揃え、洗浄・遠心後に得られた菌体をビーズで破砕後に遠心操作にて菌体内内容を回収した。サンプル内の R-gingipain 活性を BAPNA 加水分解能にて、また、過酸化水素量および SOD 量はそれぞれ測定 Kit を用いた。【結果および考察】添加した hemin 濃度は *P. gingivalis* の発育量に影響を及ぼすと共に、菌株間においても差が見られた。それぞれの菌体内生理活性において、R-gingipain 活性は、供試した 2 菌株で既報の条件の hemin 濃度 (5.0 ppm) で培養した場合が最も高く、5 倍濃度 (25.0 ppm) では低く、5.0 ppm 以下においては濃度依存的に低下した。また、菌体内の過酸化水素量及び SOD 量は、既報の hemin 濃度以外で上昇するなど菌株により異なった結果が得られた。これらの結果から培養時の hemin 濃度は *P. gingivalis* の増殖および生理活性と密接に関与しており、様々な影響を与えていることが示唆された。

P1-118

A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素が病原性に果たす役割

○山口 雅也¹、中田 匡宣¹、住友 倫子¹、川端 重忠¹ (¹阪大 院歯 口腔細菌)

A 群レンサ球菌は、咽頭炎や劇症型の壊死性筋膜炎など様々な炎症性の疾患を引き起こすグラム陽性細菌である。A 群レンサ球菌の劇症型感染症由来株は主に血清型 M1 が優勢であった。しかしながら、近年オーストラリアにおいて M4 型による劇症型感染症のアウトブレイクが報告された。本研究では、M4 型 A 群レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素 HylA が他の M 血清型と異なり活性化型である点に着目し、その病原性に果たす役割を解析した。

まず、M1 型ならびに M4 型 A 群レンサ球菌のゲノムを用いて組換え HylA を作製した。そして組換え HylA のヒアルロン酸分解活性について、吸光度計で分解産物量を算定することで比較した。その結果、M4 株由来組換え HylA がヒアルロン酸分解活性を持ち、M1 株由来組換え HylA は活性を持たないことが示された。一方、いずれの HylA も、ヒアルロン酸に近い構造を持つヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸に対して分解活性を示さなかった。次に、M4 型 A 群レンサ球菌について hylA 欠失株を作製し、ヒト皮膚角化細胞へ感染させ、細胞内における生存率を比較した。その結果、hylA 欠失により細胞内生存率が有意に低下することが示された。さらに、*Lactococcus lactis* について M4HylA 発現株と空ベクター導入株を比較したところ、HylA 発現株が有意に高い細胞内生存率を示した。

また、M1 型 A 群レンサ球菌について hylA 欠失株を作製し、マウスの腹腔に M1 型、あるいは M4 型それぞれの菌株を感染させ生存率を比較した。M4 型の A 群レンサ球菌の hylA 欠失株は、野生株と比較してマウスにおける病原性が大きく低下することが示された。一方、M1 型では病原性に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、M4 型由来の HylA がヒアルロン酸特異的な分解活性を持つこと、ならびに細菌の細胞内生存に寄与することが示された。さらに、M4 型 A 群レンサ球菌において、HylA が *in vivo* における病原因子として働くことが示唆された。

P1-120

Streptococcus mutans のバイオフィーム形成を抑制するアズキ抽出物の開発

○水原 真実子¹、荒井 俊明²、毛利 彰太¹、津金 貴則¹、佐伯 洋二¹、泉福 英信² (¹(株)ロッテ 中央研 口腔科学研、²国立感染研 細菌一)

Streptococcus mutans は代表的な齲蝕原因菌であり、そのバイオフィーム形成は CSP と呼ばれるペプチドをシグナル因子とするクオラムセンシングによって制御されている。これまでに齲蝕予防にむけ、抗菌剤による *S. mutans* の殺菌やバイオフィームの破壊などを目的とした研究が行われてきたが、それらは抗菌剤のバイオフィーム内への浸透性や耐性菌の出現、他の口腔常在菌への影響などに問題を抱えている。そこで、本研究では *S. mutans* のクオラムセンシングを標的とし、CSP 依存的なバイオフィーム形成を抑制する物質の探索・同定を行った。様々な植物の粉砕物に蒸留水を加え抽出後、遠心および吸引濾過にて残渣を除去し、上清を凍結乾燥にて粉末化することにより、水抽出物を調製した。各植物水抽出物の CSP 依存性バイオフィーム抑制活性を評価したところ、いくつかの豆類に高い活性が見出され、特にアズキの水抽出物が高い活性を示した。続いて、活性成分の同定のため、アズキ水抽出物を硫酸分画および 2 回の陰イオン交換クロマトグラフィーにて分画し、活性画分を得た。これを Native-PAGE にて分離したところ、メジャーバンドが見られた。このバンドをゲルから抽出し、LC-MS/MS にて解析した結果、アズキ 7S-グロブリンと最も高い相同性を示した。7S-グロブリンは多くの豆類に存在する貯蔵タンパク質であり、等電点沈殿にて容易に分画することができる。そこで、ダイズおよびインゲンマメに対して等電点沈殿を行ったところ、両者の 7S-グロブリン画分に CSP 依存性バイオフィーム抑制活性を見出した。しかし、7S-グロブリンは種によって分子量や構造が異なるため、作用メカニズムも異なる可能性が考えられる。今後は作用メカニズムの解明およびアズキ抽出物に関して *in vivo* での効果試験を行い、オーラルケア製品への応用を目指す。

P1-121

正電荷リポソームと細菌細胞およびバイオフィルムとの静電的引力に関する研究

○菅野 真莉加^{1,2,3}、森崎 弘史⁴、桑田 啓貴⁴、山本 松男² (昭大 歯 歯科理工、²昭大 歯 歯周病、³日本学術振興会、⁴昭大 歯 口腔微生物)

バイオフィルムは水や土壌の浄化などに利用される一方で、配管の腐食や閉塞、医療器具の劣化や感染症を惹き起こす。その構造は非常に複雑で、外来物質の侵入を制限する機構が備わっている。我々は、バイオフィルムと強く相互作用する分子として正電荷リポソームの応用を検討している。正電荷リポソームは、負電荷を帯びている細菌バイオフィルム表面に対して静電的相互作用によって結合するだけでなく、内部に浸透する可能性がある。そこで本研究では、正電荷リポソームと細菌細胞またはバイオフィルムとの相互作用について評価した。リポソーム構成脂質にカチオン性脂質を含むリポソームを正電荷リポソーム、含まないものを中性リポソームとし、各リポソームの平均粒子径とゼータ電位を測定した。次に、細菌細胞およびバイオフィルムに対して正電荷リポソームがどのような挙動を示すのかを明らかにするため、*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) UA159 株を用いて実験を行った。フローサイトメーターによる *S. mutans* 細胞とリポソームとの相互作用解析の結果、正電荷リポソームでは *S. mutans* 細胞との相互作用が濃度依存的に上昇した。また、共焦点レーザー顕微鏡でバイオフィルム周囲に多数の正電荷リポソームが結合している像が観察された。以上より、正電荷リポソームと細菌バイオフィルムとの相互作用の増強には静電的な引力が影響していることが示唆された。今後、正電荷リポソームを応用した新しいバイオフィルム制御戦略が期待される。尚、本研究は昭和大学歯科理工学部門の宮崎隆先生および東京薬科大学薬物送達学教室の新橋幸彦先生、根岸洋一先生、高橋葉子先生との共同研究の成果である。

P1-123

合成糖脂質の *Streptococcus mutans* バイオフィルムに対する作用

○黒澤 美絵^{1,2}、小田 真隆¹、土門 久哲¹、寺尾 豊¹ (新大 院医歯 微生物、²新大 院医歯 小児歯)

【目的】われわれが合成した結核菌由来の糖脂質は、代表的なバイオフィルム産生細菌である緑膿菌の感染拡大を抑制する。本研究では、う蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成に対する合成糖脂質各種の効果について解析した。

【方法】1%スクロース含有 Brain Heart Infusion 培地に、*S. mutans* MT8148 株と合成糖脂質を同時に添加した。プランクトニックな *S. mutans* の経時的な増殖は、吸光度測定装置で濁度を測定し算出した。また、24 時間培養後の *S. mutans* バイオフィルム量は、クリスタルバイオレット染色後に吸光度を測定し定量した。バイオフィルム形態は、Calcein-AM と Rhodamine B により蛍光染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。さらに、24 時間培養後の *S. mutans* における表面タンパク抗原 PAc とグルコシルトランスフェラーゼ GTF の発現の有無は、ウエスタンブロット法により解析した。

【結果と考察】合成糖脂質は、*S. mutans* の増殖には影響を与えることなく、バイオフィルム形成を濃度依存的に抑制した。蛍光顕微鏡像においても、合成糖脂質添加群ではコントロール群と比べ、濃度依存的なバイオフィルムの厚みの減少が観察された。さらに、合成糖脂質添加群では、バイオフィルムの形成に関与する PAc および遊離型 GTF の培養上清への遊離が阻害された。一方、菌体結合型 GTF の局在に変化は認められなかった。また、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、および大腸菌の増殖にも影響を及ぼさなかったことから、合成糖脂質は細菌叢を変化させることなく、*S. mutans* バイオフィルム形成を特異的に抑制することが示唆された。以上の結果より、合成糖脂質はう蝕を予防する新たな治療薬としての応用が期待される。(会員外共同研究者：山本 博文)

P1-122

溶血性レンサ球菌の DNA 分解酵素 SdaI 阻害による形質転換効率の向上

○小川 真理子^{1,2,3}、住友 倫子¹、川端 重忠¹ (阪大 院歯 口腔細菌、²阪大 院歯 有床補綴高齡、³Div. Infect Dis Hosp Epidemiol., Univ Hosp Zurich., Univ Zurich.)

Streptococcus pyogenes possesses low natural competence for the uptake of exogenous DNA. *S. pyogenes* expresses the potent virulence factor streptodornase I (SdaI) which as a deoxyribonuclease (DNase) degrades DNA. We hypothesized that the presence of this DNase could diminish plasmid uptake. This study aimed to investigate the influence of streptococcal DNase SdaI for *S. pyogenes* transformation and to improve the transformation efficiency of *S. pyogenes*. To determine the effect of SdaI on transformation efficiency, *S. pyogenes* MIT1 strain 5448 (WT) and its SdaI isogenic mutant (Δ *sdaI*) strain were tested as well as the SdaI overexpressing isogenic animal-passaged variant of *S. pyogenes* (AP). Furthermore, we examined SdaI activity of each of the strains and used ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) to inhibit SdaI enzymatic activity. The Δ *sdaI* strain displayed significantly higher transformation efficiency than WT while transformation efficiency was reduced in the SdaI overexpressing strain AP. As expected, high SdaI-expressing strains showed stronger DNase activity.

EDTA-treated WT showed significantly higher transformation efficiency than the untreated control while EDTA had no effect on transformation efficiency of Δ *sdaI* strain. EDTA-treatment reduced DNase activity of WT. Conclusion: When the DNase SdaI was present, the transformation efficiency of *S. pyogenes* was reduced. This effect was reversed by genetically or pharmacologically eliminating or reducing SdaI activity suggesting that the presence of SdaI reduced transformation efficiency by degradation of exogenous DNA. (Collaborator: Zinkernagel AS, Andreoni F and Ogawa T in Division of Infectious Disease and Hospital Epidemiology, University Hospital Zurich)

P1-124

Porphyromonas salivosa ATCC 49407 株 線毛の精製と性状について

○古谷田 泰徳¹、佐々木 悠¹、渡辺 清子¹、浜田 信城¹ (神歯大 院 微生物感染)

【目的】*Porphyromonas salivosa* は、様々な動物の歯肉溝に存在する偏性嫌気性グラム陰性の黒色素産生細菌で、ヒト歯周病に深く関わる *Porphyromonas gingivalis* と同属の細菌である。今回、我々は *Porphyromonas salivosa* ATCC 49407 株から線毛の分離精製を行い、その性状について検討を行った。【方法】線毛の精製：*Porphyromonas salivosa* ATCC 49407 株をブレインハートインフュージョン液体培地にイーストエキストラクト、ヘミン、ビタミン K₁ を添加した培地で一昼夜培養した菌体を超音波処理後、遠心処理した上清を 40% 硫酸塩析により粗線毛を分画した。この粗線毛タンパク質を DEAE Sepharose CL-6B 陰イオン交換クロマトグラフィーを行って精製を行った。

線毛タンパク質の分子量は 12% SDS-PAGE を用いて決定した。線毛の局在：精製線毛に対する特異抗体を作製し、Western blot 法と金コロイド法による免疫電子顕微鏡観察を行った。【結果および考察】*Porphyromonas salivosa* ATCC 49407 株から精製された線毛タンパク質の推定分子量は 60K であった。この 60K 線毛は、*Porphyromonas gingivalis* や *Porphyromonas gulae* に存在する 41K 線毛、53K 線毛および 67K 線毛とは異なった抗原性を示した。従って、*Porphyromonas salivosa* 菌体表面には、*P. gingivalis* や *P. gulae* の線毛とは抗原性と分子量の異なるタンパク質で構成される線毛が発現していることが明らかになった。

P1-125

Streptococcus mutans に対する植物由来抽出物の殺菌ならびに抗バイオフィルム効果の検討
○坂上 雄樹^{1,2}、土門 久哲¹、小田 真隆¹、興地 隆史²、寺尾 豊¹
(¹新大 院医歯 微生物、²新大 院医歯 う蝕)

【目的】厚朴は、モクレン科の植物であるホオノキの樹皮や根皮を乾燥させてできる生薬である。漢方薬に配合され、抗菌作用を有することが報告されている。厚朴成分のうち、Magnolol と Honokiol が抗菌作用を司るとされ、口腔領域では歯周病原性細菌群に対する抗菌効果が報告されている。本研究では、これら植物由来抽出物が *Streptococcus mutans* に及ぼす作用について検討した。【方法】厚朴抽出物、Magnolol もしくは Honokiol を添加した BHI 培地に、前培養した *S. mutans* MT8148 株を添加し、37℃、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養した。培地濁度の変化により浮遊状態における抗菌効果を評価した。対照には、クロルヘキシジングルコン酸塩 (CHX) を使用した。続いて、0.5% スクロース添加 BHI (BHI-S) 培地を用い、厚朴抽出物、Magnolol、および Honokiol の *S. mutans* バイオフィルム形成能に及ぼす影響を検索した。次に *S. mutans* を BHI-S 培地にて 24 時間培養し、形成したバイオフィルムに各抽出物もしくは CHX を 30 秒間作用させた。その後、LIVE/DEAD 細胞生存率アッセイキットを用いて染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。得られた画像を Imaris ソフトウェアにて解析し、3 次元画像を構築した。【結果と考察】厚朴抽出物、Magnolol、および Honokiol は浮遊菌に対して抗菌効果を示すとともに、バイオフィルム形成を抑制した。また、バイオフィルムに対しては、Magnolol は CHX と比較して深部まで浸透殺菌効果を示した。以上より、Magnolol は *S. mutans* バイオフィルムに対する優れた殺菌効果を有することが示唆された。今後は、口腔内バイオフィルム制御への応用が期待される。

P1-127

ワルファリンナトリウム投与ラットの動脈および骨出血に対するヘムコンデンタルドレッシング^(R)の止血効果
○唐川 亜希子¹、坂井 信裕¹、栗谷 未来^{1,2}、高見 正道¹、諸橋 富夫¹ (¹昭大 歯 歯科薬理、²昭大 歯 障がい歯科)

Purpose: The objective of this study was to examine the effectiveness of HemCon Dental Dressing (HDD) in hemostasis under warfarin treated rats.

Materials and Methods: Forty six 7-wk-old male Sprague Dawley rats were injected 2, 3, or 4 times with warfarin (n = 32) or without (n = 14). The day after the final injection, the abdominal aorta was punctured using the tip of a needle (n = 25 or 7). Bone defect was made at the distal metaphysis in the femur, using residual rats (n = 7 in each). The HemCon Dental Dressing (HDD) was applied to the punctured or defected area. After five or ten minutes, the HDD was exfoliated and hemostasis was confirmed. Histological and radiographic studies were also performed.

Results: HemCon Dental Dressing (HDD) demonstrated hemostatic effectiveness on all PT-INR levels (approx. 1 to 8), except in one case. Histological study showed that blood cells were coagulated at the punctured site. Continuous bleeding was seen at the bone defect which had been covered with gauze instead of HDD, as a radiopaque finding.

Conclusion: These results suggest that HDD is a useful hemostatic material when warfarin treatment is used.

Co-worker: Funatsu Takahiro²

P1-126

Streptococcus sanguinis が産生する過酸化水素は NETs 形成を誘導する
○住岡 龍一^{1,2}、中田 匡宣²、森田 知里²、和田 聖史²、岡橋 暢夫³、住友 倫子²、山口 雅也²、林 美加子¹、川端 重忠²
(¹阪大 院歯 保存、²阪大 院歯 口腔細菌、³阪大 院歯 口腔科学フロンティア)

【目的】*Streptococcus sanguinis* は亜急性細菌性心内膜炎患者の病巣から高頻度に分離される。病態形成過程で本菌は血中における感染防御機構を回避し、心組織へ定着すると考えられる。*S. sanguinis* はピルビン酸オキシダーゼ (SpxB) の酵素活性により過酸化水素を産生する。近年、好中球による細胞外殺菌機構として NETs (Neutrophil extracellular traps) が注目されている。NETs は感染などにより活性化された好中球が細胞死と共に放出する網目状の構造物である。クロマチンや抗菌因子を含んでおり、細胞外空間における細菌の捕獲と排除に関与する。本研究では、*S. sanguinis* の過酸化水素産生能に着目し、菌由来の過酸化水素が好中球の NETs 形成と殺菌効率に与える影響について検討した。

【方法】*S. sanguinis* SK36 株を親株として、*spxB* 欠失株および復帰変異株を作製し、過酸化水素の産生量をペルオキシダーゼ法で測定した。各菌株をヒト好中球に感染させ、DNA の蛍光染色を行った後、NETs 形成を蛍光顕微鏡により観察した。また、蛍光強度を指標に好中球由来の細胞外 DNA 量を測定した。さらに、健康ヒト末梢血および好中球に *S. sanguinis* を感染させ、経時的に生存菌数の算出を行った。

【結果と考察】*spxB* 欠失株の過酸化水素産生量は、野生株や復帰変異株と比較し有意に減少した。*spxB* 欠失株感染時の好中球細胞外 DNA 量は野生株感染時と比較して減少した。この細胞外 DNA 量の減少はカタラーゼの添加により抑制された。ヒト末梢血および好中球を用いた感染実験において、*S. sanguinis* の生存率は *spxB* 欠失により低下した。以上の結果から、SpxB による過酸化水素産生は NETs 形成を促すが、好中球による殺菌効率を抑制することが示唆された。

P1-128

耳下腺における alpha 1B-アドレナリン受容体を介するフェニレフリン誘導性 AQP5 細胞内移動
○Bragiel Aneta¹、Pieczonka Tomasz¹、石川 康子¹ (¹徳大 院 HBS 分子薬理)

Phenylephrine, alpha1-adrenoceptor agonist, induces the trafficking of aquaporin-5 (AQP5) to apical plasma membrane (APM) and nuclei in rat parotid glands. Alpha1-adrenoceptor family has 3 subtypes (alpha1A, alpha1B, and alpha1D). In this study, we determine which subtype induces the trafficking of AQP5 in parotid glands. [Method] Phenylephrine was injected into tail vein of Wistar rats (3 mo-old). At indicated time, parotid glands were quickly removed, embedded and sectioned. Sections were immune-stained using anti-AQP5 antibody, while parotid tissues prepared from control rats were incubated with phenylephrine in the presence or absence of silodosin (alpha1A-antagonist) or L765314 (alpha1B-antagonist). The APM prepared previously (BBRC 245, 835-840, 1998) was subjected to Western blotting. [Results] Upon alpha1-adrenoceptor activation with phenylephrine, AQP5 was predominantly located in the APM. Subsequently, AQP5 showed a diffuse pattern in the APM and a part of AQP5 moved to nuclei. Phentolamine inhibited phenylephrine-induced trafficking of AQP5 to the APM and nuclei. L765314 but not silodosin inhibited phenylephrine-induced trafficking of AQP5 to the APM. [Conclusion] The activation of alpha1-adrenoceptor induced the trafficking of AQP5 to APM in parotid glands via alpha1B-adrenoceptors. Silodosin, a medication for urinary obstruction, does not affect salivary secretion from parotid glands.

P1-129

ビタミン D による分化誘導でおこる歯原性上皮細胞の Ca^{2+} 応答

○村田 佳織¹、齊藤 正人¹、森田 貴雄²、
倉重 圭史¹、高橋 亜友美¹、谷村 明彦²
(¹北医大 歯 小児歯科、²北医大 歯 薬理)

【目的】近年、ストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) の制御分子である Stim1 や Orail が同定された。これらの分子の異常によっておこる重症複合型免疫不全症患者や遺伝子ノックアウト動物において、エナメル質形成の不全が起こることから、エナメル芽細胞の分化誘導において SOCE が重要な働きを担っている可能性が考えられる。本研究は活性型ビタミン D3 (VD3) による歯原性上皮細胞 (SF2 細胞) の分化誘導における Ca^{2+} 応答とその役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】SF2 細胞を VD3 添加培地で 24~72 時間培養し、免疫組織化学染色にてエナメル芽細胞の分化マーカーである ameloblastin (AMBN) の発現を評価した。アデノウイルスベクターを用いて Ca^{2+} センサーである G-GECO の遺伝子を導入した SF2 細胞を 37℃、5% CO_2 条件下で培養し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて Ca^{2+} 応答に対する VD3 や Ca^{2+} 流入阻害剤の作用を 4~15 時間の長時間ライブセルイメージング観察した。

【結果と考察】VD3 の添加によって AMBN 発現の増加が認められた。この発現増強は VD3 添加 24 時間後から認められ、72 時間後には AMBN の発現範囲が広がった。ライブセルイメージング観察では間欠的な Ca^{2+} 濃度の上昇が認められ、VD3 はこの Ca^{2+} 応答の頻度を有意に増加させたことから、VD3 による SF2 細胞の分化誘導に Ca^{2+} シグナリングが関与する可能性が示唆された。 Ca^{2+} 流入阻害剤の $CdCl_2$ や $LaCl_3$ は、この Ca^{2+} 応答の頻度を減少させたが、間欠的な Ca^{2+} 応答は Ca^{2+} 流入阻害剤で完全には阻害されなかったことから、この反応は Ca^{2+} 流入ではなく、小胞体からの Ca^{2+} 放出によっておこる反応であると考えられた。今後は、間欠的な Ca^{2+} 応答の発生機構を明らかにすると共に、 Ca^{2+} 応答と細胞分化の関係を明らかにする予定である。

P1-131

Clodronate と etidronate (窒素非含有 bisphosphonates) は脊髄神経小胞リン酸トランスポーター SLC17 を抑制して鎮痛作用を発揮する

○鳥 和弘¹、山本 照子¹、菅原 俊二²、
遠藤 康男³ (¹東北大 院歯 顎口腔矯正、²東北大 院歯 口腔分子制御)

【背景と目的】骨粗鬆症では痛みの制御も重要である。骨吸収抑制作用は N-BPs は non-N-BPs よりも遙かに強力だが、non-N-BP の etidronate は骨粗鬆症や変形性関節炎患者で N-BPs よりも強い鎮痛効果を示す (Fujita et al. 2009)。私達は、マウスでの鎮痛効果も non-N-BPs (etidronate と clodronate) は N-BPs よりも強いことを確認し、また、non-N-BPs の神経への直接作用を示唆した (Kim et al. 2013)。リン酸トランスポーター (Pi-TP) には SLC-17, -24, -34 の 3 つの family があり、いずれも non-N-BPs が拮抗的に抑制することを私達は報告した (Okada et al. 2013)。このことは、non-N-BPs の一部はこれらの Pi-TP を介して細胞内に取り込まれる可能性を示唆する。発痛性神経伝達物質の Glu と ATP は、SLC17 を介して神経小胞に取り込まれ、シナプス間隙に放出されると、それぞれ NMDA 受容体と P2X 受容体を介して発痛を導くとされている。本研究では、capsaicin に対するマウス痛み反応を指標に、“脊髄での non-N-BPs による SLC17 の抑制”を検証した。

【結果】(1) Non-N-BPs は脊髄クモ膜下腔内 (i.t.) 投与で鎮痛作用を示し、(2) この作用は NMDA または P2X 受容体 agonist との同時投与で減少した。また、(3) SLC20/34 阻害薬は、i.t. 投与 i.v. 投与に関わらず non-N-BPs の鎮痛作用を抑制した。(4) 脊髄での SLC20/34 の mRNA と蛋白の発現を確認した。(5) SLC17 分子を組み込んだ人口細胞膜での Glu と 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 を介して神経細胞内に取り込まれ、小胞膜 SLC17 の阻害により小胞内 Glu/ATP を減少させ、鎮痛効果を示す”との考えを示唆する。

P1-130

口腔扁平上皮癌細胞における keratin13 遺伝子サイレンシング

○永沼 香織^{1,2}、八田 光世²、山崎 純²
(¹福歯大 口腔外科、²福歯大 分子機能制御)

【目的】クロマチンの化学修飾を介したエピジェネティックな制御は遺伝子発現に多様性を与え、この制御機構の異常は癌の発症及び進展に関与すると考えられる。本研究の目的は口腔癌において発現抑制が報告されている keratin13 遺伝子のサイレンシング機構を明らかにするとともにエピジェネティック制御因子標的薬の効果を検討することである。【方法】不死化ケラチノサイト細胞 (HaCaT) 及び舌由来扁平上皮癌細胞 (高分化型: HSC4、低分化型: HSC3、SAS) を用いた。Keratin13 遺伝子の発現量は western blot、免疫染色法、RT-qPCR により比較検討した。また、keratin13 遺伝子プロモーター領域のクロマチン修飾はバイサルファイトシークエンス解析、クロマチン免疫沈降法にて解析した。さらに、ヒストン H3K27 メチル化酵素複合体 PRC2 阻害薬 3-deazaneplanocin A (DZNep) を用いて SAS における keratin13 遺伝子発現に対する効果を調べた。

【結果と結論】Keratin13 の発現は癌細胞において抑制されていた。Keratin13 遺伝子プロモーター領域において CpG 部位は癌細胞において高度にメチル化されており、ヒストン修飾に関しては低分化型癌細胞において 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。低分化型舌癌細胞 SAS を DZNep 処理したところ、PRC2 構成因子である Ezh2 及び SUZ12 のタンパクレベル、及びヒストン H3K27 トリメチル化レベルは低下した。Keratin13 mRNA 発現は DZNep 処理により著しい増加が認められた。また、その効果は可逆的であり、処理した後に DZNep を除き、培養すると keratin13 遺伝子の発現は control と同レベルまで減少した。これらの結果から、PRC2 の制御異常が keratin13 発現抑制に関与しており、エピジェネティック制御因子標的薬により keratin13 発現が回復することが明らかになった。

P1-132

Shh によるマウス顎下腺原基の分枝形態形成促進効果は EGF/EGFR 経路の活性化を介して起こる

○水越 堅詞¹、小山 典子¹、林 徹¹、
赤井 崇浩²、式守 道夫²、柏保 正典¹
(¹朝日大 歯 歯科薬理、²朝日大 歯 口腔外科)

【目的】分枝形態形成は器官形成過程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の関連因子によって制御されている。一方、Shh は器官発生の際に働く重要なモルフォゲンとして四肢や脳脊髄正中線などの多くの発生現象に関与していることが知られている。これまでに、我々は顎下腺原基に Shh を作用させると、EGF の発現が増加し、分枝形態形成が促進することを報告してきた。本研究では Shh が EGF を介して分枝形態形成を促進するメカニズムを詳細に検討するため、EGFR のリン酸化及び EGFR の下流で活性化されるシグナル伝達経路の検討を行った。【方法】胎生 13 日 ICR 系マウスより顎下腺原基を採取し、Shh (1000 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 6、12、24、48h 後に回収し、ERK1/2、pERK1/2、EGFR、pEGFR の特異抗体を用いてイムノブロット解析を行った。また、EGF 受容体阻害剤 (AG1478) を Shh とともに作用させ、形態形成に対する EGF 受容体阻害の影響を観察した。さらに、Shh の上皮への直接的な作用を確認するために、上皮のみを分離しマトリゲル中で三次元培養を行い Shh の効果を確かめた。Shh の受容体である Patched-1 (PTCH1) の局在、上皮と間葉での発現量の違いについても、免疫染色、リアルタイム RT-PCR を用いて解析を行った。【結果と考察】1) Shh 刺激後 6h、24h で ERK1/2 のリン酸化が上昇した。2) Shh 刺激後 6h 以降、タンパクレベルでの EGFR の発現が上昇し、それとともにリン酸化の上昇も認められた。3) EGF 受容体を阻害すると Shh による分枝形態形成の促進効果は減少した。4) 上皮に対し Shh を作用させても、分枝形態形成の促進効果は認めなかった。以上の結果より、Shh の効果は EGF/EGFR 経路の活性化を介して起こる可能性が示唆された。また、Shh は上皮へ直接的な作用を示さないことから、間葉に発現している PTCH1 を介して作用している可能性も考えられた。

P1-133

ラット皮膚創傷治癒モデルにおいて MMP 阻害薬が線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を抑制する

○秦 省三郎¹、岡村 和彦²、石井 太郎¹、梶井 貴史¹、石川 博之¹、山崎 純³
(¹福歯大 矯正歯科、²福歯大 病態構造、³福歯大 分子機能制御)

【目的】創傷治癒過程において TGF- β 1 は線維芽細胞(F)の筋線維芽細胞(MF)への分化を促進して癒痕形成に関与する。生物学的に活性の無い潜在型として産生された TGF- β 1 は、種々の活性化機構を経て活性型となる。本研究は、TGF- β 1 の活性化機構に関連する KC と F の相互作用を解明することを目的とし、癒痕形成の抑制を標的にした薬剤療法の可能性を検討した。【方法】ラット真皮由来の F と KC を用いて三次元培養系を作成した。KC と F の相互作用の詳細を検討するため、F の単層培養系と KC の三次元培養系を用いた。【結果および考察】F + KC 三次元培養：F における α -SMA 発現は KC 依存的に上昇し、TGF- β 受容体阻害薬により抑制された。KC 依存的な潜在型 TGF- β 1 分泌が培養液中に検出された。MMP 阻害薬または *av*-integrin 中和抗体により α -SMA 発現が減少した。F の単層培養：外来性の活性型または潜在型 TGF- β 1 により α -SMA 発現が増加し、MMP 阻害薬または *av*-integrin 中和抗体により潜在型の作用のみが抑制された。siRNA で F の TGF- β 1 発現を抑制すると α -SMA 発現が減少した。KC の三次元培養：培養上清中に TGF- β 1 分泌が認められ、MMP 阻害薬存在下では減少した。培養上清を単層 F に与えると α -SMA 発現が増加し、MMP 阻害薬または *av*-integrin 中和抗体により抑制された。抗 LAP 抗体で潜在型 TGF- β 1 を吸収した後の上清では、 α -SMA 発現は変化しなかった。以上から、MMP により KC から放出された潜在型 TGF- β 1 が F における MMP や *av*-integrin により活性化されること、並びに F 自身の TGF- β 1 産生により MF への分化が促進されることが示唆された。MMP 阻害薬は、TGF- β 1 活性化プロセスにおいて KC からの放出と F での活性化を阻害することで MF への分化を抑制したことから癒痕形成の抑制に有効であることが示唆された。

P1-134

ACTH 産生腺腫で低発現を認めた miR-551b の腺腫発症への関与

○小野 信二¹、岩田 武男¹、水澤 典子¹、岩脇 有軌²、吉本 勝彦¹
(¹徳大 院 HBS 分子薬理、²徳大 院口腔教育 口腔顎顔面補綴)

下垂体腺腫は、各下垂体前葉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。我々はマイクロアレイおよび qRT-PCR を用いて、各タイプの下垂体腺腫に特徴的な発現を示す miRNA の同定を行っており、前回の本大会で、ACTH 産生腺腫で発現低下が認められる miR-132 および miR-551b が ACTH 産生細胞特異的に増殖を抑制することを報告した。今回、miR-551b の下垂体における標的遺伝子候補を *in silico* 解析により検討し、ルシフェラーゼアッセイにより EGF 受容体の一つである ERBB4 が miR-551b の標的であることを明らかにした。そこで miR-551b の ACTH 産生細胞増殖抑制機構への ERBB4 の関与を検討した。さらに ACTH 産生腺腫での miR-551b プロモーター領域の DNA メチル化について検討を行った。

P1-135

C2C12 筋管における糖取り込みのオステオカルシンによる修飾

○柄 慎太郎^{1,2}、青沼 史子^{1,2}、細川 隆司²、平田 雅人³、竹内 弘¹
(¹九歯大 口腔応用薬理、²九歯大 口腔再建リハビリ、³九歯大 院歯 口腔細胞工学)

Objectives: A close relationship between bone and systemic glucose metabolism has been studied extensively and uncarboxylated form (GluOC), but not the gamma-carboxylated form (GlaOC), of the bone-derived protein osteocalcin was recently shown to play an essential role in energy metabolism. However, the understanding of the actions of GluOC in a whole energy metabolism requires the examinations using a variety of organs as well as pancreatic beta-cells. In the present study, we examined the effect of OC on cell lines derived from skeletal muscle to explore the mechanisms by which OC regulates energy metabolism.

Methods: Mouse myoblast cell line C2C12 was grown to confluence in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, then induced differentiation to myotubes by culturing in DMEM containing 2% horse serum for 48hr, followed by replacement with DMEM containing 1% bovine serum albumin every 48hr. At 120hr post induction, the cells were subjected to the experiments. Insulin stimulated glucose uptake of the cells was measured by a modified method using 2-deoxyglucose. Phosphorylation of the signaling molecule was analyzed by Western blotting. Results: GluOC, but not GlaOC, promoted insulin-induced glucose uptake of myotubes. Insulin stimulated phosphorylation of Akt, a major regulator of glucose uptake, was also slightly upregulated by GluOC treatment of the cells. Treatment of the cells with GluOC alone induced phosphorylation of Erk, but not Akt, with the maximum effect at the concentration ranging 5 to 10 ng/ml.

Conclusion: These results suggested that GluOC up-regulates insulin-induced glucose uptake in myotubes probably by upregulating Akt signaling.

P1-136

神経-骨芽細胞共培養系における細胞間シグナル伝達

○兒玉 大介¹、戸苺 彰史¹ (愛院大 歯 薬理)

近年、神経系を介した骨代謝制御機構の存在が明らかになってきた。交感神経や感覚神経の除去により骨代謝機能が影響を受けることや、卵巣摘出や尾部懸垂による骨減少に神経活動の変化が関わることなどが報告されている。また骨芽細胞および破骨細胞にアドレナリン受容体やグルタミン酸受容体、CGRP やサブスタンス P などニューロペプチドの受容体が発現していることが報告されている。一方で、神経細胞と骨代謝関連細胞の間に直接的なシグナル伝達が存在するかどうかは議論がある。我々はこれまでにマウス新生仔から摘出した交感神経初代培養細胞とマウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 との共培養系において、サソリ毒刺激によりノルアドレナリン放出を介した交感神経から MC3T3-E1 へと直接的なシグナル伝達が起こることを報告している。今回の報告では感覚神経細胞として脊髄後根神経節細胞 (DRG) を用いた MC3T3-E1 との共培養系における細胞間のシグナル伝達について細胞内 Ca イメージング法を用いて検討を行った。DRG の電気刺激により、DRG での細胞内 Ca 濃度の上昇が見られ、隣接する MC3T3-E1 においても時間差の後、細胞内 Ca 濃度の上昇が見られた。開口分泌阻害薬や AMPA 型グルタミン酸受容体阻害薬の適用により、DRG の反応は影響を受けず、MC3T3-E1 の反応のみが阻害された。これはグルタミン酸の放出を介した DRG から MC3T3-E1 へのシグナル伝達経路の存在を示唆している。同様に低濃度の BK により MC3T3-E1 選択的に刺激を与えると、MC3T3-E1 の反応の後、隣接する DRG でも細胞内 Ca 濃度の上昇が見られ、開口分泌阻害薬によって DRG の反応のみ抑制された。以上の結果より、感覚神経-骨芽細胞間において開口分泌を介した直接的な、また双方向のシグナル伝達経路が形成され得ることが示された。

P1-137

ROCK 阻害剤 Fasudil の頭頸部扁平上皮癌における CXCL14/BRAK を介した抗腫瘍効果の検討
 ○宮本 千央¹、前畑 洋次郎¹、高橋 聡子¹、
 吉野 文彦¹、吉田 彩佳¹、高橋 俊介¹、
 李 昌一² (¹神歯大 院 口腔科学、²神歯大 災
 害セ)

【目的】 これまでに我々はケモカイン CXCL14/BRAK (BRAK) が頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) において抗腫瘍効果を発揮することを報告してきた。さらに、間葉系の腫瘍である線維肉腫細胞において細胞内の物質輸送に関与する RhoA-ROCK 経路の恒常的活性化が BRAK の分泌阻害を惹起することを見出し、ROCK 阻害剤 Fasudil が BRAK の分泌を促進し抗腫瘍効果を発揮することを見出した (Miyamoto et al. J Pharmacol Sci. 2012 Nov 16;120(3):241-9)。本研究ではさらに、上皮系の悪性腫瘍である頭頸部扁平上皮癌への Fasudil の影響を明らかにするため、HNSCC における Fasudil の BRAK 遺伝子発現・細胞外分泌への効果の検討を行った。**【方法】** ノドマウス背部皮下に HNSCC 株 (HSC-3) を移植し Fasudil 投与による腫瘍抑制効果を検討した。また HSC-3 に対する Fasudil 処理による細胞外分泌量の変化を ELISA 法にて解析した。同時に BRAK 遺伝子発現への影響を Realtime PCR 法を用いて解析した。**【結果および考察】** 移植実験より、Fasudil は in vivo において HSC-3 の腫瘍発達を有意に抑制した。また、BRAK 細胞外分泌量解析の結果、Fasudil 処理により BRAK の細胞外分泌量が有意に亢進した。同時に HSC-3 において Fasudil の添加濃度依存的に BRAK の遺伝子発現が亢進することが確認された。本研究結果から、頭頸部扁平上皮癌細胞株において Fasudil が BRAK の遺伝子発現の亢進および細胞外分泌の亢進をすることが示された。これは Fasudil が頭頸部扁平上皮癌においても BRAK の遺伝子発現亢進・分泌を介した分子標的治療薬として応用できる可能性を示す知見である。

P1-138

唾液腺の老性萎縮や老性遺伝子変化に及ぼすホエー成分の諸性質の探索
 ○Pieczonka Tomasz¹、Bragiel Aneta¹、
 石川 康子¹ (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 characteristics of ingredients of whey inhibiting age-dependent changes of salivary glands. [Methods] Lipid- and casein-free whey (LCFW) was heated at 95°C for 15 min (BLCFW) or dialyzed against water using dialysis tube with a molecular weight cutoff of 14,000 (DLCFW). Male Wistar rats (3- or 16-mo-old) were given LCFW, BLCFW, DLCFW or water ad libitum. Two mo later, salivary gland sections were stained with hematoxylin and eosin. RNA was isolated from salivary glands. Gene expression profile was studied by using Affymetrix ExonExprChip Rat Gene-1.0-st array and analyzed by Gene Spring software. [Results] Acinar atrophy was detected in sublingual glands (SLG) from senescent but not young rats. LCFW, BLCFW, or DLCFW-administration restored this age-dependent atrophy to normal histology like young ones. In SLG from senescent rats, BLCFW-administration induced more than 10-fold increase in proline-rich protein gene (Prp1), amylase gene (Amyla) and cystatin 10 gene (Cst10) compared to LCFW-administration. [Conclusion] Ingredients of whey inhibiting age-dependent atrophy and gene expression changes of SLG were heat-resistant compounds with molecular weight more than 14,000. (Co-workers: Aproscience Co., Ltd. Kana Fukuda, JiRyun Kim, Donjo Kim)

P1-139

ミクログリアの2種類の突起の日内変化に関する形態学的ならびに生体イメージング解析
 ○高山 扶美子¹、林 良憲¹、武 洲¹、中西 博¹
 (¹九大 院歯 口腔機能分子科学)

【目的】 ミクログリアは慢性難治性疼痛ならびにアルツハイマー病など脳の病態に関与する一方、脳を健全に保つ役割も担っている。最近、私たちはミクログリアが独自の分子時計をもち、脳内においてミクログリア特異的分子である P2Y₁₂ 受容体ならびにカテプシン S の発現を制御することでシナプス密度ならびにシナプス強度の日内変化に関与することを突き止めた (林他, Sci Rep 2014)。そこで今回はミクログリア突起の日内変化について、細胞内染色法と生体イメージング法を用いることでさらに詳細に解析した。**【方法・結果】** 細胞内染色による形態学的解析により、ミクログリアは2種類の異なる突起をもつことが初めて明らかとなった。タイプ I は Iba1 で免疫染色される 4-5 本の屈曲性のある比較的短い突起 (10-40 μm) で、分岐をもち多くが自由端と考えられる。タイプ I の総延長ならびに分岐数は 21 時 (平均 1050 μm ならびに 182) の方が 9 時 (平均 862 μm ならびに 121) よりも有意に大きかった。また、タイプ I は伸縮運動を示し、21 時 (平均 1.5 μm/分) の方が 9 時 (平均 1.0 μm/分) よりも有意に早い速度であった。一方、タイプ II は Iba1 の免疫染色では観察できず、細胞内染色により初めて可視化できた。通常 1 本の比較的一定した太さの細長い突起 (70-120 μm) で、ほとんど分岐せず血管壁の方向に伸びていた。タイプ II は 21 時のみ観察された。**【結論】** 以上の結果より、健常脳におけるミクログリアは形態ならびに役割の異なる 2 種類の突起をもつことが初めて明らかになった。タイプ I は暗期 (活動期) に複雑な突起構造を示し伸縮運動も活発で、細胞外プロテオリシスを介してスパイン密度を調整すると考えられる。一方、タイプ II は暗期にのみ認められ、血管壁に終足することで不要物のクリアランスに関与すると考えられる。

P1-140

破骨細胞の多核化とリソソーム機能を制御する rab タンパク質の同定
 ○菅原 めぐみ^{1,2}、坂井 詠子¹、福岡 裕¹、
 西下 一久¹、岡元 邦彰¹、吉田 教明²、
 筑波 隆幸¹ (¹長大 院医歯薬 歯科薬理、²長大
 院医歯薬 歯科矯正)

破骨細胞が骨を吸収する際には、波状縁とよばれるユニークな細胞膜を形成し、この膜からミネラルを溶解するプロトンや有機質成分を分解するリソソーム性分解酵素が放出される。我々は破骨細胞の極性をもったユニークな小胞輸送を制御する新しい遺伝子を解析しようと考えた。本研究では破骨細胞の成熟化とともに上昇する遺伝子の中から、膜輸送・小胞輸送に関与する低分子 GTPase である rab 遺伝子を同定し解析を行った。具体的には DNA マイクロアレイの解析により、マクロファージから破骨細胞に分化成熟する過程で上昇する遺伝子 rab27A を同定した。RAW-D 細胞を用いて rab27A のノックダウン実験を行ったところ、破骨細胞は細胞同士の融合が活発になっており、巨大化・多核化することが分かった。同じような所見は、rab27A 遺伝子変異マウスとして知られている ashen mouse を用いても認められた。すなわち、ashen mouse の骨髄由来マクロファージから RANKL 刺激により破骨細胞へ分化させると、野生型細胞に比べ、巨大化・多核化した。FACS 解析により、破骨細胞分化に重要な受容体のタンパク質発現レベルが一部多くなっていることから、rab27A 欠損による多核化のメカニズムとして、細胞膜への受容体の輸送機構の異常により引き起こされた可能性が示唆された。しかしながら、種々のリソソームタンパク質の発現レベルが異なっていること、さらに骨吸収活性が著しく抑制されていたことから、rab27A 欠損により、リソソームタンパク質の分泌が阻害されていることも明らかとなった。これらの結果から、rab27A は、破骨細胞の受容体タンパク質発現レベルを上げることにより多核化すること、リソソーム機能を変化させることが示唆された。

P1-141

Na,K-ATPase 活性及びそのリン酸化反応中間体
量に対するベリリウム (Be) の作用
○沖野 雄一郎¹、出山 義昭¹、吉村 善隆¹、
鈴木 邦明¹ (北大 院歯 細胞分子薬理)

【目的】近年歯科技工物の輸入品の品質が問題になっているが、その1つにベリリウム (Be) の混入がある。Na,K-ATPase は細胞内外の Na と K の濃度勾配の形成・維持などを行う酵素である。また Na,K-ATPase の反応過程でリン酸化反応中間体 (EP) が形成される。この酵素が Be の毒性のターゲットとなりうると推測し、Na,K-ATPase 活性及び EP 形成に及ぼす Be の作用を詳細に検討した。【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³²P-ATP を用いて形成した³²P-EP 量を測定した。各種濃度の Be と Al 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 Be 濃度に依存して阻害された。50%阻害濃度 (K_{0.5}) は約 0.63 mM で、最終濃度 5 mM ではほぼ 100%の活性が抑制された。Al は ATPase 活性阻害の Be 濃度依存性に顕著な影響を与えず、Al 濃度を変えても K_{0.5} は約 0.6 mM だった。一方 EP 形成量も Be 濃度に依存し阻害され、最終濃度 5 mM ではほぼ 100% 形成が阻害された。Al は EP 形成に顕著な影響を与えなかった。我々は以前にフッ素 (F) は活性と EP 形成を濃度依存的に阻害するが、活性は完全に阻害したのに対し、EP 形成量は最大で半分しか阻害できないこと、Al により阻害作用が増強されることを報告した。本研究より Be は活性と EP 形成量とともに濃度依存的に減少し、Al には阻害増強作用がないことが明らかとなった。また Be 濃度 5 mM で活性と EP 形成量が認められなくなったことから、Be は EP 形成を阻害することで Na,K-ATPase 活性を抑制することが示唆された。

P1-143

血清アルブミンによって誘導される LPS の物理
化学的変換
○小松 俊也¹、相田 宜利¹
(九大 院歯 歯周病)

【目的】好中球の LPS 応答には血清が必要であり、血清に抗 LPS-binding protein (LBP) 抗体を添加すると血清の効果は消失する。この血清の作用は LBP の供給のみではないことを示す結果に基づき、血清が LPS に及ぼす作用を検討している。今回は血清タンパクの中で血清アルブミン (Alb) が LPS の disaggregation を起こすことを確認し、その機序を検討した。【材料および方法】好中球の LPS 応答：ヒト末梢血好中球に LPS を作用させた後、fMLP-刺激による活性酸素産生を測定。LPS : E.coli O111 由来フェノール抽出標品を用いた。LPS disaggregation の測定 : Sepharose CL-4B 濾過における、LPS の溶出位置で判定。LPS とウシ血清アルブミン (BSA) の結合 : (1) BSA-処理 LPS に抗 BSA 抗体を反応させた後ゲル濾過にて LPS の溶出位置を調べた。(2) BSA 処理 LPS にポリミキシン B (PMXB) を反応させ、ゲル濾過後の LPS と BSA の溶出位置を調べた。【結果と考察】好中球の LPS 応答において、LBP 添加も LBP 除去血清添加も無効であった。しかし LBP 除去血清と LBP を共に添加すると好中球は LPS 応答を示した。この結果は血清中には LBP 以外に LPS の作用に必須の因子の存在を示唆する。血清および Alb が LPS の分子量を低下させることを確認したので、Alb による LPS の disaggregation について調べた。Alb 処理後の LPS をゲル濾過すると、Alb の濃度、作用時間および温度依存性に disaggregation が観察された。Alb 処理 LPS を抗 BSA 抗体と反応させてゲル濾過を行うと、LPS は >10⁶Da の位置に溶出された。さらに Alb 処理 LPS を PMXB と反応させ、ゲル濾過を行うと、Alb は LPS とともに >10⁶Da の位置に溶出された。すなわち LPS は Alb と複合体を形成することが示された。この複合体形成が LPS の活性に及ぼす影響についても検討中である。

P1-142

メカニカルストレス応答性 miR-494-3p による
FGFR2 発現の抑制
○岩脇 有軌¹、水澤 典子²、小野 信二²、
岩田 武男²、吉本 勝彦² (徳大 院 HBS 口腔
顎顔面補綴、²徳大 院 HBS 分子薬理)

【目的】メカニカルストレスに対する骨組織の応答は、歯科補綴学領域の重要な研究テーマである。一方、転写調節以外の新たな遺伝子発現制御機構として micro-RNA (miRNA) が注目されており、メカニカルストレスに反応して発現変動する miRNA も報告されている。本研究では、骨組織へのメカニカルストレスを想定し、遺伝子発現変化と miRNA の関係を明らかにする目的で、マウス骨芽細胞株 (MC3T3-E1) に圧縮力を負荷した際に変動する miRNA の同定とその標的遺伝子の検討を行った。【方法】MC3T3-E1 に 294 Pa の圧縮力を 24 時間負荷し、マイクロアレイ解析で miRNA プロファイリングを行った。1.5 倍以上発現変動を認める miRNA は qRT-PCR 法で検証し、その標的遺伝子を検索ソフトで予測した。予測標的遺伝子は、圧縮力負荷または miRNA mimic 投与での発現変動を qRT-PCR 法とウェスタンブロットにて確認した。また、ルシフェラーゼ解析による予測標的遺伝子の検証および、MTT Assay で miRNA の増殖能への影響を確認した。【結果】マイクロアレイ解析より、圧縮力負荷で 55 種の miRNA 発現上昇および 57 種の発現低下を認め、ヒト・マウス間で保存された miR-494-3p は qRT-PCR 法でも発現上昇を確認した。miR-494-3p の標的遺伝子として FGFR2 が予測され、圧縮力負荷で mRNA およびタンパク質発現低下が、miR-494-3p mimic 投与でタンパク質発現低下が認められた。また、FGFR2 はルシフェラーゼ解析で標的遺伝子であることが確認された。miR-494-3p の mimic 投与では、細胞増殖能の低下が認められた。【結論】骨芽細胞へ圧縮力を負荷することで発現増加する miR-494-3p は、FGFR2 を標的にし細胞増殖に関与している可能性が示唆された。

P1-144

ファイブロサイトに注目した顎関節領域疾患発症
機構の解明
○衣斐 美歩^{1,2}、堀江 沙和^{1,3}、帖佐 直幸²、
吉田 茉莉子²、加茂 政晴²、客本 斉子²、
大塚 正人⁴、佐原 資謙³、藤村 朗⁵、石崎 明²
(¹岩医大 医歯薬総合 腫瘍生物、²岩医大 生化学
細胞情報、³岩医大 生理病態生理、⁴東海大
医 分子生命、⁵岩医大 解剖 機能形態)

顎関節症は今や若年層から大人まで幅広い世代で罹患率の高い口腔領域疾患のひとつである。顎関節症の3大症状のひとつである開口障害は咀嚼筋の疼痛、関節雑音とともに日常生活に大きな影響を及ぼす。その大きな原因として顎関節部の慢性炎症による関節腔の癒着化や線維性癒着、さらに骨性癒着を引き起こすことがある。積極的な外科的治療を選択すれば術後の癒着化による顎運動不全を誘発する恐れがあり、低侵襲で患者自身の負担の少ない新規治療法の開発が求められている。近年、臓器の線維化を起こす細胞として線維細胞 (fibrocyte) と呼ばれる細胞が関与していることが報告されている。線維細胞はマクロファージと線維芽細胞の両方の性質をもつ骨髄由来白血球系細胞で、血行性に炎症部位まで遊走し筋線維芽細胞 (myofibroblast) に分化することでコラーゲンを大量に産生し線維化を起こすとされている。これまでに肺や腎臓などで報告されているが顎関節領域では報告がない。そこで我々は顎関節の線維化に線維細胞が関与する可能性について明らかにすることを目的とする。初めにマウス顎関節部組織より獲得した細胞に炎症性刺激を加えると線維細胞の遊走因子のひとつである MCP-1 (CCL2) の発現が優位に上昇した。そこでマウス脾臓から細胞を採取し細胞培養ディッシュで 6 日間培養後、ディッシュ底面に接着した細胞 (adherent spleen cells : ASC) を回収し MCP-1 により遊走する CCR2 陽性細胞の割合とその性質について詳細に解析を行った。さらに ASC に対し TGF-β 刺激を行うと α-smooth muscle actin 陽性の筋線維芽細胞様細胞が増加した。以上の結果より顎関節部の炎症時、CCR2 陽性線維細胞様細胞が遊走され顎関節周囲組織の慢性炎症ならびに線維性病変に関与している可能性が示唆された。

P1-145

クマ笹アルカリ抽出液のヒト歯肉線維芽細胞に対する抗炎症効果の解析

○坂上 宏^{1,2}、大越 絵実加²、加藤 崇雄^{1,3}、下山 哲夫³、北嶋 まどか⁴、賈 俊業⁴、大泉 高明¹、杉本 昌弘⁵ (明海大 歯 薬理、²明海大 歯 MPL、³埼玉大 口外、⁴大和生物研、⁵慶應大 先端生命科学研)

【目的】クマ笹葉抽出液 (ササヘルス、SE) は、OTC で入手可能な第三類医薬品に属し、*in vitro* における抗炎症作用、抗菌作用、リグニン配糖体の特徴的な薬理作用 (卓越した抗ウイルス作用、紫外線に対する細胞保護作用、ビタミン C との相乗作用)、マウス破骨細胞成熟分化抑制作用、経口摂取による口腔扁平苔癬様異形成症の改善例を報告した。今回、口内炎に関する治療効果の evidence を得るために、IL-1 β で炎症を惹起したヒト歯肉線維芽細胞に関する治療効果について検討した。【方法】ヒト歯肉線維芽細胞に IL-1 β を添加し、IL-6, IL-8, MCP-1, PGE₂ の産生を誘導させた。生細胞数は MTT 法で、PGE₂ の量は、EIA Kit で、COX-1, COX-2 活性は、Cox Inhibitor Screening Assay Kit で、細胞内代謝物は、メタボローム解析により測定した。【結果】SE は、IL-1 β 誘発性 PGE₂ 産生を有意に減少させた。SE は COX-1 活性にはほとんど影響を与えず、COX-2 活性を有意に減少させた。しかし、COX-1 および COX-2 タンパク質の発現は抑制しなかった。IL-1 β による炎症誘発過程で、細胞内の尿素回路の抑制、ポリアミン合成の抑制、S-アデノシルメチオニンの低下が観察された。【考察】SE は、COX-2 活性を抑制することにより、抗炎症効果を与える可能性が示唆された。SE の細胞内代謝物、特に尿素回路の代謝中間体に及ぼす効果は、今後の検討課題である。

P1-147

口腔扁平苔癬、苔癬様口内炎および苔癬様上皮性異形成 190 検体についての病理組織学的、免疫組織化学的研究

○岡田 康男¹ (日歯大 新潟生命歯 病理)

口腔扁平苔癬は、全身性の扁平苔癬の口腔粘膜病変 (LP) と苔癬様口内炎 (LS) に分けられる。LP は両側性、対称性に発現し、口腔内に限局する病変も知られており、また、LS は片側性に発現する。一方、LP と LS に臨床症状が類似する疾患として苔癬様上皮性異形成 (LD) があり、診断に苦慮することが多い。そこで、過去 13 年間に当教室にファイルされた症例を再検討した。対象は、LP、LS および LD と診断した 160 例 190 検体。性別では男性 53 例 61 検体、女性 107 例 129 検体。年齢は 14~84 歳で、60 歳代が 55 例で最も多く、ついで 50 歳代が 50 例で多かった。部位別では、頬粘膜 120 検体、下顎歯肉 19 検体、舌 14 検体、上顎歯肉 13 検体、下唇 8 検体、下顎歯肉頰移行部 5 検体、上顎歯肉頰移行部 4 検体、口蓋 4 検体、上唇 2 検体、舌下面 1 検体であった。HCV 陽性例は 5 例 (3.1%) であった。悪性転化を病理組織学的に確認しえたのは 2 例で、苔癬様上皮性異形成からの癌化であった。免疫組織化学的には、CD4, CD8, CD20, CD163, CK-13, CK-17, Ki-67, p53, Bcl-2, BR3 の染色を行い、染色性について評価し、これまで報告した上皮性異形成、上皮内癌、扁平上皮癌との染色性の違いについて比較検討した。LP と LS では、CK-13 陽性、CK-17 陰性および p53 陰性ないしごくわずかな陽性例が多く、LD では、CK-13 陰性、CK-17 陽性および p53 陽性率が高い症例が多かった。浸潤するリンパ球は LP、LS、LD のいずれにおいても CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、CD20 陽性細胞 (B 細胞) が混在していた。LP、LS、LD の病理組織学的診断は HE 染色標本で行うのが基本であるが、これら免疫組織化学染色を行い、評価することが、病理組織学的診断の補助として有用であると考えられた。

P1-146

プロポリスのカテプシン S 発現制御を介した Th1 応答抑制作用

○張 馨文¹、武 洲²、中西 博²
(¹中国医大 口腔医院 インプラントセ、²九大 院歯 口腔機能分子科学)

【Objective】Propolis is a honeybee product with plenty of biological properties, including immunomodulatory, anti-oxidative and anti-inflammatory effects. However, little is known about the precise mechanism underlying the propolis-induced modulation of the Th1 immune response, which is associated with chronic inflammatory diseases. In this study, we have elucidated the immunomodulatory effect of propolis in the complete adjuvant (CFA)-induced Th1 immune response in mice. 【Methods】Paw chronic inflammation was induced by an intradermal injection of CFA (heat-killed mycobacterium butyricum) in mice. Propolis was administered orally at a dose of 600 mg/kg/day for 4 weeks after CFA injection. The expression of cathepsin S (CatS), MHC class antigen (OX6), CD4⁺ T cells, CD11b⁺ macrophages and cytokines were examined in the ankle joints and spleen. 【Results】Propolis significantly inhibited the CFA-induced swelling of hind paws and Th1 immune response including proliferation of interferon- γ -expressing CD4⁺ T cells. Furthermore, propolis significantly suppressed the LPS-induced increase in the CatS expression and phosphorylation of p38. 【Conclusion】These observations suggest that propolis limits the CFA-induced Th1 immune response by inhibiting the expression of CatS, which is an essential protease for the Th1 immune response (Zhang et al. J Neurosci 2014). It is considered that the inhibitory effect of propolis on the CatS expression is mediated by its inhibitory effect on the p38 activation. Beneficial effects of propolis on chronic inflammatory diseases may stem from its inhibitory effect on the CatS expression.

P1-148

Candida albicans によるマクロファージと樹状細胞への IL-1 β 産生誘導の違い

○長谷部 晃¹、佐伯 歩¹、杉山 正博^{1,2}、柴田 健一郎¹ (北大 院歯 口腔分子微生物、²北大 院歯 口腔診断内科)

【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、マクロファージと樹状細胞における *C. albicans* によるインフラマソーム活性化メカニズムの違いを調べることを目的とした。【材料と方法】GFP を発現する *C. albicans* 株 pACT-GFP ならびに URA 遺伝子欠損株 CAI4 (アパディーン大学 A. J. Brown 教授より分与) を用いて、マウスマクロファージ系細胞 J774.1 ならびにマウス樹状細胞系細胞 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。細胞は LPS でプライミングし、上清中の IL-1 β を経時的に測定した。Caspase-1 阻害剤として Z-YVAD-fmk を用いた。【結果と考察】*C. albicans* pACT-GFP は XS106 ならびに J774.1 に IL-1 β 産生を誘導した。一方、*C. albicans* CAI4 は XS106 に IL-1 β 産生を誘導したが J774.1 には誘導しなかった。*C. albicans* の UV 処理ならびに熱処理の結果から、この活性には *C. albicans* が菌糸型であるだけでなく、生きていることが重要であることがわかった。誘導された IL-1 β は成熟型であり、*C. albicans* によりインフラマソームが活性化されていることが示唆された。この活性は Z-YVAD-fmk で阻害されたため、caspase-1 依存的であることがわかった。RPMI 培地に uridine を添加すると J774.1 への *C. albicans* CAI4 の IL-1 β 産生誘導が増強されるが、XS106 においては無関係であった。

P1-149

免疫応答を誘導する歯周病原細菌の抗原決定基の探索

○今吉 理恵子¹、田崎 園子¹、橋本 麻利江¹、永尾 潤一¹、長 環¹、田中 芳彦¹
(¹福歯大 感染生物)

歯周病は国民の多くが罹患しており、口腔内細菌感染によって引き起こされる疾患で、歯を失う最も大きな原因となっている。歯周病の発症と進行には免疫応答が関与しており、ヘルパー T 細胞を欠損したマウスでは歯周病感染に抵抗性であり、その病態に T 細胞による免疫応答が深く関与していることが明らかになっている。歯周病原細菌そのものがヘルパー T 細胞を分化させる抗原であることが示唆されており、菌体外膜あるいはジンジバインといった細菌のコンポーネントを用いてヘルパー T 細胞の分化を検討した報告は散見されるが、歯周病原細菌の抗原性に着目してヘルパー T 細胞の分化への影響を包括的に解析した研究は見当たらない。そこで我々は、歯周病の原因細菌の中で Red Complex に分類される強力な歯周病原細菌であり、なかでも最も病原性が高く、全ゲノムシーケンスが判明している *P. gingivalis* W83 株を対象として、サイトカインの産生を指標としてヘルパー T 細胞の分化への影響を包括的な解析を行った。T 細胞を除去したマウス脾細胞を抗原提示細胞とし、抗原として W83 株の全菌体抽出液を用いて、野生型マウスから単離したナイーブ T 細胞を *in vitro* で分化誘導させて検証した。その際に、可溶性画分と不溶性画分、さらに内膜画分、外膜画分といった各種画成分に分離したのも併せて評価することで主要な抗原部位の探索を行うことで、ヘルパー T 細胞の分化へ影響を及ぼす歯周病原細菌のコンポーネントを見いだした。本講演では、菌体から各種画成分への分離とその抗原決定基の探索について議論したい。

P1-151

ケモカイン遺伝子のメディエーター複合体による転写制御

○廣井 美紀¹、大森 喜弘¹
(¹明海大 歯 微生物)

【目的】 Interferon- γ (IFN γ) により誘導されるケモカイン Mig/CXCL9 および IP-10/CXCL10 は、CD8⁺ T 細胞や NK 細胞を腫瘍局所へ動員し、癌の増殖、浸潤を抑制することが報告されている。以前、我々は歯科基礎医学会でこれら遺伝子の発現が、IFN γ と TNF α の共刺激により相乗的に増強すること、その発現増強は転写因子 STAT1, NF- κ B とコアクチベーター CBP がエンハンソームを形成することにより誘導されることを報告した。一方、腫瘍局所で認められる低酸素状態が IFN γ , TNF α の共刺激により相乗的に増強した CXCL9, CXCL10 の発現を抑制し、この発現抑制は CBP ならびに RNA ポリメラーゼ II (RNAPII) のプロモーター上ヘリクルートの抑制によるものであることも報告した。しかしながら CBP, RNAPII のリクルートの制御がどのような機構によるものなのかについては不明な点が多い。そこで今回、RNAPII のリクルートや転写開始複合体の安定化に関与しているメディエーター複合体のケモカイン遺伝子 CXCL9, CXCL10 の発現制御における役割について検討を行った。【結果】 メディエーター複合体のサブユニット (CDK8, Cyclin C, MED12, MED13, MED26) の発現が IFN γ , TNF α および低酸素で変動するか、口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-2 細胞を用いてリアルタイム PCR 法にて検討を行った。その結果、MED12 の発現は低酸素で抑制されたが、他のサブユニットは恒常的な発現が認められ、有意な発現変動は認められなかった。そこで IFN γ による STAT1 の Ser727 のリン酸化に関与している CDK8 の発現を siRNA にてノックダウンさせ検討したところ、IFN γ と TNF α の共刺激による CXCL9, CXCL10 の相乗的な発現がさらに増強された。また低酸素によって抑制された CXCL9, CXCL10 の発現も解除された。この結果は、CDK8 が CXCL9, CXCL10 の発現を負に制御している可能性を示唆している。現在、ChIP 法によりプロモーター領域における CDK8 や他の制御因子の動態について検討を行っている。

P1-150

老化ラット歯肉の生理活性物質吸収と免疫応答誘導における有用性

○Cueno Marni¹、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)

Aging results to immunosenescence wherein changes occur in both innate and adaptive immune responses resulting in increased infectious disease susceptibility. Gingival fibroblast cells decline relative to age suggesting that as we grow older the space between the tooth and gingival tissue becomes loose. Here, we explored the potential of using the gingival tissue as an oral route to administer biomedical compounds and vaccine antigens using elderly rats. Throughout this study, we used young (4 week-old), middle-aged (40 week-old), and elderly (60 week-old) rats. We used xanthum gel to entrap varying green tea catechin (GEC) and influenza hemagglutinin protein (GEH) amounts. We orally-applied GEC and GEH to the 3 sets of rats at differing time intervals. Similarly, we collected heart blood serum at varying intervals to determine the ideal concentration and time application. Our results show that the gingival tissue can be a viable route for treatment of the elderly.

P1-152

アレルギー反応に関連した新しいシグナル分子の同定とその機能解析

○橋本 麻利江¹、永尾 潤一¹、田崎 園子¹、今吉 理恵子¹、長 環¹、湯浅 賢治²、田中 芳彦¹
(¹福歯大 感染生物、²福歯大 画像診断)

口腔アレルギーは全身での免疫応答を背景として口腔内の環境が原因で発症する疾患で、年々増加傾向にある。その病態は、花粉症アレルギーを背景にして交差反応で生じる口腔食物アレルギーや、指輪・ネックレス・ピアス使用者において歯科治療後に生じる口腔金属アレルギーといったように多岐にわたる。何れもヘルパー T 細胞による免疫応答が重要な役割を果たすことが知られているが、その分子メカニズムについては不明な点が多い。我々はこれまでに、ヘルパー T 細胞による免疫応答を制御するシグナル分子として、Rho ファミリー低分子 G タンパク質の活性を制御するグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) としての機能をもつ様々な分子の解析を行ってきた。本研究では、古典的 GEF や DOCK ファミリーとは異なる新しいタイプの GEF 遺伝子に着目し、アレルギー反応に関連したヘルパー T 細胞の分化をシグナル伝達の視点から解析することを目的としている。ヘルパー T 細胞の分化誘導にもなう詳細な時間軸によるタンパクレベルの解析をしたところ、この遺伝子に関連する分子の発現が、Th1 細胞では認められないのに対して、Th2 細胞において一過性に認められることを見いだした。現在、口腔アレルギーの病態とその制御機構を解明するために、この新しく特定した分子の機能を詳細に解析している。

P1-153

唾液腺における抗体ならびに抗菌性タンパク質産生におけるシグナル伝達分子 MyD88 の役割の検討

○引頭 毅¹、猪俣 恵¹、稲葉 裕明¹、村上 幸孝¹ (¹朝日大 歯 口腔微生物)

MyD88 は Toll 様受容体 (TLR) などの下流で細胞内シグナル伝達を開始するアダプター分子であり、主に自然免疫応答において重要な役割を果たしている。腸管では TLR が腸内細菌を認識して発動される MyD88 を介したシグナルは、IgA 産生や Reg3γ などの抗菌性タンパク質の発現において重要であり、腸管粘膜の恒常的免疫応答に大きく寄与している。一方、口腔には腸管とは異なる細菌叢が存在しており、TLR と MyD88 を介したシグナルは口腔の自然免疫、特に唾液腺における IgA 産生や抗菌性タンパク質の発現においても何らかの役割をもつことが予測されるものの、これまで報告はされていない。本研究では Myd88 遺伝子欠損 (Myd88-KO) マウスを利用し、唾液中の抗体クラスの産生レベルと唾液腺における抗菌性タンパク質の発現を調査した。MyD88-KO マウスではコントロールの野生型 (WT) マウスと比較して唾液中の IgA のベースレベルが若干上昇していたが、IgM、IgG1、IgG3 は減少していた。その他の抗体クラスは検出されなかった。マウス下顎腺から調整した細胞のフローサイトメトリーでは、CD138⁺IgA⁺形質細胞数は、MyD88-KO マウスでは WT マウスと比較して若干増加していた。血清中の IgM、IgG1 ならびに IgG3 のレベルは MyD88-KO マウスでは WT マウスと比較して減少していたことから、これらの抗体クラスの唾液中レベルに反映している可能性が考えられる。またマウス下顎腺から抽出した全 RNA のマイクロアレイ解析では、MyD88-KO マウスにおいて、特定の抗菌性タンパク質の遺伝子発現が減少していた。以上の結果より、MyD88 を介したシグナルは唾液腺における IgA 産生には直接的に関与していないようであるが、いくつかの種類の抗菌性タンパク質の発現には寄与していることが分かった。従って、MyD88 の役割は口腔と腸管ではかなり異なっていることが示唆された。

P1-155

LDL 酸化変性における Arg-及び Lys-gingipain の役割

○落合 智子¹、瀧澤 智美¹、小林 良喜¹ (¹日大 松戸歯 口腔免疫)

Recent studies have shown that periodontal disease increases the risk of atherosclerosis. We previously reported that *Porphyromonas gingivalis* accelerated atherosclerotic plaque formation in hyperlipidemic apoE^{-/-} mice by initiating inflammation. Because oxidative modification of lipoprotein plays a major role in the development of atherosclerosis, the present study was designed to test the oxidative activity of *P. gingivalis* on low-density lipoprotein (LDL). Atherosclerotic plaque formation in the aortic sinuses of ApoE^{sh1} mice i.v. challenged with *P. gingivalis* 381 was assessed by oil red-O staining. Anti-mouse HcI-oxidized LDL, 4HNE, PLA2, MPO and CD36 antibodies were used for immunohistochemistry. Detection of intracellular ROS generation was performed using H2DCF-DA. Quantitative RT-PCR was performed using primers specific for LOX-1, NOX-2, NOX-4, p22phox, and p47phox. Oxidation of LDL by monocytes exposed to bacteria was assayed by ox-LDL ELISA kit. *P. gingivalis* challenge markedly induced ox-LDL, 4HNE, PLA2, MPO and CD36 positive areas in proximal aortic lesions. TLR2, LOX-1, and NADPH oxidase subunit-specific mRNA levels were significantly increased. Furthermore, *P. gingivalis* exposure caused monocytes to oxidize LDL in a dose dependent manner. The LDL oxidation was inhibited by Arg- and Lys-gingipain inhibitors or Rgp- and Kgp-null mutants. These results suggest that *P. gingivalis* promotes the oxidation of LDL by Arg- and Lys-gingipains and contribute to atheroma development.

P1-154

SLPI による *Porphyromonas gingivalis* に対する感染抑制作用

○下山 佑¹、石河 太知¹、根本 優子²、根本 孝幸²、佐々木 実¹、木村 重信¹ (¹岩医大 分子微生物、²長大 院医歯薬 口腔分子生)

【目的】分泌型白血球プロテアーゼインヒビター (secretory leukocyte protease inhibitor : SLPI) は粘膜系での自然免疫の一因子として機能する。唾液中には SLPI が含まれるものの、口腔における SLPI の機能等については明らかではない。本研究では、歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* に対する感染防御/抑制因子としての SLPI の役割について、*P. gingivalis* のプロテアーゼ阻害作用という面から検討した。【方法】*P. gingivalis* の産生する主要なプロテアーゼである Arg-ジンジパイン (Rgp), Lys-ジンジパイン (Kgp)、ジペプチジルペプチダーゼ 4 (DPP4), DPP5, DPP7 および DPP11 のプロテアーゼ活性を蛍光ペプチド基質を用いて測定する実験系に SLPI を添加し、そのプロテアーゼ阻害作用について検討した。【結果】SLPI は pH 依存的に Rgp および Kgp 活性を阻害することが明らかとなった。また、菌体外の Rgp, Kgp と比較して、菌体結合型の Rgp, Kgp 活性をより強く阻害することが明らかとなった。しかし、DPP4, DPP5, DPP7 および DPP11 に対しては明確なプロテアーゼ阻害作用は認められなかった。【考察】Rgp, Kgp はともに、生体にとっては *P. gingivalis* の病原因子として働くが、同時に、*P. gingivalis* にとってはその生存・生育に関わる重要な機能を担っていることからすると、口腔において SLPI は、そのプロテアーゼ阻害作用を通じて、*P. gingivalis* に対する感染防御に働いている可能性が強く示唆された。

P1-156

細菌分解オートファジーに関わる Rab タンパク質

○野澤 孝志¹、中川 一路¹ (¹京大 医 微生物感染症)

Autophagy plays a crucial role in host defense by facilitating the degradation of invading bacteria such as Group A Streptococcus (GAS). GAS-containing autophagosome-like vacuoles (GcAVs) form when GAS-targeting autophagic membranes entrap invading bacteria. However, the membrane origin and the precise molecular mechanism that underlies GcAV formation remain unclear. In this study, we found that Rab17 mediates the supply of membrane from recycling endosomes (REs) to GcAVs. We showed that GcAVs contain the RE marker transferrin receptor (TfR). Colocalization analyses demonstrated that Rab17 colocalized effectively with GcAV. Rab17 and TfR were visible as punctate structures attached to GcAVs and the Rab17-positive dots were recruited to the GAS-capturing membrane. Overexpression of Rab17 increased the TfR-positive GcAV content, whereas expression of the dominant-negative Rab17 form (Rab17 N132I) caused a decrease, thereby suggesting the involvement of Rab17 in RE-GcAV fusion. The efficiency of GcAV formation was lower in Rab17 N132I-overexpressing cells. Furthermore, knockdown of Rabex-5, the upstream activator of Rab17, reduced the GcAV formation efficiency. These results suggest that Rab17 and Rab17-mediated REs are involved in GcAV formation. This newly identified function of Rab17 in supplying membrane from REs to GcAVs demonstrates that RE functions as a primary membrane source during antibacterial autophagy.

P1-157

マウス口腔扁平上皮癌細胞株の形質の違いが宿主の抗腫瘍免疫機構に及ぼす影響
足立 充隆^{1,2}、神谷 真子²、川木 晴美²、高山 英次²、稲垣 俊弘¹、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)

【目的】我々は、口腔扁平上皮癌細胞(OSCC)株を同系統マウスに移植し、宿主免疫系への影響を検討してきた(第54,55回歯科基礎医学会学術大会)。本研究では悪性形質が異なるOSCCサブクローンを移植したマウス脾細胞のサイトカイン産生能を比較することで、癌細胞の形質が抗腫瘍免疫応答の改変に及ぼす影響を検討した。

【方法】C3Hマウス由来粘膜炎扁平上皮癌細胞株Sq1979(理研BRC)、およびSq1979移植マウスより樹立したサブクローンSq233(原発巣由来)とL-5(リンパ節転移巣由来)を、C3Hマウス(雄/6週齢)側腹皮下に移植し、3~4週後に脾細胞を採取した。脾細胞を、抗CD3抗体を用いて48時間後試験管内で刺激培養し、上清中に分泌された抗腫瘍サイトカインであるインターフェロン γ (INF- γ)と抑制性サイトカインであるインターロイキン-10(IL-10)の濃度をELISA法にて測定した。

【結果と考察】L-5はSq1979やSg233と比較して高い移植生着率、成長速度を示した。脾細胞のINF- γ の産生能は、すべてのOSCC細胞株移植群においてコントロール群に比較して低下しており、その抑制は腫瘍径の成長と有意に逆相関していた。一方、IL-10産生能はL-5移植群では、INF- γ と同様、腫瘍の成長にしたがって有意に低下したのに対し、Sq1979移植群では逆に上昇した。Sq233移植群ではIL-10産生能に有意な変動は認められなかった。以上の結果から、OSCCの増大に伴い、宿主のINF- γ 産生能が低下し抗腫瘍免疫能が抑制されることが推測されたが、IL-10産生能は細胞株により異なる制御を受けており、OSCCによる、抗腫瘍免疫回避の分子機構はその形質によって異なることが示唆された。現在、さらに異なる形質のOSCC細胞株を用いて同様の解析を進め、悪性度との相関を検討中である。

P1-159

ヒト歯根膜線維芽細胞の機能維持におけるオステオポンチンとメカニカルストレスの役割
○荒川 俊哉¹、岡山 三紀²、溝口 到²、田隈 泰信¹
(¹北医大 歯 生化、²北医大 歯 矯正)

【目的】オステオポンチン(OPN)は歯根膜の細胞外マトリックス成分で細胞接着に重要な働きをする。歯根膜組織で遺伝子発現を網羅的に解析するとOPNの強い発現が認められるが、歯根膜から単離された培養歯根膜線維芽細胞ではOPNと歯根膜マーカー遺伝子の発現が共に著しく低下し、歯根膜細胞の機能低下が推定された。そこで、歯根膜線維芽細胞の機能維持におけるOPNの役割について解析した。【方法】ヒト抜去歯より得られた歯根膜組織より歯根膜線維芽細胞を単離、培養後、OPN発現ベクターを遺伝子導入し、歯根膜マーカー遺伝子の発現を検討した。更に遺伝子導入した細胞へメカニカルストレスを負荷し、それらの遺伝子の発現変化を検討した。【結果】ヒト培養歯根膜細胞へOPNの遺伝子導入を行った結果、OPNの発現増強が認められ、遺伝子導入5日目、歯根膜マーカー遺伝子PLAP-1の発現上昇が認められた。また、メカニカルストレスを同時に負荷した結果、PLAP-1の更なる増強が認められたが、OPNの発現を強くした場合、その効果は消失した。【考察】OPNは歯根膜線維芽細胞で、メカニカルストレスに反応して、細胞の機能維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

P1-158

歯根膜における実験的咬合性外傷の細胞動態
○高谷 達夫¹、三村 泰亮¹、松田 紗依佳²、中野 敬介²、川上 敏行²、岡藤 範正³、大須賀 直人¹ (¹松歯大 口腔健康分析、²松歯大 総歯研 病態解析、³松歯大 院 臨床病態)

【目的】外傷性咬合による歯周組織への影響については、十分な実証的研究が進展していないのが現状である。そこで咬合性外傷を発症する動物実験モデルを開発により高度な骨吸収の成因に関与すると考えられる外傷性咬合の影響を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討した。【方法】7週齢のddYマウスおよびC57BL/6マウスに腹腔内麻酔を行い、手製の実験台上に仰臥位で固定した。開口状態を保持し、上顎左側第一臼歯咬合面にラウンドバーにて穿孔後、マイクロプラススクリュー(頭部径1.7mm、頭部厚0.5mm、全長3.5mm)を植立し、対合する下顎左側第一臼歯の歯根膜部に咬合性外傷を惹起した。なお、対照として無処置のマウスの同部位を用いた。下顎左側第一臼歯近心から遠心方向に前頭断切片を作製し、実験開始後14日までの根分岐部の歯根膜における細胞動態の経時的变化を、病理組織学的な細胞核占有率についての画像解析とKi67免疫染色により解析した。【結果】対照群と比較して4日群では、歯根膜の充血傾向があり、歯根膜線維芽細胞密度が上昇していたが、7日群、14日群では細胞密度が低下していた。病理組織学的検討による根分岐部の歯根膜における細胞核占有率は、対照群と比較し4日群、7日群、14日群共に増加した。とくに実験4日群は有意に増加していた(Scheffe検定。p<0.05)。7日群および14日群は対照群との有意差を認められなかった。Ki67による免疫染色では、Ki67陽性細胞率は対照で1.2%を示し、4日の陽性率は22.6%と高値で、7日の陽性率は17.5%と若干の減少傾向があり、14日では3.8%と対照と近似する値を示した。【考察】病理組織学的検討による根分岐部の歯根膜における細胞核占有率の増加ならびにKi67免疫染色の陽性率の増加は、外傷性咬合により惹起された咬合性外傷の受傷部位において、細胞活性の亢進に伴う根分岐部の歯根膜の改造現象を誘起する可能性を示唆するものと考えられた。

P1-160

矯正力による歯の移動時のラットの歯周組織の改造
○朱 成淑¹、金 志延¹、申 濟元¹
(¹慶熙大 歯 口腔解剖組織)

In orthodontic treatment, teeth are rearranged in response to applied mechanical forces that cause remodeling of the periodontal tissues. The objective of this study was to investigate the processes of alveolar bone, cementum, periodontal ligament (PDL), and gingival remodeling in response to orthodontic force in rat. Nickel-titanium closed-coil springs were used to create a mesial force to the maxillary first molars. On days 1, 3, 7, 10, and 14 after force application, histological changes in periodontal tissues were examined by immunohistochemistry using proliferating cell nuclear antigen (PCNA), OPN, osterix, odontogenic ameloblast-associated (ODAM), and cytokeratin 14 (CK14). In the processes of alveolar bone, cementum, and PDL remodeling, cell proliferating activity was observed in the surface cells of the alveolar bone and cementum on both tension and pressure sides. OPN expression was observed along the cementing line of the cementum and bone on both sides and also was visible along with newly formed fibers in the periodontal ligament on the tension side. Osterix expression was strongly detected on the surface of the alveolar bone and cementum on both sides. In the processes of gingival remodeling, JE destroyed on day 1 by forces applied during orthodontic tooth movement was regenerated within 10 days. Cell proliferation activity was observed in basal cells of the JE on days 3 and 7. ODAM expression was reduced and appeared in limited areas of superficial cells of the regenerating JE on day 3 and then detected in the entire JE on day 7. In conclusion, OPN and osterix may play an important role of differentiation and matrix formation of osteoblasts and cementoblasts during periodontal tissue remodeling. Odam may be associated with the normal function of JE.

P1-161

歯根膜線維芽細胞による破骨細胞制御機能に及ぼす咬合力の影響

○高橋 智美¹、滝田 裕子¹、牛島 夏未¹、飯塚 正¹ (北大院歯 学術支援)

【目的】歯槽骨の恒常性の維持には歯根膜組織が重要な役割を果たしている。今回、我々は咬合力を喪失した場合の歯槽骨における歯根膜線維芽細胞による破骨細胞性骨吸収の制御について検討を行った。【材料と方法】生後4週齢のWistar Ratの上顎左側臼歯を抜去し、3週間後に下顎臼歯の歯根膜組織から分離培養して得られた細胞を咬合側および抜歯側の歯根膜線維芽細胞として使用した。抗RANKL、抗OPG抗体による免疫染色を行い、ウェスタンブロッティング法によりRANKLおよびOPGの発現を確認した。また、歯根膜線維芽細胞の培養上清を用いて破骨細胞前駆細胞を培養し、TRAP染色にて破骨細胞への分化・誘導能を比較検討した。【結果・考察】歯根膜線維芽細胞は免疫染色において、咬合側、抜歯側ともにRANKLおよびOPG陽性を示した。ウェスタンブロッティング法ではRANKLおよびOPGタンパクの発現が認められたが、咬合側と抜歯側においてその発現量が異なるとは認められ、抜歯側で発現量が低下している傾向が認められた。培養上清を用いた破骨細胞前駆細胞の培養では多核のTRAP陽性細胞が認められたが、抜歯側の培養上清を用いた培養では、咬合側に比べTRAP陽性細胞は小型で核数の少ない細胞が誘導される傾向が認められた。以上より歯根膜線維芽細胞における破骨細胞制御因子の発現は、咬合力の負荷により変動することが明らかになり、破骨細胞への分化・誘導能には咬合力が影響している可能性が示唆された。

P1-163

ヒト歯肉線維芽細胞でのLPS長期刺激によるXII-collagenとfibronectinのDNAメチル化解析

○西村 学子¹、高井 理衣¹、植原 治²、原田 文也¹、宇津宮 雅史¹、中條 貴俊¹、吉田 光希¹、佐藤 惇¹、齊藤 正人³、安彦 善裕¹ (北医大 歯 臨床口腔病理、²北医大 歯 保険衛生、³北医大 歯 小児歯科)

【目的】エピジェネティクスは、DNAの塩基配列の変異を伴わず遺伝子の発現が変化する現象で、代表的なものにDNA高メチル化やヒストン修飾がある。口腔ではこれまで前がん病変やがんの発生について研究が行われていたが、歯周病の発症についての詳細は不明である。本研究では、歯周病原菌 *P. gingivalis* 由来のLPSを長期刺激した際のエピジェネティックな影響について、ヒト歯肉線維芽細胞 (HPDL) の $\alpha 1$ (XII) collagen (XII-collagen) と fibronectin type III (FN) のDNA高メチル化領域についてDNAメチル化解析を行った。【方法】HPDLs (LONZA) は、10% FBS含有DMEMにて培養した。LPS (WAKO, ATCC33277) 1 μ g/ml を3日毎に培地添加、無添加で継続的に培地交換を行い1~4ヶ月間培養した。コントロールは滅菌水添加の細胞を用いた。DNA抽出は超音波処理にて断片化後、DNA Microarray Scanner (Agilent technology) にて解析した。DNA高メチル化の再現性確認は、DNAをbisulfite処理後、定量的Methylation-Specific PCR (MSP) 法 (SYBR Green) を行った。さらに、mRNA発現解析は、定量的real-time PCR (SYBR Green) およびRT-PCR法により発現変化を確認した。得られた結果は、Mann-Whitney U検定にて比較検討した ($P < 0.05$)。【結果と考察】LPSの長期刺激によってXII-collagenとFNのCpG領域にDNA高メチル化のあることが確認された。同時に、両者のmRNAの有意な発現減少が認められた。以上のことから、HPDLは長期間 *P. gingivalis* 由来のLPS刺激に曝されることにより、XII-collagenはFNはDNA高メチル化を介してmRNA発現低下のみられることが示唆された。

P1-162

ストレス反応性物質による歯周組織への影響 第2報

○定岡 直¹、八上 公利^{2,3}、川原 一郎¹、(¹松歯大 口腔衛生、²松歯大 社会歯科、³松歯大院 健康増進口腔科学)

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、肥満細胞の遊走や、ロイコトリエンやプロスタグランジンの産生、ヒスタミン放出に関与するなど、全身および局所の免疫調節機構と密接に関係している。また、歯周病との関連性が報告されており、これまでに口腔分野からは唾液中のCgA測定による、診療時の患者のストレス、口腔乾燥症や高齢者の歯周疾患との関連性が報告されている。我々も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を産生することやクロモグラニンA添加時にTGF- β やMAPK遺伝子群の情報伝達に深く関連しているSmad遺伝子群も増大することを報告している。今回はさらにクロモグラニン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添加群ではこれまでに報告しているIL-1やTNF- α と同じく炎症性サイトカインであるIL-8の増大が見られた。【結論】IL-8は歯根膜に対する咬合時のメカニカルストレスと関連して多量に産生されることが報告されており、咬合による機械的なストレスを加えた際にもクロモグラニンAが歯根膜に産生される可能性が示唆された。

P1-164

歯周組織における血管・骨再生の数値シミュレーション

○松尾 雅斗^{1,2}、永山 勝也³ (¹神歯大院 歯科形態、²神歯大 横須賀・湘南地区災害医療歯科学 研究セ、³九工大 機会情報)

【目的】本研究では、抜歯後30日間における血管新生とCa輸送モデルを考慮した領域における歯槽骨再生の数値シミュレーションを行うことで骨と血管の連成成長過程について検討した。【方法】血管新生モデルとして、3次元領域に動脈上にある血管の起点と誘因物質となる血餅を粒子で配置する。ここで、動脈から新生した血管は、周囲の血餅に影響して形成されると仮定した。血管の新生過程として、まず伸長・分岐探索を行う。次に、探索粒子の中で最大誘因値を持つ粒子が血管となり、血管網が形成される。また、血管同士が合流や交差しないように血管粒子の数密度を考慮した。Ca輸送のモデル化にあたり、血管を中心に3次元空間に同心円上で拡散させる式を計算した。Ca濃度に骨化係数や骨形成・吸収のバランスを取り入れて、刻み時間ごとに骨密度が変化するようにモデル化した。【結果】血管新生では誘因値である血餅の最大方向へ伸長と分岐を繰り返しながら、血管網が形成されたことを確認した。Ca輸送では、Caが血管周囲から定常に拡散される分布を確認した。さらに、骨形成では反応拡散方程式を用いて、骨芽細胞と破骨細胞の影響によって骨密度を算出し、歯槽骨内部の骨形成パターンが確認できた。また、骨形成の3次元解析において中央断面での骨占有率の割合と2値化した画像の骨占有率の比較を行い、ほぼ同等の結果が得られた。【結論】本研究では、30日間における骨形成と血管新生の複雑な現象を可視化するため連成解析を行った。その結果、血管新生は3次元上に伸長・分岐しながらも血管同士の合流がない血管網の形成が確認できた。さらに、血管を中心にCaが定常に拡散されることを確認した。

P1-165

大黃甘草湯は活性酸素やインフラマソームを介して 5-fluorouracil が誘導する細胞死を改善させる
○吉田 賀弥¹、吉岡 昌美²、岡村 裕彦³、日野出 大輔⁴ (徳大 院 HBS 口腔保健教育、²徳大 院 HBS 口腔保健福祉、³徳大 院 HBS 口腔組織、⁴徳大 院 HBS 口腔保健衛生)

背景：抗癌剤 5-fluorouracil (5-FU) は、口腔粘膜の細胞死を促進させ、口腔粘膜炎を惹起する。口腔粘膜炎は癌治療患者の QOL を低下させ、重篤になると口腔内の感染症や敗血症を併発させる。癌治療の良い成果を得るには、口腔粘膜炎を予防し治療する必要があるが、その有効な方法は確立されていない。目的：5-FU が誘導する細胞死の機序を活性酸素 (ROS) やインフラマソーム (NLRP3) に着目して解明し、漢方薬・大黃甘草湯 (TJ-84) の効果について検討する。方法：ヒト歯肉癌由来細胞株 Sa3 細胞を用いた。WST-8 assay, lactate dehydrogenase (LDH) 測定, propidium iodide 染色により細胞死を、ウエスタンブロット法 (NLRP3, caspase-1)、ELISA (IL-1 β)、siRNA (NLRP3) により NLRP3 の活性化を判定した。ミトコンドリア膜電位差の変化を JC-1 で、ROS 産生を MitoSOXTM Red で測定した。結果と考察：Sa3 細胞において、5-FU は LDH 放出や細胞膜ポアを伴う細胞死を促進し、NLRP3 を活性化した。5-FU による細胞死や LDH 放出の亢進は、NLRP3 siRNA により減少した。5-FU はミトコンドリア膜電位差を低下させ、ROS 産生を促進した。TJ-84 にて前処理すると、細胞死、LDH 放出、caspase-1 切断、ミトコンドリア膜電位差及び ROS 産生に対する 5-FU の影響は抑制された。以上より、5-FU が NLRP3 や ROS を介して細胞死を引き起こし、TJ-84 がそれを抑制することが判明した。また、TJ-84 が癌治療患者の口腔粘膜炎の治療に有効である可能性が示された。非会員共同研究者：川添和義 (徳大・院 HBS 研究部)、Daniel Grenier (カナダ・ラバル大学)

P1-167

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 4)
○石原 真理子¹、山内 雅司² (明海大 歯 口基礎化学、²明海大 歯 医療情報)

【目的】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 60 種類の化合物を想定し、そのうちの 50 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。

P1-166

口腔粘膜におけるメカノセンサー Piezo の発現
○島山 純子¹、木附 智子²、高島 悦央奈^{2,3}、村田 直久⁴、島山 雄次⁵、阿南 壽¹、城戸 瑞穂² (¹福歯大 保存、²九大 院歯 分子口腔解剖、³佐賀大 医 歯口外、⁴九大 院歯 矯正、⁵福歯大 機能構造)

【目的】口腔は、咀嚼、嚥下、会話等による機械的な力に常に曝されており、それに対応して口腔粘膜の部位による多様な組織構築を示していると考えられる。皮膚やその他の粘膜に比しても口腔粘膜は繊細な識別感覚を有していることが知られている。機械センサーの分子実体は長く不明であったが、2010 年に Coste らが非選択陽イオンチャネルである Piezo1、Piezo2 をマウスにて報告した (Science)。Piezo は植物や原動物から脊椎動物まで種を超えて保存され、機械刺激により活性化される陽イオンチャネルであった。そこで、我々は口腔粘膜における機械刺激受容を解明する目的で、Piezo1 および Piezo2 の発現を検討した。

【方法】5 週齢の雄性 C57/BL6N マウスより RNA を抽出し、定量的 PCR により Piezo1 および Piezo2 の発現を解析した。また、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定し、10 μ m 厚さの凍結切片を作製し、免疫組織学的に解析した。三叉神経節、皮膚、歯肉、頬と口蓋粘膜および歯を解析の対象とした。

【結果および考察】定量的 PCR により、Piezo1 および Piezo2 が三叉神経節、歯肉、頬粘膜、骨に発現をしていた。三叉神経節では Piezo2 の発現が顕著であった。一方、口腔組織では Piezo1 の発現が高かった。Piezo1 はマウス歯肉上皮および頬粘膜上皮の顆粒細胞層、有棘細胞層に発現していた。象牙芽細胞にも発現が認められ、特に髄角部に強かった。また歯槽骨の骨芽細胞および破骨細胞に発現が認められた。よって、口腔領域の組織においても、Piezo1 および Piezo2 が機械刺激のレセプターとして働く可能性が示唆された。

P1-168

分岐鎖脂肪酸及び分岐鎖脂肪酸エステルによる抗炎症成分の口腔粘膜吸収性向上
○成松 三四郎¹、川延 勇介¹、荒井 将人¹、高橋 康彦¹ (¹ライオン オーラルケア研)

【目的】近年、高齢者の残存歯数増加と共に歯周病罹患率も上昇し、同疾患への対策の重要性が高まっている。歯周病予防歯磨剤には腫れや出血を防ぐために、一般的に抗炎症成分が配合されるが、その作用を発揮させるためには歯周組織への吸収性が重要となる。しかしながら、抗炎症成分の多くは水溶性のため、口腔粘膜表層の唾液層を透過しやすい反面、極性の低い角質層を有する口腔粘膜を透過することが難しい。そこで、抗炎症成分の歯周組織への吸収性向上を果すため、親水性基剤である歯磨剤の極性の低減化に着眼し、本研究に着手した。

【方法】抗炎症成分としてはトラネキサム酸を用いた。一般的な歯磨剤組成にトラネキサム酸と、吸収促進剤としてアルキル鎖長の異なる直鎖脂肪酸、分岐鎖脂肪酸、不飽和脂肪酸、及び脂肪酸エステルをそれぞれ配合した歯磨剤を調製した。トラネキサム酸の吸収性評価には、フランチ拡散型セルを用いたハムスター cheek pouch の膜透過性試験を実施した。口腔清掃時の唾液希釈を想定した各歯磨剤の 3 倍希釈液を調製し、フランチセル上層に添加、経時的に下層に透過したトラネキサム酸量を HPLC にて定量した。

【結果及び考察】分岐鎖構造を持つイソステアリン酸、及びそのフィトステロールエステルを配合した歯磨剤において、顕著なトラネキサム酸の透過量の向上が認められた。また、その歯磨剤とハムスター cheek pouch との接触角の低下が確認されたことから、イソステアリン酸あるいはそのフィトステロールエステルは、歯磨剤の極性を低減し口腔粘膜との親和性を向上させることにより、抗炎症成分の吸収性を向上させると考えられる。

P1-169

各種臓器由来ヒトアルカリ性ホスファターゼの基質選択性と阻害剤感受性

○更田 恵理子¹、出山 義昭²、吉村 善隆²、鈴木 邦明²、山崎 裕¹ (1)北大 院歯 口腔健康科学、(2)北大 院歯 口腔病態)

各臓器由来のアルカリ性ホスファターゼ (ALP) の生体における真の基質と機能に関して未だに不明な点が多い。そこで、ヒトの骨型、小腸型、胎盤型及び肝臓由来の ALP を購入して使用し、それらの基質選択性及び阻害剤に対する感受性を検索した。基質として、パラニトロフェニルリン酸 (*p*-NPP)、ナトリウムピロリン酸 (Na-PPi)、アデノシン三リン酸 (ATP) 及びピロドキシリン酸 (PLP) を使用して、各 ALP 活性の pH 依存性と基質濃度依存性、及び阻害剤である levamisole 及び vanadate による阻害を検討した。活性は各基質が加水分解されて生ずる無機リンを Chifflet 法によって定量して測定した。骨型 ALP の生体内基質とされているピロリン酸分解の至適 pH はどの ALP も 8.8 から 9.1 であり、また 50% 活性化濃度 ($K_{0.5}$) も ALP の種類によらず 3 から 5 mM であった。小腸型 ALP の基質とされる PLP 分解の至適 pH はどの ALP も 9.9 から 10.4 であり、また PLP 分解の $K_{0.5}$ も ALP の種類によらず 1.1 から 1.6 mM であった。ATP あるいは *p*-NPP を基質として同様の実験を行った結果、基質に対する至適 pH と基質に対する $K_{0.5}$ は ALP の由来には関係なく基質によって類似していた。また、levamisole などの阻害剤に対する $K_{0.5}$ は基質の種類には関係なく、ALP の種類によってほぼ一定であった。ヒトに存在する各臓器由来の ALP はその機能と生体内基質に対応して変化してきた可能性があると考えて本研究を行ったが、少なくとも今回検討した基質に関しては ALP の種類による相違は見いだせず、むしろ阻害剤に対する感受性に ALP の種類による相違が見られた。

P1-171

侵害性疼痛およびシクロオキシゲナーゼに対するキトサンオリゴ糖の効果

○米原 典史¹、長岡 正博¹
(¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

【目的】キチン・キトサンは、毒性が低く、安全性が高い天然多糖類の一種である。薬理作用としては、創傷治癒促進作用や抗腫瘍作用など様々な作用を有することが知られている。本研究で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 (COS) を用いて、各種侵害刺激 (熱刺激、化学刺激) に対する鎮痛作用およびシクロオキシゲナーゼ (COX) に対する効果を検討した。【方法】ICR 雄性マウス (28 g~30 g) を用いた。COS の鎮痛効果は、経口投与および腹腔内投与により化学侵害刺激 (酢酸ライジングテスト、ホルマリンテスト) と熱侵害刺激 (ホットプレート試験) に対する作用を調べた。COX (COX-1 と COX-2) に対する COS の効果は、COX 阻害スクリーニングキット (COX Inhibitor Screening Assay Kit: Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) を用いて検討した。【結果と考察】COS は、熱侵害刺激よりも化学侵害刺激に対し、より強い鎮痛効果を示した。またホルマリンテストでは、COS は炎症性疼痛 (第二相) を強く抑制した。アスピリンは、COX-1 および COX-2 を有意に抑制したが、COS は、COX-1 および COX-2 の酵素活性には無効であった。これら結果は、COS は酸性非ステロイド性鎮痛薬と異なる機序により疼痛抑制作用を発現することを示唆している。

P1-170

ラット脳各種 ATPase 活性に対する静脈麻酔薬の作用

宮本 健志¹、出山 義昭¹、吉村 善隆¹、
○鈴木 邦明¹ (北大 院歯 口腔病態)

静脈麻酔薬の各種 ATPase に対する作用の報告は多いが、作用機構の詳細については未だ不明な点が多い。ATPase には P 型 ATPase, V 型 ATPase, F 型 ATPase などが存在し、活性発現に Mg^{2+} (Mg) を必要とするが、役割や性質の不明な Mg-ATPase は多数報告されている。本研究ではラット脳に存在する Mg-ATPase を分析するとともに、静脈麻酔薬の作用を検討した。ラット全脳から、Pottorf の方法に従って、形質膜 (PII) とミクロソーム (PIII) 分画を得た。Mg-ATPase 活性の至適 pH は PII が約 9.4、PIII は約 7.4 であった。PII の Mg-ATPase 活性は F 型 ATPase の阻害剤である $NaNO_3$ によって約 80% 抑制され、PIII の Mg-ATPase 活性は P 型 ATPase 及び V 型 ATPase の阻害剤である Na_2VO_4 及び Bafilomycin A1 によってそれぞれ約 10% 及び 30% 抑制された。ウエスタンブロットティングの結果からも、F 型 ATPase は PII に、V 型 ATPase は PIII に最も多く検出された。上記阻害剤で抑制されない Mg-ATPase 活性を Basal Mg-ATPase とし、各阻害剤の存在下で各 ATPase を分別して静脈麻酔薬の影響を調べた。Propofol は V 型 ATPase 活性、PII 及び PIII Basal Mg-ATPase 活性を濃度依存的に抑制したが、F 型 ATPase 活性は 80% 程度活性化した。Pentobarbital はすべての ATPase 活性を濃度依存的に抑制した。Thiopental もすべての ATPase 活性を抑制したが、その程度は各 ATPase によって異なった。以上の結果から、静脈麻酔薬はラット脳 Mg-ATPase 活性を基本的に抑制するが、propofol はミトコンドリアに特異的な作用を及ぼすことが示唆された。

P1-172

NNC05-2090 の抗アロディニア効果とその他の薬理作用について

○十川 千春¹、秦泉寺 紋子²、大山 和美³、
宮脇 卓也⁴、森田 克也⁵、十川 紀夫¹、
小崎 健一¹

(¹岡大 院医歯薬 歯科薬理、²香川大 口腔外科、³岡大 院医歯薬 歯科麻酔、⁴岡山大 歯 実験施設、⁵広島文化大 看護 薬理)

神経障害性疼痛に対する第一選択薬として三環系抗うつ薬などが挙げられるが、これらは、未だ治療効果が十分ではない場合や副作用の問題があり、新薬の開発が望まれる。われわれは、疼痛制御において抑制性神経伝達物質の調節が重要であると考え、特に、GABA 神経伝達を調節する GABA トランスポーター (GAT) 阻害薬の神経障害性疼痛に対する鎮痛効果について検討を行ってきた。その結果、1-(3-(9H-Carbazol-9-yl)-1-propyl)-4-(2-methoxyphenyl)-4-piperidinol (NNC05-2090) に抗アロディニア効果があることを見出した。NNC05-2090 は従来 betaine/GABA トランスポーター (BGT-1) に比較的強い阻害作用を示すが、興味深いことに NNC05-2090 には、三環系抗うつ薬のターゲットでもあるモノアミントランスポーターに対しても BGT-1 と同程度の阻害作用を示すことから、NNC05-2090 の鎮痛効果には、モノアミントランスポーター阻害効果が大きく関わっている可能性が示唆された。さらに、NNC05-2090 の鎮痛薬としての有用性を検証するため、その薬理作用をアミトリプチリンと比較検討したところ、マウス強制水泳試験において、抗アロディニア効果の見られる用量よりも 10 倍の用量で抗うつ効果が見られた。さらに、三環系抗うつ薬の代表的な副作用である便秘作用についてマウス小腸輸送能試験を用いて検討した結果、アミトリプチリンで見られる有意な小腸輸送能抑制作用が、NNC05-2090 においては、抗アロディニア効果の見られる 20 倍の用量を投与した場合でも認められなかった。

(会員外共同研究者：北山 滋雄)

P1-173

グルタミン酸は zoledronate による骨芽細胞障害を抑制する
○田島 雅道¹、坂上 宏¹ (明海大 歯 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。そこで ZD による培養骨芽細胞障害作用を抑制できる有用物質の探索を行い、グルタミン酸にその防御効果があることを見出し、その防御作用機序の解析を行った。【方法】骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用いて、ZD の細胞障害作用を抑制する物質を調べた。細胞増殖活性の測定は WST-8 を用い、アポトーシスの評価は CellEvent caspase 3/7 により行った。また、ミトコンドリア膜電位の変化は JC-1 の蛍光測定で行い、細胞内活性酸素 (ROS) 測定は CM-H₂DCFDA を用いて、励起光の反復照射によって生成される ROS 量の経時的変化から、その応答性を評価した。【結果】ZD は MC3T3-E1 の細胞増殖を濃度依存的に阻害した。この ZD による細胞障害では、ミトコンドリア膜電位の上昇が認められ、ROS 生成応答性は抑制されていた。ところが caspase 3 の活性化が起こっていた。L-グルタミン酸はこの ZD の細胞障害を顕著に抑制した。さらに L-アスパラギン酸にも同様の抑制効果が認められたために、グルタミン酸受容体 (NMDA 型) 拮抗薬 MK801 の共存下で、このグルタミン酸の防御効果が阻害されるかどうかを調べたが、阻害作用は認められなかった。【考察】グルタミン酸は NMDA 受容体を介さない機序によって、ZD の骨芽細胞障害を防御している可能性が示唆された。

P1-174

歯科用モノマーによる破骨細胞分化に対する効果
○稲光 宏之^{1,2}、岡元 邦彰¹、坂井 詠子¹、
村田 比呂司²、筑波 隆幸¹ (長大 院医歯薬
歯科薬理、²長大 院医歯薬 歯科補綴)

歯科材料として広く用いられるレジンモノマーは保存修復材料、補綴材料など口腔内で様々な用途に用いられる。レジンモノマーによる歯肉線維芽細胞、歯肉上皮細胞などの細胞毒性はこれまで様々な研究が行われてきた。しかしながら、歯周病の主たる原因細胞である破骨細胞に関するレジンモノマーの効果については報告されていない。そこで、本研究では代表的な歯科用レジンモノマーであるヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA)、トリエチレングリコールメタクリレート (TEGDMA) を用いて、破骨細胞分化に対する効果を解析した。細胞としてマウスマクロファージ細胞株 RAW-D およびマウス骨髄マクロファージを用いて、RANKL 添加により破骨細胞を誘導した。破骨細胞形成を解析する TRAP 染色法を行ったところ、HEMA および TEGDMA は濃度依存的に破骨細胞形成を抑制した。HEMA および TEGDMA は共に 0.5 μM までは細胞毒性は認められず、むしろ細胞の増加傾向を示した。驚いたことに、破骨細胞抑制能を示した 10 倍量の HEMA および TEGDMA を用いても、破骨細胞への細胞毒性は認められなかった。ウェスタンブロット法によって解析したところ、HEMA および TEGDMA の投与により、破骨細胞のマーカータンパク質である c-fms, c-Src, NFATc1 はいずれも濃度依存的に発現量が減少した。これらの結果から、HEMA および TEGDMA は細胞毒性を与えることなく、強力な破骨細胞抑制効果を有していることが明らかとなった。現在、HEMA および TEGDMA による破骨細胞の細胞内シグナルへの影響を解析している。

P1-175

窒素含有 bisphosphonates (N-BPs) 治療患者での顎骨壊死: N-BPs の etidronate (non-N-BP) への置換の試み
○大泉 丈史^{1,2,4}、山口 晃史^{1,2}、鈴木 飛佳理^{1,2}、
土谷 昌広³、菅原 俊二、高橋 哲²、
遠藤 康男¹ (東北大 院歯 口腔分子制御、²東北大 院歯 口腔病態外科、³東北福祉大、⁴JCHO 仙台病院 歯科・口腔外科)

【背景と目的】Bisphosphonates (BPs) が関連する顎骨壊死 (BRONJ) が増加しているが、発症機序不明とされ、予防・治療の確立された方法もない。BRONJ は N-BPs により発症し、non-N-BPs (etidronate (Eti) や clodronate) による明確な発症はない。私達はマウスの実験で、non-N-BP の Eti は“(i) N-BPs の炎症・壊死作用を抑制し、また、(ii) 骨に結合した N-BPs と置換する”ことを見だし、Eti を N-BPs の代用薬にする治療を提案している。以前試みた 2 症例で良好な結果が得られ (報告済み)、今回はその後の 13 症例について報告する。【方法と症例】主治医・患者の同意のもとで Eti 代用治療 (2 週間投与・約 3ヶ月休薬を 1 クールとする標準的処方) を行った患者 13 名について、後ろ向き研究として倫理委員会の承認を得て、治療成績を集約した。【結果】殆どの患者で痛みと排膿は Eti 投与開始後 3-4 週間で消失し、その 2-3 週間後、腐骨除去に至った。また、骨シンチグラフィで炎症部位の縮小が観察された。一方、Eti 非投与患者では早期の腐骨分離はみられなかった。【考察】BPs は癌の骨転移部位や骨の炎症部位に高濃度で集積する。顎骨に炎症が起ると、N-BPs はこの部位に過剰集積し、炎症・壊死につながると思われる。Eti の投与量は N-BPs に比べ多量 (約 100 倍) であるため、Eti は顎骨炎症部位に大量に集積し、既に蓄積している N-BPs と置換することで腐骨分離を促し、壊死を予防し、また、進行を抑制すると予想される。上記 13 症例の経過は、この仮説を支持すると思われる。N-BPs の Eti への切り換えは、N-BPs による顎骨壊死に対する予防・治療効果に加え、本来の目的である骨吸収抑制も期待できると思われる。

P1-176

破骨細胞の分化抑制に関するエラジタンニン類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 院医歯薬 歯科薬理)

植物界に広く存在する天然ポリフェノールは近年骨粗鬆症など諸疾患において治療や予防に副作用が少ない薬物として注目を集めている。その中でも、エラジタンニン類は抗酸化や抗痛活性で知られているが、破骨細胞に対する作用メカニズムは不明である。よって、その機能解明を目指して研究を進めた。本研究ではマウスマクロファージ細胞株 RAW-D およびマウス骨髄マクロファージに RANKL 添加により破骨細胞を形成した。リアルタイム PCR により RANKL 刺激後の分化途中の破骨前駆細胞について抗酸化酵素 HO-1 の mRNA 発現量を調べ、エラジタンニン類の中から高い抗酸化性を示すプニカラジンとカスタラジンについて解析を進めた。TRAP 染色法およびピットアッセイ法による骨吸収能を評価した結果、どちらも濃度依存的な破骨細胞形成の抑制を示した。またウェスタンブロット法によって解析したところ、RANKL 刺激によって誘導される p38MAPK、IκB 及び ERK のリン酸化に関してどちらも顕著に抑制することが確認できた。プニカラジン、カスタラジンともに同様の抑制効果を示したが、低濃度における骨吸収やシグナル伝達経路において、プニカラジン添加のほうがカスタラジン添加よりも比較的緩やかに抑制するため、強力な副作用を起こしにくいことが予想される。以上の結果からプニカラジンとカスタラジンは破骨細胞に直接作用し、破骨細胞形成を阻害することが明らかとなった。したがって、エラジタンニン類には有意な破骨細胞分化形成の抑制効果があり、新しい骨疾患治療薬の開発に繋がるのが期待される。会員外共同研究者: 田中隆 (長大院医歯薬天然物化学)

P1-177

アルクテゲニンの破骨細胞分化抑制メカニズム

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

【目的】漢方ゴボウシ由来のアルクテゲニン(ARC)は抗炎症作用を持つ天然化合物である。破骨細胞の分化や機能に関わる遺伝子群の発現には、転写因子 NFATc1 の活性化が必須である。我々は、ARC が破骨細胞の分化と機能を抑制することを見出し、その阻害機構を明らかにした。

【方法】破骨細胞の分化誘導はマウス骨芽細胞・骨髄細胞の共存培養系および M-CSF/RANKL 誘導骨髄マクロファージ系を用いた。NFATc1 の転写活性はルシフェラーゼアッセイで定量した。NFATc1 の DNA 結合能はクロマチン免疫沈降法で検討した。破骨細胞分化阻害の回復実験は活性化型 NFATc1 をレトロウイルス導入法で行なった。骨吸収は破骨細胞を象牙切片上に播種して、アクチン染色および吸収窩形成で評価した。

【結果】ARC は NFATc1 の転写活性および DNA 結合能いずれも強力に阻害した。ARC は共存培養および骨髄マクロファージからの破骨細胞分化を強く抑制した。一方、カルシニューリン阻害薬 (CsA) は共存培養における破骨細胞分化を抑制しなかった。活性化型 NFATc1 の発現は ARC による破骨細胞分化阻害を解除できなかったが、CsA による阻害を解除した。

【考察】ARC は NFATc1 に対する活性阻害において、カルシニューリン依存経路のみならず、非依存経路も抑制する。DNA 結合能が失われていることより、NFATc1 の DNA 結合に必要な翻訳後修飾が阻害されていることが示唆される。(共同研究者：富山大学和漢医薬学総合研究所・門田重利博士・李峰博士、東京理科大学生命医科学研究所・江角浩安博士)

P1-179

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)

近年のう蝕研究と臨床治療は、診断・予防・再石灰化による回復が大きな課題となっている。また臨床で、レーザー機器の治療への応用が著しい。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明らかにする目的で、表層下脱灰を伴うヒト臼歯白斑モデルを用いて、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、病巣の広がり範囲と石灰化度の変化を時間軸で評価した。実験には当病院診療科で抜歯し本学倫理委員会規定にて使用が許可された臼歯に、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、2%フッ化ナトリウム塗布と炭酸ガスレーザー照射の併用(レーザー・サンドウィッチ法)を経日的に行なった。試料は島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 BOND 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を比較すると、レーザーが直接照射されるエナメル質表面の色調は経日的に変化がみられ、周囲の健全エナメル質と類似した。 μ CT 画像観察結果から深部の齲蝕病巣の形状に著明な変化は認められなかったが、無機塩濃度の変化に着目すると石灰化度に増加の傾向がみられた。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を付加することでフッ化ナトリウムの取り込みが強調される可能性が示唆された。また、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。

P1-178

新ミュータンスレンサ球菌 *Streptococcus troglodytae* TKU31 の全遺伝子解析

○岡本 公彰¹、内藤 真理子²、今井 奨³、
花田 信弘³ (鶴見大 歯 口腔微生物、²長大院医歯薬 口腔病原微生物、³鶴見大 歯 探索歯)

【目的】う蝕は農耕文明と共に起こり、ミュータンスレンサ球菌と砂糖摂取により起こる文明病とも考えられる。我々は京都大学霊長類研究所と共同研究し、チンパンジー口腔より新菌種を見つけ、*S. troglodytae* と命名した。この菌は系統学的にミュータンスレンサ球菌群の中で、ヒトう蝕病原菌の *S. mutans* に最も近縁で、コンゴで捕獲されたチンパンジーにも存在することが報告されている。本研究はこの菌の全遺伝子を調べ、進化過程を類推した。【方法】*S. troglodytae* TKU31 株を対象とし、Roche GS FLX により得られた配列からアセンブル作業と Gap closing により全ゲノム配列を決定した。【結果および考察】2,097,874 bp の一つの環状の染色体配列を決定した。アノテーションの結果、CDS は 2082、RBS は 1839、rRNA は 15、tRNA は 65 個存在した。IS は 7、CRISPR は 2、prophage は 2 個存在した。病原因子遺伝子、*gtfB*、*gtfC* および *gtfD* は *S. mutans* UA159 とアミノ酸組成で約 94~96% の相同性を示した(*gtfs* は平成 25 年本学会発表)。*gbpC* は 1 個存在し、*cnm* および *cbp* は共に認められなかった。*S. mutans* LJ23 株および NN2025 株は *S. mutans* UA159 株に対し replication axis に沿った組み換えが報告されているが、本菌も LJ23 株および NN2025 株と同様に組み換えが起こっていた。本菌の *rgp* 遺伝子群の配列はセロタイプ k と最も類似し、*rgpF* のアミノ酸組成は *S. mutans* LJ23 株と 93% の相同性を示した。

P1-180

ブタ幼若エナメル質中の BMP について

村尾 一誠¹、木下 冴子¹、○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)

ブタ幼若エナメル質中の約 30% はエナメルタンパクで構成されているが、それらとは別に BMP 様の生理活性物質が存在することが報告されている。【目的】今回われわれは BMP 様活性物質を(1)分離精製するための最適な方法を見出すこと、(2)分離した BMP のタイプを同定すること、(3)BMP を含む画分に共存する主要エナメルタンパクの同定と相互作用を明らかにすることを目的とした。【方法】生後約 5 ヶ月のブタ幼若エナメル質をリン酸緩衝液 (pH7.4) (N) と炭酸緩衝液 (pH10.8) (AL) を用いてタンパク質を抽出後、N 画分の硫酸分画試料と AL 画分のヘパリンクロマトグラフィーにて溶出した試料について、マウス筋芽細胞 (C2C12 細胞) に対するアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を調べて、ALP 活性を上昇させる画分中に含まれる BMP 様活性物質を ELISA によって同定した。また、BMP 様活性物質を含む画分中に存在する主要エナメルタンパクをさらに各種クロマトグラフィーで分離し、SDS-PAGE、Western Blot および LC/MS 分析にて特定した。【結果および考察】(1)AL 画分試料はヘパリンクロマトグラフィーによりそれぞれ 6 つの画分 (ヘパリン未吸着 (FT-1、FT-2)、50 mM、100 mM、200 mM、1 M NaCl 画分) に分離され、C2C12 細胞に対して ALP 活性を上昇させる BMP 様活性物質が、FT-1 画分以外のすべて画分中に含まれていることが判明した。(2)それらの画分中に含まれる BMP は ELISA によって BMP2 であることが判明した。N 画分の硫酸分画試料中には BMP 活性物質の存在は認められなかった。(3)幼若エナメル質中の主要アモロゲニンは FT-1 画分に溶出されたが、FT-1 画分以外の BMP 活性を有した画分中にも各種アモロゲニンの存在が認められ、現在 BMP2 とそれらアモロゲニンの相互作用について検討中である。また BMP2 以外のタイプについての同定も試みている。

P2-1

顎動脈の走行と後深側頭動脈の分岐に関する形態学的研究

○前田 信吾^{1,3}、飯村 彰^{1,3}、影山 幾男²、松尾 雅斗^{1,3} (1神歯大院 歯科形態、2日歯大 新潟生命歯 解剖1、3神歯大 横須賀・湘南地区 災害医療歯科学研究セ)

【目的】顎動脈の分布形態は外科手術など臨床的な判断基準の一つとして重要な役割を果たす。顎動脈は主に外側翼突筋の浅層を走行する外側型と深層を走行する内側型の2型に大きく分類される。顎動脈から分岐する後深側頭動脈は外側型顎動脈に於いては、中硬膜動脈・下歯槽動脈に続いて分岐する。一方、内側型顎動脈に於いては、下歯槽動脈と共同幹を形成する場合が多いとされる。今回、顎動脈の分類と後深側頭動脈の分岐位置について検索を行った。【方法】平成25年度人体構造実習中に行われた50症例の顎動脈の走行および分岐形態を観察し分類した。これに過去の230症例を加え検討を行った。同時に後深側頭動脈の分岐についても比較観察を行った。また、一部の症例では外頸動脈より血管内に合成樹脂を注入し、血管分布形態を可視化分析を行った。【結果と考察】顎動脈の走行は外側型が45例、内側型が5例であった。この内側型の1例において、同時に2系統の顎動脈走行が見られる症例が観察された。通常、後深側頭動脈の走行は、顎動脈の走行形態が内側型・外側型関係なく外側翼突筋の浅層を走行するとされるが、今回の症例においては、外側翼突筋の深層を走行していた。また、このことは下顎骨の筋突起骨折や側頭下窩部の手術時に配慮しなければならない項目の一つとなることが考えられる。近年、顎顔面の動脈分布について体系化と複合経路の研究が進み、顎動脈の新たな分布形態が注目されている。今後それらの研究成果と比較しながら顎顔面部における脈管系の研究を進展させたいと考えている。

P2-3

メダカ咽頭骨にみられる硬組織間接着界面の形態学的特徴

○松村 馨^{1,2}、土門 卓文²、飯田 順一郎¹ (1北大 院歯 歯科矯正、2北大 院歯 口腔機能解剖)

【目的】哺乳類の骨組織間の接着界面にはいわゆる接合線 (cement lines CL) が形成され、このCLは糖タンパクを含み、PAS陽性を示すことが知られている。しかしながら、硬骨魚類におけるCLの特徴については報告がない。今回、演者らはメダカ咽頭骨における硬組織間接着界面の形態学的特徴について検索した。【方法】孵化後1才程度のメダカ(雄・雌)を試料として用いた。咽頭骨を採取後、固定・脱灰し、パラフィン・LR white 包埋を行った。試料から咽頭骨・歯を含む領域の切片を作成し、PAS染色後光顕で観察した。一部の試料は固定・脱灰・後固定、LR white 包埋後、超薄切片を作成し、透過型電顕 (JEM1400) で観察した。【結果】光顕では咽頭骨の硬組織界面に均一無構造の領域がしばしば観察された。この均一無構造領域には、パラフィン包埋試料・LR white 包埋試料の両者においてPAS陽性反応は認められなかった。この領域を透過型電顕で観察すると、そこには膠原線維等の構造物は一つも観察されず無構造であった。【考察】光顕の結果から、咽頭骨における硬組織間接着界面にはPAS陽性を示す糖タンパク等は存在しないものと思われた。透過型電顕の結果から、この領域が無構造を示したことは、脱灰により無機質が消失したためと思われる。【結論】以上の結果から、硬骨魚類であるメダカの咽頭骨における硬組織間接着界面は糖タンパクなどを含まず、無機質のみによって構成されており、哺乳類のCLとは異なっている可能性が示唆された。

P2-2

日本人の頬骨-上顎骨複合部形態に関する研究

○松野 昌展¹、近藤 信太郎¹ (1日大 松戸歯 解剖I)

【目的】近年、歯科インプラントの材料の発展に伴い様々な術式が開発されてきた。特に1995年 Branemalk によって開発された Zygoma Fixture は上顎骨から頬骨にかけて固定を求めるものである。他の術式に比べて埋入体が長いのが特徴である。この部位は上顎骨外面、上顎洞、側頭窩など、上顎骨周囲の空間部が複雑に位置し、また骨壁自体も必ずしも厚いわけではないので、埋入にする場合には方向性に細心の注意を払うべき部位である。頬骨-上顎骨複合部体の骨壁の厚さは臨床ではX線CTによって確認するが、平成25年度末に解剖体を切断し、直接断面を観察する機会を得たので観察結果を報告する。

【方法】平成25年の日本大学松戸歯学部における解剖実習に供された御遺体(男性10体101~52歳、女性6体100~71歳)を使用した。学生の実習終了後に頬骨弓上縁最前方部と頬骨下縁を通る線に沿ってベルトソーにて切断し、断面の作成を行った。デジタルカメラにて写真撮影を行い、画像解析ソフトにて断面の最上点(頬骨弓上縁)と最下点(歯槽突起)を線(約0.5mm幅)でつなぎ、その直線が上顎骨外面、上顎洞内、側頭窩を通る様子を観察した。

【結果】観察結果として作図をした直線が上顎骨外面を通過するのは9体、上顎洞内を通過するのは13体、側頭窩を通過するのは15体であり、すべて骨内を通過したものは無かった。さらにこれらのうち、上顎洞外面と上顎洞内、側頭窩のすべてを通過したのは6体、上顎骨外面と側頭窩を通過したのは2体、上顎洞内と側頭窩を通過したのは7体であった。

【考察】観察したすべての作図した直線は上顎骨からはみ出してしまっているので、頬骨に向かうインプラントの埋入には骨の状態を確認し、適応を考慮することが重要である。

P2-4

ヒト歯髄組織のセメント質様化生に関する病理組織学的観察

○宇都宮 忠彦¹、山本 浩嗣²、久山 佳代¹ (1日大 松戸歯 口腔病理、2日大)

Objective and background. The purpose of this study is to evaluate the histopathological characteristics of cemental metaplasia in the non-treated human dental pulp. Metaplasia is a reversible change in which one adult cell type is replaced by another adult cell type, and this phenomenon is usually associated with inflammation and neoplasms. Although metaplasia also presents in the dental pulp consisting of cementum-like and/or osteoid tissues, it is rarely observed in human dental pulp tissues. **Method.** We performed a histopathological study using formalin-fixed, decalcified paraffin embedded specimens (teeth) after resection of squamous cell carcinoma or ameloblastoma in elder patients under informed consent. **Results.** The histopathological study showed cementum-like tissues with embedded cells, a lamellar structure, and Sharpey's fiber-like features adjacent to the pulp wall of dentin, showing cemental hyperplasia of the root and/or root resorption by progression of ameloblastoma. The metaplastic cementum-like tissue was mixed with dystrophic calcification in some areas. **Conclusion.** These findings suggest that the metaplastic cementum-like tissues are most likely secondary cementum among histological subtypes of the cementum. In addition, the presence of the cemental metaplasia and dystrophic calcification might be associated with chronic stimuli and/or aging.

P2-5

ヒト歯髄におけるプロスタグランジン E₂輸送担体および特異的レセプターの免疫組織化学的局在解析

○大倉 直人¹、大倉 麻里子²、吉羽 永子¹、吉羽 邦彦¹、小田 陽平³、依田 浩子⁴、大島 勇人⁴、興地 隆史¹ (新大院医歯 う蝕、²新大院医歯 歯科矯正、³新大院医歯 組織再建口腔外科、⁴新大院医歯 硬組織形態)

これまで我々は、ラット歯髄血管内皮細胞における prostaglandin (PG) E 合成酵素(mPGES)の局在および膜輸送担体 multidrug resistance associated protein (MRP) 4 による PGE₂ 外向輸送経路の存在の可能性を報告した。本研究では、ヒト歯髄における PGE₂の産生からレセプターとの結合までの輸送経路探索の緒端として、ヒト正常歯髄に対する mPGES、MRP4 および PGE レセプター (EP2 および EP4) の免疫組織化学的局在解析を行った。矯正治療上、要抜歯と診断された 20-25 歳男女の智歯を被験歯とし(新大学歯学部倫理委員会 承認番号 21-R17-09-10)、固定、脱灰後、特異抗体を用いて蛍光抗体染色を行った。その結果、mPGES、MRP4、EP2 および EP4 に対する免疫陽性反応が、dentin sialoprotein (象牙芽細胞マーカー) あるいは CD31 (血管内皮細胞マーカー) に対する免疫陽性部位の一部に共発現することが、二重染色により確認された。ヒト歯髄においては、象牙芽細胞や血管内皮細胞が MRP4 を介した PGE₂排出能や標的細胞としての性質を備えることが示唆されるとともに、PGE₂が血流調節や象牙芽細胞の機能調節などの役割を演じることが推定された。

P2-7

ブタ歯髄から分離した細胞の不死化とクローニング

○唐木田 丈夫¹、山本 竜司¹、大井田 新一郎¹、山越 康雄¹ (鶴見大 歯 分子生化)

歯髄には象牙質の損傷に備えて象牙芽細胞の前駆細胞や幹細胞が存在すると言われている。【目的】今回、象牙質の再生のメカニズムを解明するための一環として歯髄細胞の分離と株化を試みた。我々はこれまでタンパク質を大量に得られる理由からブタのエナメル質や象牙質を用いてきたのでブタの細胞を用いることにした。【方法】生後約5カ月のブタから萌出前の切歯を摘出し、10本の歯髄を採取した。歯髄表面を紙で拭いた後、メスで細かく刻み、0.1%コラゲナーゼ、0.2%ディスパーゼを含む消化液で37℃、70rpmの条件で2時間インキュベートした。セルストレーナーで未消化物を除去した後、遠心分離と上清の交換を3回繰り返して細胞から消化液を完全に除去した。細胞を3日間培養してから約80%飽和状態で置きなおし、細胞を不死化させる目的で、プラスミド pSV3-neo をリポフェクタミン法でトランスフェクションした。G418を培養液に添加してネオマイシン耐性を持つ細胞を選択的に培養し、限界希釈法で単一細胞由来のコロニーを採取した。得られたクローンのアルカリホスファターゼ(ALP)活性を測定し、PCR法で象牙質シアロリントンパク質(DSPP)遺伝子のスプライズバリエーションを観察した。【結果】細胞のALP活性は全てのクローンで高く、石灰化誘導地(βグリセリン酸、アスコルビン酸添加)で促進され、TGF-βで抑制される傾向が認められた。得られた全ての細胞クローンから象牙質シアロリントンパク質(DSP)のみをコードするDSPP部分的バリエーションの発現がみられたが、DSPP全長体バリエーションは発現を検出できなかったクローンとできなかったクローンが存在した。【考察】別の発表で歯髄組織はDSPP部分的バリエーションが、象牙芽細胞では全長体バリエーションが優位であることを報告しているが、今回得られた歯髄細胞のクローンはそれぞれの特徴を持つものがあつた。

P2-6

歯胚発生、発育における Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Region Gene 1 (FRG1) の発現様式

○長谷川 佳那^{1,2}、和田 裕子¹、永田 健吾¹、藤原 弘明¹、染矢 祐孝^{1,3}、神野 彰子^{1,4}、三上 友理恵^{1,4}、清島 保¹ (九大 院歯 口腔病理、²九大 院歯 歯科保存、³九大 院歯 インプラント・義歯補綴、⁴九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

【目的】マウス胎生10.5日齢(E10.5)とE12の下顎間で差別的な発現をした因子を同定し、歯胚の発生・発育に関与する因子の検索を行ってきた。E10.5に強発現した因子の中にFRG1があつた。FRG1は顔面上腕肩甲筋ジストロフィーの原因遺伝子として知られている。しかし、歯胚発生・発育に関する報告はない。そこで、本研究ではそのFRG1に着目し、マウスの歯胚発生・発育におけるFRG1の発現様式を解明することを目的とした。【材料と方法】Balb/cマウスE10.5から生後3日(P3)までの下顎第一臼歯におけるFRG1 mRNAの発現を *in situ* hybridization 法にて、またFRG1タンパクの発現を蛍光免疫組織染色にて観察した。さらに蛍光免疫細胞染色やFRG1融合EGFP発現ベクターをマウス歯原性上皮細胞株(mDE6)に導入してFRG1の細胞内局在を検討した。【結果と考察】E10.5とE12の歯胚形成開始期では口腔粘膜上皮細胞にFRG1 mRNAの発現が認められた。また、その上皮直下の間葉細胞にも発現が認められた。E13とE14の蕾状期では、歯蕾上皮とその周囲の間葉細胞に発現が認められた。次にE15とE16の帽状期およびE17とE18の鐘状期前期では、内エナメル上皮と外エナメル上皮に発現が認められた。また、歯乳頭細胞においては将来の咬頭部位に弱い発現が認められた。P1の鐘状期後期においても内エナメル上皮と外エナメル上皮に発現がみられたが、P3の歯冠部基質形成期になると、エナメル芽細胞、象牙芽細胞および歯髄細胞に mRNA の発現が認められた。FRG1タンパクも歯胚発生・発育において mRNA とほぼ同様の発現様式を示した。FRG1タンパクは核に局在するものや、細胞質にも局在していた。これらの結果からFRG1が歯胚発生およびエナメル質、象牙質の形成に関与することが示唆された。また、FRG1の細胞内局在変化を認めたことから状況により異なる機能を果たす可能性が示唆された。

P2-8

ブタ象牙質シアロリントンパク質(DSPP)遺伝子のスプライズバリエーションについて

○山本 竜司¹、唐木田 丈夫¹、大井田 新一郎¹、山越 康雄¹ (鶴見大 歯 分子生化)

象牙質シアロリントンパク質(DSPP)遺伝子は、象牙質形成不全症及び象牙質異形成症を引き起こす原因遺伝子である。ブタDSPP遺伝子は、N末端側が象牙質シアロリントンパク質(DSP)、中央部が象牙質糖タンパク質(DGP)、C末端側が象牙質リントンパク質(DPP)の3つのタンパク質をコードする。我々はこれまでにDSPPの全長体およびDSPのみをコードするスプライズバリエーションを見出した。【目的】歯胚組織における2つのDSPPスプライズバリエーションの遺伝子およびタンパク質発現を調べて、両者の分布を明らかにすることを目的とした。【方法】生後約5カ月のブタ永久歯歯胚から歯髄組織と象牙芽細胞のRNAを抽出しcDNAを作成した。これを鋳型に、DSPP遺伝子のDSPからDPP領域に架かるように設計したプライマーとDSPバリエーションのみを増幅するように設計したプライマーを用いてPCRを行い、それぞれの遺伝子発現を確認した。また、歯髄組織からDSPP由来タンパク質を抽出し、ヘパリンクロマトグラフィー(HC)で分離後、溶出画分に対してSDS-PAGEおよびWestern Blotを行った。さらに各画分に対してBMP1消化を行い、消化物に対してSDS-PAGEを行った。【結果】象牙芽細胞では両方のスプライズバリエーションの遺伝子発現が確認されたが、歯髄組織ではDPP部分を含む全長体のスプライズバリエーションの発現が確認できなかった。また歯髄中には象牙質中に見られるようなDPPのタンパクバンドは検出されなかった。さらにHC溶出画分に対するBMP1消化物からはDPPの産生が認められなかったことより、歯髄組織にはDSPP全長体タンパクが存在しないことが考えられた。【考察】歯髄組織にはDSPのみをコードするスプライズバリエーションが優位に発現し、象牙芽細胞ではDSPP全長体スプライズバリエーションが優位に発現することが考えられた。

P2-9

加齢に伴うエナメル小柱鞘の構造変化
 ○見明 康雄¹、筒井 生²、江下 義之² (東歯大 組織・発生、²花王 パーソナルヘルスケア研)

【目的】エナメル小柱の周囲に存在する小柱鞘は、エナメル質の耐酸性や硬度あるいは色調に深く関与していると考えられているが、萌出後の加齢に伴う変化については詳細な研究は少ない。本研究は、加齢に伴うエナメル小柱鞘の変化と色調の変化について明らかにすることを目的とした。【方法】材料は、患者から矯正や歯周炎などの理由で抜去され、本研究に使用することに同意が得られた健全な第一小臼歯を用いた。採取された第一小臼歯にホルマリン固定を施し、色彩計による頬面色の測定を行った後、歯軸を横断する厚さ1.5mmのエナメル質切片を作製し、エナメル質部分の色調を測定した。その後試料を脱水し、ポリエステル樹脂に包埋した。包埋した試料の断面を鏡面研磨し、走査型電子顕微鏡(SEM)で反射電子像の観察を行い、単位面積あたりの小柱鞘の面積を画像解析によって算出した。得られた小柱鞘の面積率と年齢との関係はSPSSを用いて相関分析を行った(spearmanの順位相関係数)。【結果・考察】エナメル最表層およびエナメル象牙境付近の小柱鞘は、10代の歯では明瞭に観察できたものの、それ以降加齢に伴い消失・縮小しており、これらの間には負の相関関係が認められた(最表層: $\rho = -0.607$, $p = 0.021$, DEJ付近: $\rho = -0.761$, $p = 0.002$)。このことから、加齢によりエナメル質小柱鞘は閉鎖され、微細構造も変化するが示された。また、エナメル質中層の小柱鞘はいずれの年齢でも明瞭に観察されなかったことから、加齢に伴う小柱鞘の縮小・閉鎖は、最表層では唾液、エナメル象牙境付近では組織液の影響により石灰化が亢進すると考えられた。エナメル質の加齢による色調の変化は、L値では見られなかったが、a,b値とも増加傾向が見られた。このことはエナメル質自体も加齢により黄色みや赤みが増加することを示している。しかし、これらの色調の変化とエナメル小柱鞘の変化との関連性は不明瞭であった。

P2-11

象牙芽細胞分化におけるBmi-1の機能
 ○細矢 明宏¹、二宮 禎²、吉羽 邦彦³、吉羽 永子³、中塚 美智子⁴、中村 浩彰¹
 (¹松歯大 解剖2、²松歯大 総歯研、³新大 院医歯 歯 齶、⁴大歯大 口腔解剖)

【目的】Bmi-1は幹細胞で局在が認められるポリコムタンパク質で、分化関連遺伝子の発現を調節すると考えられている。本研究では、Bmi-1の象牙芽細胞分化における機能を検討する目的で、歯の発生ならびに象牙質再生過程における局在を免疫組織化学的に観察した。また、培養歯髄細胞を用いBmi-1の硬組織形成における機能を検討した。【方法】Lewis系ラット下顎第一臼歯の発生過程ならびに窩洞形成後のBmi-1の免疫局在を観察した。ラット切歯より採取した歯髄細胞をBMP-2存在下で培養し、Bmi-1発現を検討した。また、siRNAによりBmi-1をノックダウンした歯髄細胞の硬組織形成能を評価した。【結果と考察】蕾状期および帽状期歯胚の歯乳頭において、Bmi-1の特異的な反応は認められなかった。象牙質形成開始後の鐘状期では、前象牙芽細胞ならびに分化直後の象牙芽細胞でBmi-1の陽性反応が認められた。この陽性反応は、歯根形成期で象牙芽細胞の成熟化に伴い減弱、消失した。窩洞形成後の象牙質再生過程における局在は、修復象牙芽細胞で早期から陽性反応が認められた。また、歯髄細胞をin vitroにて硬組織形成細胞へ分化誘導すると、Bmi-1の発現が上昇した。Bmi-1をノックダウンさせた歯髄細胞を同様に分化誘導すると、アルカリホスファターゼ活性は減少し、硬組織形成細胞分化マーカーであるRunx2、Osterix、Osteocalcin発現の低下が認められた。以上の結果から、Bmi-1は象牙芽細胞分化の初期に発現し、分化を促進的に調節していることが示唆された。

P2-10

Semaphorin 4D — Rho A シグナルによるエナメル芽細胞分化制御
 ○大津 圭史¹、熊上-坂野 深香¹、増田 智幸¹、藤原 尚樹¹、原田 英光¹ (¹岩医大 解剖 発生 生物・再生医学)

エナメル芽細胞は分化の過程で細胞の極性を変化させる。以前我々はRhoファミリーの一つであるRhoAが細胞骨格、細胞接着装置を介してエナメル芽細胞の極性を制御していることを示した。しかし、RhoAの上流の活性化因子については明らかになっていない。そこで本研究は神経軸索の伸張を司るガイダンス因子Semaphorin 4D (Sema4D)に着目し、エナメル芽細胞分化におけるSema4DとRhoA活性化の関係について検討を行った。マウス切歯の免疫染色にてSema4DとそのレセプターPlexinB1は、内エナメル上皮で細胞質全体に弱く発現していた。一方、分泌期エナメル芽細胞ではapical end, basal endに強く限局して発現していた。またRhoAを活性化させるRho guanine nucleotide exchange factor 12 (LARG)も同様の発現パターンを示し、PlexinB1との共発現が観察された。培養エナメル上皮細胞mHAT9dにSema 4D recombinant proteinを添加したところ、経時的な活性化型RhoAの発現上昇とactinの重合促進がみられた。一方、マウスの切歯の器官培養にSema4Dの中和抗体を作用させるとエナメル芽細胞の極性が失われ、amelogeninの発現パターンが変化した。さらにmHAT9a細胞でPlexin B1の発現をsiRNAにてノックダウンしたところ、active RhoA, E-cadherin, Occludinの発現とactin重合が抑制され、LARGの局在が細胞膜から細胞質へ、転写因子Slugの局在が核から細胞質へと移行していた。以上の結果より、エナメル芽細胞分化はSema4D-PlexinB1-LARG経路によるRhoA活性化にて制御されていることが明らかとなった。

P2-12

象牙質基質タンパク質の糖化による加齢変化
 ○清水 真人¹、三浦 治郎¹ (¹阪大 院歯 総診)

糖化反応は加齢変化の一つとして考えられている。生体内に取り込まれた糖はコラーゲン分子内のリジン、アルギニン残基の側鎖と結合し、シッフ塩基を形成するメイラード反応、その後のアマドリ転移、酸化や脱水反応等を経て不可逆的に糖化最終産物(AGEs)形成する。過剰のAGEsが形成され組織の代謝がおいつかず沈着すると、血管に沈着した場合はアテローム性の動脈硬化、毛細血管の破壊、神経系の不調の原因となるとされている。一方、象牙質においては代謝がほとんどされることがないため生涯を通じて糖化のストレスに暴露され続けるという特性を持つと考えられる。象牙質基質タンパク質の主成分であるコラーゲンの糖化について、これまでの報告では、象牙質の部位ごとの糖化コラーゲンの分布状態の評価が行われており、歯髄に近接する部分などで糖化の増加があるが、加齢に伴う糖化の差はほとんど認められないとされていた。本研究では免疫組織学的方法、WesternBlot法などの生化学的手法、コラーゲンの蛍光寿命測定といった物理化学的手法を用いて若年者、高齢者の象牙質に対して解析を行った。その結果、生化学的手法ではAGEsの一種であるCMLが高齢者では若年者に比べて多いことを認めた。また象牙質コラーゲンの蛍光寿命が高齢者では短縮することから、コラーゲン分子間の架橋構造が増加していることが示唆された。加齢によって糖化に起因する架橋が増加することから、高齢者における象牙質の力学的強度の減少やAGEs沈着の指標である褐色化(browning)が加齢変化として起こっていることも考えられる。象牙質においての物理特性の変化が加齢に伴う歯の進行特性の変化につながることも考えられる。また本研究における実験手法は糖尿病といった糖代謝異常が硬組織へ及ぼす影響に関する研究にも関連すると考えられる。

P2-13

持続的な軽度熱刺激は象牙芽細胞様細胞の熱耐性を向上させる

○諸富 孝彦¹、沖永 敏則²、西原 達次²、北村 知昭¹ (九歯大 口腔保存治療、²九歯大 感染分子生物)

Objective: Heat shock is known to be one of the most severe stresses on dentin-pulp complex during restorative procedures. While severe heat shock has toxic effects, it is known that fever-range (39-42°C) mild heat stress exerts beneficial effects on several mammalian cells and tissues. In this study, we examined whether continuous fever-range heat stress (CFHS) has beneficial effects on thermotolerance in the rat clonal dental pulp cell line with odontoblastic properties, KN-3. **Methods:** KN-3 cells were cultured at 41°C for various periods, and the expression level of several proteins, heat shock proteins (HSPs) and cell cycle regulating proteins, was assessed by Western blot analysis. After pre-heat-treatment at 41°C for various periods, KN-3 cells were exposed to lethal severe heat shock (LSHS) at 49°C for 10 min, and cell viability was examined using the MTS assay. Additionally, the expression level of odontoblast differentiation makers, dentin sialoprotein and dentin matrix protein-1, in surviving cells was examined by Western blot analysis.

Results and Discussion: CFHS increased the expression levels of several HSPs in KN-3 cells, and induced transient cell cycle arrest. KN-3 cells, not pre-heated or exposed to CFHS for 1 or 3 h, died after exposure to LSHS at day 3. In contrast, KN-3 cells exposed to CFHS for 12 h were transiently lower on day 1, but increased on day 3 after LSHS. The surviving cells expressed odontoblast differentiation markers. These results suggest that CFHS for 12 h improves tolerance to LSHS by inducing HSPs expression and cell cycle arrest in KN-3 cells. These results indicate that appropriate pretreatment with continuous fever-range heat stress can provide protection against lethal heat shock in KN-3 cells.

P2-15

グアヤコールの前投与は象牙芽細胞における低浸透圧刺激誘発性 Ca²⁺流入を抑制する

○嶋田 みゆき¹、木村 麻記²、佐藤 正樹²、田崎 雅和²、澁川 義幸² (東歯大 口健、²東歯大 生理)

グアヤコールは、歯髄鎮痛・鎮静効果の高いことで知られる歯内療法薬であるが、象牙芽細胞に対する生理学的作用は未だ十分に解明されていない。そこで、継代培養されたマウス由来象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) に対しグアヤコールを作用させた時の細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) 変化を fura-2 を用いたカルシウムイメージング法で解析した。OLC にグアヤコールを投与すると細胞外から Ca²⁺が流入し [Ca²⁺]_iが増加した。その増加は、同一濃度のグアヤコールを連続投与することによって徐々に減少し、脱感作を示した。次に、OLC に浸透圧刺激を加えた時の [Ca²⁺]_i変化に対するグアヤコールの影響を検討した。浸透圧刺激は標準細胞外液の NaCl を mannitol に置換した等浸透圧溶液 (335 mOsm/L) と低浸透圧溶液 (200 mOsm/L) を用いた。細胞外 Ca²⁺存在下で OLC に低浸透圧刺激を加えると、[Ca²⁺]_iが増加した。低浸透圧刺激と 0.9 μM グアヤコールを同時投与しても、低浸透圧刺激誘発性 [Ca²⁺]_i増加には変化がみられなかった。一方、OLC にあらかじめ 0.9 μM グアヤコールを前投与し、3 分間経過した後に低浸透圧刺激を加えると低浸透圧刺激誘発性 [Ca²⁺]_i増加は有意に抑制された。その後、グアヤコール投与を中止し、低浸透圧刺激のみを OLC に加えると、再び [Ca²⁺]_iが増加した。グアヤコールの前投与によって、一時的な象牙芽細胞の [Ca²⁺]_i増加が誘発されるが、一定時間が経過すると脱感作する。その脱感作によってグアヤコールの鎮痛効果が発揮される可能性が示唆された。

P2-14

マウス ES 細胞由来象牙芽細胞において IL-1β 誘導 MMP-3 は Wnt5 シグナルを介して細胞増殖を調節する

○尾関 伸明¹、山口 秀幸¹、檜山 太希¹、森田 あや美²、茂木 真希雄²、中田 和彦¹ (愛院大 歯 歯内治療、²愛院大 薬 生体機能化学)

【研究目的】 これまでに我々は、マウス ES 細胞および iPS 細胞を用いた象牙芽細胞分化誘導法を確立し、さらに、このマウス ES 細胞由来象牙芽細胞を FACS により高純度化した。本研究では、マウス ES 細胞由来象牙芽細胞の炎症時における、Wnt5 と MMP-3 の新規な生理的役割を明らかにするため、siRNA を用いて詳細な検討を行った。**【材料および方法】** マウス ES 細胞を用いて新規に確立した象牙芽細胞分化誘導法により、高純度に象牙芽細胞に分化誘導させた後、Real time-PCR 法と Western Blot 法により IL-1β 誘導 Wnt5 と MMP-3 発現を評価した。さらに培養液中の MMP-3 活性は、特異的 MMP-3 抗体にて immunoprecipitation 後、ELISA により評価した。IL-1β による細胞増殖は BrdU 標識 cell proliferation ELISA、アポトーシス細胞死は BrdU 標識 DNA fragment ELISA により評価した。Wnt5 および MMP-3 siRNA を用いた遺伝子のノックダウンにより、マウス ES 細胞由来象牙芽細胞の増殖過程における Wnt5 と MMP-3 のシグナルカスケードの検索を行った。**【結果】** マウス ES 細胞由来象牙芽細胞において、IL-1β 誘導 Wnt5, MMP-3 遺伝子発現および MMP-3 活性上昇がコントロールと比較して統計学的有意 (P<0.01) に認められた。Wnt5 および MMP-3 siRNA 処理により、IL-1β による細胞増殖の抑制とアポトーシス細胞死が惹起され、コントロールと比較して統計的有意差 (P<0.01) が認められた。**【考察および結論】** マウス ES 細胞由来象牙芽細胞中の IL-1β 誘導 MMP-3 は、Wnt5 シグナルを介して酵素タンパク質が誘導され、細胞増殖を調節することが示唆された。

P2-16

ラット切歯に填塞した酸化亜鉛ユーージノール練和物から歯髄に遊離した亜鉛の動態と作用

○深田 哲也¹、戸川 智幸¹、橋本 修一¹ (日歯大 生命歯 アイソトープ研究施設)

緒言) 酸化亜鉛ユーージノール練和物を基材とした製剤は歯科治療で広く使用されている。練和物中のユーージノールは鎮痛・殺菌作用に寄与していると考えられている。一方、練和物中の亜鉛の遊離動態と作用についてはほとんど検討されていない。そこで我々は ⁶⁵Zn を用いて酸化亜鉛練和物を作製し、填塞した歯髄中の亜鉛の動態を測定した。さらに遊離した亜鉛の生理作用を摘出歯髄を用いて検討した。方法) 7 週齢雄性 wistar 系ラット下顎切歯に麻酔下で深さ 5 mm の窩洞を形成し、窩洞形成部に ⁶⁵Zn を含む酸化亜鉛 - ユージノール練和物を填塞した。填塞後、15, 30, 45, 60, 120 分後そして 1 日後と経時的に切歯を摘出し填塞部と歯根部を切り分けた。それぞれの放射能をオートウェルガンマカウンタで計測し遊離亜鉛量を測定した。また、練和物を填塞した歯髄中のタンパク質を western blotting 法、ELISA 法、酵素活性測定法等により解析した。結果・考察) 練和物からの歯根部歯髄中への遊離亜鉛量は填塞後 30 分で最大となり 45 分後には最大値の 1/4 にまで減少した。遊離亜鉛量はその後速やかに減少した。この遊離パターンは練和物から歯髄へのユーージノールの動態と良く一致していた。一方、窩洞形成部に酸化亜鉛水練和物を填塞すると窩洞を形成したのみの歯髄と比べて炎症性タンパク質であるシクロオキシゲナーゼ-2 の発現量が 2 倍以上に増加した。現在、さらに遊離亜鉛の歯髄内酵素、主にアルカリ性ホスファターゼへの影響を検討している。

P2-17

カチオン・デンドリマーによる *in vitro* 石灰化阻害

○藤沢 隆一¹、田村 正人¹
(¹北大 院歯 口腔分子生)

[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。カチオン性の分子は、これらのタンパク質に結合してその効果を阻害する可能性がある。本研究では、カチオン・デンドリマーをモデルとして、この阻害機構について明らかにし、あわせて、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、タンパク質またはデンドリマー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ろ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。カチオン・デンドリマーとしては、分子表面にアミノ基が多数存在する PAMAM デンドリマーを用いた。**[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、この系において石灰化促進効果が見られた。カチオン性ペプチドのポリ・アルギニンは、これらのリンタンパク質の石灰化促進効果を阻害した。カチオン・デンドリマーも、特に低濃度の領域で、リンタンパク質の石灰化促進効果を阻害したが、阻害効果はポリ・アルギニンより弱かった。デンドリマー表面に多数存在するカチオン性基は、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、アパタイト核生成を抑制すると考えられる。

P2-18

ラット切歯エナメル質と象牙質の石灰化過程における Ca,P および C の SEM-EDX 分析

○丸山 顕太郎¹、逸見 晶子¹、笹野 泰之¹
(¹東北大 院歯 顎口腔形態創建)

[目的] 本研究では、ラット切歯を用い、石灰化過程のエナメル質および象牙質における構成元素 (Ca,P および C) の原子数%について、走査電子顕微鏡-エネルギー分散型 X 線分析装置 (SEM-EDX) を利用して検討した。**[方法]** 生後 2 週齢のラットを 4%パラホルムアルデヒド-1%グルタルアルデヒドで灌流固定後、下顎を摘出して試料とした。試料を非脱灰で凍結包埋し、クライオトームを用いて下顎切歯の規格化矢状断面を作製した。さらに試料を凍結乾燥し、断面のエナメル質および象牙質を対象とし、蒸着操作なしに、SEM-EDX の低真空モードにて Ca, P および C を分析した。ラット 8 個体から得た試料の Ca, P および C の原子数%を定量的に解析した。さらに、エナメル質および象牙質における Ca/P 比を求め、石灰化過程における動態を検討した。**[結果]** エナメル質において、根尖から切縁にかけて、Ca と P の原子数%は漸次上昇し、C の原子数%は漸次低下した。象牙質においては、根尖付近で Ca と P の原子数%は速やかに上昇し、C の原子数%は速やかに低下したが、Ca,P および C のいずれの原子数%もそれ以降は切縁にかけて、ほとんど変化しなかった。また、エナメル質における Ca/P 比は、根尖から切縁にかけて漸次上昇した。一方、象牙質における Ca/P 比は、根尖付近で速やかな上昇が認められたが、それ以降は切縁にかけて、ほとんど変動しなかった。**[結論]** ラット切歯エナメル質と象牙質の石灰化過程で、構成元素の組織特徴的な動態が認められた。**[共同研究者]** 大方広志 (東北大・院歯・歯内歯周治療学)、丸山文美 (鈴木歯科医院)

P2-19

染め出しと QLF-D による 歯垢検知法の比較 -Bland-Altman Plot を応用して-

○渡辺 幸嗣¹、鈴木 亮¹、中村 昭博¹、池田 英史¹、吉原 幸司郎¹、渡部 茂¹
(¹明海大 歯 口腔小児)

[目的] 従来、刷掃指導の際には、歯垢を染色剤で染め出して指導することが多かった。しかしながら、染め出し法では、患児の口腔粘膜や皮膚、衣類に染色剤が付着してしまい、なかなか落ちないという欠点があった。QLF (Quantitative Light-induced Fluorescence) (Inspektor Research Systems bv, Amsterdam, Netherlands) は本来、表層下脱灰病変を評価する機器として開発されたが、歯垢の付着状況も評価が可能である。特に、最新型の QLF-D は、一眼レフカメラをベースとして開発されており、口腔内写真の撮影と同様に画像を取得し、表層下脱灰病変や歯垢の付着状況を評価することが可能となった。本研究では、染め出しと QLF-D による歯垢付着状況の評価を Bland-Altman Plot により比較し、両者の相関について検索した。**[方法]** 男性 5 名が 60 時間刷掃を一切おこなわず日常生活を送り、各人の口腔内画像を QLF-D を用いて取得した後、Dent. liquid plaque tester (Lion Corporation, Tokyo, Japan) を用いて歯垢を染色し、口腔内写真を撮影した。対象は上下顎左右の中切歯、側切歯、犬歯の唇側面とした。QLF-D および口腔内写真の画像上にて、対象歯の歯面ごとに、歯冠高径に対する染色領域の占める高さの割合を計測し、Bland-Altman Plot により両手法間に系統誤差が存在するか否かを検索した。**[結果]** 両手法による検知結果に有意差は認めなかった。**[考察]** QLF-D による歯垢検知法は染色剤による汚れの問題のみならず、継時的なデータの蓄積も可能であり、染色と同等の結果が得られることも示唆され、QLF-D の有効性が示唆された。

P2-20

ミドリフグの歯に関する組織学的観察

○山本 仁¹、藤岡 元也¹、山崎 貴希¹
(¹東歯大 組織・発生)

[目的] ミドリフグはフグ目、フグ科に属する汽水性熱帯魚であり、そのゲノムは脊椎動物で最もサイズが小さい。またゲノム中に含まれる遺伝子の割合が高く、かつ固有の機能を持たない遺伝子が少ないという特徴がある。これらの特徴からミドリフグのゲノムの解析が行われ、2004 年にゲノムのドラフト配列が発表されている。このようなバックグラウンドからミドリフグはゼブラフィッシュやメダカのように将来様々な研究に用いられる可能性が高いと考えられるが、その歯や歯の周囲組織の構造についてほとんど報告されていない。そこで今後研究材料としての使用が期待されるミドリフグについて歯とその周囲組織を電子顕微鏡ならびに光学顕微鏡により観察した。**[方法]** 体長約 3 cm のミドリフグ 10 匹を材料とした。4%パラホルムアルデヒド溶液による浸漬固定後、上下顎の骨を摘出し、通法に従って走査型電子顕微鏡用試料を作製し、走査型電子顕微鏡観察を行った。また試料の一部は Plank-Rychlo 液で脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋し、厚さ 5 μm の矢状断切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施して光学顕微鏡観察を行った。**[結果と考察]** ミドリフグの歯は他のフグ科魚類の歯と同様に嚙状をした顎骨内に存在した。嚙状の顎骨を切縁から観察すると正中付近に舌側に突出した部位が存在した。顎骨内の歯(歯胚)はこの時期では上下顎とも 8-7 個存在したが、顎骨の舌側突出部には更に 3-4 個の歯(歯胚)が観察された。歯の大部分は脱灰標本で溶解しており、エナメロイドが存在すると思われた。象牙質と周囲の骨との境界は不明瞭であった。左右の嚙状の顎骨は正中中部で互いに嵌合しているが、一部では嵌合部が被覆されて癒合しているような像も観察され、成長とともに正中中部で癒合する可能性が示唆された。現在このような特殊な形態の形成過程について発生学的な検索を行っている。

P2-21

トガリネズミの上顎・下顎第1大白歯の咬頭形成
○山中 淳之¹、岩井 治樹¹、後藤 哲哉¹
(¹鹿大院医歯 歯科機能形態)

【目的】現生の有袋類や胎盤哺乳類の白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ク型白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でもこの基本形とあまり変わらない白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の白歯を使って主咬頭の形成順序を明らかにするものである。その際、将来の主咬頭の位置に対応して形成されると考えられているシグナリングセンター、エナメル結節の形成位置と順序に着目した。

【方法】スunks胚頭部からエナメル結節のマーカー遺伝子である *Shh*, *Fgf4* を単離した。スunks胚頭部の前頭部連続組織切片を作製し、H-E染色、*Shh*, *Fgf4* の *in situ* hybridization を行った。上下顎第一大白歯 (M¹, 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。

【結果と考察】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とM₁のprotoconid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)、古生物学的に最初に出現した咬頭とも一致する(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次エナメル結節が順番に出現した。M¹では、paraconeの次に、metacone, protocone, hypocone, それから頰側のstylar cuspsの順番で2次エナメル結節が出現した。2次エナメル結節の出現の様式は、エナメル結節間の抑制機構の存在を示唆する。また、M¹で最初に石灰化が開始する咬頭はmetaconeであることから、2次エナメル結節の形成順序と咬頭の石灰化の順序は必ずしも一致しないと考えられる。

P2-23

間質細胞から産生されている破骨細胞前駆細胞分化機能維持に影響する因子について
○天野 滋¹、大森 喜弘¹
(¹明海大 歯 口腔生物再生医工学)

【目的】私共が樹立した破骨細胞前駆細胞株4B12細胞の分化・機能維持には、マウス胎児頭蓋冠由来間質細胞の培養上清が必要不可欠である。今回、この分化・機能維持に関与するいくつかの因子を同定したので報告する。[方法・結果]1)胎児頭蓋冠由来間質細胞をE-RDF培地で培養後、上清を回収し、Amicon ウルトラ-15 10K デバイスで濃縮、破骨細胞前駆細胞分化機能維持活性を指標にMonoQ, Superdex200 10/300GL, Resource RPC を用いて活性分画を順次精製した。SDS-PAGEでほぼ1バンドに近い状態に精製されたいくつかの画分をLC/MS/MSで解析したところ、mouse Insulin-2, Fibronectin 分解産物、Nidogen-2の分解産物、IGFBP-2が同定された。2)そこで、これらの因子で4B12細胞を3日間刺激後、M-CSFとsRANKL含有培地で破骨細胞形成能を調べたところ、ヒトInsulinで前培養した細胞から多くのTRAP陽性多核細胞が形成された。3)また、M-CSF含有培地中の4B12細胞をこれらの因子で3日間刺激後、M-CSFとsRANKL含有培地で破骨細胞形成能を調べたところ、多くのTRAP陽性多核細胞が形成されたのは、ヒト血漿由来FibronectinのN末端部分の30k、マウスIGFBP-2、マウスNidogen-2の順であった。4)M-CSF、ヒトInsulin、ヒト血漿由来Fibronectin 30k、マウスIGFBP-2、マウスNidogen-2にRANKの遺伝子発現促進効果が認められた。以上から、破骨細胞前駆細胞の機能を維持している因子は、現在までに知られているM-CSF以外に、Fibronectin、IGFBP-2、Nidogen-2、Insulinである可能性が示唆された。

P2-22

デボン紀扇鰭類 *Eusthenopteron foodi* の歯の組織構造と歯の支持様式
○三島 弘幸¹、見明 康雄²、笹川 一郎³
(¹高知学園短大 医療衛生 歯科衛生、²東歯大 組織・発生、³日歯大 新潟生命歯 先端研)

【目的】*Eusthenopteron* は魚類と陸生の脊椎動物との関連性が認められる。*Eusthenopteron* は歯の硬組織のエナメル質、エナメロイドの起源を探る上で、貴重な標本である。本研究は *Eusthenopteron foodi* の歯の組織構造と化学組成及び歯の支持様式を検索することを目的とした。【材料と方法】試料は *Eusthenopteron foodi* (デボン紀、カナダ産)の歯と顎骨(頭蓋部)を用いた。TEM, SEM, EPMA 分析、レーザーラマン分光装置とX線回折法を用いた。【結果と考察】*Eusthenopteron* において、顎骨に原始的な歯槽が存在していた。歯の組織は2層より構成される。外層はエナメロイドであり成長線が観察されなかった。内層は象牙細管が観察される真正象牙質であった。TEMでは、エナメロイド結晶は中心線が認められなかった。象牙質結晶は中心線が認められた。SEM-EDS分析の結果から、エナメロイドのFの含有量は3.07Wt% (平均)であった。X線回折法の結果から、エナメロイドの結晶はfluorapatiteであった。象牙質の結晶はfluorapatiteとhydroxyapatiteが混在していた。レーザーラマン分光装置の分析で965-967 cm⁻¹のアパタイト結晶のリン酸基のピークが検出され、fluorapatite結晶と同定される。象牙質の結晶に混在するfluorapatiteは、化石化作用の過程で、周囲から象牙細管を通してFイオンが浸み込み、hydroxyapatiteからfluorapatiteへと変化したと考察される。本研究は高知大学海洋コア総合研究センター共同利用研究(採択番号12B035, 13A018, 13B015)のもとで(海洋研究開発機構の協力により)実施された。寛光夫博士(明海大学)と尾崎真帆氏(高知学園短期大学専攻科)が共同研究者として本研究に参加している。

P2-24

網羅的遺伝子発現解析による破骨細胞の分化に関わる遺伝子の同定及びその発現機能解析
舟久保 立^{1,2}、久木田 敏夫³、徐 祥赫¹、中村 誠司¹、○久木田 明子¹
(¹佐賀大 医 微生物、²九大 院歯 顎顔面腫瘍制御、³九大 院歯 分子口腔解剖)

破骨細胞分化は誘導する因子RANKLが発見され、RANKLの受容体RANKの下流のシグナルが明らかにされているが、単核の前駆細胞から形成される破骨細胞の分化の様々な段階の制御については不明な点が残されている。我々は、ストローマ細胞を除いたラット骨髄細胞に骨芽細胞の培養上清を添加することにより単核の破骨細胞の前駆細胞(POC)のみを形成する培養系を確立し報告した。そこで、骨髄マクロファージと比較し単核の前破骨細胞或いは単核の前破骨細胞にRANKLを添加して形成される多核の破骨細胞で高く発現する遺伝子について、マイクロアレイ法を用いた網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、骨髄マクロファージと比較し前破骨細胞及び多核破骨細胞により発現が上昇する *Ctsk*, *Clenkb* などを含む遺伝子群、多核破骨細胞でのみ発現が上昇する *Ca2*, *MMP9* などを含む遺伝子群に分類することが可能となった。さらに、前破骨細胞や多核細胞でのみ高く発現する遺伝子 *Oc1* と *Oc2* を見出した。*Oc1* は骨髄マクロファージやマウスマクロファージ細胞RAW-DにRANKLを添加すると24時間で発現が上昇しその後は減少した。一方 *Oc2* はRANKLを添加し破骨細胞が形成される72時間後に発現が見られた。さらに細胞内の局在を免疫染色により調べた結果、*Oc1* はRANKL添加後24時間後の細胞の膜に強い発現が見られ、*Oc2* はRANKL添加後72時間で形成される多核の破骨細胞の核にシグナルが観察された。さらに *Oc1* の siRNA を RAW-D 細胞に導入しその発現を抑制すると破骨細胞の形成が抑制された。これらの結果は、ラットのPOC形成系が破骨細胞の分化の段階で働く遺伝子の探索に有用なシステムであることを示している。

P2-25

RAW264.7細胞の破骨細胞分化においてIL-17A刺激がJNKとc-fosに及ぼす影響

○井上 博¹、内橋 賢二¹、西川 泰央¹
(¹大歯大 生理)

歯槽骨は他の骨と同様、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収により絶えずリモデリングされている。歯周病では、骨吸収が骨形成を上回るため歯槽骨量が減少する。しかし、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の直接的な影響はほとんど解明されていない。今回我々は、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。RANKLと各種濃度のIL-17Aで刺激したRAW264.7細胞を3日間培養した。TRAP活性をマイクロプレートリーダーにて測定した結果、無刺激と比較してRANKL刺激によりTRAP活性は著明に上昇した。しかし、このRANKL刺激による上昇はIL-17Aで抑制された。また、JNK阻害剤であるSP600125で細胞を前処理した後、RANKL刺激を加えて3日間培養しTRAP活性を測定したところ、RANKL刺激で上昇したTRAP活性はSP600125で濃度依存性に抑制された。RAW264.7細胞にRANKLと各種濃度のIL-17Aを加え、ウエスタンブロット法にてリン酸化JNKの検出を行った。RANKL刺激によりJNKのリン酸化は活性化されたが、このRANKL刺激によるJNKのリン酸化はIL-17A刺激で減弱した。また、RAW264.7細胞にRANKLと各種濃度のIL-17A刺激を加えて6時間培養した後、ウエスタンブロット法にてc-fosの検出を行った。RANKL刺激によりc-fosの発現は増強された。しかし、このRANKL刺激によるc-fosの発現増強はIL-17A刺激で減弱した。以上の結果から、IL-17Aは、破骨細胞前駆細胞であるRAW264.7細胞のRANKL刺激による破骨細胞への分化に対して、直接的に影響を及ぼすことでその分化を抑制していることが判明した。また、IL-17Aによる破骨細胞分化の抑制は、JNKのリン酸化抑制とc-fosの発現抑制による可能性が示唆された。

P2-27

硫化水素は骨髄幹細胞から破骨細胞を分化誘導する

○今井 敏夫¹、那須 優則²、八重垣 健¹ (¹日歯大 生命歯 衛生、²日歯大 生命歯 共同研)

[目的] 口腔由来の口臭物質は硫化水素(H₂S)を主成分とする揮発性硫黄化合物であり、歯周疾患の病因である。H₂Sは歯周軟組織だけでなく歯槽骨への影響も示唆されるが、その詳細な機構は不明である。先に、我々はH₂SがRAW264細胞から破骨細胞へと分化誘導することを報告した。本研究は生体内環境をより反映する骨髄幹細胞から破骨細胞への分化初期過程におけるH₂Sの分化誘導能について検討した。

[方法] マウス大腿骨から骨髄を採取し、間葉系幹細胞分離メディア(kaneka)を用いて骨髄幹細胞(BMC-M)を分離回収した。また、BMC-Mから磁気セルソーティングでCD117陽性細胞を分離した。培地は α -MEMおよびMSCGM(Takara)で37℃、5%CO₂環境下で培養した。細胞は0.1ng/ml H₂S曝露下で3~5日間培養した。細胞の破骨細胞への分化能は酒石酸耐性酸性ホスファターゼ染色(TRACP&ALP double-stain kit, Takara)を行い、核数が4以上の陽性細胞(TRACP(+))を計測し評価した。

[結果] BMC-Mの破骨細胞への分化能を評価するため、M-CSF、RANKLを添加して培養したところ、TRACP(+)の出現が認められた。BMC-M播種2日からH₂Sで3~5日間曝露したところ、H₂S曝露群にはTRACP(+)が多数出現した。次にBMC-MをCD117でソーティングし、陽性細胞と陰性細胞に対するH₂Sの分化誘導能を比較したところ、CD117陽性群は陰性群に比べTRACP(+)数が有意に高い値であった。さらにTRACP(+)の巨大化が観察された。またTRACP(+)はNFAT1の免疫蛍光染色で核周囲に強い発光が観察された。

[結論] 口腔由来の揮発性硫黄化合物は骨髄幹細胞から破骨細胞分化を誘導し、その誘導にCD117が関与していることが示唆された。

P2-26

細菌感染による免疫応答が破骨細胞分化に与える影響

○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)

歯周病は歯周病細菌の慢性感染でおこる。歯槽骨の喪失は主たる病態であり、炎症による破骨細胞の形成促進と活性化が認められる。しかし、歯周病細菌の感染と破骨細胞分化誘導因子RANKLの同時刺激は破骨細胞分化の抑制を示し、この抑制には自然免疫応答、特にTLR2/MyD88の関与が示唆されている。本研究では、細菌を感染させた破骨前駆細胞(BMMs)の培養上清を用いて、破骨細胞分化への影響を検討した。始めにBMMsにRANKLと歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*(Pg)を24時間共培養させ、その培養上清をコンディショニング液とした。次に、破骨細胞分化への影響を調べるため、RANKL刺激後2日経過したBMMs(RANKL-primed BMMs)に、RANKLと1/10量のコンディショニング液の添加およびPg感染を行い、6日目まで培養を継続した。破骨細胞の分化は、TRAP染色で評価し、3核以上の多核細胞を成熟破骨細胞とした。上記の実験から、2日後におけるコンディショニング液の添加あるいは細菌感染により、RANKL-primed BMMsの破骨細胞分化が促進することが認められた。一方で、TLR2欠損マウス由来BMMsで作製したコンディショニング液では、破骨細胞分化の促進を認めなかった。以上の結果は、細菌感染による免疫応答は破骨細胞分化を抑制するが、そのときに産生された炎症性サイトカインは、RANKL-primed BMMsの破骨細胞分化を促進することを示している。同様にRANKL-primed BMMsに細菌感染を行うことでも破骨細胞の分化は促進された。以上のことから、細菌感染による破骨細胞分化の抑制は、炎症性サイトカインの産生を生じ、これらの炎症性サイトカインによってRANKL-primed BMMsの破骨細胞分化促進が起こること、過剰な骨破壊に繋がると考えられた。

P2-28

破骨細胞分化制御におけるPRIPの役割

○松田 美穂¹、平田 雅人¹
(¹九大 院歯 口腔細胞工学)

PRIP [phospholipase C (PLC) related catalytically inactive protein] は、PLC酵素活性を有しない新規のシグナリング蛋白質として見いだされた。PRIP欠損(KO)マウスで海綿骨の骨量増加が認められたことから骨代謝機構におけるPRIPの機能について解析を行ってきた。野生型(WT)に比べKOマウスにおいては骨芽細胞への分化能が高いことによる骨形成量の増加が見られる一方、破骨細胞の接着や機能に異常が見られた。そこで、破骨細胞分化におけるPRIPの役割について解析を行った。WT、KOマウスの大腿骨および頭蓋骨より調製した骨髄細胞(BMC)、骨芽細胞前駆細胞(POB)を用いて共培養を行ったところ、分化した破骨細胞数が有意に減少するのはKOマウス由来のBMCを用いた場合である事が分かった。そこで、破骨細胞分化に必須のM-CSFおよびRANKLの受容体(CD115、RANK)についてその膜発現をFACSにて解析したところ、RANK/CD115陽性細胞数がM-CSFのみによる刺激の段階でKOで減少していた。破骨細胞分化および機能に関わる種々の分子群についてreal-time PCR解析を行ったところ、RANKを始めNFATc1や α V β 3インテグリンなど多くの分子の発現がPRIP-KOにおいて減少していた。これらのことから、破骨細胞分化の初期の段階でRANK遺伝子の発現量が低下しているために分化に低下が見られることが示唆された。RANKの発現はM-CSFにより促進されることから、PRIPがM-CSFシグナリングにおいて何らかの役割を担っていると考えられる。

P2-29

RelB が誘導する MAP3K ファミリー分子である Cot は IKK α を活性化し NF- κ B2 のプロセッシングを誘導することによりリンパ節形成不全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³、牧 憲司²、
 自見 英治郎¹ (九歯大 分子情報生化学、²九歯大 小児歯、³福歯大 細胞生理)

The alternative nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway, mainly the RelB-p52 heterodimer, plays important roles in bone metabolism through an unknown mechanism. We have previously reported that alymphoplasia (aly/aly) mice, which lack active NF- κ B-inducing kinase (NIK), show mild osteopetrosis due to the inhibition of osteoclastogenesis. p100 retains RelB in the cytoplasm and inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis in aly/aly cells. Furthermore, the overexpression of RelB in aly/aly cells rescues RANKL-induced osteoclastogenesis by inducing p100 processing. In contrast, the overexpression of p65 in aly/aly cells has no effect. However, the overexpression of RelB fails to rescue RANKL-induced osteoclastogenesis in the presence of p100 Δ GRR, which cannot be processed to p52, suggesting that p100 processing is a key step in RelB-rescued, RANKL-induced osteoclastogenesis in aly/aly cells. In this study, Cot (cancer Osaka thyroid), an MAP3K, was up-regulated by RelB overexpression. Analysis of the Cot promoter demonstrated that p65 and RelB bound to the distal NF- κ B-binding site and that RelB but not p65 bound to the proximal NF- κ B-binding site in the Cot promoter. The knocking down of Cot expression significantly reduced the RANKL-induced osteoclastogenesis induced by RelB overexpression. The phosphorylation of IKK α at threonine 23 and its kinase activity were indispensable for the processing of p100 and osteoclastogenesis by RelB-induced Cot. Finally, constitutively activated Akt enhanced osteoclastogenesis by RelB-induced Cot, and a dominant-negative form of Akt significantly inhibited it. Taken together, these results indicate that the overexpression of RelB restores RANKL-induced osteoclastogenesis by activation of Akt/Cot/IKK α -induced p100 processing.

P2-31

Nrf2 遺伝子欠損マウスにおける酸化ストレスと破骨細胞分化
 ○坂井 詠子¹、福岡 裕¹、菅原 めぐみ²、
 西下 一久¹、岡元 邦彰¹、筑波 隆幸¹
 (長大 院医歯薬 歯科薬理、²長大 院医歯薬 歯科矯正)

【背景と目的】 Nrf2 は解毒代謝系酵素遺伝子や抗酸化酵素遺伝子の転写を制御している転写因子である。酸化ストレス暴露下において、Nrf2 は核内移行し酸化ストレスに対して防衛的に機能する。一方、破骨細胞分化は酸化ストレスによって促進されることが報告されている。本研究は、Nrf2 遺伝子欠損マウスを用いて、破骨細胞分化に対する Nrf2 の機能を明らかにする目的で行った。【方法】 マウス骨髄細胞を M-CSF と RANKL で破骨細胞に誘導する培養系を用いた。細胞内酸化ストレスの指標として細胞内活性酸素 (ROS) 量を FACs で測定した。TRAP 染色により多核破骨細胞の形成を評価した。RANKL 刺激後の下流シグナルの活性化と破骨細胞分化マーカータンパクの発現をウェスタンブロットで野生型と比較した。RANKL 刺激後の転写因子の核移行を調べた。【結果と考察】 Nrf2 遺伝子欠損マウスから調整した前破骨細胞では ROS 量の上昇が認められ、RANKL 添加による TRAP 染色陽性多核破骨細胞数の顕著な増加が見られた。RANKL 刺激後の ERK のリン酸化の促進が見られたが、N-acetyl cysteine (NAC) を加えると ERK のリン酸化促進が抑えられた。また Nrf2 遺伝子欠損マウスでは、NFATc1 やカテプシン K の発現が増加していた。さらに破骨細胞分化に必須の転写因子 c-Fos は RANKL 刺激後に核移行がみられるが、Nrf2 遺伝子欠損マウスでは、それが増大していた。また、NAC によって c-Fos の核移行亢進は抑制された。RANKL による c-Fos の核移行は p38 MAPK 特異的阻害剤である SB203580 処理では阻害されず、MEK 特異的阻害剤である U0126 によって阻害された。これらの結果より、Nrf2 遺伝子欠損マウスでは酸化ストレスが亢進することが ERK のリン酸化を促進し、c-Fos の活性化を促したものと考えられる。破骨細胞分化に必須の NFATc1 は、c-Fos と NFATc1 自身によって発現制御されていることから、c-Fos の活性化によって NFATc1 の発現も上昇したものと考えられる。

P2-30

至適圧縮力は破骨細胞分化を促進する
 ○吉村 善隆¹、早川 貴子^{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 院 HBS 小児歯科)

骨リモデリングにおいて機械的刺激が重要な役割を果たしているが、破骨細胞に対して直接圧縮力を作用させた報告はほとんどない。本研究では、破骨細胞分化誘導系に様々な重さの圧縮刺激を作用させ、その影響を検討した。RANKL 添加培養液を用いて RAW264.7 細胞をガラス板上にて 72 時間培養した。その後コラーゲンゲルの層上に、ガラス板上で培養した細胞を反転し、静置した。この上に荷重として 3、5、7、9、14 枚のガラス板を重ね、24 時間圧縮力を作用させた。対照群は反転のみのものとした。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、骨吸収活性を計測した。さらに破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量の変化を定量した。ガラス板の反転は破骨細胞数に影響を与えなかった。破骨細胞数はガラス板 7 枚時に有意に増加し、特に巨大破骨細胞数において有意に増加した。また、吸収窩の面積は有意に増加した。これらの結果からガラス板 7 枚時の圧縮力は、破骨細胞数の増加および巨大破骨細胞への融合を促進する至適圧縮力であることが示唆された。至適圧縮刺激開始後 3 時間で破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量は最大となり、対照群と比較すると発現量の有意な増加が示され、また発現のピークが早められていることが示された。以上の結果より、至適圧縮刺激が破骨細胞関連遺伝子群の発現量を増加し発現時期を早め、破骨細胞への分化融合を促進することが示唆された。従って、骨芽細胞や歯根膜細胞群だけではなく、破骨細胞への直接的かつ至適圧縮力は破骨細胞の分化誘導を促進する可能性が示された。

P2-32

BMP-2 は骨シアロ蛋白質 (BSP) 遺伝子の Runx2 による転写調節に促進的効果を及ぼす
 ○山内 雅人¹、岩田 敏男²、河田 俊嗣²
 (神歯大 院 高度先進口腔医学・歯科矯正、²神歯大 院 口腔科学・歯科矯正)

【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 遺伝子の転写開始点上流 9.0 kb 内に存在する 3 か所の Runx2 認識配列 (OSE2) を同定した。今回の報告では各 OSE2 の転写調節機構に及ぼす BMP-2 の影響を検討した。【方法】 各 Runx2 認識配列 (OSE2-1~OSE2-3) の 6x 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 細胞を用いたクロマチン免疫沈降法にて検討した。【結果および考察】 第 55 回本学術大会において、各 Runx2 認識配列 (OSE2-1~OSE2-3) の 6x 連結ベクターは Runx2 発現ベクターの添加により、その転写活性を促進あるいは抑制することを報告した。Runx2 発現ベクターに BMP-2 を同時に添加することにより、Runx2 発現ベクターのみ添加した群と比較して OSE2-1 で約 3 倍、OSE2-2、OSE2-3 で約 4 倍の転写活性促進が認められた。また、Runx2 抗体を用いたクロマチン免疫沈降法の結果、BMP-2 の添加により、すべての OSE2 において in vivo でも Runx2 の結合が増加していた。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、BMP-2 の刺激に対しても 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。

P2-33

コバルトプロトポルフィリンの破骨細胞分化および活性化に対する影響

八島 由佳^{1,2}、岡元 邦彰¹、坂井 詠子¹、
西下 一久¹、筑波 隆幸¹
(¹長大 院医歯薬 歯科薬理、²廣大 歯)

【目的】破骨細胞分化には鉄分子の調節が必要不可欠である。我々は以前の研究で、鉄イオンとプロトポルフィリンで形成されるヘミンが破骨細胞分化を抑制することを報告した。その際には、Hemoxygenase-1 (HO-1)の発現が増加しており、破骨細胞によるROSの産生が減少することを明らかにしてきた。そこで今回、HO-1の発現を増加させることが知られているコバルトプロトポルフィリン(CoPP)による破骨細胞分化における影響を調べた。【方法】マウス骨髄細胞をM-CSFとRANKLで刺激する系を用いて、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を用いて評価した。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。【結果と考察】CoPP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、CoPPは破骨細胞分化マーカーとして知られているNFATc1、カテプシンK、Srcのタンパク発現を濃度依存的に抑制した。さらに、CoPPはRANKL刺激後のI κ B α のリン酸化を阻害した。HO-1の発現は濃度依存的に増加しているが、我々の以前の研究によるポリフェノールのようにp38やERKといったMAPKのリン酸化は抑制していなかった。以上の結果から、CoPPの破骨細胞形成を抑制する主要な経路は、NF- κ Bの経路である可能性が示唆された。

P2-35

血清および骨芽様培養細胞MC3T3-E1中の亜鉛結合蛋白質の解析

○戸円 智幸¹、深田 哲也¹、橋本 修一¹
(¹日歯大 生命歯 アイソトープ研究施設)

【目的】我々は、これまでアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 活性が大部分消失したマウス頭蓋冠由来骨芽様細胞株 (MC3T3-E1) を用いて、Zn²⁺と血清 (FBS) 中の因子を同時添加することによりALP遺伝子が発現し、活性が増加することを報告してきた。今回、⁶⁵Znを用いてFBSおよびMC3T3-E1細胞中の亜鉛結合蛋白質を検索した。【方法】FBSはZn²⁺を除去したもの (FBS(-Zn)) を使用した。1) FBS(-Zn)と15 μ M ⁶⁵Znを混和後37 $^{\circ}$ C、30分間反応し、ゲルろ過クロマトグラフィで血清中の⁶⁵Zn結合蛋白質を検出した。2) 通常のALP比活性の1/1000以下であるMC3T3-E1細胞を、15 μ M ⁶⁵Znと無血清培地あるいは15 μ M ⁶⁵ZnとFBS(-Zn)で培養した。細胞内に取り込まれた⁶⁵Znの結合蛋白質をNative-PAGEおよびゲルろ過クロマトグラフィにより検索した。【結果と考察】1) FBSを⁶⁵Znと反応させた後、ゲルろ過クロマトグラフィにかけると、⁶⁵Znの放射能は67kの蛋白質付近にピークが認められた。2) ⁶⁵Znを取り込ませた培養細胞から蛋白質を抽出しNative-PAGEで解析すると、⁶⁵Znと無血清培地で培養して細胞内に取り込まれた⁶⁵Znは、大部分泳動先端に検出された。しかし、⁶⁵ZnとFBS(-Zn)で培養した細胞内の⁶⁵Znは、高分子量側の蛋白質バンド中に検出された。また、細胞内の⁶⁵Znをゲルろ過クロマトグラフィを用いて分離すると、無血清培地との培養では低分子量の分画中にのみ⁶⁵Znが検出されたが、FBS(-Zn)との培養では高分子量側に⁶⁵Znの4つのピーク(669k<, 440k, 158k, 67k<)が観察された。これらの結果から、Zn²⁺は血清中の蛋白質と結合して細胞内に入り、ALPを初めとする蛋白質の誘導に影響を及ぼすことが示唆された。

P2-34

II型ウシコラーゲン誘導のマウス関節リウマチモデルを用いたRANKL結合ペプチドの骨形成促進作用と骨吸収抑制作用

○加藤 玄樹¹、清水 康広²、菅森 泰隆¹、
田村 幸彦¹、小野 卓史²、大谷 啓一¹、
青木 和広¹(¹医科歯科大 院医歯 硬組織薬理、
²医科歯科大 院医歯 咬合機能矯正)

<目的>RANKL結合ペプチドであるペプチドXはオステオプロテグリン(OPG)上にあるRANKLのコンタクトサイトの模倣体として設計され、RANKL-RANK相互作用を阻害する。近年、RANKL結合ペプチドであるW9が骨芽細胞膜上のRANKLを刺激し、骨形成を促進する可能性が示された(*J Biol Chem.* 288:5562, 2013)。そこで今回、RANKL結合ペプチドであるペプチドXの作用を、関節リウマチモデルを用いて評価した。

<方法>本実験ではマウス骨髄細胞と骨芽細胞様細胞を用いた*in vitro*実験およびII型コラーゲン誘導によるマウス関節炎(CIA)モデルを用いた*in vivo*実験を行った。7週齢雌性のDBA1/Jマウスに初回免疫を行い(day 0)、21日後(day 21)に2回目の追加免疫を行った。normal + 溶媒群、CIA + 溶媒群、CIA + OP3-4投与群(9 mg/kg/day or 18 mg/kg/day)の4群に分け、関節炎の症状が現れてから屠殺するまで(day 25~day 49)関節炎スコアを評価し、点数化した。ペプチドや溶媒は追加免疫の7日後(day 28)に浸透圧ポンプに入れ、3週間皮下に埋めて徐放させた。Day 49で屠殺後、X線学的解析、組織学的解析、生化学的解析を行った。

<結果>*in vitro*実験ではペプチドX添加により破骨細胞形成の抑制および、骨芽細胞分化の促進が認められた。*in vivo*実験ではポンプ埋入前のday 25頃からマウスに関節炎の症状が現れ始めた。ペプチドX投与によりCIAによる血清CTX-Iの上昇が抑制された。関節部において、ペプチドX投与群で破骨細胞数の減少、骨量の増加、軟骨破壊の抑制を認めた。また、脛骨二次海綿骨部においてはCIAによる骨構造破壊の改善、骨密度減少の阻害、形態計測によりペプチド投与による骨形成指標の亢進が示された。

<結論>RANKL結合ペプチドであるペプチドXは関節リウマチによる関節部の骨破壊や続発性骨粗鬆症を防止など、炎症性の骨破壊を緩解させるための小分子阻害剤開発における有用なテンプレートになりうる。

P2-36

Cellmatrix[®] Type I-A コラーゲンゲルスキャホールド内でインプラント体とともに培養したHMS0014細胞の硬組織形成に関する組織学的研究

○森下 愛子¹、隈部 俊二¹、中塚 美智子¹、
岩井 康智¹(¹大歯大 口腔解剖)

【目的】オッセオインテグレーションの獲得は口腔インプラント治療に欠かせない。これまでに我々はマウス間葉系幹細胞および歯科用インプラント体をコラーゲンゲルに包埋して3次元培養し、安全かつ効率よく骨芽細胞に分化させ、硬組織を形成してきた。今回我々はヒト間葉系幹細胞を用い、本手法で3次元培養を行った際にインプラント体周囲に形成された硬組織の構造について検討した。【方法】ヒト間葉系幹細胞(HMS0014、理研BRC、1.0 \times 10⁶cells/ml)をCellmatrix[®] Type I-A (新田ゼラチン)をスキャホールドとして、チタンインプラント体とともに直径10 cmのdishに包埋した。骨芽細胞への分化誘導を行い21日間培養を続けた。培養終了後インプラント体周囲のスキャホールドから凍結切片、レジン研磨標本ならびにエボン超薄切片を作製し、インプラント体周囲に形成された硬組織について観察した。凍結切片は抗LC3および抗Cx-43抗体を用いて蛍光免疫組織化学的染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。エボン超薄切片は酢酸ウラン、クエン酸鉛による二重電子染色を施して透過型電子顕微鏡にて観察した。【結果】細胞は伸長した仮足と偽足を示す成熟骨芽細胞に誘導された。インプラント体周囲組織に基質小胞とコラーゲンが介在する石灰化が実験1日目から開始し、7日から14日の間に著明に堆積した。HMS0014細胞内にはオートファジー-ライソゾーム細胞変性経路に関連するLC3の発現と、ギャップ結合が介在するシグナル伝達に関連するCx43の発現が認められた。【考察】HMS0014細胞は活発にインプラント体周囲の細胞間基質のターンオーバーを調節し、類骨様物質を形成したこと、また、組織恒常性を維持するためにHMS0014細胞内でオートファジーが進行していることが示唆された。

P2-37

糖尿病ラット骨髄由来骨芽細胞様細胞のチタン上における増殖能および分化能について

○杉田 好彦^{1,2}、神野 正人¹、本田 由馬¹、加藤 世太¹、河合 遼子¹、磯村 まどか¹、佐藤 伸明¹、吉田 和加^{1,2}、久保 勝後^{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】糖尿病はインプラント治療に影響をおよぼすといわれているが、その詳細については不明な点が多い。本研究では、チタン表面における骨芽細胞の増殖能および分化能におよぼす糖尿病の影響を検索する目的で、糖尿病モデルラットより骨髄細胞を採取してチタンディスク上で細胞培養を行い、その細胞増殖能、細胞分化能に与える影響について検索した。【方法】本研究では、ヒトII型糖尿病に類似した疾患モデル動物であるSpontaneously Diabetic Torii fatty ラット (SDT 群) および Sprague Dawley ラット (対照群) を用いた。ラット大腿骨より骨髄細胞を採取し、チタンディスクの表面で細胞培養を行った。チタンディスクは硫酸による表面処理を施して使用した。細胞増殖能および細胞分化能の検索には、WST-1、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、Alizarin red 染色を用いた。【結果】対照群と比較して、培養開始3時間後、24時間後におけるSDT 群の細胞増殖能は有意に低く、培養3日目および7日目におけるSDT 群のALP活性は有意に低くなっていた。また、培養14日目におけるSDT 群のチタンディスク上のAlizarin red 染色陽性部位の面積は有意に低くなっていたが、培養21日目では有意な差はみられなかった。【考察】本研究の結果から、SDT fatty rat の骨髄由来骨芽細胞様細胞は細胞増殖能、細胞分化能、石灰化能を保持していることが示唆され、インプラント治療におよぼす糖尿病の影響の検索に関する有用なデータが得られたと考えられた。今後、糖尿病モデルラットの骨内にチタンインプラントを埋入し、骨-インプラント結合について検索する予定である。

P2-39

乳塩基性タンパク投与によるマウス骨折治癒促進効果

○米女 博司¹、畠山 純子¹、檀上 敦²、合島 裕央奈²、村田 直久¹、渡辺 敏之¹、沖 雄二¹、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)

【目的】骨粗鬆症は、骨量の低下と骨組織の微細構造の異常により骨の脆弱性が高まる疾患として定義されてきたが、臨床的には骨折の合併により骨粗鬆症として認識されることが多い。脆弱性骨折はその部位により身体機能の低下を起し、日常生活への支障を来し、寝たきりなどの社会的な課題ともなっている。そうしたことから、骨折の治癒を早めること、さらに次の骨折を防ぐ事が強く求められている。そこで、私たちは、乳塩基性タンパク質画分 (milk basic protein: MBP) が骨折後の骨修復過程へどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的として研究を行った。【方法】イソフルラン麻酔下にて6週令、雄性C3H/HeJ マウスの脛骨にEinhornらの方法により閉鎖性横骨折を作製した。その後、飲水にMBPを添加した群および非添加群にわけ飼育をした。修復過程は経時的にX線マイクロCTにより観察し、三次元定量解析や骨密度解析を行った。また骨折28日後の骨を採取し、三点曲げ試験により骨強度解析を行った。またMBPの影響を明らかにするため、RT-PCRを行った。【結果および考察】マイクロCTによる三次元定量解析にて骨折後にMBP投与群では、非投与群に比べ、骨修復過程初期より仮骨の形成量が多くエックス線透過度の低下が見られた。骨パラメーター解析にて、骨量・骨梁の厚さや数・骨密度はMBP投与群で高値を示した。骨折後1ヶ月後の脛骨の三点曲げ試験においてもMBP投与群は非投与群に比べ強度が大きかった。またMBP投与群では骨形成および骨吸収に関わる分子群がダイナミックに変化していた。よって、骨折後のMBPの投与は、骨代謝を活発にし骨折の治癒を早めることが示唆された。

P2-38

骨折治癒過程へのTRPV4欠損の影響

○沖 雄二¹、米女 博司¹、合島 裕央奈¹、畠山 純子¹、木附 智子¹、張 旌旗¹、城戸 瑞穂¹ (九大院歯 口腔常態制御)

【目的】TRPV4 (transient receptor potential-vanilloid 4) は浸透圧や伸展刺激、温度刺激などにより活性化されるカルシウム透過性のチャネルである。このTRPV4は骨芽細胞、破骨細胞、軟骨細胞などに発現していることが報告されており、ヒトTRPV4の遺伝子変異が骨格形成の異常を齎すことも知られている。そこで、本研究ではTRPV4の欠損が骨折の治癒過程に与える影響を検討した。【方法】6週齢の雄の野生型マウスと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法に従って灌流固定を行った。高解像度μCT解析およびHE染色、免疫染色による組織学的な解析を行った。また骨の強度を三点曲げ試験により比較した。【結果と考察】μCT撮影像の骨折部位の三次元解析において、骨量/組織量・骨梁の数はTRPV4KOの値が野生型より有意に小さく、一方骨梁間の距離はTRPV4KOで大きかった。骨の強度は、非骨折群にてTRPV4KOが野生型より有意に大きかったが、骨折群では有意な差は認められなかった。組織学的観察により、TRPV4KOでは骨折線周囲の仮骨形成および軟骨の形成が野生型より少なかった。しかし、骨折線より遠位の仮骨形成はTRPV4KOで旺盛であった。軟骨の形成は野生型と比べ細胞の大きさと配列が不整であった。TRPV4の欠損は骨折の治癒を遅延させるが、最終的な治癒には野生型と差がないことが推測された。

P2-40

マウス下顎体領域前方部メッケル軟骨の軟骨内骨化様式による消失範囲

○井上 貴一朗¹、樋口 ゆみ²、影近 史也²、牛島 夏未²、上北 広樹¹、松村 馨¹、八木原 澄¹、高橋 茂¹、土門 卓文¹ (北大院歯 口腔機能解剖、²北大 歯6年、³北大 院歯 学術支援)

【目的】下顎体領域のメッケル軟骨は、膜内骨化により形成される下顎体部の骨に包囲され消失する。多くの報告から下顎体領域前半部メッケル軟骨は軟骨内骨化に準ずる様式により消失すると考えられるが、その範囲は明確になっていない。そこで下顎体領域前方部メッケル軟骨の軟骨内骨化様式により吸収消失する範囲 (後方位置) を明らかにすることを目的に検討を行った。【方法】胎生14日 (E14) から生後3日 (P3) のマウスを用い、組織学的、免疫組織化学的に検討を行った。【結果と考察】E14ではメッケル軟骨全体は一樣な硝子軟骨様組織で軟骨細胞に活発な細胞分裂を示すBrdU活性が多数認められるが、E16の下顎体領域前半では細胞分裂停止と肥大分化、X型コラーゲン産生、基質石灰化、軟骨膜断裂、破骨細胞の侵入と外側からの基質吸収など軟骨内骨化と考えられる状態が確認できる。その部位はE15.5から下顎切歯との接触の影響を受けE18になると大半が消失し、下顎切歯根尖に向い合う部位において歯根の成長に対応するように軟骨内骨化様の吸収が後方に進行していた。P0では切歯歯根の伸長に伴い、軟骨内骨化様の吸収が第1臼歯歯根中央直下まで進行するが、根尖がメッケル軟骨の下方向に変位しはじめ、P2では切歯歯根が完全にメッケル軟骨の下方となり、P3でメッケル軟骨の軟骨内骨化様の吸収がほぼ終了する。一方後半部においてはP0以前では基質に変化が認められないが、P2になると僅かに残った軟骨内骨化様の吸収部より後方において基質変化を主とした軟骨内骨化とは異なる消失様相が確認できる。これらのことから軟骨内骨化様の吸収はE16以前より外側から開始、下顎切歯成長の影響下で吸収消失が進行し、出生直後に切歯との位置関係による影響が無くなることでメッケル軟骨の軟骨内骨化様吸収が終了すると考えられ、その位置はほぼ下顎第1臼歯歯根中央直下であった。

P2-41

マウス下顎体領域後半部メッケル軟骨の骨化様式について

○牛島 夏未¹、影近 史也²、樋口 ゆみ²、井上 貴一郎³、上北 広樹³、松村 馨³、八木原 澄³、高橋 茂³、飯塚 正¹、土門 卓文³ (¹北大 院歯 学術支援、²北大 歯 6年、³北大 院歯 口腔機能解剖)

【目的】 下顎体領域のメッケル軟骨は、前半部では軟骨内骨化に準ずる様式であり、後半部ではそれとは異なることとされるが研究者間で大きく結果が異なり統一見解に至っていない。そこで下顎体領域後半部メッケル軟骨の骨化様式を明らかにする目的で検討を行った。【方法】 下顎体領域後半部メッケル軟骨が消失過程にある生後2日のマウスを用い、屠殺1時間前にBrdUを腹腔内投与し、灌流固定後通常に従い試料作製し、光学顕微鏡的(組織化学的)、および透過型電子顕微鏡的に検討を行った。【結果と考察】 生後2日のメッケル軟骨は、前方が先細りの棒状で、基質は前方ほど疎な構造であるが、先端まで軟骨膜細胞に覆われていた。また全体ではアポトーシス(カスパーゼ3活性)による細胞数の減少は僅かであるが、基質が完全消失する付近では複数の軟骨細胞におけるアポトーシスが認められ軟骨細胞は減少し少数となる。また軟骨膜における細胞分裂活性は全体に散在する程度で、とくに細胞分裂活性の強い部位は確認できなかった。細胞の形態的变化をみると、基質中の軟骨細胞および軟骨膜細胞は前方ほど間葉系細胞様に変化し、さらに骨形成位置近傍では骨芽細胞様の形状に変化しており、基質の消失とともに細胞塊が形成され、細胞塊の前方部分で骨形成が行われていた。また骨形成部以外の部位では基質や軟骨膜層への血管や破骨細胞等の侵入は認められなかった。これらのことから基質の分解とともにメッケル軟骨細胞と軟骨膜細胞が間葉系細胞様に、そして骨芽細胞様に形質転換した細胞によって骨形成が行われたと考えられ、下顎体領域後半部メッケル軟骨の骨化様式は膜内骨化に準じたものと考えられる。

P2-43

大理石骨病における下顎智歯部歯槽骨の形態学的解析

○三上 俊成¹、見明 康雄²、武田 泰典¹ (¹岩医大 病理 病態解析、²東歯大 組織・発生)

【緒言】 大理石骨病は遺伝的要因による破骨細胞の機能障害が原因で骨密度が著しく増す疾患である。歯科治療においては難抜歯など骨削除を行う処置で困難が伴う。したがって歯科臨床的には硬化した骨の性状について知っておくことが必要であるが、非常に稀な疾患であるため実際の症例を解析した報告は少ない。【目的】 本研究の目的は、自験例の中から大理石骨病患者の難抜歯症例について概要を報告するとともに、採取された骨組織について詳細な形態学的解析を行うことである。【方法】 症例は50歳代の男性で、右側下顎第二大臼歯の急性化膿性根尖性歯周炎、口底部蜂窩織炎、および右側下顎智歯の水平半埋伏の臨床診断だった。右側智歯の難抜歯で骨削を行った際に採取された骨組織の一部を試料とし、通常の病理組織学的検査に加えてコンタクトマイクロラジオグラム(CMR)と電子顕微鏡(EPMAの反射電子像)による形態観察、さらにカルシウム(Ca)、リン(P)などのマッピングとエックス線回折による定性分析を行った。【結果】 エックス線所見で根尖部付近の骨吸収像は明らかでなかった。病理組織所見は主に緻密な層板骨からなる皮質骨と太い梁状骨からなる海綿状骨で、骨梁間には慢性炎症性細胞浸潤と線維化がみられた。CMRでも緻密骨と海綿骨の像がみられ概ね正常な所見であったが、骨の吸収像はほとんど認めなかった。EPMAの反射電子像では、CMRで見えなかった部分でも空隙が少なく緻密骨と同様の所見であった。CaとPマッピングでは、Caの分布の違いは明瞭であったが、Pは均一だった。エックス線回折の結果、採取された骨組織は正常の骨と同様にカルシウム欠損型ハイドロキシアパタイトであると考えられた。【結論】 大理石骨病患者では炎症性疾患に罹患した場合でも骨吸収は起こり難く、骨密度も高いが、骨組織の組成や基本的な構造は正常に近いことが示唆された。

P2-42

In situ hybridization法を用いたマウス大腿骨成長板における一酸化窒素合成酵素(NOS)の検出

○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 (¹奥羽大 歯 口腔組織、²奥羽大 歯 口腔組織構造生物、³奥羽大 歯 顎口腔外科)

【目的】 一酸化窒素(NO)は生体内の様々な細胞で産生され、物質代謝や細胞内輸送、シグナル伝達にも関与していることが報告されている。近年、NOを生成する酵素(一酸化窒素合成酵素:NOS)が明らかにされ、種々の組織・器官におけるNOの産生とその機能が検討されている。NOSには、神経系細胞に存在するnNOS、血管内皮細胞に存在するeNOS、サイトカインの刺激によりNOを合成するiNOSの3種のアイソフォームが存在している。そこで今回我々は、骨発生過程のひとつである軟骨内骨発生における各種NOSの発現を*in situ* hybridization法により検索した。【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、通常に従い各NOSプローブを用いて、*in situ* hybridizationを行い顕微鏡観察した。【結果】 3週齢における各種NOS mRNAの発現は、nNOS、eNOSは軟骨内骨発生の際の各層における軟骨細胞に観察され、iNOSは増殖層と肥大層の一部に局限していた。18週齢の軟骨細胞では各NOS mRNAの発現はみられなかった。また、観察期間を通じて骨芽細胞と破骨細胞に各NOS mRNAが発現していた。【考察】 マウス大腿骨の軟骨内骨発生ではNOS mRNAが産生されており、骨基質形成に深く関連することが示唆された。また、軟骨細胞の増殖や分化の成熟過程にNOが関与する可能性が考えられた。

P2-44

プロゲステロンは産卵ウズラの骨髄骨破骨細胞の活性を抑制する

○山本 敏男¹、塩津 範子^{1,2}、片岡 陽平^{1,3}、河井 まりこ¹、池亀 美華¹ (¹岡大 院医歯薬 口腔形態、²岡大 病院 総合歯科、³岡大 院医歯薬 顎口腔顔面再建外科)

【目的】 産卵期の鳥類は卵殻石灰化のためのCa貯蔵所として骨髄腔に骨髄骨とよばれる代謝性の骨組織を形成する。産卵周期に伴い、卵が卵殻腺に入ると骨髄骨吸収が活発になるが、膨大部または狭部にあるときは、骨吸収は休止する。この卵管の卵の位置と骨髄骨の同調機構については判っていない。後藤ら(2002)は性ステロイドホルモンのうち、プロゲステロンは卵殻重量の減少を来すと報告している。しかしながら、卵殻石灰化に際してCaの供給源である骨髄骨の骨吸収におよぼすプロゲステロンの影響を調べた報告はない。本研究は卵管と骨髄骨の同調機構を調べることを目的として、まずプロゲステロンが骨髄骨における破骨細胞の活性におよぼす影響を観察した。【方法】 産卵期のニホンウズラを用いた。産卵後4~5時間を経過し、卵が卵殻腺に入り骨髄骨の破骨細胞の活性化が開始する時期にプロゲステロン(1mg/0.1ml)を筋注した。投与後約10時間(前回の産卵後約15時間前後経過)で灌流または浸漬固定を行い、骨髄骨を組織学的に観察した。対照は無処理の同産卵周期のウズラとした。【結果】 プロゲステロン投与、無処理のもの共に卵は卵殻腺中にあった。肉眼所見では、無処理ウズラの卵殻は硬化しており、石灰化の進行が明らかであった。他方、プロゲステロン投与したものでは所謂軟卵状を呈しており、石灰化の程度は極めて悪かった。骨髄骨を観察すると、無処理群では破骨細胞が大きく、細胞質中には多数の空隙がみられ活発な様相を呈していた。しかしながら、プロゲステロン投与したものでは、破骨細胞が骨基質に近接してみられるもの扁平なものが多く、且つ空隙構造は極めて乏しかった。【考察】 プロゲステロン投与したものは、卵殻の石灰化が阻害されており且つ骨髄骨の破骨細胞は不活発な様相を呈していた。したがって、プロゲステロンは骨髄骨の破骨細胞を抑制することが示された。

P2-45

成長因子カクテルを用いた歯根膜由来細胞の分化誘導実験

○隈部 俊二¹、中塚 美智子¹、細矢 明宏²、
上田 甲寅¹、乾 千珠子¹、森下 愛子¹、
岩井 康智¹
(¹大歯大 口腔解剖、²松歯大 口腔解剖二)

【目的】間葉系幹細胞から骨芽細胞への効率的な誘導法を確立することは、歯槽骨再生ならびにインプラント療法の開発に最も求められることの一つである。体外で安全かつ大量に、効率よく幹細胞を骨芽細胞などの歯系組織形成細胞へ分化させ、それらを生体に戻すことによって可能な限り早期に歯系組織を再生させることを目指し、今回多種類の成長因子の組み合わせによる骨形成細胞誘導実験を行った。【方法】Wistar 系雄性ラット 40 匹 (4 週齢) の臼歯歯根膜を無菌的に摘出し、細胞を単離して培養した。BMP-2 や FGF-2 などの成長因子を組み合わせ、培地に添加し、培養 7、14、17、21 日後の細胞数の測定を行った。また ALP 染色、アリザリンレッド S 染色を行って細胞の分化を評価した。さらに成長因子の受容体の発現を免疫組織化学的染色によって検索した。【結果】BMP-2 ならびにデキサメタゾン単独で培養したときより、BMP-2 100 μM およびデキサメタゾン 100 nM を組み合わせで培養した方が、ALP およびアリザリンレッド S による著明な染色像が得られた。また著明な染色像は培養開始後 14 日目以降に観察された。BMP-2 300 μM 以上およびデキサメタゾン 300 nM 以上の組み合わせでは分化誘導後 7 日以内に死滅した。FGF-2 を用いると細胞増殖は顕著に認められたが、培養開始後 21 日目においても分化誘導は行われなかった。これは FGF-2 に加えて BMP-2、デキサメタゾン、ならびに IGF-1 を組み合わせても同様であった。一方 IGF-1 を BMP-2、デキサメタゾンに加えて用いると、培養開始後 14 日目以降に ALP およびアリザリンレッド S による著明な染色像が得られた。【考察】BMP-2、デキサメタゾン、ならびに IGF-1 は骨形成細胞の分化誘導に促進的に働くが、FGF-2 は細胞増殖に促進的に働くことから、目的に合わせて添加する成長因子の組み合わせを検討する必要があることが示唆される。

P2-47

ラット顎関節滑膜におけるデスミン免疫陽性 B 型および RECA-1 免疫陽性 A 型表層細胞の血管形成への関与

○野澤-井上 佳世子¹、真柄 仁²、河野 芳朗¹、
大峯 淳¹、前田 健康¹ (¹新大院医歯 口腔解剖、
²新大院医歯 摂食嚥下リハビリ)

【目的】顎関節の滑膜表層細胞は、線維芽細胞様 B 型細胞とマクロファージ様 A 型細胞の二種類に分けられているが、そのうち B 型細胞は多様な形態を呈し、異なる機能をもつ細胞の混在が推測される。我々はこれまでに一部の B 型細胞が筋特異的中間径フィラメントであるデスミンを発現し、その特徴が血管新生時の活性化した血管周皮細胞に類似していることを報告した。一方、滑膜表層には血管内皮細胞マーカー (抗 RECA-1 抗体) に免疫陽性を示すものの、管腔構造を形成しない細胞も存在していた。本研究では成熟および発育段階のラット顎関節における、これらの細胞の血管形成への関与に着目し、免疫細胞化学的に検討した。【方法】生後 1、5、7 日、4、8 週齢の雄性ウィスター系ラットを用い、灌流固定、脱灰の後、連続凍結切片を作成し、ABC 法および蛍光二重標識にて免疫染色を行った。一部の染色切片は樹脂包埋し、電顕観察に供した。デスミン免疫陽性 B 型細胞の特徴を種々の抗体を用いて免疫細胞化学的に検討すると共に、この細胞と RECA-1 陽性細胞の発育過程の滑膜における局在を検索した。【結果と考察】デスミン陽性 B 型表層細胞はビメンチン、NG2、PDGFRβ、カベオリン 3 を発現し、血管新生時の出芽端に出現する活性化周皮細胞に類似しており、また、近接する RECA-1 陽性の細胞は A 型表層細胞の特徴を有していた。関節腔形成期では、明瞭化してきた滑膜表層に血管腔は認められず、わずかなデスミン陽性細胞と RECA-1 陽性細胞が存在していた。関節腔完成後、RECA-1 陽性の内皮細胞とデスミン陽性の周皮細胞からなる毛細血管が滑膜表層に認められるようになり、発育に従って RECA-1 陽性 A 型細胞とデスミン陽性 B 型細胞を近傍に伴う血管が増加していった。本結果から、これら一部の表層細胞は血管新生端に出現する特殊な周皮細胞と内皮細胞である可能性が示唆された。

P2-46

軟骨細胞動態における Growth/Differentiation Factors の機能的差異に関する検討

○畠山 雄次¹、松田 裕子⁴、畠山 純子²、
岡 暁子³、阿南 壽²、稲井 哲一朗¹、
石川 博之¹、沢 禎彦¹ (¹福歯大 機能構造、²福
歯大 歯科保存、³福歯大 小児歯科、⁴福歯大
矯正歯科)

Growth Differentiation Factor-5, -6, and -7 (GDF-5, -6, -7) form a distinct subfamily within the bone morphogenetic protein (BMP) family based on similarity of amino acid sequence and gene expressions stage of developing cartilage. However it has been still unknown detail differential function on chondrogenesis, especially to chondrocyte differentiation. The mouse chondrogenic cell line ATDC5 cells were cultured in the absence or presence of GDF-5, -6, or -7 at each dose from 12.5 to 100 ng/ml for each experiment culture period. The cell numbers of ATDC5 were suppressed in the presence of each GDF after 24h culture. Alcian blue staining of cell culture in the presence of each GDF were performed after 2 week culture and staining intensities were increased in a dose-dependently manner of each GDF. However the gene expression of Sox9 after 24h culture and aggrecan after 48h culture were increased in the presence of GDF-5 significantly compared with GDF-6 and GDF-7, which increased these genes significantly compared with control. These results suggest that all of GDF-5, -6, and -7 could promote the chondrogenic cell differentiation but it would be different in the mechanism of chondrogenic marker gene expression.

P2-48

オステオカルシン受容体候補タンパク質 GPRC6A の免疫組織学的解析

○東 泉¹、溝上 顕子²、大住 伴子¹、
平田 雅人²、竹内 弘¹ (¹九歯大 口腔応用薬理、
²九歯大 院歯 口腔細胞工学)

Bone-derived protein osteocalcin (OC) stimulates insulin secretion, thus regulating energy metabolism in target organs. A G-protein coupled receptor, GPRC6A, has been identified as a putative receptor for OC which mediates insulin secretion in pancreas. We have found that OC also stimulates insulin secretion through stimulating glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion from the gut. However, the localization of GPRC6A, particularly regarding the relationship with the cells secreting hormones remains elusive.

In the present study, we examined the distribution of cells expressing GPRC6A in mouse tissues and compared with those of several molecules relating to systemic glucose homeostasis by immunohistochemistry. In small intestine, a portion of GPRC6A positive cells were co-localized with GLP-1, supporting our previous report regarding OC effect. In the pancreas, on the other hand, GPRC6A were found in beta-cells and also in peripheral cells surrounding the Langerhans islets, which were different from those expressing glucagon, indicating that the unidentified cells other than alpha-cells in the islets are responsive to OC. The results suggest that GPRC6A contributes to regulation of several hormones including insulin and incretins.

P2-49

オステオカルシン妊娠投与による次世代糖脂質代謝制御の可能性
 ○川久保-安河内 友世¹、近藤 皓彦¹、安武 雄¹、溝上 顕子¹、平田 雅人¹
 (¹九大 院歯 口腔細胞工学)

近年、骨基質蛋白質であるオステオカルシン、特に非(低)カルボキシル化オステオカルシン (GluOC) が糖脂質代謝に対して善玉としての内分泌作用を発揮することが報告され、骨代謝と動脈硬化との関連が裏付けられている。さらに我々は最近、GluOC が各標的臓器への直接的作用のみならず、インクレチンである GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) を介した間接的なグルコース依存的血糖降下作用も持ち合わせていることを動物への経口投与実験で実証し、糖脂質代謝正常化における外来性 GluOC 投与の有用性を示した。

そこで、本研究では GluOC 経口投与による妊娠中母体の血糖制御の可能性と、妊娠母体の栄養状態および GluOC 摂取が、児の糖脂質代謝に及ぼす影響、およびその性差にも焦点をあて、研究を遂行した。

妊娠中に高脂肪高シヨ糖食 (HFD; 脂肪含量 30% [v/v]、シヨ糖含量 20% [v/v]) を摂取した母親の産仔は、通常食 (ND) を摂取していた母親から生まれた産仔より体重が有意に重く、また、膵発生や β 細胞増殖に寄与する Pdx-1 (pancreatic-duodenal homeobox factor-1) の膵臓での発現が増強していた。これらの傾向は、仔が成獣となった後も引き続き観察され、離乳後にこれらの仔の栄養状態 (HFD/ND) を区別して追跡した場合にも、母親の妊娠期の栄養状態が大きく反映されていた。

さらに、上記の妊娠母体過栄養による (仔に対する) 影響は、妊娠母体が GluOC を摂取することで回避され、さらに、GLP-1 受容体欠損マウスを用いた同様の実験では観察されなかったことから、GluOC が GLP-1 応答を介して妊娠母体の糖脂質代謝を正常化し、世代を越えた糖脂質代謝異常をも回避させる可能性が示された。

P2-51

舌発生における SHH の役割
 ○奥原 滋¹、井関 祥子¹
 (¹医科歯科大 院医歯 分子発生)

Sonic hedgehog (Shh) is a secreted molecule that functions in multiple developmental processes of many organs. In oral region, Shh is expressed in dental epithelium, tongue and palatal shelf during development.

Shh expression is regulated not only by proximal promoter but long-distant *cis*-acting enhancers in a spatiotemporal specific manner. Among those enhancers, MFCS4 is activated in the lingual and pharyngeal epithelium between E10.75 and 15.00. Compound heterozygous mutant mice (Shh^{+/-} MFCS4^{-/+}) show hypoplasticity of the tongue with a full penetration of cleft palate. We utilized Shh^{+/-}MFCS4^{-/+} mice to clarify the function of Shh signaling in the lingual and palatal development.

Uni- or bilateral failure of palatal shelf elevation and disorganized arrangement of the intrinsic lingual muscles were found in the mutant. Palatal shelves of the mutant successfully elevated in maxilla organ culture system and extracellular matrices in the palatal shelves were expressed normally in the mutant, suggesting that the palatal shelves of the mutant have intrinsic potential enough to elevate themselves.

Tongue associates with palatal shelf elevation by its motion to yield space above it, which requires the contraction of intrinsic and extrinsic vertical lingual muscles. In the mutant, lingual septum, that is marked by *Scleraxis*, was smaller and partially discontinuous. In addition, Laminin-positive basement membrane of the lingual epithelium is hypomorphic in the mutant and underlying lamina propria of the mutant was thinner than that of the wildtype. These findings indicate that the anchoring of the lingual myotubes of the mutant is unstable.

In total, it is suggested that Shh signaling regulated by MFCS4 enhancer is responsible for the arrangement of the lingual myotubes in tongue development.

P2-50

歯胚発生過程における血管新生制御機構の解析
 ○春原 正隆¹、佐藤 巖¹
 (¹日歯大 生命歯 解剖一)

Objective : Histologically, it is known that the network of blood vessels are formed at the late stage of tooth development. Previously, we have reported on the respect of signaling molecules involved in tooth development, but a detailed mechanism of formation of blood vessels remains unclear. In this research, we examined the expression patterns of angiogenesis-related molecules during tooth germ development. Method: By using the probes of angiogenesis-related molecules, we performed in situ hybridization. And also, immunohistochemically stained serial sections of dental tissues with the antibody against angiogenesis-related molecules. Result: The localization of transcripts of angiogenesis-related molecules were observed in mesenchymal layers in tooth germ. And also, some angiogenesis-related molecules were observed in mesenchymal layers, dental papilla and around the blood vessels in tooth germ. Conclusion: These findings suggested that some angiogenesis-related molecules might have involved in tooth development.*This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C) (No.22592052) and JSPS KAKENHI Grant Number 26462800.

P2-52

マウス胚における GnRH-ニューロンの移動に非依存的な性腺刺激ホルモン分泌細胞の出現
 ○今井 元¹、馬場 麻人¹ (¹奥羽大 歯 生物)

GnRH neurons in preoptic nucleus (PoN) is essential for vertebrate reproduction, with GnRH-neurons controlling release of gonadotropins, i.e., LH & beta and FSH & beta, from the gonadotropes in adenohypophysis. In mammals, it is widely accepted that the precursor of GnRH neurons initially appears in nasal placode (NP), i.e., the rudiments of olfactory nerve (ON) and vomeronasal organ (VNO) epithelium, from which the precursor migrates to PoN through olfactory bulb (OB). However, the embryonic origin of GnRH neurons is controversial and has been suggested to be various embryonic rudiments, e.g., NP, adenohypophyseal placode or neural crest, depending upon the species examined. Moreover, it is not clear whether the emergence of ganadotropes is dependent upon the migration of GnRH-neurons in mouse embryos. AIM: Therefore, we aimed this studies as follows: 1) to confirm the hypothesis that the precursor of GnRH-neurons is derived from NP lineage: 2) to examine whether the migration of the precursor into PoN is essential for the emergence of gonadotropes, or not. MATERIALS and METHODS: To this end, the immunohistochemistry with anti-GnRH antibody and anti-LH&beta antibody was performed in the Gli3^{-/-} mutant mice of E17.5 lacking OB. RESULTS and CONCLUSIONS: The localization of GnRH-immunoreactive cells in Gli3^{-/-} mice was observed only in ON/VON, supporting hypothesis that the precursor of GnRH neurons is derived from NP lineage. In addition, LH & beta-immunoreactive cells appeared in adenohypophysis without the GnR-immunoreactive molecules in PoN and adenohypophysis, suggesting that the embryonic appearance of ganadotropes is independent of the migration of GnRH neurons.

P2-53

胎生期中後期における線維芽細胞増殖因子 (FGF) 10 の過剰発現はマウス頭蓋顎顔面の形成障害をもたらす

○香川 和子¹、吉岡 広陽²、呉本 晃一¹、竹井 悠一郎²、南崎 朋子²、津賀 一弘¹、吉子 裕二² (¹広大院医歯薬保 先端歯科補綴、²広大院医歯薬保 硬組織代謝生物)

線維芽細胞増殖因子 (FGF) は 22 種類存在し、細胞の増殖、分化を始めとする多様な生命活動を制御している。FGF10 は胎生期において四肢、肺を含む複数の臓器の形態形成に関与している。我々は、*Fgf10* のマウス胎生期中後期における発現パターンから、FGF10 が頭蓋顎顔面形成にも関与すると推察した。そこで、ドキシサイクリン (Dox) 誘導性に *Fgf10* を過剰発現する遺伝子改変 (*Fgf10* OE) マウスを用いて、妊娠中後期の一定期間に *Fgf10* を過剰発現する胎仔または新生仔マウスを作製した。妊娠 12 日から Dox 投与を開始したマウスより採取された胎齢 18.5 日の *Fgf10* OE 胎仔および新生仔は吻が短く、顎顔面の劣成長を伺わせた。同新生仔の骨格標本を作製したところ、四肢、椎骨に際立った異常は認められなかったが、上下顎骨は吻尾方向に短く、下顎頭軟骨が矮小化していた。そこで、妊娠 12 日から Dox 投与を開始したマウスより胎齢 16.5 日および 18.5 日の胎仔を摘出、頭蓋顎顔面の前頭断切片を作製し、組織学的に精査した。*Fgf10* OE マウス胎仔では、エナメル上皮の過形成を特徴とする歯胚の形態異常を伴い、上下顎骨の劣成長が著しく、下顎頭軟骨の肥大軟骨細胞の割合が低下していた。鼻中隔、側頭骨などにおいて軟骨の肥大軟骨細胞が減少傾向にあり、側頭骨から頭頂骨にかけて骨の非薄化を認めた。その他、表皮の薄層化、角膜上皮や口腔粘膜上皮の肥厚化、腺の過形成が顕著であった。これらのことから、マウス胎生期中後期における *Fgf10* の過剰発現は、骨・軟骨をはじめ、頭蓋顎顔面の形成に強く影響することが示唆された。

P2-55

ラット胎仔器官培養舌粘膜組織における *in vitro* エレクトロポレーション法による遺伝子導入の評価

○吉村 建¹、梨田 智子²、三上 正人³、影山 幾男¹ (¹日歯大 新潟生命歯 解剖、²日歯大 新潟生命歯 生化、³日歯大 新潟生命歯 微生物)

[Objective] To illuminate on the genes responsible during development of the lingual mucosa, we evaluated transfection methods in rat embryonic organ-cultured lingual tissue by the *in vitro* electroporation method using the GFP vector, then determined the procedures necessary for the transfection system.

[Methods] The mandibles including the lingual tissue was excised from rat embryos, then, transfected with a pCAGGS-eGFP vector using a NEPA21 electroporation apparatus (NEPAGENE, Chiba, Japan). Following this transfection procedure, the tissues were consequently cultured in the culture medium (e.g. Opti-MEM, Life Technologies, California, USA), then the green fluorescence of GFP in each tissue area were observed with a 515 nm long-pass filter equipped stereo microscope under a 447 nm UV-LED illuminating system at 24-, 48- and 72- hour intervals after transfection. At the 72- hour interval, the cultured tissues were fixed with an immersion of 4% paraformaldehyde and cryo-sectioned. Immunohistochemistry was performed with anti-GFP (MBL, Tokyo, Japan) primary antibody and Histotar second antibody system (MBL, Tokyo, Japan).

[Results] The fluorescent intensity of the GFP was observed at the 24- hours interval, and the intensity and the positive area gradually increased to maximize at 72- hours after transfection. Through immunohistochemistry, the anti-GFP-sensitive area coincided with the fluorescent area, indicating the availability of this method for organ-cultured lingual tissue.

P2-54

咬筋における miR-206 とアセチルコリン受容体形成因子との関連性について

○島崎 絵美¹、成山 明具美¹、安藤 準²、山根 明²、朝田 芳信¹ (¹鶴見大院歯 小児歯科、²鶴見大院 歯 物理)

[背景] *mitf* 遺伝子に突然変異を持つ小眼球症状マウス (*mi/mi*) は、歯の萌出不全により咬合が不可能であるため、咬筋の生後発達過程における神経筋接合部のシナプス形成に異常が認められる。神経筋接合部のアセチルコリン受容体形成には、CDK5, Musk 等の因子が関係していることが知られているが、骨格筋に特異的に発現する microRNA である miR-206 は、これらの因子の発現調節を行っている可能性が考えられる。[目的] 本研究では、発達過程の咬筋において miR-206 により制御されるアセチルコリン受容体関連因子を探索することを目的とした。[材料と方法] Wild type マウスおよび (*mi/mi*) を、それぞれ生後 1, 4, 12 週目に安楽死させ、咬筋および腓腹筋を摘出した。摘出したそれぞれの筋組織より Total RNA を抽出し、cDNA を調整した。Real-Time PCR によりそれぞれの筋組織間の miR-206 およびアセチルコリン受容体形成因子 (CDK5, Rapsyn, Musk, Nestin) の発現量を比較した。[結果、考察] Wild type の咬筋では、miR-206 は 4 週齢で顕著に増加し、12 週齢で減少した。CDK5 は 4 週齢で減少し 12 週齢で増加した。腓腹筋では miR-206, CDK5 ともに週齢ごとの顕著な差は見られなかった。一方、(*mi/mi*) の咬筋と腓腹筋では、それぞれ miR-206 および CDK5 の発現量に顕著な差は見られなかった。以上の結果より、Wild type と (*mi/mi*) の咬筋における miR-206 と CDK5 の発現パターンの違いが生じた理由として、CDK5 が miR-1/206 の標的配列を有しているため、正常な発達過程では、miR-206 により CDK5 の発現が制御されている可能性が考えられた。すなわち、咬合様式の違いが miR-206 を介する CDK5 の発現に影響を与えていることが示唆された。

P2-56

温度感受性 TRPV3 チャネル遺伝子欠失マウスにおけるエナメル質の異常形成

○張 旌旗¹、合島 悦央^{1,2}、木附 智子¹、大崎 康吉¹、久木田 敏夫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)

[目的] 歯の表層を覆うエナメル質は、生体で最も硬い組織として知られているが、その形成の詳細については明らかになっていないとは言えない。温度感受性 TRPV3 (transient receptor potential vanilloid 3) は 32°C 以上で活性化され、高い Ca²⁺ 透過性を有する非選択性陽イオンチャネルである。TRPV3 遺伝子欠失マウスは、体毛や皮膚の異常が報告され、口腔上皮における変化については私たちが解析を進めている。今回は、エナメル質の形成への TRPV3 の影響についてマウスを使って調べた。[方法] 6 週齢の雄性野生型マウス (WT) と TRPV3 遺伝子欠失マウス (V3KO) を麻酔下で灌流固定し、切歯および臼歯を採取、切断面を作製し、走査型電子顕微鏡にて解析した。[結果と考察] 切歯、臼歯ともに外形や大きさ、エナメル質の厚さは WT と V3KO を比較して顕著な差は認められなかった。しかし、エナメル小柱および小柱間質の発達には WT と V3KO で異なっていた。WT のエナメル小柱は棒状であるが、V3KO では細糸状を呈し、小柱の形成が不十分で間隙が広がっていたことが観察された。本研究の結果により TRPV3 がエナメル質の形成に影響を与えていることが明らかとなった。

P2-57

DNA メチル化酵素阻害剤投与による TGFβ3 ノックアウトマウスの口蓋裂表現型の薬理的改善に関する研究
 ○杉山 明子¹、滝川 俊也¹、引頭 毅² (朝日大 歯 口腔解剖、²朝日大 歯 口腔微生物)

【目的】 DNA メチル化酵素阻害剤の投与が ICR および C57BL/6J 系統マウス胎児の MEE 細胞 (口蓋突起内側縁上皮細胞) の最終分化に与える影響、さらに DNA メチル化酵素阻害剤の投与が TGFβ3 ノックアウトマウス (KO) の口蓋裂表現型に与える影響を調べることを目的とした。

【方法】 ICR および C57BL/6J 野生型マウス胎児の口蓋突起を器官培養法で培養した後、MEE 細胞の最終分化能力のマウス系統差を SEM および組織学的解析により調べた。また、DNA メチル化酵素阻害剤 (RG108) が MEE 細胞の最終分化に与える影響を同じく器官培養法を用いて解析した。さらに、C57BL/6J 系統 TGFβ3 KO を用いて、妊娠 13-15 日目の母鼠に RG108 を 3 日間腹腔内注射して、DNA メチル化酵素阻害剤の投与が TGFβ3 KO の口蓋裂表現型に与える影響を調べた。

【結果】 器官培養法を用いた解析により、ICR 系統に比べて C57BL/6J 系統の胎児では MEE 細胞の最終分化能力が著しく劣っていることが判明した。また、RG108 を培地に添加すると、C57BL/6J 系統の MEE 細胞の最終分化能力を ICR 系統の MEE 細胞の最終分化能力と同等のレベルにまで回復することが判明した。また、完全口蓋裂のみを呈する C57BL/6J 系統 TGFβ3 KO の妊娠母鼠に RG108 を腹腔内投与した場合、不完全口蓋裂を呈するホモ胎児が認められた (n=20/126; 奏功率 15.9%)。

【考察】 以上の結果から、TGFβ3 KO の口蓋裂表現型は TGFβ3 の欠損だけで決まるのではなく、遺伝学的背景にある DNA メチル化状態との複合作用で決まることが強く示唆された。また、DNA メチル化酵素阻害剤の投与は MEE 細胞の最終分化能力を高めて、口蓋裂表現型を軽症化させることが初めて明らかとなった。

(本研究は科研費の助成を受けて実施した。)

P2-59

歯髄幹細胞からのクローンにおける分化能と網羅的遺伝子発現の差異
 ○小林 朋子¹、鳥居 大祐¹、筒井 健機²、筒井 健夫¹
 (¹日歯大 生命歯 薬理、²日歯大 生命歯)

【目的】 ヒト歯髄幹細胞には多分化能および象牙質/歯髄様複合体の形成能があるが、クローンにおける報告は少ない。そこで我々は、単一歯髄由来の歯髄幹細胞集団における幹細胞特性を解析するために、クローニングによる分化能と網羅的遺伝子発現解析を行った。

【方法】 単一歯髄由来の歯髄幹細胞 (DPSCs) は 11 歳女子の埋伏智歯より得、*in vitro* では石灰化能と軟骨分化能、および脂肪分化能を解析し、*in vivo* では免疫不全マウスへの皮下移植を行った。また、同 DPSCs より 50 クローン (DPSCs-cls) を単離し、各クローンの分化能および DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。

【結果】 DPSCs は、*in vitro* において石灰化能と軟骨分化能、および脂肪分化能への 3 分化能が観察され、*in vivo* では象牙質/歯髄様複合体を形成した。DPSCs-cls においては、3 分化能、もしくは 2 分化能、あるいは 1 分化能が各クローン間で観察された。DNA マイクロアレイでは、3 分化能と 2 分化能、および 1 分化能を有した 5 クローンの分化関連遺伝子 (*IGF2*)、幹細胞関連遺伝子 (*KIT*)、細胞増殖関連遺伝子 (*IER3*) などの発現において差異が解析された。

【考察】 今回の結果より、単一歯髄由来の歯髄幹細胞集団から得られたクローンにおいて、異なる分化能と遺伝子発現が示された。これらのことは、ヒト歯髄幹細胞の初代培養において分化能と遺伝子発現の異なる幹細胞様細胞と前駆細胞様細胞の存在を示唆している。

P2-58

マウス *Msx2* 遺伝子は外エナメル上皮の角化重層扁平上皮化を抑制する
 ○中富 満城^{1,2}、依田 浩子²、大島 勇人²
 (¹九歯大 頭頸部構造解析、²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、歯胚エナメル器においてはエナメル芽細胞、中間層細胞、外エナメル上皮細胞に発現する。ヒトの *MSX2* 変異および *Msx2*^{-/-}マウス (以下変異型) の双方においてエナメル質形成不全症を呈する事が知られているが、その詳細な発症機序については未だ不明な点が多いので今回解明を試みた。【材料と方法】 生後 3 日から 20 週齢までの野生型および変異型マウスの切歯と臼歯を用いて、免疫組織化学染色や RT-PCR 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初期分化過程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*, *Ambn*, *Enam* 等)、タンパク分解酵素 (*Mmp20*, *Klk4*) の発現は比較的正常に認められた。また中間層細胞の分化マーカーである *Notch1* や *Sox2* の発現も観察された。一方で外エナメル上皮は重層扁平上皮化し、BrdU 標識により野生型と比較して有意に高い増殖能力を示した。組織学的解析によりエナメル器内に皮膚や口腔粘膜上皮の分化マーカーである CK10, Loricrin, Hsp25 の異所性発現が観察され、更に *Krt26* や *Krt73* 等の毛特異的上皮ケラチンの異所性発現も認められた。エナメル器内における角質蓄積の進行に伴い星状網は消失し、中間層細胞の分化状態喪失およびエナメル芽細胞の極性喪失が観察された。以上より *Msx2* はエナメル芽細胞や中間層細胞の初期分化には必要ではなく、外エナメル上皮の分化維持に必須の因子であり、その角化重層扁平上皮化の抑制を介して正常なエナメル質形成過程に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

P2-60

ビリルビンの影響下におけるヒト歯髄幹細胞の機能回復
 ○星野 慶弘¹、山座 孝義²、馬 蘭¹、友田 恵利佳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】 先天性胆道閉鎖症患者では、ビリルビン着色歯、う蝕の多発、歯胚形成の遅延、歯髄腔の拡大など歯に関する臨床症状が報告されていたが、歯胚形成や象牙質形成に対するビリルビンの直接的作用については不明のままであった。昨年度本学会において、象牙質形成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、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、象牙質形成能も低減させることを報告した。今回、ビリルビンによって障害された象牙質形成能を回復させる目的で、*in vitro* のビスフォスフォネート製剤の影響ならびにビリルビン負荷中断に対する影響を検討した。【方法】 健常者の脱落乳歯を採取し、その歯髄より歯髄幹細胞を単離・培養した。ビリルビン非添加群 (対照群)、ビリルビン添加群、ビリルビン+ビスフォスフォネート製剤添加群、ビリルビン刺激を一定期間行い、その後中断した生体肝移植モデル群とした。それぞれの実験群で象牙質形成能を解析した。【結果】 対照群と比較してビリルビン添加群では、有意に象牙質形成能が低下していた。一方ビリルビン+ビスフォスフォネート製剤添加群ならびに生体肝移植モデル群では、対照群とほぼ同等の象牙質形成能を認めた。【考察】 生体肝移植待機中に生じる象牙質形成の低下は、象牙質形成幹細胞をターゲットとしたビスフォスフォネート製剤の予防投与により、象牙質形成の低下を防ぐことが示唆された。

P2-61

ヒト歯髄幹細胞を用いたマウス抜歯歯への移植法
○筒井 健夫¹ (日歯大 生命歯 薬理)

【目的】ヒト歯髄幹細胞(hDPSCs)は多分化能を有し免疫不全マウスへの皮下移植により象牙質/歯髄様複合体を形成する。象牙質/歯髄様複合体の形成能は、hDPSCsのin vivoにおける組織再現能を示している。本研究の目的は、抜歯後の歯髄腔においてhDPSCsが生存可能な移植法を開発することである。そのためマウス抜歯歯への移植には、hDPSCsの三次元培養構築体を使用した。【方法】三次元培養構築体は細胞シートと細胞塊、およびGFP陽性誘導血管内皮細胞より形成した。hDPSCsを用いた細胞シートは温度応答性培養皿で形成し、細胞塊はhDPSCsをフラスコで培養しTrypsin/EDTA処理後に遠心器により細胞ペレットし形成した。またhDPSCsの血管内皮細胞への誘導には、エレクトロポレーションにてGFPをhDPSCsへ導入後、マトリゲルと誘導培地を使用した。三次元培養構築体は、細胞シートと誘導血管内皮細胞、および細胞塊を積層しセルカルチャーインサートを用いて形成した。免疫不全マウス第一臼歯の抜歯は、臼歯をダイヤモンドポイントで切削後にファイルにて歯髄の除去を行った。三次元培養構築体の移植における評価には免疫染色法を用いた。【結果】GFP導入を行ったhDPSCsは、免疫不全マウスへの皮下移植により象牙質/歯髄様複合体が観察され、組織再現能を有していた。また、GFP陽性の誘導血管内皮細胞では偽血管構造が観察された。三次元構築体のマウス抜歯歯への移植後、同部位においてヒトMitochondria抗体およびGFP抗体陽性像が免疫染色により観察された。【考察】本研究の結果より、hDPSCsを用いた三次元培養構築体の免疫不全マウス抜歯歯への移植では、免疫染色におけるヒトMitochondria抗体陽像よりhDPSCsの生存が観察され、移植法として有用な技術であることが示唆された。

P2-62

培養ヒト歯根膜細胞におけるセメント芽細胞分化機構の解析
○鳥居 大祐¹、筒井 健夫¹、古西 清司² (日歯大 生命歯 薬理、²日歯大 生命歯 微生物)

【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囊由来の幹細胞、あるいは前駆細胞の存在が知られており、骨芽細胞やセメント芽細胞への分化過程には、BMPシグナルの関与が報告されている。今回、多能性幹細胞マーカーを発現する少数細胞を、培養ヒト歯根膜細胞から分取し、セメント芽細胞分化誘導下の遺伝子発現解析および分化関連遺伝子のプロモーターアッセイを行い、BMPシグナルの関与について検証した。【方法】ヒト歯根膜由来正常細胞(Pel)と不死化細胞(Pelt)について、多能性幹細胞マーカーSSEA-3陽性の少数細胞をFACSで分取後、維持培養し、BMP-7刺激によるセメント芽細胞分化をDNAマイクロアレイ法と定量RT-PCRで検証した。また、セメント芽細胞分化マーカーであるCAPおよびCEMP1のプロモーター領域を挿入したレポーターベクターをSSEA-3陽性細胞に導入し、BMP-7刺激下でのレポーター活性を計測した。【結果】DNAマイクロアレイ法と定量RT-PCRの結果、FACSで純化したPelおよびPeltにおいて、BMP-7刺激後1週目でCAPの発現が上昇し、BMP-7刺激後2週目でCEMP1の発現が上昇した。BMP-7刺激下では、骨芽細胞や象牙芽細胞の分化マーカーであるBSP、DSPPおよびDMP1の発現上昇は認められなかった。また、CAPとCEMP1のプロモーターアッセイの結果、BMP-7依存のレポーター活性上昇が認められたが、一方、GCに富むSmad結合配列を含まない部分欠損プロモーターベクターを導入した細胞では、BMP-7依存のレポーター活性は抑制された。【考察】培養ヒト歯根膜細胞由来のSSEA-3陽性細胞にはセメント芽細胞分化能があり、このセメント芽細胞分化過程にはSmadを介したBMPシグナルが関与することが示唆された。(会員外共同研究者：国立成育医療研究セ・成育遺伝 渡辺信之)

P2-63

エムドゲインゲル中の生理活性物質について
○丹羽 堯彦¹、木下 冴子²、村尾 一誠²、大井田 新一郎³、五味 一博¹、山越 康雄³
(¹鶴見大 歯 歯周病、²鶴見大 歯 小児歯科、³鶴見大 歯 分子生化学)

歯周組織治療法の1つとしてエムドゲインゲル(EMD-gel)を用いた再生療法が知られている。EMD-gelはブタエナメルタンパクの粗抽出物であり、この中には分化増殖因子としての生理活性物質が含まれている。【目的】(1)EMD-gelより生理活性物質を分離精製するための抽出および分離法を確立すること、(2)生理活性物質を同定することを目的とした。【方法】EMD-gelを細胞可溶化液またはトリス-尿素(TU)緩衝液中にてタンパク質を抽出後、各種クロマトグラフィーにて分離を試み、それぞれの溶出画分を透析後、凍結乾燥した試料についてマウス筋芽細胞(C2C12細胞)およ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)活性を調べた。ALP活性を上昇させる画分中に含まれる生理活性物質をELISAによって同定し、さらにその画分に含まれる主要タンパク質をSDS-PAGE、Western Blotを行って同定を試みた。【結果と考察】(1)EMD-gelからのタンパク抽出に関しては、抽出後の操作の複雑さ、次の分離ステップへの容易さを考えるとTU緩衝液の使用が最適と思われた。また分離に関しては各種クロマトグラフィーにおいてEMD-gelに含まれるプロピレングリコールアルギネートの混在が一様に見られたが、ヘパリンクロマトグラフィー(HC)による分離法が最適と思われた。(2)HCにより、EMD-gelからの抽出タンパク試料は6つの画分(ヘパリン未吸着(FT-1、FT-2)、50 mM、100 mM、200 mM、1 M NaCl画分)に分離され、PDL細胞に対してALP活性を上昇させる活性物質が、100 mM NaCl溶出画分中に含まれていた。現在この活性物質の同定を試みている。また、C2C12細胞に対してALP活性を上昇させる活性物質についても検討中である。

P2-64

骨欠損に填入したβ-TCP顆粒間隙と血管新生について
○戸田 伊紀¹、安光 秀人¹、大西 吉之¹、芳本 岳¹、上村 守¹、諏訪 文彦¹
(¹大歯大 解剖)

【目的】演者らは、骨増生に用いるβ-TCP顆粒による骨形成や顆粒の吸収時期について検索してきた。今回は、骨形成やこれに先行する血管新生の重要な場となる顆粒間隙を検索するため、実験動物の骨欠損に顆粒を填入し、術後2週における顆粒間隙と血管新生について調査した。【方法】材料には4種類(P、S、M、L)の大きさのβ-TCP顆粒を用いた。成コウライザル3頭の両側下顎臼歯を全身麻酔下で抜去した。抜歯後8週間の治療期間を置き、抜歯部に直径3.5 mm、深さ6 mmの骨欠損を一侧につき3か所左右合計6か所形成した。直ちに一侧の2つの骨欠損にはLとSを、反対側の2つにはPとMの顆粒を填入し、両側それぞれ残りの1つには何も填入せず対照とした。術後2週で実験動物を安楽死させ、両側総頸動脈からアクリル樹脂を注入し、その後10%中性緩衝ホルマリン溶液に浸漬固定した。その後各骨欠損部を分離し、マイクロX線CT装置にて撮影を行った。得られたCT画像の3次元画像解析により顆粒間隙を算定した。さらに、各試料を近遠心中央あるいは水平方向に切断し、軟組織を除去して骨・微細血管鑄型標本とし、走査電顕で観察を行った。なお、本研究は大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行なった。【結果】顆粒間隙の平均値は、Sは約98 μm、Mは約167 μm、Lは約255 μmであった。Pは計測不可能であった。またP、S、M、Lの顆粒間隙に新生血管が認められた。さらにS、M、Lでは、顆粒内のマイクロポアに侵入する新生血管が認められ、顆粒が大きいくほど多く認められた。【考察】骨欠損に顆粒を填入して2週後、顆粒が大きいくほど顆粒間隙は大きくなる傾向を示した。さら顆粒内のマイクロポア数も多くなり、侵入血管も増える傾向を示したことから、顆粒間隙やマイクロポアへの新生血管が後の骨形成や顆粒の吸収に関与すると考えられた。

P2-65

口腔前癌病変診断マーカーとしての糖鎖の可能性
 ○江原 道子¹、中尾 寿奈¹、永山 元彦¹、
 田沼 順一¹ (朝日大 歯 口腔病理)

It is known that histological lectin binding patterns in normal human tissue vary from those in carcinoma. However, it is unclear whether these differences are due to the modification of carbohydrate structures in oral precancerous lesions. To delineate these characters, we performed experiments on samples of oral mucosa surgically removed from normal (N), epithelial dysplasia (ED) and intraepithelial squamous cell carcinoma (CIS) of the tongue. Lectin-peroxidase-diaminobenzidine binding assays using 14 different lectins revealed that PNA, UEA-1 and LCA were negative in N but positive in ED and CIS. In contrast, DBA, GSL-I and WGA were positive in N but negative in ED and CIS. Lectin microarray analysis against these six lectins demonstrated that the relative order of reactivity of DBA, GSL-I and WGA was N>ED>CIS. We found that lectin binding patterns could be classified into three categories showing (1) binding predominantly in the precancerous lesions and carcinoma, (2) equivalent binding in all three tissues, and (3) binding predominantly in normal tissue. The combination of lectin histochemistry and lectin microarray analysis has enabled us to show that carbohydrate chain modification can be indicative of precancerous transformation. Thus, lectins may represent a novel class of disease-associated glycoligand markers.

P2-67

Porphyromonas gingivalis LPS が HSC-3 舌癌細胞の癌進展機能に与える影響
 ○大久保 つや子¹、山崎 純¹
 (福歯大 分子機能制御)

舌癌は、舌の側縁から下面の、特に臼歯部に隣接する側縁部に多く発症する。一方、悪化した口腔環境においては、歯肉縁下ブラーク中に多くが検出される *Porphyromonas gingivalis* (pg) によって局所的に高い濃度の内毒素 LPS が存在する可能性が有る。舌の臼歯部側縁部は通常、臼歯と密に接触しており、LPS に曝される機会は舌の他の部位に比べて多いと推察されることから、舌癌の病態に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、HSC-3 舌癌細胞を用いて、LPS-pg の遊走、接着能等への影響を検討した。加えて、遊走能の変化の機序として非選択的陽イオンチャネル TRPV1 との関連で検討したので報告する。予め LPS-pg を 24 時間処置した HSC-3 細胞の、細胞外マトリックスへの接着を検討したところ、type I コラーゲン、type IV コラーゲン、ラミニン、フィブロネクチンに対して有意に接着細胞数が増加した。また、単層培養シートへの傷つけ後の細胞遊走に対しても、LPS-pg は有意に濃度依存的にこれを促進した。次に、細胞遊走に際しては細胞内 Ca²⁺濃度の変化が重要であるとされることから、Ca²⁺流入経路の候補として TRPV1 チャネルの関与を検討する為に蛍光免疫染色を行ったところ、遊走先端部細胞において TRPV1 が強く発現していた。この発現は、LPS-pg 処置によって増加した。同様に、LPS-pg によって TRPV1 mRNA 発現も増加した。TRPV1 の拮抗薬 AMG9810 を処置したところ、LPS-pg による遊走促進作用は有意に抑制された。以上のことから、LPS-pg は、舌癌の進展に関与する可能性があり、またその際に TRPV1 チャネルが関わっていることが示唆された。

P2-66

口腔癌細胞におけるアポトーシス誘導因子 GRIM19 の発現制御機構
 ○森 一将¹、廣井 美紀²、嶋田 淳¹、
 大森 喜弘² (明海大 歯 口腔顎面外科 1、²明海大 歯 微生物)

【緒言】 GRIM-19 は IFN β およびレチノイン酸 (RA) の共刺激により誘導されるアポトーシス制御因子である。これまでに GRIM-19 の腫瘍細胞に対する作用については明らかにされてきているが、その発現誘導機構については十分には解明されていない。そこで、口腔扁平上皮癌細胞における GRIM-19 の発現制御機構について検討を行った。【結果】 口腔扁平上皮癌細胞 Ca9-22 では IFN β 、RA による共刺激でタンパク質レベルでの GRIM-19 の発現が誘導された。そこで遺伝子発現について検討したところ、恒常的な GRIM-19 の mRNA の発現が認められたが、IFN β 、RA による共刺激での有意な GRIM-19 の mRNA の発現上昇は認められなかった。この結果から、Ca9-22 細胞における IFN β 、RA 共刺激による GRIM-19 のタンパク質レベルでの発現誘導には 1) 転写後の翻訳調節あるいは 2) タンパク質分解系が関与している可能性が示唆された。そこで GRIM19 の発現にタンパク質分解系が関与しているか否かを検討するために、Lactacystin を添加し GRIM-19 の発現を検討したところ、プロテアソームでの分解系は関与していない可能性が示唆された。一方、タンパク質の翻訳促進には PI3K-Akt-mTOR 経路が深く関わっているため、Akt のリン酸化について検討を行ったところ、Akt の恒常的なリン酸化は認められたが IFN β 、RA による共刺激での変化は認められなかった。現在 Akt の下流の mTOR による GRIM-19 の制御の可能性について検討を行っている。

P2-68

頭頸部扁平上皮癌における berberine の Notch-1 のダウンレギュレーション
 ○大越 絵実加¹、梅村 直己²、坂上 宏²
 (明海大 歯 MPL、²明海大 歯 薬理)

【目的】 Notch シグナル伝達系は細胞間シグナル伝達を担う主要なシグナル伝達系のひとつであり、組織によって幹細胞を維持したり、最終分化に至らせたりする機能を担っている。Notch シグナル伝達は、浸潤転移などの進展においては多くのがんで促進的に作用するという現象が知られている。また、berberine は植物に含まれる低分子の含窒素化合物であり、ヒトに経口投与した場合コレステロール低下作用を有することも知られている。我々は、口腔癌のがん幹細胞維持や転移を支配する分子機構を研究する目的で、Notch を標的とした低分子化合物の作用について報告する。【方法】 頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 細胞株 HSC-2 および HSC-3 を用いて berberine に対する増殖抑制効果を MTT 法にて測定した。Notch-1 および NICD (cleaved Notch) の発現はイムノブロット法を用いて解析した。HNSCC 細胞株に対する berberine の細胞周期、細胞内 NAD/NADH 比、GSH/GSSH 比、および糖取り込み能の変化についてフローサイトメーター、蛍光プレートリーダーおよび蛍光顕微鏡を用いて解析を行った。【結果】 HNSCC 細胞株に対して berberine は濃度依存的に増殖抑制効果を示した。HSC-2 および HSC-3 において、berberine (100 μ M, 24H incubation) は Notch-1 発現のダウンレギュレーションを認められたが、アポトーシスの誘導は HSC-2 にも認められた。【考察】 細胞死と Notch-1 発現のダウンレギュレーションには相関は認められなかった。今後、浸潤活性を検討する目的で migration アッセイについて検討を行う。口腔癌において Notch を標的とした特異的な低分子薬剤の開発にも寄与するものと期待される。

P2-69

口腔におけるテロメラーゼ活性と癌進展との相関性に関する研究

○宮崎 裕司¹、菊池 建太郎¹、星野 都²、井上 ハルミ¹、山内 雅司³、草間 薫¹
(¹明海大 歯 病理、²明海大 歯 口腔外科、³明海大 歯 医療情報)

歯周病は、歯周ポケットに各種の歯周病原菌が多数潜在することで引き起こされる炎症性病変であり、歯肉の退縮とともに炎症状態が慢性的に維持される点が特徴的である。癌の発生において慢性炎症は背景要因の一つであると認識されているが、近年、この慢性炎症の一因としてテロメラーゼの関与が報告され、テロメラーゼの活性化が細胞の不死化のみならず慢性炎症をも誘発して発癌誘導することが示唆された。しかしながら、その起点と考えられるテロメラーゼの活性化要因に関しては未知な点が多い。以上の知見を踏まえ、歯周病原菌が歯周病の進行のみならずテロメラーゼ活性を誘導することで慢性的な炎症状態を維持あるいは促進し、ついには口腔癌発生および癌進展促進へと至る可能性も考えられる。本研究では、口腔癌由来細胞株(Ca9-22、HSC-2、-3、-4)をいくつかのサイトカインあるいは歯周病原菌の代謝産物の一つである酪酸(NaB)存在下で培養し、テロメラーゼ活性、細胞増殖・移動への影響を検索した。テロメラーゼ活性への各因子の影響を調べた結果、Ca9-22においてサイトカインおよびNaB刺激でテロメラーゼ活性はわずかながら亢進するが、HSC-4では逆に抑制される傾向にあることが示された。細胞増殖はテロメラーゼ活性と相関性を示し、Ca9-22では刺激による増殖亢進がみられ、一方HSC-4では抑制がみられた。細胞移動能への影響を調べたところ、HSC-3とHSC-4では移動能の亢進が認められた。以上の結果より、サイトカインやNaBはCa9-22型の口腔癌ではテロメラーゼ活性を促進し、細胞増殖を亢進する可能性のあること、一方、HSC-4型の口腔癌においてはテロメラーゼ活性に抑制的であるが、癌の進展を誘導・促進する可能性のあることが示唆された。

P2-71

ヒト正常角化細胞における活性酸素種はp16プロモーター領域のメチル化を介して細胞老化を誘導する

佐々木 三奈^{1,2}、鍛冶屋 浩¹、○永島 勝之^{1,2}、長岡 良礼^{1,2}、永沼 香織²、大城 希美子¹、岡本 富士雄¹、福島 秀文¹、岡部 幸司¹
(¹福歯大 細胞生理、²福歯大 口腔外科)

【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。しかしながら、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)の細胞老化誘導とその機序について検討した。【方法】NHEKとSCCを使用し、H₂O₂にてROS刺激を行った。解析方法にはDNAマイクロアレイ法、SA- β -gal染色、RT-PCR法、Western blotting法及びFACS法を行った。【結果】NHEKに対するROS刺激は、老化マーカーであるSA- β -gal活性化と伴ってがん抑制遺伝子(p21、p16)の発現やサイクリン依存性キナーゼ4(CDK4)の発現の減少、及びG0/G1期に拘束された細胞数の増加を誘導した。一方で、これらのROSによる誘導はSCCにおいては認められなかった。またNHEKに対するROS刺激によりDNAメチル化転移酵素の発現が減少し、p16プロモーター領域のメチル化が抑制された。逆にメチル化阻害剤はROS刺激時と同様にp16プロモーター領域のメチル化の抑制とp16の発現の上昇を誘導した。【結果と考察】NHEKにおけるROS刺激はp16プロモーター領域のメチル化及び細胞周期停止を介して細胞老化を誘導すると考えられる。従って、酸化ストレスに対するエピジェネティックながん抑制遺伝子の発現を伴った細胞老化誘導が発がん防御機構として関与することが示唆された。

P2-70

Foxp3強制発現はCa9-22細胞の増殖能、遊走能及びMMP9の分泌を抑制する

○津田 啓方¹、室伏 貴久¹、鈴木 直人¹
(¹日大 歯 生化)

Foxp3は制御性T細胞の分化や機能に重要な転写因子であるが、近年、様々な正常上皮細胞における発現が確認されており、それぞれの癌細胞ではその発現が抑制されていると報告されている。一方、口腔扁平上皮癌を含むいくつかの癌細胞においては、正常細胞よりも多いFoxp3の産生が確認されており、Foxp3と癌の発生、促進の関係性は議論になっている。そこで我々は、口腔扁平上皮癌におけるFoxp3の役割を調べるために、歯肉扁平上皮癌Ca9-22細胞のFoxp3強制発現系を作成して実験を行った。まず、Foxp3強制発現細胞の細胞増殖能に及ぼす影響を調べたところ、Foxp3強制発現細胞の細胞増殖能は72時間後にコントロール細胞に比較して有意に抑制されていた。また、細胞遊走能を調べたところ、Foxp3強制発現細胞はコントロール細胞と比較して有意に細胞遊走能を抑制した。さらに、培養上清に分泌されたMMP9の量を調べたところ、Foxp3強制発現株はコントロール株に比較して、MMP9の分泌量が抑制されていた。次に、Foxp3タンパク質の細胞内安定性を高めるStabilonタグをFoxp3にタンデムに結合したタンパク質を強制発現する細胞を作成し、上記と同様の実験を行ったところ、同細胞の細胞増殖能、細胞遊走能、MMP9分泌能はFoxp3のみ発現する細胞と同様の結果を得た。以上の事から、Foxp3の強制発現は歯肉癌細胞の悪性化を抑制する可能性が示唆された。

P2-72

腫瘍内浸潤マクロファージは解糖系亢進と共に免疫抑制能を保持する

○梅村 直己¹、坂上 宏¹(明海大 歯 薬理)

【目的】Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)は、担癌宿主において癌組織が出す因子の影響で骨髄の造血幹細胞が影響を受けることによって作られ、末梢の2次リンパ器官においてTCRのニトロ化を介したT細胞の機能抑制をするCD11b陽性Gr-1陽性の細胞群である。他方、腫瘍随伴マクロファージTumor-associated macrophages(TAMs)は、腫瘍内あるいは腫瘍に随伴して存在するマクロファージの総称で、マクロファージの活性化の分類では親腫瘍性で免疫抑制的な性格の強いM2型の活性化を呈するといわれている。最近の総説では、TAMは血中の単球として腫瘍内へ浸潤してマクロファージへと分化する以外に骨髄や2次リンパ器官に存在するMDSCの一部が腫瘍内へ浸潤し、最終的にTAMになる経路も存在するのではないかと報告されており、MDSCsとTAMの関係を明確にする必要がある。そこで腫瘍浸潤マクロファージ(tumor-infiltrating macrophages: TIMs)とMDSCsをマウスの系を用いて詳細に検討した。【方法】MCA38 murine adenocarcinomaマウスの皮下に播種させ、腫瘍塊形成後の腫瘍組織と脾臓から単球/マクロファージのマーカーであるCD11b抗体を用い磁気ビーズ細胞分離法にて腫瘍内浸潤CD11b陽性細胞を分取し、解析した。【結果と考察】MDSCsとTIMs両方のphenotypeはCD11b+CD11c+Gr-1lowIL-4R α +であった、細胞形態はMDSCsは好中球様でありTIMsはマクロファージ様であった。CD8T細胞への抑制能はMDSCsに比べTIMsは非常に高かった。細胞内代謝ではTIMsは解糖系が亢進し尿素回路が活性化していた。これらのことからTIMsとMDSCsの特徴の違いを明らかとした。

P2-73

マウス扁平上皮癌細胞の IFN 耐性における細胞増殖制御遺伝子の DNA メチル化による発現抑制
 ○山口 花¹、廣井 美紀¹、大森 喜弘¹
 (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。昨年の本学会においてその耐性機構の解明の一環として、マウス扁平上皮癌細胞 SCCVII の IFN γ の細胞増殖抑制作用に対する耐性機構について解析を行い、IFN γ の情報伝達経路 (Jak-STAT) は正常であるが、その下流の細胞周期制御因子の発現を制御している Rb タンパク質の IFN γ による脱リン酸化機構に問題があることを報告した。その中で Rb タンパク質の機能制御に関与している IFN 誘導性タンパク質 p200 ファミリー遺伝子の発現が、SCCVII 細胞では損なわれていることを見出した。そこで今回、IFN γ に対する耐性機構に p200 ファミリー遺伝子 (p203, p204, p205) のメチル化による不活性化が関与しているのか検討を行った。【結果】陽性対照として用いた IFN γ 感受性細胞株である B16F1メラノーマ細胞では IFN γ により Rb タンパク質の脱リン酸化 (活性型 Rb) は認められたが、SCCVII 細胞では Rb タンパク質の脱リン酸化は認められなかった。Rb タンパク質の機能制御に IFN によって誘導される p200 ファミリー遺伝子産物の関与が報告されていることから、p200 ファミリー遺伝子発現を検討したところ、SCCVII 細胞では p203, p204, p205 の発現が認められなかった。そこでこの遺伝子発現の不活性化に DNA メチル化が関与しているのか検討するため SCCVII 細胞をメチル化阻害剤で前処理したところ p203, p204, p205 すべてにおいて IFN γ による発現誘導が認められた。このことから p200 ファミリー遺伝子の IFN γ に対する不応答性にメチル化が関与している可能性が示唆された。

P2-75

液状飼料飼育がラット耳下腺の成長に与える影響について
 ○高橋 茂¹、上北 広樹¹、加藤 剛士¹、牛島 夏未¹、井上 貴一郎¹、土門 卓文¹
 (¹北大 院歯 口腔機能解剖)

【目的】液状飼料で飼育されたラット耳下腺は萎縮することが報告されている。しかし、その研究のほとんどが成熟した耳下腺を対象としたものであり、発育途上の耳下腺に与える影響については不明な点が多い。そこで本研究では成長期ラットに液状飼料を投与した場合、耳下腺の成長にどのような影響が及ぶのかについて検討した。【方法】実験には Wistar 系雄性ラットを用いた。生後 3 週で離乳後、対照群の動物には通常の固形飼料、実験群には粉末飼料に水を加えて作製した液状飼料を 1~8 週間与えた。実験期間が終了した動物には 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を投与し、1 時間後に耳下腺を摘出、湿重量を測定した。試料より通法に従って HE 標本を作製し組織学的に検索するとともに画像解析装置を用いて腺房細胞の面積を測定した。腺房細胞の増殖活性を測定するために抗 BrdU 抗体を用いた免疫染色を行い、BrdU 陽性率を算出した。【結果と考察】実験群の耳下腺の湿重量はすべての実験期間において対照群よりも少なかった。組織学的には対照群の腺房細胞は経時的に大きさを増していったが、実験群の腺房細胞の大きさは離乳時からほとんど変わらなかった。腺房細胞の BrdU 陽性率は両群ともに経時的に減少したが、実験群の方が減少傾向が著しく、いずれの実験期間においても対照群より有意に低かった。以上の結果より、液状飼料飼育により耳下腺の成長は阻害され、これには腺房細胞の大きさの増加の抑制と増殖活性の抑制が関与していることが示唆された。

P2-74

Mucosa-associated lymphoid tissue 1 による口腔癌浸潤の抑制
 ○千葉 忠成¹、美原 希美¹、須藤 遥¹、今井 一志¹ (¹日歯大 生命歯 生化)

Mucosa-associated lymphoid tissue 1 (MALT1) is expressed in normal epithelium of the oral cavity, and its expression is inactivated in the carcinomas with worse prognosis. However, effect of loss of MALT1 expression on carcinoma progression is largely unknown. In the present study, we examined the role in carcinoma cell invasion using in vitro and mouse models. Carcinoma cells stably expressing wild-type MALT1 (wtMALT1) reduced the invasion of basement membrane matrices compared to those transfected with vector alone and lost invasion of collagen-gel, whereas transfectants expressing dominant-negative MALT1 (dnMALT1) showed aggressive invasion of these matrices. Although wtMALT1 transfectants showed no secretion of gelatinase B, knock-down of MALT1 by short interference RNA induced the secretion. The wtMALT1 transfectants implanted in the mouse tongue did not develop tumors but dnMALT1 rapidly grew tumors and diffusely invaded the surrounding tissue that associated with loss of epithelial marker expression at the invasive front. These results demonstrate that MALT1 strongly suppresses oral carcinoma development and the invasion, and suggest the role as a tumor suppressor.

P2-76

唾液蛋白質ヒスタチンによる細胞増殖とユビキチン化促進作用
 ○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】唾液蛋白質ヒスタチンは、歯周病原菌などに対して抗菌作用を示す生理活性物質である。これまでに我々は、ヒスタチンが熱ショック蛋白質 HSC70 と結合し、これに負の細胞周期制御因子 p27^{Kip1} が結合することにより、ヒト歯肉繊維芽細胞 (HGFs) の増殖・生存は促進されることを明らかにした。特に、ヒスタチンは HGFs の G1/S 期移行に関与する。一般的に、G1/S 期移行時には細胞周期制御因子のユビキチン/プロテアソーム系による分解が行われている。本研究では、ヒスタチンの作用とユビキチン化との関係性を検討した。【方法】HSC70、p27^{Kip1}、ユビキチンとヒスタチン 3 或いはその変異体 M(5-8) 発現プラスミドを HEK293 に導入し、プロテアソーム阻害剤 MG132 で処理後、細胞抽出液を調製した。これを用い、HSC70 を免疫沈降後、抗ユビキチン抗体でウェスタンブロッティングを行った。【結果】HSC70 のユビキチン化は、ヒスタチン 3 の発現量に依存して促進された。一方、HSC70 と結合しない M(5-8) を発現させた場合、HSC70 のユビキチン化は促進されなかった。【考察】以前に、上記実験系で p27^{Kip1} のユビキチン化について解析したところ、ヒスタチンの発現量に依存して促進されることが示唆された。今回、HSC70 もヒスタチン 3 存在下でユビキチン化促進が認められたことから、ヒスタチン 3/HSC70 複合体は p27^{Kip1} と強固に結合し、この 3 因子複合体中の少なくとも p27^{Kip1} と HSC70 はユビキチン化が促進され、プロテアソームによって分解後、G1/S 期移行は促進されることが考えられる。以上から、ヒスタチンは口腔内細胞に対して細胞周期制御関連因子であることが示唆される。現在、更に詳細な検討を行っている。

P2-77

小児および成人の唾液メタボローム解析：特に、プロリン/グリシン比の変動に注目して
 ○田中 庄二¹、秋田 紗世子¹、谷口 潔¹、片山 直¹、荻原 孝²、小口 寛子²、渡部 茂²、坂上 宏³、杉本 昌弘⁴ (明海大 歯 総合臨床歯科、²明海大 歯 口腔小児、³明海大 歯 薬理、⁴慶應大 先端生命科学研)

【目的】我々は、アミノ酸分析機を駆使して、部活動、絶食、ストレス、加齢に伴う唾液アミノ酸の変動を調べ、特に、高齢者では、グリシン濃度が性差に因らず、ブチル酸のレベルまで急上昇することを報告した。昨年の本学会においても、様々な年齢と異なる歯周病の進行度を有する患者唾液の網羅的なメタボローム解析を実施した。その結果、プロリン(Pro)とグリシン(Gly)比が一定の比率(0.63:1)を保ちながら、老化の進行とともに増加することが判明し、加齢に伴いコラーゲン代謝が変動する可能性が示唆された。しかしながら、小児における唾液のメタボローム解析の報告例は少ない。そこで今回、成人検者を対照として用いて、小児における全体的な代謝物および Gly/Pro 比について検討した。【方法】学内倫理委員会のガイドラインに従い、新たに小児(年齢：5~11歳、男児11名、女児3名)及び100人の成人及び高齢者(年齢：27~98歳、男性23名、女性77名)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】ヒートマップ上でのプロファイルでは、小児患者では全体的に均一なプロファイルになっており、成人では濃度が高く、比較的分散したプロファイルになった。Pro/Gly比は、成人(Pro/Gly=0.79, R=0.8328, P<0.0001)と同様に、小児(Pro/Gly=0.71, R=0.9451, P<0.0001)で一定値を示した。小児と成人を合計した場合、Pro/Gly=0.78になった。全代謝物質でR>0.8以上をつないだ関連ネットワークでは、Gly-Proはやはり他のネットワークに含まれず単独で存在しているの、他と独立した動きになっていると考えられる。Pro/Gly比は、口腔内または唾液腺状態を反映する指標になる可能性がある。

P2-79

唾液腺における分泌タンパク質の選別輸送機構の解析
 ○吉垣 純子¹、横山 愛¹、加藤 治¹
 (日大 松戸歯 生理)

唾液腺は外分泌的に口腔内へ唾液タンパク質を供給するが、内分泌的に血液にもタンパク質を分泌すると言われている。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。しかし、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は明らかになっていない。我々は、これまでにリポータータンパク質 HaloTag を用いて選別輸送機構について解析を行った。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)は、分泌顆粒へ輸送され刺激依存的に分泌された。しかし、刺激非依存的な分泌もみられたことから、一部は構成性分泌経路へ輸送されていることが示唆されていた。今回、新たに唾液タンパク質である Parotid secretory protein (PSP)およびシスタチン D (Cst5)の全長遺伝子と HaloTag の融合遺伝子(PspH, Cst5H)を作成し、耳下腺腺房細胞の初代培養細胞に発現させた。2つの分泌経路(構成性と調節性)への輸送効率として、βアドレナリン受容体刺激非存在下および存在下での分泌量を測定した。その結果、どちらの融合タンパク質もβアドレナリン受容体刺激により分泌増加がみられたが、Cst5HはssHaloと比較すると非刺激時の分泌量が抑えられ、内在性アミラーゼと同程度であった。このことから、シスタチンDは分泌顆粒への輸送を促進する構造を持つ可能性が示唆された。

P2-78

NOD マウス耳下腺腺房細胞における細胞内輸送タンパク質 mRNA の発現変化
 ○梨田 智子¹、佐藤 律子²、下村-黒木 淳子³
 (日歯大 新潟生命歯 生化、²日歯大 新潟短大、³日歯大 新潟生命歯 小児歯科)

Objective: We previously analyzed mRNA expression in parotid glands from non-obese diabetic (NOD) mice which are used as a model for Sjogren's syndrome, but parotid glands also include cells other than acinar cells. It is known that the localization of some proteins in parotid acinar cells is changed by the onset of the disease, and we thought that the expression of proteins related to the intracellular transport system may be different in NOD mice. Therefore, we prepared acinar cells from parotid glands and analyzed mRNA expression to elucidate the difference of protein expression relating to the intracellular transport system in parotid acinar cells by the onset of the disease.

Methods: Parotid acinar cells were prepared from parotid glands of female NOD (NOD/ShiJcl) mice with or without the onset of diabetes, and control (C57BL/6J) mice at the same weekly age (n=3), by enzymatic digestion. Total RNA was extracted from the parotid acinar cells using a RNeasy Plus Mini kit (Qiagen). Gene expression analysis was performed with a SurePrint G3 Mouse GE 8 x 60K Microarray (Agilent Tec.) by Hokkaido System Science. Data was analyzed by GenSpring software (Agilent Tec.) and by Subio Platform (Subio Inc.).

Results: The expression of 1898 mRNAs encoding proteins related to the intracellular transport system was demonstrated. The number of 2-fold up-regulated mRNAs was 33, and that of 2-fold down-regulated mRNAs was 281 in diabetic NOD mice. Expression of mRNA in non-diabetic NOD mice showed almost the same tendencies as diabetic NOD mice with some differences.

Conclusion: The localization change of some proteins in acinar cells of diabetic NOD mice may be attributed to the down-regulation of some intracellular transport proteins. Further examination would be required to prove it.

P2-80

耳下腺腺房細胞における Rab33A の局在と働き
 ○今井 あかね^{1,4}、辻村 麻衣子^{2,3}、佐藤 律子^{1,4}、吉江 紀夫² (日歯大 新潟短大、²日歯大 新潟生命歯 第二解剖、³日歯大 新潟生命歯 先端研究七、⁴日歯大 新潟生命歯 生化)

我々はこれまでラット耳下腺腺房細胞におけるいろいろな Rab タンパク質の機能を明らかにし、アミラーゼが分泌されるまでの細胞内輸送にどのように関わっているかを調べてきた。近年、Rab33A がラット副腎髄質クロマフィン細胞由来の PC12 細胞において神経ペプチドの分泌に関わっていると報告された。そこで、今回は耳下腺腺房細胞中の Rab33A の局在を明らかにし、刺激性アミラーゼ分泌時の膜輸送にかかわっているかを調べた。【方法と結果】10週令 Wistar 系雄性ラットの耳下腺腺房細胞よりホモジネートおよび細胞膜画分を調製し、Western Blotting を行った。その結果、Rab33A および B が耳下腺腺房細胞に認められた。また GST 融合 Rab33A TN および Rab33A QL リコンビナントタンパク質をストレプトリジン O (SLO)処理した膜透過性腺房細胞に導入し、イソプロテロール (IPR)刺激時のアミラーゼ分泌を測定したところ約 20~30%の抑制がみられた。さらに抗 Rab33A 抗体を用いても同様のアミラーゼ分泌抑制が観察された。さらに抗 Rab33A 抗体および抗 GM130 抗体を用いて免疫組織化学を行った。GM130 はゴルジ装置のマーカーといわれているが、Rab33A と共局在しているのが確認された。【考察】アミラーゼの分泌抑制が 2 割程度にとどまっていることおよび Rab33A がゴルジ装置に観察されたことより、Rab27 のように開口分泌に関わっているというより、もっと上流での膜輸送、例えば分泌顆粒の形成などに働いている可能性が示唆された。本研究は東北大学大学院・生命科学研究所の福田光則 博士との共同研究によるものである。また、科学研究費補助金 (24592820) により行われた。

P2-81

唾液分泌刺激薬による顎下腺のCa²⁺応答の intravital イメージングと唾液分泌の同時測定
○根津 顕弘¹、森田 貴雄¹、東城 庸介²、
谷村 明彦¹
(¹北医大 歯 薬理、²北医大 歯 生物物理)

【目的】唾液腺の水・電解質分泌は、腺房細胞のCa²⁺応答によって調節されている。唾液分泌刺激薬の投与による腺房細胞のCa²⁺応答は、唾液腺への直接作用に加え、神経節の興奮や血液中の薬物代謝酵素などの関与が考えられる。本研究では、薬物投与による細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)変化と唾液分泌との関係を明らかにするため、生きた動物における顎下腺のCa²⁺応答の intravital イメージングと唾液分泌の同時測定を試みた。【方法】顎下腺開口部から逆行性にウイルスベクターを注入し、非侵襲的に腺房細胞に蛍光Ca²⁺センサーを発現させた。麻酔したラットの顎下腺を露出し、薬物の持続的な静脈投与による腺全体の蛍光比変化をマクロズーム蛍光顕微鏡により測定した。唾液分泌は、顎下腺開口部にカテーテルを留置し、そこに挿入した微小圧力センサーにより測定した。【結果】アセチルコリン(ACh)、アドレナリン(AD)、サブスタンスP(SP)およびイソプレナリン(ISO)を持続投与すると、ISOを除く全ての薬物で顎下腺全体に[Ca²⁺]_i上昇が観察された。AChは腺全体で同期したCa²⁺オシレーションをしばしば起こし、一方、ADやSPではこのオシレーションは観察されなかった。AChによる顎下腺のCa²⁺応答と唾液分泌を同時測定したところ、投与速度に依存してCa²⁺応答と分泌が増大し、最大の[Ca²⁺]_i上昇を起こすACh濃度で約600 nl/secの分泌速度に達した。低容量のAChによる分泌は[Ca²⁺]_i上昇よりも遅れて起こり、この時間差はACh投与量の上昇に従って消失した。AChによるCa²⁺応答と分泌は、神経節遮断薬では抑制されず、コリンエステラーゼ阻害薬により増大した。【結論】ACh、ADおよびSP刺激は顎下腺全体にCa²⁺応答を起こし、さらにCa²⁺応答の時間・空間的变化はAChと他の薬物で大きく異なることを見出した。また低容量のACh刺激ではCa²⁺応答と唾液分泌に時間差があり、その作用に神経節の関与は少ないことが明らかとなった。

P2-83

雄性マウス顎下腺における顆粒性導管の出現とPACAPレセプターの局在変化について
○野中 直子¹、中村 雅典¹
(¹昭大 歯 口腔解剖)

【目的】これまでの我々の研究で、雄性マウス唾液腺における神経ペプチドであるPituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP)のレセプター(PAC1R)の局在について解析した結果、耳下腺と舌下腺では線条部導管に強い陽性反応が認められるのに対し、顎下腺では齶歯類に特徴的な構造を示す顆粒性導管内に存在するPillar cellに強い局在が認められた。顆粒性導管は雄性に多く存在する導管で、線条部導管由来の構造であると考えられている。そこで、本研究では顆粒性導管の出現時期ならびに顆粒性導管の出現に伴うPAC1Rの局在の変化について解析を行った。【材料と方法】生後1日齢から生後8週齢の雄性C57BL/6マウスの顎下腺を摘出し、4%パラフォルムアルデヒド固定後、凍結標本を作製し、一部はH-E染色、他は抗PAC1R抗体を用いて免疫組織染色を行った。【結果】明瞭な顆粒性導管の出現は、生後4週齢で認められた。PAC1Rは生後2週齢においては、線条部導管に反応が認められた。生後3週齢では、明瞭な顆粒性導管としては認められないが、その導管内に存在するPillar cell様細胞に強い反応が認められようになった。生後4週齢では、これまでの結果と同様に顆粒性導管内のPillar cellに強い反応が認められた。【考察】明瞭な顆粒性導管は生後4週齢から出現し、その出現はマウスの摂食行動の変化に連動する可能性があると考えられる。また、線条部導管から顆粒性導管への移行時にPillar cellが出現してくることは、顆粒性導管誘導への関与や顆粒性導管の機能に密接に関連していることが示唆された。

P2-82

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いたCa²⁺バイオセンサーの長期発現と唾液腺細胞の長時間Ca²⁺イメージング
○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】ウイルスベクターはリポフェクション等比べて効率が低い遺伝子導入が可能である。特にアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターでは、遺伝子がゲノムに組み込まれるので、外来遺伝子を長期間発現させる事ができる。本研究は細胞分裂やアポトーシスの過程におけるCa²⁺動態を解析するために、AAVベクターを使って高感度Ca²⁺バイオセンサー(YC-Nano50)を唾液腺細胞株に発現させ、恒常発現細胞を作製して細胞の動態とCa²⁺応答の同時解析を行った。【方法】AAV5およびAAVDJベクターを用いて、顎下腺由来A5細胞および耳下腺由来HSY-EA1細胞にYC-Nano50を発現させ、共焦点レーザー顕微鏡で発現効率を解析した。また蛍光を指標にして恒常発現細胞を作製し、AQUACOSMOSイメージングシステムを用いて、37℃、5%CO₂、血清等を含む培養条件下で10時間以上のCa²⁺動態を解析した。【結果と考察】A5細胞およびHSY-EA1細胞にAAV5またはAAVDJ-YC-Nano50を導入し、その発現効率をアデノウイルスベクター(Ad-YC-Nano50)と比較した。AAVDJを10¹⁰ copy 導入すると80%の細胞で蛍光が観察されたのに対し、AAV5 10¹⁰ copyの導入では20~30%の細胞しか蛍光が見られなかった。AAVDJ 10¹⁰ copyとアデノウイルスベクター 10⁷ copy 導入時における発現細胞数はほぼ同等であった。次に、AAVDJを使ってYC-Nano50恒常発現細胞を作製し、培養下のCa²⁺応答を観察したところ、刺激を与えなくても細胞内Ca²⁺濃度の上昇と下降を繰り返すオシレーション様の反応が観察された。この反応は容量性Ca²⁺流入を阻害するLa³⁺存在下でも見られた。さらに、細胞分裂時において持続的なCa²⁺上昇反応も観察された。本研究により、簡便に恒常発現細胞を作製し、機能解析に利用できることが示された。この手法をCa²⁺以外のセンサーやシグナル分子等にも応用することが可能である。

P2-84

萎縮および損傷顎下腺におけるbFGFの効果
○菊池 憲一郎¹、八重垣 健²、筒井 健夫³、
那須 優則⁴、黒木 淳也⁵、池田 利恵⁵、
高田 清美¹、堀江 哲郎¹(¹日歯大 生命歯 解剖、
²日歯大 生命歯 衛生、³日歯大 生命歯 薬理、
⁴日歯大 生命歯 共同研、⁵日歯大 東京短大 歯衛生)

【実験背景と目的】欠損組織修復や創傷治癒においてbFGFは線維芽細胞のみならず、広範囲な細胞の増殖を刺激することが報告され、顎下腺に対しても有用であると考えられる。そこで今回、萎縮および損傷させた顎下腺モデルを作製し、回復過程におけるbFGFの効果を検討した。

【方法】1) 実験系の作製：(1)萎縮モデルは、ラット顎下腺主導管を2週間結紮後、解除し、萎縮顎下腺を作製した。実験群はbFGFを浸潤させた生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを顎下腺の腺体と被膜の間に挿入し、無投与群と比較検討した。(2)損傷モデルは、マウス顎下腺中央部を生検パンチで穿孔させ、創傷部に、実験群はbFGF、対照群は生食水を浸潤させた生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを埋入し、比較検討した。2) 観察方法：投与後、経日的に顎下腺腺体を摘出し、H-E、PAS、AB、MT、抗PCNA免疫染色による光顕と電顕による組織化学的および微細構造的な検討を行った。

【結果】1) 萎縮モデルの顎下腺重量は、bFGF投与群では増加傾向を示したが、無投与群では変化がみられなかった。bFGF投与群は、結紮解除後21日目で成熟した様相の腺房が多数出現したが、無投与群では導管様構造物が主体をなしていた。抗PCNA抗体による免疫染色では、bFGF投与群の結紮解除後14日目で導管様構造物、未熟な腺房の一部に陽性核が広範囲に認められた。2) 損傷顎下腺：bFGF投与群は損傷7日目で損傷部位に腺房様、導管様構造物が認められ、損傷28日目では成熟した腺房がPAS、AB染色で陽性を呈した。生食水投与群は14日目のPAS、AB染色は陰性であり、MT染色の所見から広範囲にわたる線維性組織が多く観察された。

【考察】bFGFは萎縮あるいは損傷した顎下腺組織の再生、分化、回復力を高め、臨床応用への可能性が示唆された。

P2-85

オレキシンはラット顎下唾液腺を支配する上唾液核ニューロンを興奮させる

○美藤 純弘¹、佐藤 匡²、藤田 雅子¹、小橋 基¹、市川 博之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)

【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。これま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。本研究はその興奮メカニズムを分析した。【方法】Wistar系成熟ラットの鼓索-舌神経にFast Blueを注入することにより逆行性標識したSSNニューロンにおいてオレキシン受容体を免疫染色した。Wistar系幼若ラットで同様にSSNニューロンを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。電位依存性Naチャンネルをブロックするテトロドトキシン存在下で、SSNニューロンはオレキシンにより内向き電流を誘発し、その作用はKコンダクタンスの減少が関与していることが示唆された。また微小興奮性シナプス後電流の発生頻度が上昇したことからシナプス前性に興奮させることも示唆された。これらの興奮作用はオレキシンBよりもオレキシンAの方が強かった。筋弛緩薬で非動化したラットで、実際にオレキシンAをSSNに微量注入することにより顎下腺分泌に対する影響を考察した。

P2-86

ラット唾液腺のTRPチャンネルの出現に関する発生学的研究

○藤岡 元也¹、山崎 貴希¹、山本 仁¹
(¹東歯大 組織・発生)

【目的】Transient receptor potential (TRP)チャンネルは多機能性のイオンチャンネルとして知られている。唾液腺ではCaイオンの制御に関して重要な働きを担っているTRPC1のほか、温度感受性チャンネルであるTRPM8 (M8)、TRPA1 (A1)、TRPV3 (V3)、TRPV4 (V4)の発現も報告されている。しかしこれらの報告は成獣を対象としたものであり、上記チャンネルが発生のどの段階から出現するかについては不明である。そこで本研究はM8、A1、V3、V4に着目し、唾液腺の発生過程における出現状況について検索した。【方法】深麻酔下で屠殺した胎生20日、生後0日、生後5日および成獣のWistarラットから顎下腺・舌下腺を摘出した。4%パラホルムアルデヒド溶液で24時間浸漬固定を施し、通法に従ってパラフィンに包埋後、5μmの薄切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン重染色(HE)と抗M8、A1、V3、V4抗体による免疫組織化学を行った。【結果と考察】胎生20日の顎下腺・舌下腺はすでに導管と腺房が観察されていたが、生後0日以降導管の分岐が増え腺房の数が増加し、生後5日ではほぼ成獣と同じ像を呈した。抗M8、V3抗体に対しては胎生20日から陽性反応が観察され、その後経時的に反応が強くなった。抗A1、V4抗体は生後20日では陽性反応は観察されなかったが、生後0日から陽性反応が観察され始め、生後5日で強くなり、成獣では特に導管で強い陽性反応が観察された。以上の結果から、ラット唾液腺に出現するTRPレセプターは種類によって出現開始時期が異なり、この結果は唾液腺における各レセプターの働きに違いがあることを示すものと推察された。

P2-87

マウス胎仔唾液腺の発生過程におけるHippoシグナル伝達経路の機能解析

○北川 道憲¹、廣野 力¹、杉田 誠¹
(¹广大 院医歯薬保 口腔生理)

様々な生体組織に見られる管腔構造やその大きさはHippoシグナル伝達経路を介した細胞増殖の調節によって制御される事が近年報告されている。唾液腺においても同シグナル伝達因子の発現が確認されており、その管腔構造形成・維持への関与が示唆されるが、詳細な分子機構は明らかでない。本研究は、管腔構造の形成過程を経時観察することが可能であるマウス胎仔由来の唾液腺組織を用いて、唾液腺におけるHippoシグナル伝達因子の分子機能を解析し、唾液腺の管腔構造形成・維持における同経路の役割を解明する事を目的としている。マウス胎仔・成体唾液腺組織におけるHippoシグナル伝達因子の発現をRT-PCR法、免疫染色法により解析したところ、伝達経路下流の転写共役因子YAP/TAZは発現が確認されたが、同共役因子が結合する核内転写因子Tead1/2/3/4については遺伝子間でその発現に差異が見られた。また、YAPタンパク質においては、胎仔・成体唾液腺組織での細胞内局在に差異が見られた。Hippoシグナル伝達因子の分子機能抑制とその唾液腺組織における影響を検討するために、転写因子Teadと共役因子YAP/TAZ間の相互作用阻害化合物を培養条件下における胎仔唾液腺へ添加したところ、唾液腺組織の増殖抑制が観察された。さらに、転写共役因子YAP/TAZを標的として、これらのタンパク質翻訳を抑制するモルフォリノ核酸を同培養条件下において添加したところ、唾液腺組織の成長が経時的に抑制され、これらの因子の機能が唾液腺組織の増殖において重要な役割を持つことを示唆するデータが得られた。以上の結果から、胎児期の唾液腺組織増殖において同経路が重要な役割を果たしていると考えられる。

P2-88

胎生12日と13日の顎下腺原基における細胞成長因子の応答性の違いについて

○赤井 崇浩¹、水越 堅詞²、林 徹²、式守 道夫¹、柏俣 正典²、小山 典子²
(¹朝日大 歯 口外、²朝日大 歯 歯科薬理)

胎仔マウス顎下腺の形態形成は胎生11日目に口腔底上皮が陥入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が入り、上皮組織の分岐が生じる。胎生13日以降になると、それぞれの上皮の伸長と先端の分岐が繰り返されることでブドウの房のような唾液腺のダクトシステムの基本構造が構築する。このような唾液腺形態形成過程では上皮組織と間葉組織間の情報のやり取り(上皮-間葉相互作用)が重要な役割を演じていることが知られている。現在までに我々は胎生13日目の顎下腺原基を血清を含まない培養液中で培養しても分岐形態形成は継続するが、胎生12日目の顎下腺原基では分岐形態形成がほとんど進行しないことを見出している。また、胎生12日と胎生13日の顎下腺原基から上皮と間葉を分離して取り出し、胎生12日の顎下腺上皮と胎生13日の顎下腺間葉を組み合わせると分岐形成が起こることを確認した。しかしながら逆の組み合わせである胎生13日の顎下腺上皮と胎生12日の顎下腺間葉を組み合わせると培養した場合分岐形成がほとんど起こらないことを確認している。したがって胎生12と13日目の顎下腺の間葉で生じるなんらかの変化が分岐形態形成の着手と継続に影響を及ぼしていると考えられた。本研究では胎生12日目と13日目の顎下腺原基において細胞成長因子に対する応答性に違いが見られるのか否かを形態形成現象とシグナル伝達経路のレベルで観察することを目的とする。特に上皮成長因子(EGF)と線維芽細胞成長因子(FGF)で惹起される形態と活性化するシグナル伝達経路の違いについて検討を行った。

P2-89

唾液腺再生モデルにおける水チャネル AQP5 の発現

○姚 陳娟¹、赤松 徹也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後、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-再生モデルにおける水チャネル AQP5 の発現レベルについて検討した。

【方法】7 週齢雌雄の 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 1-3 週間後(L1d, L1-L3)、および結紮 1 週間後に再開放し、更に 1-2 週間後(L1O1, L1O2)に各々顎下腺を摘出し、各種解析に用いた。

【結果・考察】L1d では唾液の貯留を伴う顎下腺の腫脹が認められ、腺重量も増加したが、L1-L3 では顎下腺の萎縮と腺重量の減少を確認した。この変化は L1O1 および L1O2 も同様であったが、各々の対照群(CL)では認められなかった。各顎下腺における AQP5 の発現をウェスタンブロット解析したところ、L1d では CL と同じレベルであったが、L1-L3 では CL に比べ明らかに減少した。一方、再開放により L1O2 では腺重量の増加と共に、完全ではないが、AQP5 の発現レベルの回復が認められた。免疫蛍光染色の結果、L1-L3 では、腺房部に局在する AQP5 の減少を確認したのに対して、L1O1 と L1O2 では AQP5 局在の回復傾向が認められた。AQP5 の発現レベルと局在は、唾液腺の再生/回復の程度を把握する上で有用であると考えられた。

P2-90

ユビキチンリガーゼによる AQP5 のユビキチン化亢進とダウンレギュレーション

○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)

我々は唾液腺細胞においてアクアポリン (AQP) 5 が Ca²⁺シグナル依存のかつ一過的に短鎖ユビキチン (Ub) 化されることを見出している。この翻訳後修飾は AQP5 の細胞内への取り込みや分解に寄与することが想定されるが、その役割は明確にされていない。当研究で主に使用しているヒト唾液腺 HSG 細胞では、構造的に AQP5 の細胞内への取り込みが起ることに加え、AQP5 の Ub 化量が少ないことなどが、実験的な障壁と考えられた。そこで本研究では、AQP5 のユビキチンリガーゼ (E3) の同定を行い、E3 の共発現により AQP5 の Ub 化量を増加させたうえで、AQP5 の短鎖 Ub 化の役割を探ることとした。イオンチャネルなどの膜タンパク質の Ub 化に実績の多い HECT 型 E3 を中心に、複数種の E3 をマウス唾液腺から cDNA クローニング後、AQP5 安定発現 HSG 細胞に一過的に発現させた。試行した 7 種の HECT 型 E3 のうち、Smurf1 は構造的に、Nedd4-2 は Ca²⁺シグナル依存的に AQP5 の短鎖 Ub 化を促進した。HSG 細胞に AQP5 と Smurf1 を同時発現させると、対照と比べて AQP5 量は著しく減少した。また、AQP5 と Nedd4-2 を同時発現させ、Ca²⁺シグナル惹起すると、細胞膜 AQP5 量および総 AQP5 量は減少する傾向がみられた。これらの事から HSG 細胞において AQP5 の短鎖 Ub 化は AQP5 量を負に調節することが示唆された。

P2-91

バイオマーカー応用を目的とした唾液からの RNA 抽出法の評価

○佐藤 律子^{1,2}、梨田 智子²、今井 あかね^{1,2}
(¹日歯大 新潟短大 歯科衛生、²日歯大 新潟生命歯 生化)

【目的】我々は、以前唾液から RNA 抽出キットを用いて mRNA を検出し、唾液中 RNA がバイオマーカー検出のための有用な生体材料になることを報告した(日本歯科衛生学会 2011; 6:163)。また、micro RNA 抽出キットを用いて micro RNA を抽出し cDNA マイクロアレイ分析を行った(未発表)。唾液中の RNA は、エキソソームに存在しており、唾液からエキソソームを抽出する方法が近年確立されている。そこで唾液中のエキソソームを抽出した後、分離精製して得られた RNA と、これまで使用してきた方法により得られた唾液 RNA との質および簡便性を比較し、有用性を評価した。【対象および方法】健康者 10 名の唾液を採取した後、遠心分離により細胞成分を除いた。RNA 抽出は a~c の方法を用いた。a. Total Exosome Isolation Kit (invitrogen) を用いた方法。b. RNA Protect Saliva Reagent (QIAGEN) を加えて RNA の安定化を行った後 RNeasy Micro Kit (QIAGEN) を用いた方法。c. QIAzol Lysis Reagent および RNeasy Mini spin column (QIAGEN) を用いた方法。すべての方法で DNase 処理を行い DNA の汚染を防御した。NanoDrop 1000 (Spectrophotometer Thermo Scientific) により RNA を定量し、純度を評価した。得られた RNA について house-keeping genes などの発現を RT-PCR により比較した。【結果および考察】エキソソーム RNA の収量は、個人による差が少なく安定した結果が得られた。しかし RT-PCR では、a~c いずれの方法で得られた RNA とも house-keeping genes の発現に差が認められなかった。このことから b および c の方法で抽出した唾液中 RNA はエキソソームに由来し、唾液腺を反映していると考えられた。【結論】唾液中エキソソームに存在する RNA は、a ばかりでなく b および c の方法でも抽出されることがわかった。これらの方法は a の方法より簡便かつ低コストであることから多数の試料処理において応用可能であると考えられる。

P2-92

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³ (¹神歯大 院 放射線応用科学、²神歯大 院 う蝕制御修復、³神歯大 院 硬組織分子細胞生物)

【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。既に刺激時唾液中の抗酸化力がストレスにより弱まることにより、唾液タンパク質が強く酸化される可能性を報告したが、今回はボランティア集団を知人の群と他人の群に分け、唾液提供者のストレスを評価する検査法を検証したい。【対象と方法】本学関係者を中心にボランティアを募り、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 日目に計 7 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。保管後の唾液を遠心分離し、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由来 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。【結果及び考察】知人の群では、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。一方他人の群においては、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、刺激時唾液はストレスに応じて酸化力が高まり、唾液タンパク質を強く酸化したと推測された。

P2-93

マイクロCTによる舌筋の3次元構

○青柳 秀一¹、岩崎 信一²、浅見 知市郎³

(¹日歯大 新潟生命歯 先端研、²日歯大 新潟生命歯 生理、³群馬パース 検査技術)

【目的】マイクロCTを使用することで、軟組織を3D的に観察する方法が有効である事を筆者らは既に公表してきた。しかしながら得られた3D情報の画像処理は、容易に得られる断層画像や全体の3D表示などに止まっている。動画的画像からは有力な情報が得られるにもかかわらず、紙面上では効果的な表示はなかった。一方、急速な進化をしている3D画像処理技術を応用すれば、組織の構造単位のレンダリングは容易であると考えられたが、報告されているものは発生段階などの器官のみであった。今回はマウス舌筋とカエル舌筋を例に、通常の研究室レベルで解析可能な画像処理ソフトを用いて筋肉の分離表示を試みたので報告する。【方法】マウスとカエルの舌を含む組織を一週間4%中性ホルマリンで固定、その後一部はオスミウム酸で24時間固定後通法に従いパラフィン包埋をした。残りの組織はPlank-Rychlo液で12時間脱灰後通法に従い凍結乾燥した。試料はマイクロCT(SMX-100CT;島津)で撮影後、画像処理ソフト(FCS-VOL:ラットク社)で3D分離画像を作成した。【結果】1. マウス舌尖部の処理画像から内舌筋が特有な3Dイメージとして表示する事ができた。2. マウス舌根部の処理画像から舌骨を含め内舌筋や外舌筋の複雑な関係を3Dイメージとして分離表示する事ができた。3. カエルの舌筋はマウスに比較して画像上で筋肉の分離が容易に表示する事ができた。【考察】舌筋構造は既知と考えられるが、これを3D分離イメージにすることで、複雑な舌筋の3次元形成過程や系統発生を研究する為の重要な視点が得られると考えられた。

P2-95

成長因子と irisin との関連

○崎山 浩司¹、坂東 康彦¹、川邊 好弘²、

坂下 英^{1,3}、天野 修¹

(¹明海大 歯 解剖、²明海大 歯 オーラルリハビリ、³明海大 歯 口腔顎顔面外科 2)

【目的】骨格筋から産生されるホルモンである irisin は、白色脂肪に対して働きかけ、褐色細胞と同じようなカロリー燃焼効果を持たせてくれることがわかった。脂肪には白色脂肪と褐色脂肪があり、一般的に肥った場合にみられる脂肪が白色脂肪であるのに対し、褐色脂肪は体が寒さを感じた時に熱産生を起こし、低体温に対する防御作用として働くと言われており、特に新生児などにおいては、生命を守るために働くと考えられている。そこで、筋の成長促進に影響を与えている成長ホルモンである IGF-1 を遺伝子導入した筋細胞(C2C12細胞)と、正常なC2C12細胞とを比較し、褐色脂肪と同じような働きを持つといわれている irisin の分泌にどのような影響を与えているのかを解明することを目的とした。【方法】実験材料は、マウス骨格筋筋芽細胞株であるC2C12細胞株を使用した。エレクトロポレーション法によりIGF-1をC2C12細胞に導入後、 1.0×10^5 個/ウェル(ウェル径25mm)の密度で播種した。播種後12時間後から48時間後まで12時間ごとに観察した。irisinは膜タンパク質Fndc5が切断されることにより生成されることから、Fndc5の発現量を、LightCyclerにて測定した。また、筋収縮タンパクであるミオシン重鎖(MyHC)のアイソフォームについても測定し、irisinとの関連性についても検索した。【結果および考察】irisinの発現では、播種後12時間でIGF1を導入した群で発現を見られたが、その後全く発現が認められなかった。MyHCについて検索を行うとIGF-1を導入した群では、中間型であるMyHC-2dが播種後12時間で多く発現した。このことからIGF-1を遺伝子導入することによって、周りの環境にすぐに適応できるように中間型であるMyHC-2dに変化し、かつ身体を維持するために irisin が発現したのではないかと考えられた。

P2-94

高齢者の鼓膜張筋と口蓋帆張筋における血管動態について

○佐藤 巖¹、三輪 容子¹、福山 完¹、春原 正隆¹(日歯大 生命歯 解剖)

【目的】咀嚼における咀嚼筋と舌骨筋群以外に口蓋帆張筋や鼓膜張筋の働きはあまり知られていない。関節円板は円板ツチ骨靭帯により鼓室につながり、このツチ骨には鼓膜張筋が付着する。耳管は咽頭と鼓室をつなぐが、口蓋帆張筋は咽頭側から筋線維が耳管に進入し、鼓室側から鼓膜張筋が進入する接合点としてこの耳管の部位は口蓋帆張筋と鼓膜張筋が耳管の腱に近接付着することが報告されているが、両者の筋線維の複雑な配列構造は不明な点が多い。さらに、口蓋帆張筋と鼓膜張筋は嚥下と耳管の開閉に関与するとされるが両者の働きはよくわかっていない。すでに、この部位は加齢に伴い脂肪が増加することや筋線維の委縮がみられることが報告されてきたが、神経支配や両者の血管動態については報告は少ない。【方法】そこで今回、パラフィン包埋後に耳管の横断薄切切片を作製し、鼓膜張筋と口蓋帆張筋の接合部付近でみられる筋線維、血管やリンパ管の動態を脈管マーカー(CD31,D2-40)等による抗体で染色し、観察を行った。【結果と考察】その結果、鼓膜張筋には多くの脂肪の存在と偏在を認め、筋の断面による血管や筋線維の太さは個人差あり、筋の上部からの血管の進入の有無やリンパ管の存在と局在には差がみられた。このため両者の筋が1つのユニットとして働くときの機能的特質を示唆しており、口蓋帆張筋と鼓膜張筋が近接するこの部位の筋とその周囲の結合組織は加齢の影響を反映し、咽頭側の口蓋帆張筋が鼓膜張筋を補佐する可能性が示された。さらにアブミ骨筋が鼓膜張筋の四分の一であることから口蓋帆張筋が鼓膜の位置バランスに関わる負担を制御している可能性もあることを示唆した。さらには、両者の筋の特質をこれらマーカーで調べる意義が示された。

P2-96

筋芽細胞株C2C12におけるアミノ酸(うま味)受容体T1R1遺伝子のプロモーター領域の解析

○豊野 孝¹、瀬田 祐司¹、片岡 真司²、

豊島 邦昭¹(¹九歯大 口腔組織機能解析、²九歯大 頭頸部構造解析)

アミノ酸(うま味)受容体T1R1は、味蕾よりも筋組織において高発現していることが明らかになっている。しかしながら、筋組織におけるT1R1遺伝子の転写調節機構は明らかになっていない。そこで、本研究ではマウスT1R1遺伝子の転写調節機構の解明を目的として、筋芽細胞株C2C12を用いて、転写開始点の決定およびプロモーター領域の解析を行った。C2C12からmRNAを調製後、5'-RACE法により得られたクローンを用いて、T1R1遺伝子の転写開始点の決定を行った。クローンの解析の結果、4カ所の転写開始点を同定した。その中の1カ所の転写開始点近傍配列において、イニシエーター配列および下流コアプロモーター(DPE)配列と高い相同性が認められた。次に、マウスT1R1遺伝子上流領域の解析をレポーターアッセイにより行った。マウスT1R1遺伝子の各段階の長さの上流領域を有するレポータープラスミドの作成を行った。C2C12にこれらのプラスミドのトランスフェクションを行い、レポーターアッセイを行った。その結果、開始コドン上流-940bp~-921bpが転写活性化領域で、-148bp~-1bpがプロモーター領域であることが明らかになった。転写活性化領域の配列を転写因子結合配列のデータベースJASPERを用いて検索したところ、転写因子Kaisoの結合配列と高い相同性を有することが明らかになった。プロモーター領域も同様に検索を行った所、転写因子SPファミリーが結合するGTボックスが存在することが明らかになった。以上の結果より、マウスT1R1遺伝子はこれらの配列に結合する転写因子により、転写調節を受けている可能性が推察された。

P2-97

$\beta 2$ アドレナリン受容体作動薬および糖質コルチコイドがラット咬筋に与える影響
 ○梅木 大輔¹、大貫 芳樹²、中村 芳樹¹、
 奥村 敏² (¹鶴見大 歯 歯科矯正、²鶴見大 歯 歯科生理)

【目的】 クレンプテロール (CB、 $\beta 2$ アドレナリン受容体作動薬) とデキサメサゾン (Dex、糖質コルチコイド) は、喘息の治療薬として同時に処方される事がある。CB と Dex は、それぞれ骨格筋の肥大と萎縮を誘発することが報告されているが、これらの複合作用に関しては不明点が多い。今回、我々は CB と Dex がラット咬筋の筋線維サイズと筋線維タイプに与える影響を調べた。【方法】 12 週齢の Wistar 系雄性ラット (32 匹) を、対照群 (n=8)、CB 群 (30 mg/L 飲料水、n=8)、Dex 群 (6 mg/kg/2 日、腹腔内注射、n=8)、CB+Dex 群 (n=8) の 4 群に分け、2 週間飼育後、咬筋 (両側) を摘出し筋重量を測定した。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 (MHC) アイソフォームの構成を SDS-PAGE 法にて定量的に解析した。また、筋肥大誘発因子であるインシュリン様増殖因子 (IGF1)、筋萎縮誘発因子であるミオスタチン (MSTN)、ユビキチンリガーゼ (Atrogin1, MuRF1)、および $\beta 2$ アドレナリン受容体 ($\beta 2$ -AR)、糖質コルチコイド受容体 (GR) の発現量をリアルタイム PCR 法にて mRNA レベルで定量的に解析した。【結果】 筋線維直径は、対照群に対し、CB 群で有意に増大したが、CB+Dex 群では有意な差は観察されなかった。MHC アイソフォームの構成比は、対照群に対し、CB 群では MHC IIa の減少と MHC IIb の増加が観察されたが、CB+Dex 群では有意な差は観察されなかった。また、対照群に対し、CB 群では IGF1 mRNA 量が増加したが、CB+Dex 群ではその増加は抑制され、かつ Atrogin1, MuRF1 mRNA 量の増加および $\beta 2$ -AR mRNA 量の減少が観察された。【結論】 $\beta 2$ -AR 刺激によるラット咬筋の肥大、筋線維タイプの速筋化に対し、糖質コルチコイドが拮抗作用をもつことが示唆された。また、糖質コルチコイドは、 $\beta 2$ -AR 刺激による IGF1 増加の抑制、Atrogin1, MuRF1 の増加および $\beta 2$ -AR の減少を介して、筋肥大に対する拮抗作用をもつことが示唆された。

P2-99

上唾液核ニューロンにおける NMDA 受容体活性化による顎下腺唾液分泌応答
 ○石塚 健一¹、佐藤 義英¹
 (¹日歯大 新潟生命 歯 生理)

Salivation can be induced by gustatory and somatosensory information from the tongue. The parasympathetic system has a major role in such reflexively induced salivation. The parasympathetic preganglionic cells in the superior salivatory nucleus (SSN) receive inputs from sensory nerves as well as many of CNS nuclei. We demonstrated that activation of ionotropic NMDA receptor exerts an excitatory effect on SSN neurons. Thus, we investigated whether activation of the NMDA receptors in the SSN neurons elicit submandibular salivary secretory responses in urethane-chloralose anesthetized rats. We also recorded the salivary flow pressure responses elicited by the electrical stimulation of preganglionic fibers. The submandibular salivary secretory responses were elicited by activation of NMDA receptors that were performed by the microinjection of NMDA receptor agonist (0.1 mM, 50 μ l, pH7.3, Sigma) into SSN region. Total volumes of the NMDA-induced saliva (measured as D. W. weight) were varied from 7.5 mg to 18.5 mg. The salivary flow pressure responses were induced at latencies of 16.0 to 32.9 (sec) and lasted during from 94.0 to 294.9 seconds. The initial secretory rates of salivary flow pressure responses, assessed by a calculating half ascent (uprising) secretory pressure response per second, were ranged from 4.6 to 10.7 (mmHg/s). The salivary flow pressure responses were elicited by the electrical stimulation (0.2 ms duration, 0.015 - 0.3 mA, 10 Hz) of preganglionic fibers in the chorda tympani branches (CTBs). The initial flow rates were current dependently increased from 2.5 to 28.6 (mmHg/sec). The latencies were current dependently shortened from 11.4 to 2.6 (sec). The pressure responses were started to decrease up to 1.5 seconds after cessation of the stimuli. The initial flow rates of NMDA-induced pressure responses were found to be less than those obtained by electrical stimulation of preganglionic fibers at current of 0.03 mA. In conclusion, activation of the NMDA receptors in the SSN neurons elicits submandibular salivary secretion.

P2-98

ラット三叉神経脊髄路核尾側亜核/上部頸髄移行部の眼侵害受容ニューロンに対するオレキシン下行性変調機構
 ○片桐 綾乃^{1,2}、岩田 幸一²
 (¹ミネソタ大、²日大 歯 生理)

Orexin-A (OxA) is synthesized in posterior and lateral regions of the hypothalamus and contributes to homeostatic regulation of body functions including pain modulation. To determine if orexinergic mechanisms contribute to posterior hypothalamus (PH)-induced modulation of ocular input to subnucleus caudalis/upper cervical (Vc/C1) neurons, the orexin-1 receptor antagonist, SB334867, was applied to the dorsal brainstem surface prior to PH disinhibition, by bicuculline methiodide, in male rats under isoflurane anesthesia. Ocular input to Vc/C1 units by bright light or hypertonic saline was markedly reduced by PH disinhibition and reversed completely by local Vc/C1 application of SB334867. OxA applied to the Vc/C1 surface mimicked the effects of PH disinhibition in a dose-dependent manner. OxA-induced inhibition was prevented by co-application of SB334867, but not by the orexin-2 receptor antagonist, TCS OX2 29. PH disinhibition and local OxA application also reduced the high threshold convergent cutaneous receptive field area of ocular units suggesting widespread effects on somatic input to Vc/C1 ocular units. Vc/C1 application of OxA or SB334867 alone did not affect the background discharge of ocular units and suggested that the PH-OxA influence on ocular unit activity was not tonically active. Vc/C1 application of OxA or SB334867 alone also did not alter mean arterial pressure, whereas PH disinhibition evoked prompt and sustained increases. These results suggest that stimulus-evoked increases in PH outflow acts through OxA and orexin-1 receptors to alter the encoding properties of trigeminal brainstem neurons responsive to input from the ocular surface and deep tissues of the eye. Acknowledgements: We thank Professor David A. Bereiter and Dr. Keiichiro Okamoto of the University of Minnesota.

P2-100

最後野および孤束核のノルアドレナリン作動性ニューロンの悪心・嘔吐誘発への関与
 ○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】 過分極作動性カチオンチャンネル (H チャンネル) 活性を示す最後野ニューロンは最後野全体の約 60% を占める最大亜群である。我々は H チャンネル活性を示す最後野ニューロンが悪心・嘔吐誘発に関与していることを報告してきた。しかし、これらの悪心・嘔吐誘発に関与する最後野ニューロンのシナプス伝達の詳細については不明であった。そこで本研究ではシスプラチンを腹腔内投与し、活性化した最後野および孤束核ニューロンの伝達物質について免疫組織化学法により解析を行った。【方法】 SD 系雄性成体ラット (200~250 g) の腹腔内にシスプラチン (10 mg/kg) を投与した。シスプラチン投与 4、6、12、24、48 時間後に 4% パラホルムアルデヒドにより灌流固定を行い、1 日浸漬固定した後、脳幹部の凍結切片 (厚さ 30 μ m) を作製し、ニューロン活動のマーカーである c-Fos タンパク質とノルアドレナリン作動性ニューロンのマーカーであるドーパミン β 水酸化酵素 (DBH) に対する抗体および蛍光標識 2 次抗体による二重免疫染色を行い、蛍光顕微鏡にて最後野および孤束核を観察し、陽性細胞数を計数した。【結果と考察】 最後野および孤束核において DBH 陽性ニューロンが多数検出され、c-Fos タンパク質との共発現を認めるニューロンも検出された。このことから、悪心・嘔吐誘発に関わる最後野および孤束核のニューロンの一部はノルアドレナリン作動性ニューロンであることが示唆された。また、DBH 陽性反応を示した最後野ニューロンは、孤束核の DBH 陽性ニューロンよりも細胞体が小さなものが多数見られた。さらに、c-Fos 陽性反応を示す細胞数はシスプラチン投与 12 時間後の標本において他の時間条件よりも減少する傾向が見られた。

P2-101

cGMP 依存性蛋白キナーゼの活性化による TASK3 コンダクタンスの抑制

○田中 千恵^{1,2}、齋藤 充¹、豊田 博紀¹、佐藤 元¹、河野 奨¹、姜 英男¹ (大阪 院 歯 高次脳口腔機能、²阪大 院 歯 顎口腔機能再建)

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おり、ニューロンにおいては TASK1 及び TASK3 チャネルが漏洩 K⁺電流を担っていることが近年明らかとなった。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) の細胞体には TASK1 が、樹状突起には TASK3 が豊富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 及び TASK3 コンダクタンスが運動単位の序列動員様式の制御に関与している可能性が高い。

我々は、一酸化窒素-可溶性グアニリルシクラーゼ-cGMP-蛋白キナーゼ G (PKG) 系の活性化によって TASK1 コンダクタンスが上方制御を受けることを、HEK293 細胞を用いた発現系で明らかにした (Toyoda et al., 2010)。細胞体部でパッチクランプを形成しホールセル電流固定下においた大型の TMN では、cGMP の可溶性アナログである 8-Br-cGMP の投与により、入力抵抗はほとんど変わらないか或いは減少傾向を示したが、EPSP の振幅は増大した。このことは、8-Br-cGMP 投与によりシナプスが存在する樹状突起上の TASK3 が抑制され、局所的な入力抵抗が上昇した可能性を示している。そこで、8-Br-cGMP が TASK3 をどの様に修飾するかを明らかにするため、TASK3 cRNA を注入しチャネルを発現させたアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 卵母細胞において、two-electrode voltage clamp 下で -150 ~ +60 mV の電位パルスに対する電流応答を記録し解析した。その結果、pH 7.3 及び 8.3 において、8-Br-cGMP の投与により TASK3 コンダクタンスは低下した。このことから、PKG の活性化が、少なくとも生理的 pH 及びより塩基性側では TASK3 を抑制することが示唆された。

P2-103

末梢ドーパミンの体色依存痛覚感受性における役割

○小野 堅太郎¹、人見 涼露¹、稲永 清敏¹ (九歯大 生理)

皮膚や毛の色は各生物種が環境適応する中で遺伝的特性として備わったと考えられている。身体保護行動を誘発する痛覚もまた環境に応じて適宜度が調整された可能性がある。実際、体色の異なる人種/民族間にて痛覚感受性の違いが報告されている。しかしながら、体色と痛覚感受性調節の直接的な機構は不明である。体色は皮膚のメラノサイトでのメラニン生成能に依存するが、同時にドーパミン前駆物質の L-dopa も生成され、末梢ドーパミンの由来となっている。末梢痛覚神経のドーパミン受容体発現とメラノサイトとの直接接触が報告されていることから、本研究では体色および末梢ドーパミンが痛覚感受性に与える影響について検討した。メタアナリシスにおいて、皮膚色の濃い人種/民族グループは、皮膚色の薄いグループよりも高い痛覚感受性を示した。近交系マウスのオンラインデータベースの解析にて、有色毛グループはアルビノグループよりも温度刺激に対して高い痛覚応答を示した。より実験的に体色と痛覚の関係を調べるため、黒毛近交系マウスの C57BL/6 (以降 B6) とメラニン合成に必要なチロシナーゼに変異を持つアルビノ B6 (Cg)-Tyr^{-2j}/J (以降 Tyr) を使用した。B6 は Tyr より低い熱刺激逃避閾値を示した。Tyr へのドーパミン (および L-dopa) は投与部位に限り熱刺激逃避閾値を低下させ、B6 へのチロシナーゼ阻害薬の局所投与は逆に増加させた。ドーパミン受容体 D1/5 選択的作用薬はドーパミンと同様の作用を示し、三叉神経節での侵害熱・カプサイシン受容体 Trpv1 の mRNA 発現量を増加させ、皮膚表層を優位に支配するイソレクチン B4 陽性ニューロンにおけるカプサイシン反応性を増加させた。これらの結果より、メラノサイトに由来する末梢ドーパミンが痛覚感受性を先天的・後天的に調節する可能性が示唆された。【会員外共同研究者】ニューヨーク大学歯学部：Chi VT, Ye Y, Dang D, Schmidt BL.

P2-102

乾燥にตอบสนองする角膜求心性神経線維における TRPV1 TRPA1 作用薬の影響

○黒瀬 雅之¹、八田 あずさ^{1,2}、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、角膜求心性神経線維のうち、上皮細胞表面の涙膜の蒸発を冷刺激応答とすることで乾燥にตอบสนองする Cool Cell の存在を明らかとし、上皮表面をモニタリングしている Cool Cell から、脊髓路核を経由し唾液核に至る一連の基礎分泌を管理するネットワークの存在を示唆してきた。そこで、近年、急速に増加するドライアイ罹患者に対する新たな治療法として、このネットワークを有効に活性化しうる手法の確立を目的に、Cool Cell の活動様式を明らかにすると共に、発現するチャネルを同定するために本研究を行った。【方法】ウレタン・クロラロース麻酔下の SD ラットを用いて、三叉神経節から角膜への冷刺激・乾燥にตอบสนองする Cool Cell を同定し、自発性の神経活動並びに温冷刺激に対する応答を記録した。眼球に装着した Chamber 内の溶液を、Vehicle と Capsaicin (TRPV1 agonist; 30 nM-30 μM) AITC (TRPA1 agonist; 500 μM-10 mM) と順次交換し、その都度、温冷刺激に対する応答を記録し、自発性の神経活動と温冷刺激由来の活動に及ぼす影響を検討した。【結果と考察】Capsaicin は、Cold Cell の自発性の活動並びに温冷刺激に対する応答を有意に抑制し、特に高濃度の Capsaicin は長時間その活動を抑制した。これに対して、AITC は、一過性の神経活動を誘発させる傾向を示したが、有意な差は見られなかった。このことから、Cool Cell に TRPV1 channel が存在しているだけでなく、隣接する TRPM8 channel に直接または間接的に脱感作を誘発する機構があることが示唆された。また、Cool Cell には、TRPA1 channel が存在するものの、その数は少数であることが示唆された。

P2-104

神経障害性疼痛による開口反射の変調におけるグルタミン-グルタミン酸シャトルの関与

○高橋 功次朗^{1,2}、篠田 雅路³、海野 俊平³、高辻 華子^{1,2}、齋藤 功¹、山村 健介²、岩田 幸一³、北川 純一² (新大 院 歯 口腔生理、²新大 院 歯 口腔生理、³日大 歯 生理)

To evaluate the possible activations of astroglial cell and glutamate-glutamine shuttle in the trigeminal motor nucleus (motV) following the chronic constriction injury of the infraorbital nerve (ION-CCI), we performed immunohistochemical assessment, nocifensive behavioral test and electrophysiological recordings of the jaw-opening reflex (JOR) evaluating the effect of glutamine synthase (GS) blocker methionine sulfoximine (MSO; block astroglial glutamate-glutamine shuttle) application in rats. The immunohistochemical analysis to assess astroglial cell activation showed GFAP immunoreactive cells expression in the motV increased significantly after following ION-CCI. In addition, the nocifensive behavior and JOR amplitude were also strongly enhanced after ION-CCI. The number of GS- and GFAP-IR cells was also significantly higher in ION-CCI rats. The JOR was strongly suppressed after microinjection of MSO in the motV of ION-CCI rats. After glutamine microinjection in the motV, the JOR amplitude was gradually return to the control level. The present findings suggest that astroglial glutamate-glutamine shuttle in the motV is involved in the modulation of excitability of the trigeminal motoneurons underlying the enhancement of various jaw reflexes associated with trigeminal nerve injury.

P2-105

三叉神経運動核閉口筋領域内の γ 運動ニューロンの電気生理学および組織学的特性

○西村 佳世¹、磯貝 由佳子¹、齋藤 充²、豊田 博紀²、佐藤 元²、河野 奨²、山城 隆¹、姜 英男² (阪大 院歯 顎顔面口腔矯正、²阪大 院歯 高次脳口腔機能)

三叉神経運動核閉口筋領域には、咬筋錘外筋を支配する α 運動ニューロン及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。「噛み締め運動」時の様な等尺性収縮運動の制御には、 γ 運動ニューロンがより重要な役割を果たすとされている。そこで、三叉神経運動核内に存在する運動ニューロンの特性を、ピオシチンを含むパッチ電極内液を用いたホールセル電流固定記録によって電気生理学的及び組織学的に検討した。

三叉神経運動核を含むラット冠状断脳幹スライス標本を作製し、閉口筋領域のニューロンから、ホールセル電流固定下で膜電位応答を基線電位 -55 mV 及び -75 mV において記録した。電気生理学的記録終了後、固定したスライス標本において、コリン作動性ニューロンのマーカーであるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) および α 運動ニューロンのマーカーである NeuN に対する二重蛍光免疫染色とピオシチンの可視化 (蛍光標識) を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察し画像を取得した。得られた画像上で、記録細胞の形状と、ChAT 及び NeuN に対する蛍光標識を解析した。三叉神経運動核閉口筋領域内に存在する運動ニューロンの内、免疫組織学的手法により γ 運動ニューロンと同定された細胞 (NeuN 陰性細胞) は Ca^{2+} 依存性パルス後脱分極電位および持続性 Na^{+} 電流を呈し、A型 K^{+} 電流および低閾値型 Ca^{2+} スパイクを示す α 運動ニューロンとは全く異なる興奮性を持つことが明らかとなった。その細胞径は比較的小さく、その樹状突起は α 運動ニューロンに比べて比較的短く、分枝も少ないことが明らかとなった。こうした γ 運動ニューロンにおける Ca^{2+} 依存的な興奮性はシナプス入力により修飾可能であると考えられることから、 α - γ 連関が可変である可能性が高く、噛み締め運動の様な等尺性収縮運動のより厳密な調節が可能となることを示唆している。

P2-107

連続舌運動課題遂行時における大脳体性感覚ニューロンの発火パターン解析

○戸田 孝史¹、工藤 忠明¹
(¹東北大 院歯 口腔生理)

The postcentral somatosensory cortex (the first somatosensory cortex) and its neighboring association cortex are important brain regions for dexterous motor control of the tongue and lips. We examined the temporal signaling patterns of neurons there and compared them to those documented in other cortical areas. Neurons in these brain regions are driven not only by somatosensory information arising from oro-facial structures, but also by signals from the frontal motor-related areas. Therefore, we recorded the neural activity while an animal performed a sequential tongue motor task. One female macaque monkey (*Macaca fuscata*) was trained to open two small sliding windows successively and get rewards through the windows by the tongue. Single-unit activity was recorded extracellularly by using a tungsten microelectrode. We made an effort to obtain sufficient numbers of spikes in each neuron for the subsequent numerical analyses (number of trials: 21-204, number of spikes: 167-5157). The oro-facial movements were monitored by a PC camera. Single units were identified off-line using a template matching algorithm and were then subjected to principal component analyses (CED, Cambridge, UK). For further numerical analyses, the data were exported to Scilab (Scilab Consortium / Digiteo). We examined not only the firing rate (number of spikes) but also the finer temporal structure of the spike trains, that is, regular, random, and bursty nature of them. To quantify the temporal structure, we used a recently devised metric of local variation (LvR) that evaluates the cross-correlation between consecutive interspike intervals (Shinomoto et al., 2009). The metric can evaluate the regularity (or irregularity) of interspike intervals independently of the firing rate fluctuations. The confidence intervals of the metric were constructed with 1000 bootstrap samples. Among neurons which were activated during a specific phase of the task ($n=20$), LvR ranged from 0.3 to 2.4. The distribution of LvR (mean: 1.1, S.D.: 0.5) indicated the random nature of spike firing of the neurons and resembled that described in the first visual cortex. The animal used in this research was provided by NBRP, the National BioResource Project of the MEXT Japan.

P2-106

脳磁図によるヒトの等尺性舌突出時の脳一筋コヒーレンス解析

○前澤 仁志¹、美馬 達哉²、白石 秀明³、平井 喜幸¹、船橋 誠¹ (北大 院歯 口腔生理、²京大 院医 脳機能七、³北大 院医 小児科学)

Sophisticated tongue movements contribute to speech and mastication. These movements are regulated by communication between the cortex and tongue. To evaluate the functional connection between the motor cortex and tongue muscle in humans, the oscillatory interaction was investigated between cortical activity recorded with magnetoencephalography and electromyographic (EMG) activity from the right-side tongue muscles during maintained tongue protrusion in 15 healthy volunteers. The results were compared with the data obtained during right abductor pollicis brevis (APB) contraction. A significant peak coherence between cortical activity and tongue EMG activity was observed at 16-35 Hz over the contralateral hemisphere in 13 subjects and the ipsilateral hemisphere in 10 subjects. Significant coherence was also detected at low frequencies of 2-10 Hz over contralateral hemisphere in 9 subjects and ipsilateral hemisphere in 9 subjects. For APB, coherence was detected at 15-30 Hz over the contralateral hemisphere in 13 subjects. The coherence value between the cortex and tongue at 16-35 Hz was larger for the contralateral hemisphere than for the ipsilateral hemisphere. The locations of cortical sources during tongue contractions were estimated in the contralateral hemisphere in 10 subjects and the ipsilateral hemisphere in 4 subjects. The sources for APB were estimated in the contralateral hemisphere in 11 subjects. The contralateral sources for the tongue were located in the lower part of the central sulcus and were anterior and lateral to the APB areas, thus agreeing with the classical homunculus in the primary motor cortex. The time lag between the cortex and tongue was shorter than the time lag between the cortex and thumb. The time lag decreased systematically when the distance between the cortex and muscle decreased. These results suggest that during isometric tongue protrusion, descending motor commands are modulated by bilateral cortical oscillations.

P2-108

ラットパレル野におけるカイニン酸誘発性オシレーションの周期的同期化機構

○豊田 博紀¹、佐藤 元¹、齋藤 充¹、河野 奨¹、姜 英男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同期化が生じていると考えられる。発火活動の周期的同期化は、スライス標本における細胞外記録法によって観察されており、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のオシレーションが生じることが報告されている。一方、我々は、隣接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明らかにしている。本研究では、GABA_Bシナプス前抑制が、発火活動の周期的同期化、或いは、脱同期化の時空間的パターンをどのように修飾する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、膜電位測光法及びパッチクランプ同時記録により実験を行った。まず、膜電位測光法を用いて、第3層に与えたpaired pulse 刺激 (200 ms 間隔) により生じる第2/3層における水平方向の興奮伝播の広がりを観察した。GABA_A受容体阻害薬 (bicuculline) 及びNMDA受容体阻害薬 (APV) 存在下では、一発目より二発目の方が小さくなるpaired-pulse depression (PPD) を観察したが、GABA_B受容体阻害薬 (CGP) によりそうしたPPDが消失した。このことから、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ものと考えられた。また、カイニン酸の灌流投与により、パレル野第2/3層の複数のカラムにわたって、同期化した約5 Hzのオシレーションが引き起こされることを観察した。こうした周期的同期化がCGPによって消失したことから、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示唆された。次に、隣接カラムの二つの第3層錐体細胞からパッチクランプ同時記録を行い、カイニン酸を投与することにより、ほぼ同じ周波数の同期発火が誘発された。両細胞のスパイク間に1-5 Hzの相互相関関係が認められた。そこで、CGP投与によるそうした相互相関関係の修飾を検討中である。

P2-109

下歯槽神経損傷後の延髄後角における収斂投射
 ○寺山 隆司¹、丸濱 功太郎¹、土屋 泰規^{1,2}、
 大村 晋司²、杉本 朋貞¹ (岡大 院医歯薬 口
 腔機能解剖、²朝日医療専門学校岡山校)

The neuronal hypersensitivity in the central nervous system has been suggested to be involved in abnormal pain sensation after peripheral nerve injury. Previous studies demonstrated that the number of Fos-like immunoreactive (Fos-LI) neurons in the medullary dorsal horn (MDH) evoked by noxious stimulation was increased after peripheral nerve injury, and such increase has been suggested to be involved in the development of neuropathic pain. The aim of this study was to examine the MDH for convergent collateral primary afferent input to second order neurons collaterally by peripheral nerve injury, and to explore a possibility of its contribution to the c-Fos hyperinducibility and neuropathic pain. Double immunofluorescence labeling for phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (p-ERK) and c-Fos was performed to detect convergent synaptic input. In this model, phosphorylation of ERK and c-Fos expression were induced by electrical stimulation of the inferior alveolar nerve (IAN) and by the intraoral application of 1% capsaicin, respectively. The number of Fos-LI neurons in the MDH by the intraoral application of capsaicin was increased after IAN injury, whereas the number of p-ERK-LI neurons remained unchanged. The number of double-labeled neurons, that presumably received convergent primary afferent inputs from the lingual nerve, was significantly increased after IAN injury. IAN injury also exaggerated nociceptive behavior evoked by intraoral application of 0.01% capsaicin in lightly anaesthetized rats. These results indicated that convergent primary nociceptive input through neighboring intact nerves may contribute to the c-Fos hyperinducibility in the MDH and the pathogenesis of neuropathic pain following trigeminal nerve injury.

P2-111

ラットにおける視床髄板内核群から線条体腹側部
 への味覚投射
 ○岩井 治樹¹、山中 淳之¹、後藤 哲哉¹
 (鹿大 院医歯 歯科機能形態)

【目的】ラットの味覚路は、一般に内側結合腕傍核 (MPB) および内側結合腕傍核外側部 (MPBE) から視床後内側側核小細胞部 (VPMpc) を經由し鳥皮質に至ることが知られている。一方で、MPB および MPBE は、線条体と神経連絡をもつ視床髄板内核群にも投射することが報告されている。これらのことから、MPB および MPBE からの味覚情報は、髄板内核群を經由して線条体へ送られることが想像される。しかし、MPB および MPBE と関連する髄板内核群の領域は、線条体内のどの領域と神経線維連絡を持つのか詳細には分かっていない。そこで本研究では、トレーサー実験を通して、これらの脳領域を特定することを目的とした。【方法】MPB あるいは MPBE に順行性トレーサーの BDA を注入した。続いて、MPB あるいは MPBE から投射を受ける視床領域に BDA を注入した。最後に、MPB あるいは MPBE に BDA を注入した後、視床領域から投射を受ける線条体領域に逆行性トレーサーの CTb を注入した。【結果と考察】MPB あるいは MPBE は、卵形中心傍核尾側部を介して線条体腹中央部に、東傍核腹外側部を介して線条体腹外側部に、内側中心核尾腹側部あるいは東傍核腹内側部を介して線条体腹内側部に、そして VPMpc を介して線条体最腹側部に投射した。本研究で神経線維連絡が認められた線条体腹側部は、覚醒、食物摂取、および顎運動に関係するとされており、MPB あるいは MPBE からの味覚情報は、VPMpc および 髄板内核群を經由し、これらの機能に影響する可能性が考えられた。

P2-110

ラット孤束核を構成する細胞の新生時期とその局
 在との関係
 ○諏訪部 武¹、安尾 敏明¹、裕 哲崇¹
 (朝日大 歯 口腔生理)

【目的】味覚・内臓感覚および体性感覚情報が投射する孤束核は、ラットでは胎齢 11 日から 14 日の間に分裂・新生した細胞で構成され、各感覚情報は孤束核内の異なる領域に投射する。しかしながら、これら新生時期の異なる細胞は孤束核内でそれぞれ異なる部位に局在するの否か、さらには各感覚情報の投射領域ごとに細胞の新生時期が異なるの否かについては明らかになっていない。この点を明らかにするために、本研究ではチミン類似体 EdU で新生細胞を標識する方法を用い、細胞の新生時期と孤束核における局在との相関関係を調べた。

【方法】交配日確認妊娠ラット (Wistar/ST, $n=4$) を用いた。胎齢 11 日・12 日・13 日・14 日のいずれかの胎齢で 1 回、EdU を妊娠ラットに腹腔内投与し、仔ラットの新生細胞に EdU を取り込ませた。生後 65 日以降に仔ラットを灌流固定して脳幹スライス標本作製し、EdU を可視化した後、孤束核における EdU 標識細胞の分布を顕微鏡で観察した。

【結果と考察】EdU 標識細胞は孤束核内に均等、あるいは不規則に分布するのではなく、EdU の投与時期 (= 細胞の新生時期) に対応して、それぞれ異なった局在を示した。しかしながら、この分布部位は各感覚情報の投射部位とは一致しなかった。以上の結果から、細胞の新生時期と孤束核内での局在との相関が明らかになったが、各感覚情報の投射部位との相関は認められなかった。さらにラットの味覚伝導路における第 2 の中継核である傍腕核でも同様の実験を行った。

P2-112

味覚刺激による脳内神経活動に年齢が与える影響
 ○乾 千珠子¹、山本 隆²、上田 甲寅¹、
 中塚 美智子¹、隈部 俊二¹、松田 哲史¹、
 岩井 康智¹
 (1大歯大 口腔解剖、2畿大 健康科学)

Taste preferences are known to be affected by aging which causes changes in the dietary and energy requirements. Our previous 48-hr two-bottle tests showed that aging decreases the preference ratios for the sweet and umami tastes, and increases them for the bitter taste, suggesting that aging causes changes in taste hedonics. However, it is possible that difference in post-ingestive effects across ages induce the alteration in the preference ratios. Therefore, we compared taste hedonics between young-adult (8 weeks) and middle-aged (34 weeks) SD male rats, using a taste reactivity test (Grill H.J. and Norgren R., 1978). We used taste stimuli for water, 3 mM saccharin-Na, 0.03 mM quinine-HCl, and 0.3 mM quinine-HCl. The middle-aged group showed smaller number of aversive responses to quinine-HCl than the young-adult group. On the other hand, there were no differences in water and saccharin-Na among the groups. These results indicate that aging causes changes in the taste hedonics of the bitter taste. We previously reported the neurophysiological experiments showing that aging elicited no functional changes in the peripheral taste nerves. Since these findings suggest that the aging-induced alterations in the taste hedonics of the bitter taste are due to the plastic changes in the central nervous system. Thus, we also discuss the differences in activities of the gustatory-related brain regions (i.e., parabrachial nucleus, amygdala, etc.) among ages by detecting the Fos-like immunoreactivities after taste stimulation.

P2-113

味神経に発現する GLP-1 レセプターとその役割
 ○高井 信吾¹、安松 啓子²、進 美沙¹、
 吉田 竜介¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三^{1,2}
 (¹九大 院歯 口腔機能解析、²九大 味覚嗅覚セ
 ンサ研究開発セ 感覚生理)

近年、味細胞において様々な消化管ホルモンの発現が報告されているが、その機能に関してはほとんど解明されていない。下部小腸に存在し、インスリン分泌を促す消化管ホルモンの一つとして知られる GLP-1 が味細胞にも発現しており、甘味刺激によって細胞外に分泌されることが示唆されているが、分泌された GLP-1 の役割は不明であり、その解明は急務である。本研究ではまず、免疫組織学的手法を用いて、GLP-1 及びそのレセプターの発現を探索した。その結果、マウス茸状乳頭、有郭乳頭味蕾において、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 を共発現しており、GLP-1 レセプターはその近傍の味神経線維、及び鼓索神経が入力する膝神経節のニューロンの一部で発現が見られた。また、甘味刺激に応じて味蕾から分泌される GLP-1 の濃度は、刺激強度に依存して高くなる傾向を示した。さらに、この GLP-1 分泌は、小胞体からゴルジ装置に至る過程に選択的に作用し、小胞分泌を阻害する薬剤 Breferdin-A を投与すると有意に減少した。また、GLP-1 を静脈内に投与すると、舌動脈血中の GLP-1 濃度の上昇と同期して、鼓索神経中の甘味特異的に応答する単一神経線維において一過性の活動電位発生頻度の上昇が見られた。この神経線維の活性化は、GLP-1 レセプターのアンタゴニスト Exendin-4 (3-39) を前投与しておくことにより有意に抑制されることがわかった。以上の結果は、甘味刺激により味蕾から分泌される GLP-1 は、近傍の味神経線維上の GLP-1 レセプターに直接作用し、味細胞～味神経線維間の甘味情報伝達機構に寄与している可能性を示唆する。

P2-115

アンギオテンシン II によるエンドカンナビノイドレセプターを介した甘味感受性の増強
 ○岩田 周介¹、重村 憲徳¹、二ノ宮 裕三¹
 (¹九大 院歯 口腔機能解析)

我々は、アンギオテンシン II (AngII) 受容体の AT1 がマウスの味蕾にも存在し、AngII の腹腔内投与により塩味感受性の抑制、並びに甘味感受性の増強が認められることを報告した。また甘味感受性を増強するカンナビノイド受容体の CB1 の遺伝子ノックアウトマウスを用いた解析では、この AngII による甘味増強作用が消失することを認めた (Shigemura et al, 2013)。そこで、本研究では、薬理学的に AngII の甘味修飾作用への CB1 の関与を確かめるため、C57BL マウス鼓索神経の味応答を指標に、CB1 の inverse agonist である AM251 の腹腔内投与を AngII 腹腔内投与の甘味感受性の増強が顕著となる AngII 投与 20 分後に行った。コントロールとして生理食塩水と AngII 投与 20 分後に投与した群に対し、AM251 投与群では AngII による甘味増強作用の抑制が認められた。また、単一刺激種を 5 分ごとに繰り返したところ、人工甘味料である SC45647、及び二糖類のスクロースでは 2 時間にわたり経時的な応答の増大が認められた。一方で単糖グルコースや甘味以外の刺激では増大は認められなかった。この経時的応答増大は AngII を投与した群で著しく、AT1 阻害薬である CV11974 で前処置を行った群においては、SC45647 及びスクロースの応答増大は低下傾向が見られた。以上の結果と、過去の報告にある、T1R3 発現甘味受容細胞に CB1 が発現・機能していること (Yoshida et al, 2010)、AT1 ならびに CB1 が共役して機能する可能性があること (Turu G et al, 2009)、を併せ推論すると、次の仮説になる。甘味受容細胞では、甘味刺激による T1R2/T1R3-PLCbeta2-IP3/DAG 活性化を経て DAG に DAG リパーゼが働き 2AG (カンナビノイド) が生成される。膜外に分泌された 2AG が CB1 に働き、自己増幅的な甘味応答の増大を起こす。すなわち、CB1 と AT1 が共役していれば、AngII による甘味応答の増大は、カンナビノイド効果に連関して起こる可能性が考えられる。

P2-114

口腔粘膜消毒薬アクリノールは各種甘味物質に対する味覚神経応答を特異的に抑制する
 ○安尾 敏明¹、片川 吉尚²、諏訪部 武¹、
 玄 景華²、裕 哲崇¹ (朝日大 歯 口腔生理、
²朝日大 歯 障害者歯科)

【目的】我々のグループは、以前の本学術大会において、歯科領域で口腔粘膜消毒薬としてしばしば用いられるアクリノールが、五基本味のうち、甘味 (ショ糖) に対する C57BL/6J マウスの鼓索神経応答のみを特異的に抑制することを報告した (谷口ら, 2011)。今回、この抑制が、ショ糖以外の甘味物質に対しても生じるかどうかを検討するため、アクリノール舌処理前後の各種甘味物質に対する鼓索神経応答を記録し、比較検討することとした。

【方法】8 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用い、通法により右側鼓索神経の応答を白金電極より導出し、増幅器、積分計を通じて、PowerLab に入力した。神経応答は、0.1M 塩化アンモニウムに対する応答を 1.0 とした相対応答値として処理し、20 秒間の 0.05% アクリノール舌処理前後の各種甘味物質に対する応答を比較することで、その抑制効果を検討した。また、味刺激後の蒸留水による舌の洗浄から 3 分後に、これらの応答を再度記録し、どの程度応答が回復しているのか検討した。甘味物質には、0.5M ショ糖の他、0.5M グルコース、0.5M フルクトース、0.5M マルトース、20mM サッカリンナトリウムおよび 0.1M スクラロースを用いた。

【結果と考察】本実験で用いた全ての甘味物質に対する鼓索神経応答は、アクリノールの舌処理によって約 50% 抑制されることがわかった。また、いずれの刺激においても、蒸留水による舌の洗浄後 3 分で、ほぼ元の応答量にまで回復した。これらの結果から、アクリノールによる特異的甘味応答抑制効果は、ショ糖のみならず甘味物質全般にわたっている可能性があり、その抑制効果は、舌を水洗して 3 分後にほぼ見られなくなることを明らかにした。

P2-116

Cre-lox リコンビナーゼ系による成体マウス味蕾における Mash1 の機能解析
 ○瀬田 祐司¹、豊野 孝¹、片岡 真司²、
 豊島 邦昭¹
 (¹九歯大 口腔組織、²九歯大 頭頸解析)

【目的】Mash1 は前駆細胞から神経細胞の分化決定に関与する転写制御因子で、味蕾においても発現が認められている。我々はこれまでに Mash1 ノックアウトマウスを用いて、Mash1 が味蕾の 3 型細胞における AADC と GAD67 の発現に必須であることを報告した。しかしながら、Mash1 ノックアウトマウスは生後 24 時間以内に死亡してしまうため、成体の味蕾における Mash1 の機能を検索することは不可能である。本研究では、Cre-lox リコンビナーゼ系を使用して、成体マウス味蕾における Mash1 の機能を検索した。【方法】本研究では 4 種類の遺伝子改変マウスを使用して、味蕾における Mash1 発現細胞の細胞系譜と Mash1 欠失による 3 型細胞マーカーの発現の変化を検索した。【結果】Mash1 発現細胞に GFP を発現するマウスの味蕾で味蕾細胞のマーカーと 2 重染色を行った結果、GFP 発現細胞は味蕾の 3 型細胞のマーカー (AADC, SNAP25) とは局在が一致したが、2 型細胞のマーカー (gustducin) とは一致しなかった。また、Mash1 発現細胞にジフテリア毒素を発現させ、細胞死を誘導するようにしたマウスの味蕾では、AADC と GAD67 発現細胞の数は減少したが、SNAP25 発現細胞の数はあまり減少しなかった。【考察】今回の実験の結果から、Mash1 は味蕾において AADC と GAD67 の発現には必要だが、3 型細胞の分化には関与していないことが明らかになった。また、2 型細胞の数にも変化が見られなかったことから、Mash1 は 2 型細胞の分化にも関与していないことが明らかになった。

P2-117

レプチンによる甘味応答抑制には K_{ATP} チャネルが関与する
 ○吉田 竜介¹、野口 健志¹、重村 憲徳¹、
 二ノ宮 裕三¹ (九大 院歯 口腔機能解析)

マウスの甘味応答はレプチンにより抑制される。その効果は甘味受容細胞に発現するレプチン受容体を介し、最終的には K チャネルの活性を高めることで生じると考えられるが、まだそのメカニズムについては明らかとなっていない。近年、味蕾において甘味受容体を発現する味細胞に K_{ATP} チャネルが発現することが示され、中枢や膵臓でこのチャネルがレプチンの効果に関与することが示されている。本研究では、マウス茸状乳頭味細胞を用い、レプチンによる甘味抑制に K_{ATP} チャネルが関与するかについて調べた。免疫組織化学的手法により味覚組織におけるレプチン受容体 Ob-Rb と K_{ATP} チャネルサブユニット SUR1 の共発現を調べると、味細胞において両者が共発現することが確認された。味細胞応答を記録すると、甘味受容細胞の甘味応答は基底外側膜側へ 20 ng/ml レプチンを投与することによりおよそ 70% 程度にまで抑制されたが、さらに K_{ATP} チャネル阻害剤 glibenclamide を加えることでレプチンの甘味応答抑制効果は消失した。また K_{ATP} チャネル活性化剤 diazoxide を投与することで、甘味受容細胞の甘味応答の抑制が見られた。以上の結果は、レプチンによる甘味受容細胞の応答抑制効果は K_{ATP} チャネルの活性化により生じる可能性を示唆する。

P2-118

頸部交感神経は交感神経-副腎系から分泌される循環アドレナリンを介する咀嚼筋の血流増加に関与する
 ○石井 久淑¹、佐藤 寿哉¹ (北医大 歯 生理)

【目的】交感神経亢進状態は咀嚼筋の血流増加或いは血流減少のいずれかの反応を誘発することが知られている。この血流動態の差異が生じる原因は不明であるが、咀嚼筋の交感神経性血流調節には頸部交感神経(血管収縮)と交感神経-副腎系(血管拡張)が重要であることから、これら血流調節系のバランスが交感神経亢進時の咀嚼筋の血流動態に密接に関連していることが推測される。しかしながら、咀嚼筋の血流動態における神経性と体液性血流調節との関係は知られていない。本研究はこれら調節系の相互作用を明らかにするために、交感神経-副腎系の活性化で生じる咀嚼筋の血流増加反応に対する頸部交感神経活動の影響について検討した。【方法】麻酔したラットの咬筋血流はレーザードップラー血流計を用いて測定し、諸種の薬物は大腿静脈に留置したカテーテルから投与した。交感神経-副腎系は内臓神経を遠心性に電気刺激することで活性化した。【結果と考察】内臓神経の電気刺激は咬筋に有意な血流増加を誘発した。この血流増加反応はアドレナリン β 受容体遮断薬(プロプラノロール)の投与で顕著に抑制された。内臓神経の電気刺激で生じる咬筋の血流増加反応は頸部交感神経の切断により完全に消失した。したがって、頸部交感神経は交感神経-副腎系から分泌される循環アドレナリンを介する咀嚼筋の血流増加反応に重要な役割を果たしていることが示唆される。

P2-119

赤核刺激による嚥下反射の抑制
 ○佐藤 義英¹、辻 光順²、辻村 恭憲²、
 井上 誠²、石塚 健一¹、岩崎 信一¹
 (1)日歯大 新潟生命歯 生理、(2)新大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

It has been reported that the swallowing central pattern generator is divided into two parts in the medulla; a dorsal area including the nucleus of the solitary tract and a ventral area corresponding to the reticular formation around the nucleus ambiguus. Morphological study has reported that the red nucleus (RN) projects bilaterally to the latter area with contralateral dominance. It is therefore likely that the RN is involvement in control of swallowing. This study examines whether the swallowing reflex is modulated by stimulation of the RN. These experiments were performed on rats anesthetized by urethane. Electromyograms (EMG) were recorded from the mylohyoid and thyrohyoid muscles to identify swallowing event. The swallowing reflex was evoked by repetitive electrical stimulation (0.2 ms duration, 30 Hz) of the superior laryngeal nerve (SLN) for 10 seconds. The current intensity of SLN stimulation was determined as 1.2 times the threshold for eliciting a swallowing reflex. The conditioning stimulation (0.2 ms duration, 30 Hz, 100-200 MA, 10 s) was applied to the red nucleus (RN). During recording sessions, the SLN and the RN were simultaneously stimulated for 10 s to see the effect of RN stimulation on the SLN-evoked swallows. As a control, the SLN was solely stimulated for 10 s twice before and after the simultaneous stimulation. Each recording was performed with an interval of 1 min. The number of swallows, the onset latency of the first swallow, swallowing interval of the first and second swallows, the peak of the EMG amplitude, and the duration of the EMG burst were measured, and were compared between with and without the RN stimulation. At the end of each experiment, the stimulus sites were verified histologically. The number of swallows was significantly decreased during RN stimulation. The swallowing interval was significantly longer during RN stimulation than without stimulation. The duration of the EMG burst was significantly decreased during RN stimulation, but the peak of the EMG amplitude was not modulated during RN stimulation. These results suggest that the RN is involved in the control of swallowing.

P2-120

視覚情報による咀嚼運動の制御
 ○宗形 芳英¹、大須賀 謙二¹、古山 昭¹
 (1)奥羽大 歯 口腔機能分子生物)

【目的】視覚情報を変化させることでタッピング時の下顎位が規則的に変化することをこれまで報告してきた。本研究では、噛みにくさを伴うことが多い仰臥位での咀嚼が、プリズム眼鏡により直立時の視覚情報を与えるだけで、多くの被験者で噛みやすくなるとの知見が得られたことから、ヘッドマウントディスプレイ (HMD) の利用により、視覚情報が咀嚼運動の制御機構におよぼす影響について検討した。【方法】視覚および頭頸運動機能に異常の認められない健康成人 10 名を対象とした。被験者を仰臥位にさせ視線方向が顔の正面になる(天井が見える)条件で行った。カメラ付き HMD 装着により実像に近い像が目の前の画面上に現れる設定で実験を開始した。頭部に取り付けた小型無線カメラで下顎切歯に固定した LED を撮影し前頭面での咀嚼運動を記録した。同時に左側の側頭筋前腹と咬筋から筋活動 (EMG) を双極導出した。【結果と考察】頭位や視線はそのままで、HMD につけたカメラの向きを被験者の足元方向に向け、直立時と同じ視覚情報を与えた際、多くの被験者で咀嚼運動パターンが Grinding Type に変化し、座位における習慣性咀嚼側での咀嚼運動パターンに近似した。この時、側頭筋 EMG に対する咬筋 EMG の割合も増大傾向にあった。咬筋 EMG 割合の増加は、以前の研究より下顎位が前方に移動することを示している。これらの変化は枕を外して自力で頭位を保持した際には現れにくくなった。以上より、仰臥位であっても直立時の視覚情報を与えるだけで咀嚼しやすくなる理由の 1 つとして、視覚情報による頸反射を介した下顎運動の制御機構が示唆された。

P2-121

咬筋運動ニューロン樹状突起での入力情報処理機構の生後変化

○中村 史朗¹、長田 翔子²、望月 文子¹、中山 希世美¹、清本 聖文¹、山本 松男²、井上 富雄¹
(¹昭大 歯 口腔生理、²昭大 歯 歯周病)

【目的】三叉神経運動ニューロンは、感覚入力や大脳皮質からの下行性入力、パタン発生器からの入力など極めて多様なシナプス入力を細胞体や樹状突起で受け取るが、そこでどのような情報処理が行われるのかは未だ不明である。そこで本研究では、幼若期ラット咬筋運動ニューロン (MMN) 樹状突起の様々な部位をレーザー光誘発性化学刺激法で刺激し、誘発される膜電位応答の応答パターンおよび発育変化を解析した。【方法】生後2~13日齢のWistar系ラット咬筋に蛍光トレーサーを注入し、咬筋運動ニューロンを逆行性軸索輸送により標識した。トレーサー注入から2~3日、深麻酔下で脳幹を摘出し、三叉神経運動核を含む前頭断脳幹スライス標本 (500 μm厚) を作製した。MMN にパッチクランプ後、スライス標本に灌流投与した300 μM MNI-caged L-glutamate にレーザー光を照射し遊離グルタミン酸で刺激し、誘発される電流応答をホールセル記録した。レーザー光は、記録ニューロン周囲に設定した39個格子の中心点に照射した。【結果と考察】生後2~5日齢では、細胞体周囲の樹状突起相当部へレーザー光を照射すると、複数箇所短潜時の脱分極または活動電位が誘発された。1 μM テトロドトキシン投与下では活動電位が抑制されたが、脱分極の大きさはほとんど減弱しなかった。生後9~13日齢の幼若ラットでも、細胞体周囲のレーザー光化学刺激によって潜時の短い脱分極が誘発されたが、脱分極の持続時間と振幅が生後2~5日齢よりも著しく減少した。また両日齢グループとも、樹状突起の刺激が遠位に加わるほど脱分極が小さくなったが、刺激の部位によっては遠位部の刺激の方が近位部の刺激よりも大きい脱分極を示す応答パターンが認められた。したがって、MMNの樹状突起にはシナプス入力の増幅機構が存在し、生後発育とともに変化する可能性が考えられる。

P2-123

海馬 CA1 における文脈学習依存的な AMPA 受容体のシナプス移行は、両側の背側海馬で見られ、腹側海馬では見られない

○水野 潤造、美津島 大^{1,2} (¹神歯大 院 口腔科学、²山口大 院医 システム神経科学)

咀嚼は海馬機能に大きく影響するため、海馬学習によるシナプス変化を解析した。我々は既に、ラットを用いて文脈学習である受動的回避学習を行い、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止することから、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。そこで本研究では、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。その結果、背側海馬の CA1 ニューロンでは左右ともに学習依存的な AMPA/NMDA 比の上昇が見られ、左右差は認められなかった。一方、腹側海馬の CA1 ニューロンでは左右で学習依存的な AMPA/NMDA 比の変化は見られなかった。また、ノイズ解析法により AMPA 成分の open channel 数を求めたところ、学習後に open channel 数は背側海馬で増加したが、腹側海馬では変化しなかった。さらに、0.5 μM テトロドトキシン存在下で、背側海馬の CA1 ニューロンから miniature EPSC (mEPSC) および IPSC (mIPSC) を記録したところ、非学習ラットと比べ学習ラットでは左右ともに mEPSC と mIPSC が有意に強化された。この mEPSC は CNQX、mIPSC はビククリンによって完全に block された。Current clamp 法で、CA1 ニューロン自身の膜電位やスパイク特性も解析したが、文脈学習依存的な変化は見られなかった。以上より、海馬における文脈学習依存的なシナプス可塑性は、背側海馬において両側性に見られるが、腹側海馬では見られないことが判明した。

P2-122

脳幹における p38 MAPK の活性化は咀嚼筋への侵害刺激により誘発される

○中塚 美智子¹、乾 千珠子¹、隈部 俊二¹、上田 甲寅¹、岩井 康智¹ (¹大歯大 口腔解剖)

【目的】咬筋に実験的に炎症を起こした際の、脳幹におけるリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞発現の経時的変化について検索し、炎症性疼痛の発症機序ならびに痛覚過敏との関連について検討した。【方法】雄性 SD ラット (250 g) の左側咬筋に LPS 2 μg/kg を生理食塩水に溶解したものを 100 μl 投与し、24 時間後に 6% 高張食塩水を 100 μl ずつ、90 分間隔で 5 回投与したものを実験群とした。対照群は LPS 2 μg/kg を生理食塩水に溶解したものを 100 μl 投与し、24 時間後に再び LPS 2 μg/kg を 100 μl 投与したもの、生理食塩水を 100 μl 投与し、24 時間後に 6% 高張食塩水を 100 μl 投与したもの、生理食塩水を 100 μl 投与し、24 時間後に再び生理食塩水を 100 μl 投与したものとした。試薬投与後 1 日、3 日、7 日、2 週にラット脳幹を摘出し、通法に従って凍結切片を作製し、免疫組織化学的染色を行った。【結果】三叉神経脊髄路核尾側亜核では、実験群において、特に試薬投与後 3 日、7 日にリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞の発現を著明に認めた。試薬投与後 1 日ではリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞は散見される程度であった。リン酸化 p38 MAPK 陽性細胞の発現は、三叉神経脊髄路核尾側亜核背内側部のみならず、背外側部や中央内側部でも認められた。また実験群においては、刺激 7 日後および 14 日後ともにリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞は刺激側のみならず非刺激側でも著明に認められた。【結論】咀嚼筋への侵害刺激により三叉神経脊髄路核尾側亜核において p38 MAPK の活性化が 2 週間程度持続し、時間の経過とともに非刺激側でも痛みを感じている可能性があることが示唆される。

P2-124

嗅覚訓練マウスを用いた食品由来芳香成分の口臭マスキング作用に関する研究

○長田 和実¹ (¹北医大 歯 生理)

【目的】本研究は 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、口臭成分の 1 つである dimethyl sulfide (DS) に対する各種食品関連の芳香物質の嗅覚マスキング作用の評価を試みたものである。【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)、などの 3,7-dimethylterpene 類に加え、丁子 (Eugenol)、アニス (Anethole)、ワサビ (Allyl isothiocyanate)、ユーカリ (Cineole) などについて嗅覚マスキング作用を検討した。23 時間絶水したマウスを Y 字型迷路の長腕部末端に置き、10 ppm DS 溶液およびその溶媒のみのにおいを Y-maze の左右両側腕より同時に提示し、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。左右両側腕のに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】3,7-dimethylterpene 類の一部の化合物は、今回測定した芳香成分の中では最も強力な DS マスキング物質であり、そのほかでは Cineole が比較的マスキング強度が高かった。Allyl isothiocyanate は強烈な三叉神経刺激作用を持つが DS に対するマスキング作用は限定的であった。Eugenol や Anethole はアミン類や脂肪酸のにおいに対して側方抑制を引き起こすことが知られているが、DS に対してはシトロネラルほどの効果を示さないことが示唆された。

P2-125

強制経口投与ストレスがうつ病モデル卵巣摘出マウスの行動に及ぼす影響と GABA 神経伝達機構との関連

○塚原 飛央¹、増原 正明¹、菌村 貴弘²、
岩井 治樹³、佐藤 友昭¹
(¹鹿大 院医歯 歯科応用薬理、²金沢医大 医
解剖 2、³鹿大 院医歯 歯科機能形態)

精神的基礎疾患のある個体に対して、慢性ストレスが GABA 神経伝達機構に与える影響は不明である。本研究では、うつ病モデルマウスである卵巣摘出 (OVX) マウスにおいて、慢性ストレスによる GABA 神経機構と行動および、 17α -エストラジオール (αE_2) 投与の影響を検討した。C57/BL6J のマウス 8 週齢に OVX または SHAM を行い、SHAM、OVX、ストレス + OVX 10 ml/kg の群に分けて検討した。更に、ストレス変化による影響を検討するため、GPR30 作動薬: G1、GPR30 拮抗薬: G15、 αE_2 、 αE_2 +G15 投与の 7 群に分け、1 日 1 回、ゾンデによる強制経口投与を行うことによりストレスを与えた。21 日後より各種行動試験に加え、組織化学的解析を行った。OVX マウスにはストレスは認知試験において新奇物質認識率を低下させたが、 αE_2 、G1 の投与によって回復した。G15 の単独投与はストレス負荷 OVX マウスに対して差はみられなかったが、 αE_2 併用投与では、 αE_2 作用を減少させた。ストレスは、高架十字迷路試験においてオープンアームの滞在時間を延長したが、 αE_2 および G1 の投与によりそれは減少させた。強制水泳試験においては、 αE_2 は無動時間を減少させ、G15 との併用投与でその効果を低下させた。組織化学的検討では、ストレス負荷は、海馬における GABA_A-R、GAD の発現を増加した。K⁺CF (KCC2) は減少した。これらの変化は αE_2 投与で抑えられ、G15 の併用投与でその作用が消失した。結論: 閉経後のうつ状態時に慢性ストレスが加わると海馬の KCC2 が減少し、神経回路の抑制/興奮の制御機構が崩れ、認知機能の低下や情動行動異常が起きている可能性が示唆された。更に、 αE_2 は GPR30 を介して KCC2 の発現を増加させることにより GABA 神経の保護作用を生じると考えられる。

P2-127

Porphyromonas gingivalis の酪酸産生機構に関する新規 CoA 転移酵素の同定とその酵素学的解析

○吉田 康夫¹、永野 恵司¹、長谷川 義明¹、
中村 好徳²、田中 貴信²、吉村 文信¹
(¹愛院大 歯 微生物、²愛院大 歯 有床義歯)

【目的】代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* は多量の短鎖脂肪酸を培養上清中に放出することが知られている。短鎖脂肪酸の一種である酪酸は上皮細胞や免疫細胞にアポトーシスを起こして歯周病の発症や進行に悪影響を与えることが報告されている。酪酸の歯肉溝内の濃度は、重度の歯周病患者の歯周ポケットでは健康人の 10 倍程度増加しており、歯周病のマーカーとしても臨床的に有用であることが示唆される。しかし、同菌の酪酸の産生機構についての分子生物学的な解明は未だなされていない。本研究では、*P. gingivalis* の酪酸産生の最終反応機構に関する分子に着目し、分子生物学的な解明を試みた。【方法】*P. gingivalis* において butyryl-CoA から酪酸を産生すると予測されている Pgn_1171 および Pgn_0725 タンパク質をコードしている遺伝子に、エリスロマイシン耐性遺伝子を挿入して不活化した。それらの変異株の培養上清の短鎖脂肪酸の量を GC/MS にて定量した。また、pGEX6p-1 ベクターを用いてそれらの組換えタンパク質を精製した。この組換えタンパク質を使って、butyryl-CoA と酢酸ナトリウムを基質として、その産生産物を GC/MS で定性し、比色法を用いて酵素学的パラメーターを決定した。【結果と考察】Pgn_1171 および Pgn_0725 遺伝子の不活化株の培養上清中の酪酸は野生株と比較して有意に低下していたが、プロピオン酸は 2 倍以上に増加していた。精製 Pgn_0725 に基質として butyryl-CoA と酢酸ナトリウムを加えたところ、酪酸の産生が認められたが、Pgn_1171 では酪酸産生能は認められなかった。以上のことから、Pgn_0725 は butyryl-CoA と酢酸ナトリウムから酪酸と acetyl-CoA を産生する CoA 転移酵素として機能することが明らかとなった。

P2-126

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¹、国分 栄仁^{1,2}、
大原 直也³、中山 浩次¹、石原 和幸^{1,2}
(¹東歯大 微生物、²東歯大 口科研 hrc8、³岡大
院医歯薬 口腔微生物、⁴長大 院医歯薬 口腔
病原微生物)

【目的】細菌の ECF シグマ因子は、菌体外の生活環境変化に回答し、菌体の環境ストレスからの回避に働く。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は DNA 修復や酸化ストレス物質の消去、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性については、明らかにされていない。本研究では、それぞれの ECF シグマ因子の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 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をクリスタルバイオレット染色法にて評価した。さらにリアルタイム PCR 法にて、バイオフィーム関連遺伝子の転写量を解析した。

【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の増加を認めた。特に PGN_0274 と PGN_1740 変異株は、その増加が顕著であった。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、当該遺伝子を相補することにより野生株と同程度に回復した。PGN_1740 変異株において、付着によりバイオフィーム形成に関わる線毛関連遺伝子 (*fim*, *mfa1*) の転写量を調べたところ、野生株と変異株の間に顕著な差は認めなかった。以上の結果より、ECF シグマ因子 PGN_0274 と PGN_1740 は、*fim*, *mfa1* 以外のバイオフィーム形成に関与するタンパク質の遺伝子発現を調整していることが示唆された。

P2-128

Porphyromonas gingivalis における菌体外のジンジパインの酵素活性に関する新規遺伝子について

○田口 裕子¹、井上 哲圭²、佐藤 啓子³、
加野 小奈美⁴、中山 真彰²、内藤 真理子³、
中山 浩次³、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長大 院医歯薬 口腔病原微生物、
⁴岡大 院医歯薬 歯科矯正)

【目的】歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) の持つプロテアーゼは歯周組織破壊に関与する本菌の代表的な病原因子である。Pg のシステインプロテアーゼであるジンジパインには、リジンジンジパイン (Kgp) とアルギニンジンジパイン (RgpA, RgpB) が含まれる。そしてジンジパインは type IX secretion system (T9SS) を介して菌体外に分泌され作用することが報告されている。本研究ではジンジパインの活性に関与する新たな遺伝子を見出したので報告する。【材料】該当遺伝子名を pap (protease associated-protein) とした。Pg 33277 株を使用し、相同組換え法により pap 欠損株を作製した。さらに、pap 欠損株のゲノム上に pap を挿入することにより相補株を作製した。野生株、pap 欠損株、pap 相補株について、上清中及び全菌体のジンジパイン活性を比較した。Kgp および RgpAB の活性測定には、蛍光基質 Z-His-Glu-Lys-MCA と Z-Phe-Arg-MCA をそれぞれ用い、37 度 10 分間反応後、蛍光強度を測定した。【結果及び考察】pap 欠損株は、血液寒天培地上で白色集落を形成した。また相補株は、野生株と同様に黒色集落を形成した。野生株と比較し、欠損株及び相補株に軽度の増殖遅延が認められた。pap 欠損株では上清中及び菌体における Kgp および RgpAB の活性が親株に比べ、ともに顕著に低下していた。また相補株ではそれらの活性の部分的な回復が認められた。以上の結果から、pap 遺伝子産物は、Pg のジンジパインの活性に影響することが示唆された。今後詳細な検討を加え、pap 遺伝子産物がどのようなメカニズムでジンジパイン活性に影響しているかを明らかにしていく予定である。

P2-129

Porphyromonas gingivalis の Mfa1 線毛構築における Mfa4 の役割の解析

○長谷川 義明^{1,3}、井貝 亮太²、出水川 雅司²、堀江 俊²、猪俣 恵¹、北井 則行²、吉村 文信³、村上 幸孝¹ (朝日大 歯 口腔微生物、²朝日大 歯 歯科矯正、³愛院大 歯 微生物)

【目的】 歯周病関連細菌 *Porphyromonas gingivalis* は少なくとも FimA および Mfa1 線毛を発現している。Mfa1 線毛はバイオフィーム形成に関わるが、その構築機序は解明されていない。近年、Mfa1 線毛の付随成分として PGN0289 (Mfa3)、PGN0290 (Mfa4) および PGN0291 (Mfa5) タンパク質が同定された。本研究では、Mfa3 および Mfa5 の Mfa1 線毛への組み込み過程における Mfa4 の役割を解析した。

【方法】 *fimA* 欠損株、*mfa4* 欠損株および *mfa4* 相補株から全菌体抽出液 (WCL)、培養上清タンパク質 (SUP)、可溶性 (SOL)、エンベロープ (ENV)、内膜 (IM) および外膜 (OM) 画分を調製した。Mfa1 線毛を *fimA* 欠損株および *mfa4* 欠損株から精製した。得られた試料を用いて抗 Mfa3 あるいは抗 Mfa5 抗血清によるウェスタンブロットを行った。

【結果と考察】 *mfa4* 欠損株の線毛には Mfa4 のみならず Mfa3 および Mfa5 も欠損していた。*fimA* 欠損株では成熟型 40-kDa Mfa3 は Mfa1 線毛共に WCL、SOL、ENV および OM において、未成熟型 43-kDa Mfa3 は主に IM において検出された。また、Mfa5 は Mfa1 線毛を含む WCL において検出され、SUP では検出されなかった。一方、*mfa4* 欠損株では未成熟型 Mfa3 は WCL、ENV、IM および OM において検出されたが、成熟型 Mfa3 はいずれの画分にも検出されなかった。また、Mfa5 は WCL では検出されないが、SUP において検出され一部分解していた。*mfa4* 相補株では Mfa3 の成熟化および Mfa5 の菌体での局在が回復した。以上の結果から、Mfa4 は、Mfa3 および Mfa5 の Mfa1 線毛への組み込みに必要であり、Mfa3 の成熟化および Mfa5 の結合と安定性に寄与することが考えられた。

P2-131

Recycling endosome に存在する *Porphyromonas gingivalis* への VAMP2 の関与

○竹内 洋輝¹、天野 敦雄¹
(¹阪大 院歯 予防歯科)

Objective: *Porphyromonas gingivalis* (Pg) can pass through gingival epithelial barrier via intracellular route. We previously showed that some of the intracellular pathogens are sorted to lysosomes and autolysosomes, while the others locates recycling endosomes (REs) and exit the host cells by the recycling pathway regulated by Rab11A. Early studies showed that vesicle associated membrane protein (VAMP2), one of soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, has a key role in the postendocytic pathways. The objective of this study is to determine the involvement of VAMP2 in intracellular trafficking of Pg.

Method: Human immortalized gingival epithelial cells (HIGECs) were transfected with enhanced green fluorescent protein (EGFP)- or mCherry-VAMP2. Overexpression of EGFP-2xFYVE or either of mCherry-Rab4A or Rab35A was used for a marker of REs or fast recycling, respectively. Knockdown of VAMP2 was performed by transfection of siVAMP2. HIGECs were infected with Pg ATCC 33277 and its intracellular localization was examined using confocal microscopy. Bacterial viability in HIGECs was determined by colony formation unit assay.

Result: At 1 hour after infection, intracellular Pg was colocalized with mCherry-VAMP2 and EGFP-2xFYVE in HIGECs, and the ratio of co-localization decreased in a time dependent manner. Pg was next associated with mCherry-Rab4A or Rab35A in HIGECs, reaching a peak at 3 hours after infection. Pg was also colocalized with EGFP-VAMP2 and either of mCherry-Rab4A or Rab35A in HIGECs. Furthermore, knockdown of VAMP2 increased Pg-viability in HIGECs and decreased bacterial viability outside HIGECs.

Conclusion: VAMP2 is suggested to be involved in the intracellular trafficking of Pg in REs.

P2-130

歯周病関連細菌 *Porphyromonas gingivalis* における蛋白質リン酸化の増殖への影響

○出水川 雅司^{1,2}、井貝 亮太¹、堀江 俊^{1,2}、長谷川 義明³、猪俣 恵²、稲葉 裕明²、引頭 毅²、吉村 文信³、北井 則行¹、村上 幸孝² (朝日大 歯 歯科矯正、²朝日大 歯 口腔微生物、³愛院大 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り、近年では原核生物においてもリン酸化蛋白質の研究が進められている。われわれは、歯周病関連細菌 *P. gingivalis* の菌体成分から主要なリン酸化蛋白質の分離を行った。本研究では、*P. gingivalis* の主要なリン酸化蛋白質の修飾様式を調べるとともに、リン酸化酵素阻害剤を用いて、菌体増殖への影響も検討した。

【方法】 *P. gingivalis* ATCC 33277 株を通常に従って嫌気培養した。回収した菌体を破碎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、電気泳動で展開後、SYPRO Ruby 染色およびリン酸化蛋白質に特異的な Pro-Q Diamond 染色を行った。PVDF 膜に転写した後、抗リン酸化アミノ酸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。また、リン酸化酵素阻害剤を培地に添加した後、経時的に菌体増殖をモニターした。

【結果と考察】 吸着画分を電気泳動で展開すると、SYPRO Ruby 染色でいくつかのバンドが検出され、Pro-Q Diamond 染色でもそれらのバンドが検出された。すべてのバンドは、抗リン酸化チロシン抗体で強く検出された。チロシンキナーゼ阻害剤により、定常期の菌の濁度は半分程度になった。これらの結果から、*P. gingivalis* における蛋白質のチロシンリン酸化が、菌体増殖に関与することが示唆された。

P2-132

マウス実験的歯周炎モデルにおける生薬「鶏血藤」の循環改善効果

○遠山 歳三¹、塗々木 和男²、高橋 俊介³、吉野 文彦³、吉田 彩佳³、松尾 雅斗³、高橋 聡子³、渡辺 清子¹、浜田 信城¹
(¹神歯大 院歯 微生物感染、²神歯大 看護、³神歯大 院歯 口腔科学)

【目的】 鶏血藤 *Jixueteng* は、マメ科の蜜花豆 (*Spatholobus suberectus* DUNN) の茎から抽出される生理活性物質であり、循環改善、鎮痛ならびに赤血球及び白血球の増産効果を有することが知られている。我々は、生薬である鶏血藤抽出液がヒト歯周病原細菌に対する殺菌作用を有することを報告している。本研究では、鶏血藤抽出液の活性酸素消去作用を検討するとともに、*Porphyromonas gingivalis* (PG) 接種によるマウス実験的歯周炎モデルを用いて、歯周局所の微小循環構造変化を解析し、歯科臨床応用への可能性について検討した。**【方法】** 鶏血藤の活性酸素種フリーラジカル消去活性測定は、0.0025%～10%濃度の鶏血藤抽出液について微弱発光法および電子スピン共鳴 (ESR) 装置を用いて測定した。マウス実験的歯周炎モデル：マウス 6 週齢 (♂) に PG 生菌を口腔内接種して歯周炎を惹起させた後、8%鶏血藤抽出液を投与し、PG 感染終了後から 1 週間ごとに 6 週間にわたり各群 6 匹について血管鑄型標本および骨格標本作製し、鶏血藤投与による歯周組織への影響を検討した。

【結果と考察】 鶏血藤抽出液のフリーラジカル消去活性は、濃度依存的に認められ、8%濃度で最も強い消去活性であった。マウス実験的歯周炎モデルにおいて PG 感染群は、PG 非感染群に比較して歯槽骨吸収量と歯周組織毛細血管網の密度減少が経時的に認められた。一方、PG 感染+鶏血藤投与群では、PG 非感染群と同程度の歯槽骨吸収であり、鶏血藤が PG に対する殺菌効果のみならず、活性酸素種フリーラジカル消去能に加え、歯槽骨吸収抑制と肉肉微小循環の改善効果が認められた。以上の結果から、鶏血藤は歯周炎の予防と治療に有効な生薬であることが示唆された。

P2-133

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する
プロポリスの抗菌効果の検討
○中尾 龍馬¹、泉福 英信¹
(国立感染症研 細菌1)

プロポリスはみつばちの唾液、樹液、花粉などから成る物質であり、蜂の巣の内部を滑らかにし外部からの病原体の侵入を防いでいる。プロポリスは歯周病細菌 *P. gingivalis* に対して抗菌作用を示すが、その作用機序の詳細は不明、また歯周病に対する予防・治療効果も未知である。本研究では、プロポリスの歯周病治療への応用を念頭に、プロポリスの *P. gingivalis* に対する抗菌効果の体系的な検討を行った。菌株は *P. gingivalis* ATCC 33277 を用い、BHI 血液寒天培地または BHI 液体培地にヘミンとメナジオンを加えて培養した。プロポリスはエタノール抽出画分を用いた。*P. gingivalis* に対するプロポリスの増殖抑制効果は、菌液の濁度及び CFU を経時的に測定し評価した。*P. gingivalis* に対する殺菌効果は、作用機序の異なる二種の抗菌薬であるアンピシリンとテトラサイクリンによる効果と比較、検討した。プロポリスの *P. gingivalis* 菌体に対する効果の形態学的な評価は、透過型電子顕微鏡観察により行った。プロポリスは 100 µg/ml の濃度で *P. gingivalis* の生育を完全に阻害した。その効果は殺菌的であり、アンピシリンのそれに類似していた。電子顕微鏡においては、正常な *P. gingivalis* の菌体表層に観察される二層構造に変化が見られた。プロポリス、およびアンピシリンを添加した場合、この表層構造が不明瞭となったことから、内・外膜の連続性が破壊され溶菌していることが示唆された。一方で、テトラサイクリンや陰性標準添加においてはこの変化が観察されなかった。以上より、プロポリスの *P. gingivalis* に対する殺菌的作用が確認され、細胞表層に作用して菌体を破壊することが示唆された。本研究の一部は、山田養蜂場みつばち研究助成金の援助をうけて実施された。

P2-135

Porphyromonas gingivalis は OmpA 様蛋白質を介して血管内皮細胞に付着し細胞応答や細胞死を誘導する
○猪俣 恵¹、引頭 毅¹、稲葉 裕明¹、堀江 俊²、北井 則行²、村上 幸孝¹ (朝日大 歯 口腔微生物、²朝日大 歯 歯科矯正)

【目的】歯周治療が、血管内皮機能を改善するという臨床的エビデンスが報告されている。これに従い、歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の血管内皮細胞に及ぼす影響について理解を深めることは重要である。本研究では、*Pg* が主要外膜蛋白質である OmpA 様蛋白質を介して血管内皮細胞に付着し、細胞応答や細胞死を誘導することを見出したので報告する。【材料と方法】*Pg* ATCC 33277 株 (WT) および WT を親株として作製した OmpA 様蛋白質遺伝子欠損株 ($\Delta 695$ 、 $\Delta 694$ 、 $\Delta 695-694$) を用いた。*Pg* の付着・侵入能は、TNF- α で刺激し E-セレクトリンを発現させたヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) において培養法で調べた。*Pg* の細胞応答に及ぼす影響は、HUVEC の CXCL8、CCL2、CCL5 および CXCL10 の発現量を定量的 PCR によって調べることで解析した。*Pg* の細胞増殖または細胞死に与える影響は、生細胞または死細胞由来のプロテアーゼ活性を測定することで解析した。また、OmpA 様蛋白質は、WT の全菌体抽出液より WGA レクチンアフィニティーカラムで分離し、同蛋白質のセレクトリン結合能は ELISA にて調べた。【結果】WT は欠損株と比較して、有意に HUVEC に付着・侵入した。WT では欠損株と比較して、ケモカインの発現誘導能が弱かった。さらに、WT は欠損株と比較して、細胞増殖を抑制するとともに、細胞死を誘導した。精製 OmpA 様蛋白質は、E-セレクトリンならびに P-セレクトリンに濃度依存的に結合した。【考察】*Pg* は OmpA 様蛋白質を介して血管内皮細胞に発現誘導されたセレクトリンに付着し、侵入することが考えられた。さらに、細胞に侵入した *Pg* は、OmpA 様蛋白質に依存的に宿主応答から逃れ、細胞死を誘導することが考えられた。

P2-134

ケニアにおける HIV 感染と歯周病原細菌感染との関係
○中山 浩次¹
(¹長大 院医歯薬 口腔病原微生物)

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の感染・再活性化を歯周病原細菌感染が助長・誘発する可能性を示唆する研究結果が複数の研究者により報告されている。長大学はケニア共和国に長大学アフリカ海外教育研究拠点を設立し、ケニア中央医学研究所および世界保健機関アフリカ地域事務所との協力体制のもとに HIV 感染を含めた複数感染症の一括同時診断技術の分子生物学的研究・開発を実施している。本研究目的はケニア地区における HIV 感染と歯周病原細菌感染との関係を明らかにすることにある。抗原は HIV の Gag (group specific antigen) のマトリックス (MA) とカプシド (CA=p24) の組換えタンパク質を、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)、*Tannerella forsythia* (*Tf*)、*Prevotella intermedia* (*Pi*)、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) の菌体抽出液を用い、マルチプレックス法で解析した。*Pg* 抗体陽性者 78 人中 HIV 抗体陽性者 21 人 (26.9%)、*Pg* 抗体陰性者 196 人中 HIV 抗体陽性者 82 人 (41.8%)、*Pi* 抗体陽性者 50 人中 HIV 抗体陽性者 16 人 (32.0%)、*Pi* 抗体陰性者 223 人中 HIV 抗体陽性者 86 人 (38.6%)、*Tf* 抗体陽性者 10 人中 HIV 抗体陽性者 3 人 (30.0%)、*Tf* 抗体陰性者 263 人中 HIV 抗体陽性者 100 人 (38.0%)、*Aa* 抗体陽性者 47 人中 HIV 抗体陽性者 17 人 (36.2%)、*Aa* 抗体陰性者 226 人中 HIV 抗体陽性者 86 人 (38.1%) であった。どの歯周病原細菌についても陽性者は陰性者に比較して HIV 抗体陽性率が低かった。非会員共同研究者：金子聰、藤井仁人、門脇知子

P2-136

Tannerella forsythia が有する OmpA 様蛋白質の宿主細胞表層レクチンへの結合能の解析
○堀江 俊¹、猪俣 恵²、出水川 雅司¹、稲葉 裕明²、引頭 毅²、北井 則行²、村上 幸孝² (朝日大 歯 歯科矯正、²朝日大 歯 口腔微生物)

【目的】歯周病原細菌 *Tannerella forsythia* の主要外膜蛋白質である OmpA 様蛋白質は、菌体の形態維持や細胞外マトリックスへの付着に寄与することが報告されている。さらに、OmpA 様蛋白質は WGA レクチンアフィニティーカラムで分離できることも明らかになっている。本研究では、分離した OmpA 様蛋白質の宿主細胞表層レクチンへの結合性を調べることを目的とした。【材料と方法】*T. forsythia* ATCC 43037 株を使用し、通法に従い嫌気培養した。OmpA 様蛋白質は、全菌体抽出液より WGA レクチンアフィニティーカラムで分離した。精製 OmpA 様蛋白質の宿主細胞表層レクチンへの結合能は、ELISA にて調べた。【結果および考察】精製 OmpA 様蛋白質は、血管内皮細胞表層に存在する E-セレクトリン、P-セレクトリンならびに樹状細胞表層に存在する DC-SIGN に濃度依存的に結合した。OmpA 様蛋白質の E-セレクトリンおよび P-セレクトリンへの結合は、N-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac) によって有意に抑制された。さらに、DC-SIGN への結合は、N-アセチルグルコサミン、Neu5Ac ならびにマンノースによって有意に抑制された。これらの結果から、*T. forsythia* の OmpA 様蛋白質は、糖を介して宿主細胞表層に存在するレクチンに結合することが考えられた。今後、得られた現象について詳細なメカニズムを調べるとともに、野生株と OmpA 様蛋白質遺伝子欠損株間で宿主細胞への付着・侵入能に差があるのかを解析する予定である。

P2-137

Fusobacterium nucleatum subsp. *polymorphum* AK株のVSC産生に対する*P. acnes*の培養上清の影響

○鎌口 有秀¹、長田 和実²、笹本 洋平³、岡本 公彰⁴、中澤 太¹ (北医大 歯 微生物、²北医大 歯 生理、³北医大 歯 クラウンブリッジインプラント、⁴鶴見大 歯 口腔細菌)

Background: In our previous presentation, *Fusobacterium nucleatum* subsp. *polymorphum* (FNP) AK strain did not produce volatile sulfur containing compounds (VSCs) in Tryptic Soy broth supplemented with hemin and menadione (TYHM medium). On the other hand, the VSCs production from FNP AK strain were induced by co-culturing with *Propionibacterium acnes* (PA). However, the culture supernatant of PA with using TYHM medium did not induce the VSCs from FNP AK strain. Recently, it was observed that the culture supernatant from PA with using another medium induced the VSCs from FNP AK strain. **Purpose:** We studied the effect of another medium on the VSCs production from FNP AK strain. **Methods:** PA KT strain was cultured anaerobically in modified GAM medium. Culture supernatant of PA KT strain was obtained with centrifugation and filtration from overnight culture in modified GAM medium. At using modified GAM medium, the culture supernatant from PA KT strain was added into cells suspension of FNP AK strain at a rate of 0 % and 50 %. This preparation was cultured for overnight. Besides, FNP AK strain was co-cultured with PA KT in modified GAM medium. After cultivation, these culture supernatants were harvested and analyzed with GC-MS apparatus. **Results:** VSCs were not detected in the culture supernatant without the culture supernatant of PA KT strain. However, the VSCs were slightly detected in the culture supernatant with 50 % culture supernatant of PA KT. Moreover, strong VSCs production was observed in culture supernatant from co-culturing with PA KT strain in modified GAM medium. These results clearly indicated that culture supernatant from PA KT using modified GAM medium induce the VSCs production from FNP AK strain. **Conclusion:** It is suggested that the culture supernatant from PA KT strain may contain unknown chemosignals which evoke the VSCs production to FNP AK strain.

P2-139

歯周病原性細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* GFP 発現株の作成

○瀧澤 智美¹、桑原 紀子²、落合 智子¹ (大松戸歯 口腔免疫、²大松戸歯 口腔微生物)

【目的】最近、動脈硬化の発症、進展に歯周病原性細菌感染が関与しているとの知見が報告されている。筆者らの研究室でも歯周病原性細菌感染が動脈硬化発症、進展に関与していると *in vivo* 及び *in vitro* で報告している。今回我々は、歯周病関連細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) の感染後における生体内動態、局在を解析することを目的に GFP 発現 A.a. の作成を行い、A.a. のロイコトキシン (LTX) プロモーター制御で A.a. に GFP を発現させることを検討した。**【方法と結果】** GFP 構造遺伝子と A.a.700685 株 LTX プロモーター領域に対するプライマーの設計を行いそれぞれ PCR で増幅させた。GFP 構造遺伝子の PCR 産物をクローニング用プラスミド pResKm に挿入し、大腸菌 XL-1 に形質転換した。さらに LTX プロモーター領域を、pResKm-GFP の上流に *in-flame* で挿入した。次に LTX プロモーター及び GFP 遺伝子領域を制限酵素で切り出し、A.a. と大腸菌のシャトルベクターである pUminiTn5 に挿入し、大腸菌 DH5α に形質転換した。LTX プロモーターと GFP 遺伝子領域の配列はシーケンス解析にて確認した。得られた pUminiTn5-GFP で A.a.700685 株を形質転換した。スクリーニングにより得られた GFP 発現 A.a. 株を FACS 解析した結果、野生型 A.a. に比較して GFP 発現 A.a. は GFP 強度がわずかに増加した。

P2-138

Prevotella intermedia における病原遺伝子特異的変異株作成

○内藤 真理子¹、庄子 幹郎¹、成田 由香¹、中山 浩次¹ (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)

【目的】 代表的な歯周病原細菌の一つである *Prevotella intermedia* は慢性歯周炎のみならず妊娠性歯肉炎の患部からも検出される。本菌の病原因子としてはシステインプロテアーゼ interpain A や細菌表面の接着分子などが考えられている。また *Porphyromonas gingivalis* から我々のグループが見出した病原因子の輸送に関わる新規の分泌システム、Type IX 分泌システム (T9SS) の遺伝子を *Pre. intermedia* は保有することも示唆されている。しかし *Pre. intermedia* では遺伝子操作技術が確立されていない為に詳細な解析は行われてなかった。そこで本研究では本菌の遺伝子操作技術の確立と遺伝子特異的な変異株作成を行った。**【結果と考察】** *Pre. intermedia* の種々の菌株の中から接合伝達によりプラスミドが導入可能な臨床分離株 1 株を見出した。この臨床分離株を用いて全ゲノム配列の決定をこなした。この決定した配列から 2797 個の遺伝子を検出、T9SS に必須の遺伝子群のすべてが本菌ゲノムに存在することを確認した。T9SS の必須遺伝子、*porK* と *porT* の遺伝子特異的な変異株を作成した。作成した *Pre. intermedia porK*, *porT* 変異株の性状を調べたところ *Por. gingivalis* の T9SS 変異株と同様に血液寒天上でのヘム鉄の獲得による黒色素産生性がみられなくなった。また赤血球凝集活性とバイオフィーム形成活性を調べたところ、*Pre. intermedia porK*, *porT* 変異株ではそれらの活性が失われていた。これらの結果から *Pre. intermedia* での病原因子の輸送や、黒色素産生性、赤血球凝集活性、バイオフィーム形成活性に T9SS が重要であることが明らかになった。

P2-140

Treponema denticola の細胞侵入に対する Malassez 上皮遺残細胞の動態

○国分 栄仁^{1,2}、菊池 有一朗^{1,2}、柴山 和子^{1,2}、石原 和幸^{1,2} (東歯大 微生物、²東歯大 口腔科学研究セ)

歯周病原性菌のひとつである *Treponema denticola* は、*Porphyromonas gingivalis* および *Tannerella forsythia* とともに慢性歯周炎病巣から高頻度に検出される。*T. denticola* の上皮細胞に対する病原性を明らかにするため、病原性遺伝子欠損株を用いてマラッセ上皮遺残細胞に対する細胞間の破綻機構、上皮組織細胞への侵入、免疫機能に関して動的な病態代謝過程における変化の検討を行った。ブタ由来マラッセ上皮遺残細胞を培養後、*T. denticola* ATCC 35405 (野性株)、表面プロテアーゼ (Prp) または Major outer sheath protein (Msp) 欠損株をそれぞれ MOI 1:100 の割合で感染させた。細胞は走査型電子顕微鏡 (SEM) にて侵入の観察、および共焦点レーザー顕微鏡を用いた蛍光抗体法により Interleukin (IL)-2、IL-6、heat shock protein 70 (HSP70) タンパクの発現を観察し、Western blotting 法にてタンパクの発現を確認した。また、感染後に細胞から mRNA を採取し、RT-PCR 法にて IL-1 および IL-6、HSP70 の転写量を定量した。感染 30 分後から侵入を示唆する像を認め、蛍光抗体法および RT-PCR 法の解析結果では、IL-1 発現は野性株での減少が認められた。IL-6 発現量は野性株の感染後 1 時間でピークを示し、HSP70 は感染後 3 時間から増加した。Prp および Msp 欠損株共に HSP70 mRNA 発現は減少した。*T. denticola* は感染により上皮細胞のストレスタンパクおよびサイトカイン産生を引き起こし、そのプロセスに Msp および Prp が関与する事が示唆された。

P2-141

EBV 潜伏感染維持と破綻機構の解明と炎症性疾患への関与

○齋藤 夕子¹、今井 健一¹、落合 邦康¹
(¹日大 歯 細菌)

Epstein-Barr ウイルス (EBV) はヒトを宿主とし、成人の 90% 以上に不顕性感染している。唾液を介して口腔咽頭上皮に感染した後増殖し、近傍の B 細胞内ですばやく潜伏感染状態となる。ウイルスと宿主の共存関係が破綻すると、EBV 再活性化による感染細胞の異常増殖がおこり伝染性単核球症や上咽頭がんなどが発症する。近年、EBV の活性化が慢性関節リウマチや大腸性潰瘍炎等の炎症疾患の発症に関与しているとの報告がなされている。われわれは、昨年の本学会で EBV が慢性歯周炎患者の歯周ポケットから有意に検出されることを報告した。しかしながら、EBV の潜伏感染維持と破綻の分子メカニズムはよくわかっていない。未だ EBV 感染症に有効な薬剤は存在せず、分子レベルでのウイルス複製機構の解明が急務となっている。

われわれは EBV のゲノム DNA が宿主細胞に感染した後に環状となり、クロマチン構造をとることに着目し研究を行った。その結果、ヒストンメチル化酵素 Suv39h1 が H3K9 のトリメチル化を介し EBV の発現を負に制御することで、EBV 潜伏感染の成立に深くかかわっていることを見出した。Suv39h1 特異的阻害剤カエトシンは EBV 再活性化を誘導したが、興味深いことに、HDAC 阻害剤との併用により相乗的なウイルス複製効果が認められた。また、H3K9 ジメチル化酵素 G9a の関与は認められなかったことから、EBV 潜伏感染維持において、Suv39h1 によるヒストンメチル化と HDAC による脱アセチル化が重要な役割を担っていることが示唆された。一方、EBV の再活性化は、潜伏感染維持機構以上に不明な点が多く、生体内においてどのような状態が潜伏感染の破綻を引き起こすかは解明されていない。われわれは、歯周病原菌の代謝産物・酪酸がウイルスプロモーターのアセチル化を介して潜伏感染 EBV を再活性化することを明らかとした。

現在、活性化した EBV がどのように炎症性疾患に関与するのかについて解析を進めているので併せて報告する。

P2-143

歯周組織の健常マーカーの指標となり得る細菌の検索

○續橋 治¹、内堀 聡史²、齋藤 真規¹、
桑原 紀子¹ (¹日大 松戸歯 口腔微生物、²日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)

【目的】近年、メタゲノム解析によってヒト口腔細菌叢の全貌が明らかにされつつあり、歯周健常者と歯周炎患者との細菌叢の相違を比較した報告も多く散見される。その中で *Rothia dentocariosa* (*R.d*) が歯周健常者に有意に認められ、さらに非糖尿病の歯周健常者において *Corynebacterium matrucholii* (*C.m*) が有意に多いとの報告もみられる。そこで、これらの口腔細菌が歯周組織の健常マーカーの指標となり得るか否かを各選択培地を用いた培養法により調査した。【方法】歯周健常者、糖尿病罹患および非糖尿病罹患歯周炎患者の 3 群に分け、歯肉溝滲出液を採取し、我々が以前開発した 4 つの選択培地、すなわち *R.d*、*R. mucilaginosa*、*R. aeria*、口腔 *Corynebacterium* の各分離用選択培地、また総菌用血液平板にそれぞれ接種後、培養を行った。培養後に各平板培地上に形成された集落から CFU を算定した。菌種の確認は特異的プライマーを用いた PCR 法で行った。そして 3 群における *R.d* と *C.m* を含む *Rothia* 属および口腔 *Corynebacterium* 属菌の CFU と総菌数に対する検出比率の比較検討を行った。CFU と検出比率の統計的分析は Kruskal-Wallis ANOVA を用いた。【結果と考察】*R.d* は糖尿病罹患および非糖尿病罹患歯周炎患者群と比較して、歯周健常者群において有意に CFU と総菌数に対する検出比率が低かった。また、*C.m* は歯周健常者群において非糖尿病罹患歯周炎患者群と比較して、有意に CFU と総菌数に対する検出比率が低かった。しかし、糖尿病罹患歯周炎患者群においては、歯周健常者よりも CFU と総菌数に対する検出比率が高かった。これらの結果から、*R.d* の CFU と総菌数に対する検出比率は歯周組織の健常マーカーの指標となり得、また *C.m* の結果を組み合わせることで糖尿病罹患歯周炎患者の判定も可能なことが示唆された。

P2-142

EBV は NF- κ B を活性化し歯肉線維芽細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する

○今井 健一¹、齋藤 夕子¹、落合 邦康¹
(¹日大 歯 細菌)

近年、Epstein-Barr ウイルス (EBV) と歯周疾患発症との関連性を示す興味深い臨床研究データが複数の施設から報告されている。われわれは本邦で初めて歯周病患者の歯周ポケットと歯根肉芽腫の病変部で EBV が検出されることを報告した。歯周疾患の主な原因が宿主側に求められる中、宿主細胞内に寄生し免疫機能低下を誘導するウイルスがその発症に関与するという説は、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周疾患の病因論確立に繋がる可能性がある。しかしながら、ウイルスがどのように病態形成に関与しているのか、その具体的な分子機構に関しては世界的に報告がない。

EBV は、成人の 90% 以上に不顕性感染しているため、歯周疾患発症において潜伏ウイルスが活性化状態になることが必須である。われわれは、歯周病原菌が代謝産物の酪酸を介して潜伏感染 EBV を再活性化することを明らかとした。つまり、歯周病原菌がウイルス活性化のトリガーとなっている可能性が強く示唆される。さらに、感染能をなくした EBV が転写レベルで NF- κ B を活性化することで、歯肉線維芽細胞から大量の IL-6 や IL-8 を誘導する事を見出した。この事実は、ウイルスが本来の感染細胞でない歯周組織の細胞に対しても、細胞と接触するのみで炎症性サイトカインを誘導できる事を意味している。歯周疾患の発症と進展において、炎症性サイトカインは骨吸収への関与など中心的な役割を演じる。従って、EBV が局所および全身の相乗的な作用により歯周疾患の進展に深く関与している事が示唆され、これまで細菌だけではうまく説明ができなかった様々な歯周疾患の症状をウイルスで説明できる可能性があるばかりでなく、細菌感染症と考えられてきた歯周疾患の病因を見直す必要性もある。EBV が「歯周病原ウイルス」となりえるのか、新たな視点に立った歯周疾患の病態の理解が新しい治療と予防法の開発につながることを考え、現在動物実験も含め研究を進めている。

P2-144

病原真菌 *Candida glabrata* の Hsp70 タンパク質 Sse1 の機能解析

○永尾 潤一¹、長 環¹、今吉 理恵子¹、
橋本 麻利江¹、田崎 園子¹、田中 芳彦¹
(¹福歯大 感染生物)

病原真菌 *Candida* 属は、宿主が健常な場合は問題ないが、高齢者や免疫不全患者などの易感染宿主では重篤な日和見感染を起こす。近年、既知の抗真菌薬に対する耐性菌の出現が報告されており、問題視されている。我々は病原真菌 *Candida albicans* の heat shock protein 70 (Hsp70) タンパク質をコードする遺伝子 *SSE1* を単離し、その機能解析を行ってきた。これまでに、構築した *SSE1* 発現制御株を解析することにより、Sse1 はカルシニューリン経路を正に制御することで、細胞膜合成阻害活性を示すアゾール系抗真菌薬であるフルコナゾールやイトラコゾールに対する抵抗性に関与することを見出している。臨床において、*C. glabrata* による真菌症が増加傾向にある。*C. glabrata* の重要な特徴として、アゾール系抗真菌薬に対する感受性が低いことが挙げられる。今回、我々は *C. glabrata* Sse1 (*C. albicans* Sse1 との相同性 63%) に着目し、抗真菌薬抵抗性への関与を解析した。*C. glabrata* において *SSE1* 発現を抑制すると、フルコナゾールやイトラコゾールに対して高い感受性を示した。しかし、細胞膜傷害を示すアムホテリシン B や細胞壁合成阻害活性を示すミカファンギンに対する感受性には影響は見られなかった。Sse1 は *C. albicans* だけでなく、*C. glabrata* においてもアゾール系抗真菌薬に対する抵抗性を制御する新規な因子であることが明らかとなった。現在、*C. glabrata* における Sse1 のカルシニューリン経路や他の薬剤抵抗性経路への関与を詳細に解析している。

P2-145

新規バイオマテリアル S-PRG フィラーによる *Candida albicans* の付着と菌糸型変換に及ぼす影響

○田村 宗明^{1,2}、阿部 和正¹、大屋 学^{1,3}、
関 啓介^{1,3,4}、落合 邦康^{1,2}
(¹日大 歯 細菌、²日大 総歯研 生体防御、³日大 歯 口腔健康科学、⁴日大 歯 総合歯)

【目的】近年、高齢者の増加に伴い口腔環境の維持改善が重要課題となっている。要介護高齢者は、自立高齢者に比べ口腔清掃状態が悪く、誤嚥性肺炎を発症する可能性が高まっている。特に、日和見感染症の起因菌である *Candida albicans* は、高齢者において装着率が高い義歯床のレジンに付着しやすく、病原性に関わる菌糸型に変換することから、新たな抗菌作用を有する歯科材料の開発が必要である。フッ素を含む6種のイオンを放出する S-PRG フィラーは、リチャージが可能な新規バイオマテリアルである (Ito S. et al., J Dent, 2011)。今回、この S-PRG フィラーが *C. albicans* の病原性である付着能と二形性に及ぼす影響について検討した。【方法】供試菌株として *C. albicans* NUD202 株を用いた。S-PRG フィラーより放出したイオン水を各種濃度で培地に混和し、24 時間培養後の供試菌の濁度を測定すると共に菌形を評価した。付着能については、S-PRG フィラーを各種濃度で混入した義歯床用レジンに菌液で処理し、付着菌数を CFU で算定した。また、付着能および菌糸型変換に関与するタンパクの mRNA 発現量について Real Time PCR にて解析した。【結果および考察】S-PRG フィラーより放出したイオンは、濃度依存的に *C. albicans* の増殖と菌糸型変換を抑制した。レジン片への付着菌数も S-PRG の含有濃度依存的に減少した。さらに、付着および菌糸型変換に関与する mRNA 発現量の減少も見られた。以上の結果から、義歯作成時において、S-PRG フィラー含有レジンの使用により、*C. albicans* の義歯への付着菌数の減少と病原性が抑制できる可能性が示唆された。

P2-146

サケ由来プロタミン派生ペプチドの抗真菌活性に関する評価

○長 環¹、永尾 潤一¹、今吉 理恵子¹、
橋本 麻利江¹、田崎 園子¹、田中 芳彦¹
(¹福歯大 感染生物)

抗真菌活性を有するサケ由来プロタミンは真菌に対してほとんど活性を示さないが、プロタミンを構成する一部のアミノ酸配列 VSRRRRRRGGRRRR (以下プロタミンペプチド) には口腔常在真菌の *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た。プロタミンペプチドは強い塩基性を示すことから、既によく研究されている塩基性ペプチドのヒト唾液由来塩基性ヒスタチン 5 やヒト免疫不全ウイルス由来塩基性 Tat ペプチドとその抗真菌活性の特性を比較すると、バイオフィルムマトリクス成分 β -1,3-グルカンに抗真菌活性を抑制されない、*C. glabrata* に対し抗真菌活性を示すなど優れた特性を示すことが判明した。また、プロタミンペプチドは酵母形細胞に透過して殺菌作用を示し、菌糸形細胞の表面に付着して菌糸発育抑制を示した。すなわち、プロタミンペプチドは *C. albicans* の酵母形にも菌糸形にも抗真菌活性を示した。しかしながら塩基性ペプチドの臨床応用を試みる際には、生体に存在する塩の影響が懸念される。そこで抗真菌活性を維持し塩感受性が低い改変プロタミンペプチドの作製を行った。これまでの直鎖型をジスルフィド結合で環状型に改変することにより塩感受性を低下させることができた。その改変ペプチドを用いて口腔カンジダ症モデルマウスにおける抗真菌活性を評価した結果、その有効性が示された。(会員外研究協力者：マルハニチロ 中央研究所 庵原啓司、御手洗誠、帝京大学 医真菌研究センター 安部茂、羽山和美)

P2-147

ヒト口腔内細菌叢に対する亜鉛イオンの影響

○鈴木 奈央¹、中野 善夫²、松尾 忠行³、
米田 雅裕¹、廣藤 卓雄¹ (¹福歯大 総合歯科、
²日大 歯 化学、³福岡医短大 歯科衛生)

【目的】口臭の主な原因は口腔内細菌の産生する揮発性硫化物である。亜鉛イオンは揮発性硫化物と結合し不揮発化すると考えられ、口臭抑制剤として利用されてきたが、一方で、亜鉛イオンによって生育が阻害される菌も報告されてきた。我々は、亜鉛イオンがある特定の種の口腔内細菌の生育を抑制することによっても口臭を抑える効果を持つのではないかと予測し、塩化亜鉛溶液による洗口実験を行い、唾液中の口腔内細菌叢がどのように変動するのかを調べた。【方法】本研究は福岡歯科大学・福岡医療短期大学倫理審査委員会により承認を得て実施した (第 233 号)。福岡医療短期大学学生 20 名を対象とし、被験者は 0.3% 塩化亜鉛溶液 5 mL で一日 3 回、4 週間洗口を行った。洗口開始前と 4 週間後の終業後に、飲食および洗口から 4 時間以上経過した条件で刺激唾液を採取した。唾液より抽出した細菌 DNA から、16S rRNA 遺伝子を PCR によって増幅し、高速シーケンス解析法によって 1150 万リード数 (約 2.8 億塩基) の配列が得られた。OTU 解析後、口腔内細菌 16S rRNA 塩基配列データベースを用いて相同性検索を行い、菌叢解析を行った。【結果・考察】*Terrahaeomophilus aromaticivorans*、*Porphyromonas* 属細菌、*Fusobacterium nucleatum*、*Corynebacterium durum* などが減少し、口臭の原因菌として報告されている菌種が複数含まれていた。一方、*Rothia* 属、*Actinomyces* 属などに増加する菌種が見られた。しかし、全体として細菌叢構成種における大きな変動は見られず、亜鉛イオンの影響を受ける種は一部に限られることが判った。口臭の原因菌として知られているものが複数減少することが明らかになり、亜鉛イオンは揮発性硫化物と結合するだけでなく、口臭原因菌の生育を抑えることでも口臭を抑制する効果をもたらすことが示唆された。

P2-148

フランス海岸松抽出成分含有ガムの口臭抑制効果の検討

○渡辺 清子¹、浜田 信城¹
(¹神歯大 院 微生物感染)

【目的】ピクノジェノール (PYC) は、フランス海岸松 (*Pinus pinaster* Aiton) の樹皮から抽出される植物由来生理活性物質であり、抗酸化作用、抗炎症作用ならびに種々の細菌に対する高い抗菌活性を有することが知られている。本研究では、PYC 含有チューイングガムを日常的に摂取することによる口臭抑制効果について検討した。【材料および方法】歯周治療を行っていない 21 名の被験者を無作為に実験群 (11 名) および対照群 (10 名) に分け、実験群は 1 回当たり 5 mg の PYC 含有ガムを 1 日 6 回、1 回につき 15 分間、対照群は PYC を含有しないプラセボガムを同様に噛むよう指示した。口気中の揮発性硫化物 (VSCs) 量の測定は実験開始時、2 週間後、ならびに 4 週間後に OralChromaTM を用いて行った。舌苔量の変化は肉眼的に判定した。唾液および舌苔中の硫化水素産生細菌数は 0.05% cysteine、0.12% glutathione ならびに 0.02% lead acetate を含有するプルセラ血液寒天培地を用いて培養し算出した。【結果および考察】実験開始時における各被験者の総 VSCs 量はいずれも認知閾値を超えていたが、PYC ガム群では 2 週間ガムを摂取することにより、いずれの VSC 量も有意に減少していた。試験開始 4 週間後において、PYC ガム群の舌苔量は対照群と比較して明らかな減少が認められ、唾液中の硫化水素産生細菌数が有意に減少していた。以上の結果から、PYC 含有チューイングガムの日常的な摂取は舌苔の蓄積を減少させるとともに唾液中の硫化水素産生細菌数を減少させることにより口臭を軽減させる効果を有することが示唆された。

P2-149

義歯装着患者の口腔、デンチャープラークおよび手指におけるブドウ球菌の分布と遺伝子型の相同性

○内堀 聡史¹、小林 平¹、會田 雅啓¹
(¹日大 松戸歯 クラウンブリッジ補綴)

【目的】義歯は、高齢者における日和見感染起因菌の温床となると考えられている。そこで化膿性疾患の主な病原菌であるブドウ球菌に着目し、義歯装着者デンチャープラーク中のメチシリン耐性を含むブドウ球菌の菌種分布と総菌数に対するブドウ球菌の検出比率を調査した。また、AP-PCR法により遺伝子学的に共通であるか否かを検証し、義歯を介したブドウ球菌の手指から口腔への伝播の可能性を調査した。【方法】義歯装着者6名の唾液と、滅菌綿棒にてデンチャープラークおよび手指から試料を採取し、それらをマニット食塩培地に接種後、塗抹し培養を行った。その後、形成されたブドウ球菌様集落を算定後、PCR法により菌種同定を行った。また通法に従い、薬剤感受性試験、メチシリン耐性遺伝子の検出、SCCmec型遺伝子型別およびAP-PCR法により遺伝子学的相同性の検索を行った。【結果と考察】全ての被験者の唾液、デンチャープラークおよび手指からブドウ球菌が検出され、総菌数に対するその検出比率は、それぞれ0.001%、0.003%および7.3%であった。多くの試料において、分離された主要な菌種は*S. epidermidis*であった。*S. aureus*は1名の被験者の唾液試料から検出されたがMRSAではなかった。メチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌(MR-CNS)は1名の手指、および2名の唾液とデンチャープラーク試料から検出され、総菌数に対する唾液、デンチャープラークおよび手指から分離されたMR-CNSの検出比率は、それぞれ0.9%、2.4%および5.9%であり、全ての分離株が主に院内感染型とされているTypeI型であった。さらに、それぞれの試料から分離された同一菌種である同定された菌株は、AP-PCR法により同一の遺伝子型を示す菌株が認められたことから、義歯を介したブドウ球菌の手指から口腔への伝播の可能性が示唆された。

P2-151

亜硝酸塩の *Streptococcus mutans* 酸産生抑制機構をメタボロミクスで解明する

○鷲尾 純平¹、山本 祐慈²、高橋 信博¹
(¹東北大 院歯 口腔生化学、²やまもと歯科 津田 歯科診療所)

【目的】唾液や食物由来の硝酸塩は、口腔内細菌により還元され亜硝酸塩となる。亜硝酸は、*Streptococcus mutans* (*Sm*) (Radcliffeら、2002) やヒトプラーク (山本ら、2012) の酸産生を抑制することが報告されている。しかし、その抑制機構は不明である。そこで我々が確立した細菌メタボローム解析法を用いて、*Sm* の酸産生に対する亜硝酸の抑制機構を検討した。【方法】実験には *Sm* の標準株 (NCTC 10449) を使用した。菌懸濁液を調整後、10 mM glucose 及び 10 mM 亜硝酸カリウムもしくは硝酸カリウムを添加し、10 分間 37°C でインキュベートし、最終 pH を測定した。またインキュベート前後の菌体内及び上清成分を通法に従って抽出し、糖代謝経路 (解糖系、リン酸五炭糖経路、クエン酸回路) の代謝中間体・代謝産物及びアミノ酸を主対象として、CE-TOFMS によるメタボローム解析を行った。【結果及び考察】亜硝酸塩の添加により、10 分間の pH 低下が有意に抑制 (最終 pH 3.7 → 4.5) され、乳酸産生量が 31% 減少したことから、亜硝酸による *Sm* 酸産生抑制が確認された。解糖系中間体では、グルコース 6 リン酸の蓄積 (130%)、ホスホエノールピルビン酸と 3-ホスホグリセリン酸の減少 (96%、85%) が観察され、糖は取込まれるが、複数の解糖系酵素の阻害により、酸産生が抑制されるものと考えられた。また、リン酸五炭糖経路のリブローズ 5 リン酸とセドヘプツロース 7 リン酸が増加 (215%、112%) したことから、蓄積したグルコース 6 リン酸の本経路への流入が示唆された。さらに、アセチル CoA が 99% 減少したことから、ピルビン酸からクエン酸回路への流入阻害が、各種アミノ酸濃度が増減したことから、アミノ酸代謝への影響が示唆された。

P2-150

口腔レンサ球菌 2 型線毛の分布とその機能

○岡橋 暢夫¹、中田 匡宣²、川端 重忠² (¹阪大院歯 フロンティア、²阪大院歯 口腔細菌)

【目的】肺炎球菌には、2 型線毛 (PI type 2 pili) を含む複数の線毛 pili が存在する。我々は口腔レンサ球菌における線毛遺伝子の有無を調べ、2 型線毛がミテイス群に属する口腔レンサ球菌にも存在することを見出した。ここでは、口腔レンサ球菌における 2 型線毛遺伝子の分布と線毛タンパク質の機能を報告する。

【結果】口腔レンサ球菌のゲノム配列データベースを検索したところ、*Streptococcus oralis* などいくつかのミテイス群口腔レンサ球菌のゲノムに 2 型線毛遺伝子が存在していた。この 2 型線毛遺伝子は *S. mutans* や *S. salivarius* には見つからなかった。健康人の口腔内に 2 型線毛を保有するレンサ球菌がどの程度分布しているのかを調べるため、口腔プラーク DNA から PCR 法により、2 型線毛遺伝子の検出を行った。その結果、10 人の健康人のうち 8 人のプラークから 2 型線毛遺伝子が検出された。次に、*S. oralis* ATCC35037 株から PCR 法で 2 型線毛を構成する 2 種のタンパク質 PitA と PitB の遺伝子をクローニングした。組換え PitA および PitB に対するリガンドプロット実験の結果、細胞マトリックスタンパク質であるフィブロネクチンが両方に結合することが示された。また、唾液タンパク質のアミラーゼも同様に PitA と PitB の両方に反応した。2 型線毛では PitB が線毛のバックボーンを形成すると報告されているが、PitB も宿主タンパク質との結合能を有していた。

【結論】ミテイス群レンサ球菌の 2 型線毛がフィブロネクチンや唾液ムチンと結合することが明らかになった。また、健康人の口腔から 2 型線毛を保有するレンサ球菌が高い割合で検出されることから、2 型線毛が口腔内定着に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

P2-152

テルペノイドの併用が *Streptococcus mutans* の浮遊細胞ならびに既成バイオフィームに及ぼす影響

○藤田 真理¹、長田 和美²、宮川 博史¹、鎌口 有秀¹、中澤 太¹
(¹北医大 歯 微生物、²北医大 歯 生理)

[Background] We had reported previously that monoterpene alcohol (terpinen-4-ol and others) had the superior antibacterial effect on planktonic bacterial cells and bacterial cells in the preformed biofilm, and sesquiterpene alcohol (farnesol and nerolidol) had antibacterial effect on biofilm formation process but not bacterial cells in the preformed biofilm. [Purpose] In this study, we examined influence on antibacterial effect on planktonic bacterial cells and the preformed biofilm when two terpene alcohol, terpinen-4-ol and farnesol were combined. [Method] *Streptococcus mutans* Ingbritt was used in this study to investigate the antibacterial effect of terpene alcohol. Terpene alcohols were solubilized with Tween-20/PBS. Also, chlorhexidine gluconate (CHX) was used as a typical chemical disinfectant. The planktonic bacterial cells and the preformed biofilm were treated by solubilized terpene alcohols and CHX to evaluate the antibacterial activity. After treatment, the total viable counts (TVCs) of bacteria were examined. Also, tetrazolium salt assay was used to determine the viability of bacteria in preformed biofilm. [Result] Farnesol combined with terpinen-4-ol inhibited the antibacterial effect of terpinen-4-ol on planktonic bacterial cell and bacterial cell in the preformed biofilm in a dose-dependent manner. On the other hand, that of CHX combined with farnesol was not inhibited. [Conclusion] This study indicated that farnesol influenced on antibacterial activity of terpinen-4-ol. Its inhibitory effect is presumed to be due to interaction of terpenes, but it is not clear whether the act on only antibacterial activity. It may be necessary to examine the influence of farnesol on the penetration of terpinen-4-ol into the preformed biofilm to clarify a mechanism of the inhibition, in future.

P2-153

Streptococcus anginosus による上皮細胞での AID 異所性発現の誘導

○佐々木 実¹、古玉 芳豊¹、下山 佑¹、石河 太知¹、木村 重信¹
(¹岩医大 分子微生物)

【緒言】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。しかし 2007 年、*Helicobacter pylori* 感染により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。演者らはこれまで口腔癌組織への *Streptococcus anginosus* 感染と AID 発現についての関連について検討してきた。本研究では、株化上皮細胞および正常歯肉上皮細胞を用いて、*S. anginosus* 菌体およびその生理活性物質 (SAA) による AID 発現誘導について検討した。さらに、その機序を明らかにする目的で *S. anginosus* 由来抗原による上皮細胞の細胞内シグナル伝達系およびサイトカイン産生についても検討した。材料と方法：*S. anginosus* 由来抗原として、*S. anginosus* NCTC 10713 株の凍結乾燥全菌体および我々の報告した生理活性物質である SAA を用いた。株化上皮細胞としてはヒト由来の DOK 細胞を、また正常ヒト歯肉上皮細胞を用いた。AID およびサイトカイン mRNA 発現はリアルタイム RT-PCR で、また、NF- κ B の活性化はデュアルルシフェラーゼアッセイにより検討した。結果：DOK および正常ヒト歯肉上皮細胞は *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、また、NF- κ B の活性化が認められた。さらに同刺激によりいずれの上皮細胞においても TNF α および IL-8 mRNA 発現誘導が認められた。結論：*S. anginosus* 刺激により上皮細胞で AID の異所性発現が誘導されることが強く示唆された。また、この作用には NF- κ B の活性化ならびに TNF α 、IL-8 等のサイトカインが関与している可能性が示唆された。

P2-155

Streptococcus criceti *dblB* 遺伝子の解析と *srtA* 遺伝子変異の同定

○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】*Streptococcus sobrinus* では細胞表面タンパク質である dextran-binding lectin B (DblB) がデキストラン依存性菌体凝集に関与しているといわれている。これまで、我々は *Streptococcus criceti* にはデキストラン依存性凝集を示す菌株 (HS-6 株、OMZ 61 株) としない菌株 (E49 株と HS-1 株) があることを報告した。さらに *S. criceti* *dblB* 遺伝子の塩基配列の解析と *Streptococcus mutans* におけるバイオフィーム形成に *dblB* 遺伝子が関与していることを明らかにしてきた。本研究では、*dblB* 遺伝子発現と疎水性を検討した。また、*SrtA* は細胞表面タンパク質を細胞壁に結合させることが知られているので、*S. criceti* における *srtA* 遺伝子変異の有無を明らかにすることを目的とした。

【方法】遺伝子発現の検討には RT-PCR 法を用いた。疎水性の評価はヘキサデカン法で行った。HS-6 株のゲノム情報をもとに E49 株、HS-1 株、OMZ 61 株の *srtA* 周辺領域の塩基配列を決定した。

【結果と考察】*dblB* 遺伝子は単独で転写されていることがわかった。また、*dblB* 遺伝子をもつプラスミドで形質転換させた *S. mutans* 株は疎水性が高いことがわかった。*S. criceti* *srtA* 遺伝子の塩基配列は、OMZ 61 株と HS-6 株とで完全に一致し、*srtA* 遺伝子産物は機能的であることが示唆された。一方、E49 株と HS-1 株は 1 塩基の欠失のため、*srtA* 遺伝子にフレームシフト変異があることがわかった。この結果から、*S. criceti* の DblB は疎水性に寄与していることが示唆された。また、デキストラン依存性凝集を示さない菌株では細胞表面タンパク質が菌体表面から遊離しているために、デキストラン凝集をしないことが示唆された。

P2-154

Streptococcus dentasini GTF 遺伝子の検索

○桑原 紀子¹、續橋 治¹、齋藤 真規¹
(¹日大 松戸歯 口腔微生物)

【目的】ヒト口腔のミュータンスレンサ球菌の系統発生的研究の一環として分離した *Streptococcus dentasini* は、*Mitis Salivarius* 平板培地上で菌体外多糖合成が見られる集落形態を示す。そこで今回 *S. dentasini* の *in vitro* における齶蝕原性試験およびヒト主要齶蝕原因子である非水溶性グルカン合成酵素 (WIG-GTF) 遺伝子について検索を試みた。

【方法】*S. dentasini* 培養上清中の非水溶性多糖合成能、ショ糖依存性菌体固着能試験および抗 GTF 抗体による免疫染色は既報に準じて行った。GTF 遺伝子の検索は、既報に準じて口腔のミュータンスレンサ球菌検出用プライマーを用いた PCR に行い、さらに未知領域の塩基配列の検索を試みた。

【結果と考察】*S. dentasini* の培養上清による非水溶性グルカン合成能およびショ糖依存性菌体固着能は、*S. mutans* と比較して低いものであったが、抗 GTF 抗体を用いた免疫染色では明らかなバンドが検出された。*S. dentasini* の WIG-GTF 遺伝子 PCR により検索したところ、*S. mutans* *gtfB* の検出プライマーに反応性を示した。この得られた DNA 断片の塩基配列を決定したところ、*S. mutans* *gtfB* 遺伝子の該当領域 517bp と比較して 469bp と短く、これらの相同性は 65% であった。さらに遺伝子の未知領域の検索を行い、約 2.7-kb の DNA 断片が得られた。この DNA 断片の塩基配列を決定したところ、*S. mutans* *gtfB* 遺伝子と 72% の相同性を示していた。これまで当研究室で動物口腔から分離したミュータンスレンサ球菌が *S. sobrinus* *gtfI* 様遺伝子を有していたのに対して、*S. dentasini* は *S. mutans* *gtfB* 様遺伝子の断片を有していたが、WIG 合成量に関しては差が見られることから、発現調節を担っている因子の存在が示唆された。

P2-156

フサオマキザルから口腔から分離されたレンサ球菌の解析

○齋藤 真規¹、續橋 治¹、桑原 紀子¹
(¹日大 松戸歯 口腔微生物)

【目的】本研究室では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、多種多様な動物の口腔から分離された *mutans streptococci* の新菌種を報告している。今回、動物園で飼育されているフサオマキザル口腔から、*Mitis Salivarius* (MS) 寒天培地上で *Streptococcus mutans* 様集落を呈する菌株を分離したので報告する。【方法】フサオマキザル口腔を綿棒で擦過して得られた試料を MS 寒天培地上で培養後、*S. mutans* 様集落形態を示す菌株の分離を試みた。分離された菌株は生化学的 (ラピッド ID32 ストレップアピ、アピ 50CH およびアピザイム) および遺伝学的に菌種同定を行った。【結果および考察】フサオマキザル口腔擦過試料から、MS 寒天培地上での集落形態が *S. mutans* に類似した菌株 (M-8) が分離された。この菌株の Gram 染色性は陽性であり、レンサ球菌と判断された。また、羊血液寒天培地上での集落は緑色を呈しており、溶血性は α 型と判断された。スクロースを添加した液体培地におけるバイオフィーム合成試験において、菌体のガラス管付着能は認められなかった。16S rRNA 遺伝子の塩基配列の相同性の比較において近縁だったのは *Streptococcus oralis*、*Streptococcus massiliensis* および *Streptococcus porcorum* であり、相同性はそれぞれ 96.08%、95.93% および 95.87% であった。16S rRNA 遺伝子配列を基に作成した系統樹では *Streptococcus massiliensis* と同じクラスターに分類された。ラピッド ID32 ストレップアピによる生化学的性状試験による同定は判定不能であり、近縁である *S. oralis* および *S. massiliensis* との比較では多くの相違が認められた。【結論】以上の結果から、フサオマキザルから分離された M-8 は *Streptococcus* 属菌の新しい菌種であることが示唆された。

P2-157

Streptococcus mutans のバイオフィーム形成に関与する gbpC 発現調節遺伝子の検討

○泉福 英信¹、鈴木 雄佑¹
(¹国立感染研 細菌1)

う蝕の原因菌である *Streptococcus mutans* は、歯表面にバイオフィーム形成をすることでその病原性を発揮する。我々は、このバイオフィーム形成に関わる遺伝子を明らかにする目的で、臨床分離株を用いた検討を行ってきた。その結果、74 の候補遺伝子を明らかにし、その中からクオラムセンシングに関わる遺伝子を選び、それらの遺伝子の詳細な解析を行った。その結果、SMU940 がバイオフィーム形成に関わることを明らかにした。今回、この SMU940 がどのようにバイオフィーム形成に関わるか明らかにすることを目的として検討を行った。*S. mutans* は、通常でエタノール刺激やデキストラン存在下で凝集することが明らかとなっている。*S. mutans* UA159 の SMU940 変異株を作成し菌凝集性を親株と比較検討すると、Tryptic Soy Broth (TSB) with glucose 培地下でエタノール刺激やデキストランの存在が無くても SMU940 変異株は凝集することが明らかとなった。この条件で親株は凝集しなかった。グルカン依存性の凝集に関わるグルカン結合蛋白質 (GbpC) の発現量は、遺伝子レベルおよび蛋白質レベル共に SMU940 変異株において親株よりも著しく上昇していた。しかし GbpC の発現に関わる可能性のある vicKR, SMU1397, SMU1845 の発現量は、変異株で大きな変化がなかった。よって、SMU940 は既存経路ではないシグナルによる gbpC 発現および菌凝集、バイオフィーム形成に関与している可能性が考えられた。

P2-159

SNARE タンパク質の TALEN を用いた機能解析

○田隈 泰信¹、荒川 俊哉¹、岡山 三紀²、溝口 到²
(¹北医大 歯 生化、²北医大 歯 矯正)

【目的】人工ヌクレアーゼ TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) の開発により、培養細胞の任意の遺伝子ノックアウトが可能となった。本研究では、TALEN を用いて HeLa 細胞で SNAP23 遺伝子の KO を試み、その細胞機能を解析した。【方法】ヒト SNAP23 遺伝子の第 2 および第 5 エクソンを認識・切断する 2 種類の TALEN の発現ベクターと、そのターゲット配列を組込んだネオマイシン/ハイグロマイシン耐性プラスミドを HeLa 細胞へ導入し、薬剤耐性細胞をクローニングした。T7E1 アッセイとシーケンス解析により遺伝子の改変を確認し、細胞の機能を解析した。【結果と考察】第 2 エクソンを認識・切断する TALEN によって、4 から 37 塩基の欠失を持つ 7 株の HeLa 細胞が樹立された。しかし、いずれの細胞にも、フレームシフトを起こさない 3、6 または 9 塩基の欠失変異が少なくとも 1 つは含まれていた。さらに、これらの細胞に対して第 5 エクソンを標的とする TALEN ベクターを導入し、更なる遺伝子改変を試みたが、変異体には再び 3 または 15 塩基の欠失が含まれ、完全な KO 体を得ることが出来なかった。しかし、第 2 エクソンの Δ9 ヘテロ変異細胞は、SNAP23 タンパク質の発現低下と細胞増殖の著しい遅延が認められた。これらの結果から、遺伝子 KO マウスが胎生致死 (胎生 3.5 日) となる SNAP23 は、培養細胞の増殖にとっても不可欠の役割を果たしていることが示唆された。

P2-158

β-アドレナリン受容体シグナルによる *Ptgs2* 遺伝子発現における時計遺伝子の関与

○平居 貴生¹、田中 健二郎¹、戸苅 彰史¹
(¹愛院大 歯 薬理)

【目的】骨代謝には概日リズムが認められるが、その分子機構については不明な点が多い。一方で、骨芽細胞における β2-アドレナリン受容体 (AR) シグナルによって、骨量は負に制御されることが知られているが、近年、我々は交感神経系シグナルによって骨芽細胞に発現する時計遺伝子 *Period1*, *Period2*, *Period3*, および *Bmal1* が同調化されることを既に報告している。したがって、本研究では骨芽細胞に発現する時計遺伝子が骨代謝制御に関与する可能性について検討した。【方法】培養した骨芽細胞株 MC3T3-E1 に対して非選択的 β-AR 作用薬であるイソプレナリン (Iso) で処理した後 total RNA を回収し、マイクロアレイ解析とリアルタイム PCR 法を用いて、Iso 処置によって変動がみられる遺伝子の探索を行った。【結果】MC3T3-E1 細胞に対する Iso 処置後、時計遺伝子である転写抑制因子 *nuclear factor interleukin 3* (Nfil3)/*e4 promoter binding protein 4* (E4BP4) mRNA 発現量が有意に増加していることが明らかとなった。また、β-AR 遮断薬であるプロプラノロールの前処置によって、Iso 処置による *Nfil3/E4BP4* の発現上昇は完全に阻止された。さらに、MC3T3-E1 細胞に発現する骨代謝関連遺伝子 *Ptgs2* は、Iso 処置によって同調化され、骨組織における *Ptgs2* の概日リズムは持続的 Iso 投与によって変動することが明らかとなった。次に、Nfil3/E4BP4 の標的分子を探索する目的で、Nfil3/E4BP4 を安定過剰発現する MC3T3-E1 細胞株を解析した。その結果、Nfil3/E4BP4 安定発現細胞では対照細胞群に比して、*Ptgs2* の有意な発現低下が確認された。一方、Nfil3 ノックダウンによって *Ptgs2* 発現は有意に増加することが判明した。【考察】以上の結果より、骨芽細胞株 MC3T3-E1 では β-AR シグナルによって発現する時計遺伝子 Nfil3/E4BP4 は *Ptgs2* を負に制御することによって *Ptgs2* 遺伝子の概日リズムを制御している可能性が示唆される。

P2-160

競合的蛍光リガンド結合アッセイ法を活用した新規 IP₃分子センサーの開発

○谷村 明彦¹、村田 佳織²、齊藤 正人²、森田 貴雄¹、根津 顕弘¹
(¹北医大 歯 薬理、²北医大 歯 小児歯科)

【目的】我々が開発した蛍光 IP₃センサー「LIBRA」は、IP₃受容体のリガンド結合ドメインと蛍光タンパク質 (CFP, YFP) を融合させた 1 分子 FRET 型蛍光センサーである。このタイプの FRET センサーは、蛍光変化率が分子構造の変化に依存するため改良が極めて難しい。そこで受容体に対する IP₃と蛍光リガンドの競合を原理とする分子センサーの開発を試みている。

【方法】蛍光センサー LIBRA あるいはその変異体 (ΔV) を発現させた COS7 細胞、あるいは ΔV を結合させた Ni-NTA ビーズに蛍光リガンドを作用させ、435 nm の励起光による 480 nm および 535 nm の蛍光をイメージング解析した。蛍光リガンドには、共同研究者 (北大・院薬・創薬有機化学 周東教授ら) が合成した蛍光アデノフォスチン誘導体 (FADA と FLL) を用いた。

【結果】IP₃受容体を介する Ca²⁺放出反応に対する IP₃FADA, FLL の EC50 は、それぞれ 334 nM, 2.7 nM, 158 nM であった。LIBRA 発現細胞に FADA あるいは FLL を作用させると、480 nm 蛍光が約 15% 減弱し、535 nm 蛍光が約 30% 増大した。これは LIBRA と IP₃の反応の 3-5 倍の大きな蛍光変化率であった。この蛍光変化は LIBRA の CFP と蛍光リガンド間の FRET によるものであり、FRET に関与しない YFP を除去した変異体 (ΔV) では蛍光比の変化率が更に約 2 倍増大した。ΔV 結合ビーズに 30 nM の FLL を作用させると、蛍光比 (480 nm/535 nm) が約 20% 低下し、添加した IP₃濃度に依存して蛍光比が上昇した。これによって、1 nM の IP₃を検知することができた。

【考察】本研究で確立した競合的蛍光リガンド結合アッセイ (CFLA) の原理を利用した高感度 IP₃センサーの開発が期待できる。更にこの原理を IP₃以外の分子へ応用することによって様々な分子センサーの開発が可能になる。

P2-161

歯周病原菌代謝産物・酪酸による神経障害誘導性の可能性

○関 啓介^{1,2}、神尾 宣昌^{3,4}、Cueno Marni³、田村 宗明^{3,4}、紙本 篤²、落合 邦康^{3,4} (1)日大 歯 口腔健康科学、(2)日大 歯 総合歯、(3)日大 歯 細菌、(4)日大 総歯研 生体防御)

【目的】 *Porphyromonas. gingivalis* の主要代謝産物である酪酸は、免疫担当細胞のアポトーシス誘導や酸化促進作用を有し、血液細胞中のミトコンドリアや細胞質基質に酸化ストレスを誘導することが報告されている。ラット副腎髄質褐色細胞腫細胞 PC12 は神経成長因子 (Nerve growth factor : NGF) 添加により神経突起を伸長させる。われわれは酪酸による PC12 細胞の神経突起伸長の抑制作用を報告したが、この作用が酪酸の酸化ストレスによるものか、アポトーシスによるものかについての検討はされていない。そこで今回は、PC12 細胞の酪酸誘導によるアポトーシス誘導機序について解析し、神経細胞に及ぼす影響を検討した。【方法】 PC12 細胞はタンパク抽出試薬 (N-PER, Thermo SCIENTIFIC) にてタンパク回収後、NGF 未処理群と処理群に分けた後、0, 0.5, 1.0, 5.0 mM 濃度の酪酸で処理した。アポトーシス誘導時に産生される種々のタンパクのうち、BID および Cytochrome C に着目し、産生量をそれぞれの抗体を用いた Western blotting 法により解析した。【結果および考察】 アポトーシス誘導時に活性化される Caspase 8 によって産生される BID タンパク量は、NGF 処理の有無に関わらず影響は認められなかった。一方、Caspase 9 を活性化する Cytochrome C 産生量は NGF 処理群のみ濃度依存的に増加がみられたが、5.0 mM 酪酸では NGF 未処理および処理いずれの群においても減少した。これらの結果から、酪酸処理により PC12 細胞ではミトコンドリアを介した内因性の経路を介してアポトーシスが誘導されている可能性が示唆された。

P2-163

Kruppel-like factor 5 遺伝子のプロモーター解析

○美原 希美¹、千葉 忠成¹、須藤 遥¹、今井 一志¹ (1)日大 生命歯 生化)

Kruppel-like factor 5 (KLF5) is a zinc-finger transcriptional factor that is expressed in basal cells of normal oral epithelium and suppresses keratinocyte differentiation. Our previous study indicated that up-regulation of KLF5 in combination with KLF4 down-regulation induces the epithelial-mesenchymal transition of oral carcinoma cells. Although transcriptional regulation of KLF4 is documented previously, nothing is known about KLF5 gene. In the present study, we ligated KLF5 promoter (-2,002 to +424) and the shorter into Luc-reporter plasmids and transfected them into 293T cells. Twenty-four h after the transfection, Luc activities in total protein lysate normalized by hRluc were measured (n=4). Luc activities were gradually increased by shortening of promoter (up to -822) than that of the -2,002 full-length construct. Additional deletion of 341 bp from -822 significantly decreased the Luc activities. These data showed that the up-stream region from -2,002 to -822, especially between -2,002 and -1,576, contains transcription repressor region for KLF5 gene and that the -822 to -482 region exerts the transcription activator activity.

P2-162

アドヘレンスジャンクションで働く接着因子の立体構造と機能

○鈴木 守¹ (1)阪大 蛋白研)

一回膜貫通蛋白質であるカドヘリンとネクチンはアドヘレンスジャンクションの主要な接着分子であり、ネクチンの細胞間トランス結合が起点となり裏打ちタンパク質であるアフアディンによって、カドヘリン-カテニン系が周辺にリクルートされてアドヘレンスジャンクションが形成される。本研究では、細胞接着装置におけるネクチン分子の高次構造の解明を目的として、ネクチン-3 の構造解析・機能解析を行った。X 線結晶解析の結果、ネクチン-3 細胞外領域は免疫グロブリン様ドメインが 3 つつながった構造をしており (N 末端側から D1、D2、D3)、D1 ドメイン間の相互作用により V 字の形をした 2 量体を形成していることがわかった。これまでに我々は、ネクチン-1 における D1 ドメイン間相互作用に関わるアミノ酸に変異導入し、この 2 量体化を顕著に低下させる変異体を作製し、この 2 量体構造が同一細胞膜上のシスダイマーであること、シスダイマー形成能の低下は細胞間トランス結合 (細胞間接着) 能を低下させることを明らかにした。今回ネクチン-3 の立体構造を含めて、立体構造に立脚した細胞間接着装置内におけるネクチン分子の高次構造について議論する。

P2-164

PRIP 欠損マウスにおけるインスリンシグナリングの検討

○平田 牧子¹、倉谷 顕子¹、安武 雄¹、高橋 一郎²、平田 雅人¹ (1)九大 院歯 口腔細胞工学、(2)九大 院歯 歯科矯正)

PRIP (Phospholipase C-related but catalytically Inactive Protein) は、イノシトール 1,4,5-三リン酸と結合するタンパク質として発見された。その後の解析により、PRIP は GABA receptor associated protein (GABARAP)、タンパク質脱リン酸化酵素 (PPase)、GABA 受容体 β サブユニット、リン酸化 Akt 等と結合し、GABA 受容体の機能調節や開口分泌、雌性生殖の調節に関わっていることなどが既に明らかになっている。本研究では、雄性の PRIP ノックアウトマウス (PRIP-KO) を用いて、マウス個体におけるグルコース刺激インスリン分泌およびインスリンに対する応答性を解析した。野生型と PRIP-KO で摂食量はほぼ同程度であったが、PRIP-KO の体重が有意に減少していた。また、PRIP-KO ではグルコース負荷試験による耐糖能が低下しており、インスリン負荷試験によるインスリン抵抗性が亢進していることが分かった。しかし、グルコース負荷時の血中インスリン濃度を比較すると、PRIP-KO の血中インスリン濃度が高値を示した。そこで、両遺伝子型のマウスから脂肪組織を摘出・調製して器官培養しインスリン刺激を行った結果、PRIP-KO から調製した組織ではインスリン受容体と Akt (Ser473, Thr308 両者) でリン酸化レベルが低下しており、インスリンシグナリングの不具合が起こっている事が示唆された。ところが、マウス個体の腹腔内にインスリンを注射し、15 後にインスリン標的臓器である脂肪、肝臓、骨格筋を摘出し、インスリンによって活性化される受容体をはじめとするシグナリングの素過程に関わる分子群のリン酸化程度を比較したが、両者に差異は認められなかった。したがって、PRIP はインスリン分泌調節に加えてそのシグナル伝達の過程も調節している可能性が示唆される。しかし、全身的には直接的作用が観察されないような他要因が加わっている可能性がある。

P2-165

継続的カゼイン摂取制限が味覚にもたらす影響
 ○上田 甲寅¹、乾 千珠子¹、中塚 美智子、
 隈部 俊二¹、岩井 康智¹ (大歯大 口腔解剖)

近年、生活習慣病罹患の若年齢化や食の安全不安などの問題により正しい食生活、栄養摂取に対する関心が高まってきている。正常な栄養摂取は正しい発育には不可欠であるが、栄養摂取において重要な役割を果たす味覚の発育と発生の栄養摂取の関係については不明な点も多い。本研究では、三大栄養素のひとつであるタンパクの一種であるカゼインの摂取不足が味覚の発育にどのような影響を及ぼすのかを調査するため、妊娠3日目の母ラットの時期より授乳期、断乳後の新生仔ラットまで継続的に低カゼイン飼料を用いて飼育したモデルラットを作成し、基本味に対する嗜好性を通常飼料を用いて飼育したラットと比較した。嗜好性の検索は生後45日より2瓶法を用いて行った。基本味は、塩味として0.1 M 塩化ナトリウム、甘味として0.5 M ショ糖、5 mM サッカリンナトリウム、苦味として0.3 mM 塩酸キニーネ、うま味として0.1 M グルタミン酸ナトリウム、0.1 M イノシン酸ナトリウムおよびその混合液を使用し、対照として蒸留水を用いた。その結果、カゼイン摂取制限を受けたラットにおいて塩化ナトリウム、ショ糖に対する嗜好性の変化は認められなかったが、うま味、特にイノシン酸ナトリウムに対する嗜好率の低下、サッカリンナトリウムに対する嗜好率の上昇が認められた。さらに嗜好率に有意差は認められなかったもののカゼイン摂取制限ラットにおいて塩酸キニーネの摂取量は大きく増加していた。これらの結果より発生・発育期における継続的なカゼイン不足は味覚の形成に何らかの影響を与えている事が明らかとなった。

P2-167

食習慣と BMI との関係
 ○塩澤 光一¹、奥村 敏¹ (鶴見大 歯 生理)

【目的】肥満はそのヒトの食習慣と密接に関わっていることが示されているが、食習慣のいったい何が肥満と具体的に関わっているかについては未だ不明な点が多い。そこで本研究は、健康な成人被験者の食事の速さや摂取量(一口量)と肥満度との関係について調べた。【方法】61名の成人被験者(男性39名、女性22名、平均23.3歳)に自分の食事の速さを5段階で答えさせた。また、各被験者に魚肉ソーセージとロールパンをそれぞれ自由に嚙り取らせ、各試料の一口量を計量するとともに、咀嚼回数カウンターを用いて最終嚙下までの咀嚼回数を計測した。各被験者の咀嚼能率はグルコセンサーで求めた。また、各被験者の肥満度は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、パンおよびソーセージ咀嚼回数は何れもBMIと有意な相関を示さなかった。これに対し、各試料の一口量、および食事の速さはいずれもBMIと有意な正の相関を示した。これらの結果から、一口量が多く、また早食いのヒトは肥満傾向を示すが、咀嚼能力や咀嚼回数は肥満とは直接関わっていないことが示唆された。

P2-166

ラクトペルオキシダーゼ系による *p*-アミノ安息香酸の酸化反応
 ○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)

Para-Aminobenzoic acid (PABA) is one of the constituents of vitamin B complex, and is one of the constituents of folic acid. Lactoperoxidase (LPO) is an oxidoreductase which exists in cows' milk abundantly and uses hydrogen peroxide (H₂O₂) as a substrate. Also LPO oxidizes halide such as bromide and pseudo halide thiocyanate. The purpose of this experiment was to investigate the reactivity of PABA with the LPO system composed of H₂O₂, LPO and bromide. We used PABA, H₂O₂ and KBr obtained commercially and LPO prepared from cows' skim milk. Change of the ultraviolet absorption spectrum of PABA was studied. As a result, the absorption of PABA at the absorption maximum, 263 nm was remarkably decreased by LPO-H₂O₂-bromide system in the acidic buffer solution (pH 5.5). On the other hand, it was slightly observed in the neutral buffer solution and was scarcely observed in alkaline buffer solution (pH 8.5). This spectral change of PABA was not observed when any one of bromide, H₂O₂ and LPO was omitted. From these results, we concluded that the spectral change of PABA is caused by the system constituted with LPO, H₂O₂ and bromide. These results suggested that PABA existing in the living body may respond to the LPO system and bring about the effects on vitamin B metabolism.

P2-168

糊剤根管充填材に対するマウス皮下組織の反応
 ○正村 正仁¹、松田 紗衣佳²、大須賀 直人¹、
 中野 敬介²、川上 敏行² (松歯大 口腔健康分
 析、²松歯大 総歯研 病態解析)

【目的】水酸化カルシウム系根管充填材は臨床での有用性が確認されている。その為、これらに対する組織反応については、病理組織学的に検討され報告されている。その多くは、成分の挙動に関するものや局所での石灰化に関する方向からの検討であり、純粋に病理学的になされた検討は少ない。そこで今回我々は、その組織反応を病理学的に詳細に検討した。【材料と方法】実験には8週齢の雄性 ddY マウスを使用し、イソフルランの吸入による全身麻酔を施した後、背部に切開を加え皮下組織内にビタベックス (VP、ネオ製薬) を埋入した。最後に切開創を縫合し、手術を終了とした。その後経時的に12週まで、埋入部を周囲組織と共に一塊として摘出し、病理組織学的に検討した。なお、使用した染色は、HE の他、von Kossa、TRAP、さらに CD68 について免疫組織化学的染色も行った。【結果と考察】病理組織学的に、2週例で埋入した VP により形成された大小不定形の石灰化物やシリコンオイルと考えられる小空洞があり、その周囲にそれを囲繞するように肉芽組織の増殖がすでに始まっていた。その中には多くのマクロファージ (Mφ) の出現があった。4週例では、増殖した肉芽組織の細胞成分の増加があり、やはりその主体は2週例と同様に Mφ であった。これは CD68 の免疫組織化学的検討でも確認された。この時期には、Mφ の癒合と推察される多核巨細胞 (異物巨細胞) が多く認められた。これらの細胞について、Mφ や異物巨細胞の細胞質内に von Kossa 陽性顆粒があった。したがって、これは埋入された VP のカルシウム成分や埋入部に形成された石灰化物が、これらの細胞によって活発に貪食処理が行われている所見であろう。さらに、同部の異物巨細胞は、TRAP 陽性を示した。この事は、今回の実験で出現した異物巨細胞は、破骨細胞のように強い ACP を有している事が示唆された。

P2-169

微粒子とプレート状チタンにおけるヒト白血球の
 H_2O_2 生成

○盛口 敬一¹、大野 紀和¹
(¹愛院大 歯 口腔解剖)

ヒト多形核白血球 (PMN) が菌を貪食し抗菌作用を発揮するとき、NADPH oxidase が活性化され超酸素 (O_2^-) に、さらに不均化反応により過酸化水素 (H_2O_2) やその他の活性酸素、フリーラジカルが生成される。実際、PMN はオプソニン化ゼイモザン貪食刺激により貪食した食胞膜に限局して観察されるが、一方では FMLP、PMA 等の可溶性刺激物あるいはガラスとの接触においても同様に生成される。我々は生体親和性が高く整形外科、歯科領域で使われているチタンであるが、三種類の大きさの異なる微粒子あるいはプレート状でのチタンと PMN の H_2O_2 生成について検討を加えることを目的とした。スピッツ管の底に大きさの異なるチタン粒子 $150\ \mu\text{m}$ 以下、 $45\ \mu\text{m}$ 以下、 $1\sim 3\ \mu\text{m}$ を一定量置き、その上に PMN を静かに加え 37°C で 10 分間加温した。次に上清を回収し、 H_2O_2 生成誘導について 2,7-dichlorofluorescein diacetate の蛍光として Mithras LB940 にて測定した。その結果、 $1\sim 3\ \mu\text{m}$ 、 $45\ \mu\text{m}$ 以下、 $150\ \mu\text{m}$ 以下の順に測定値は高くなった。さらに、プレート状でのチタンに PMN をのせ、同様の H_2O_2 の測定を行った。その結果、やや大型の顆粒に匹敵あるいはそれ以上の測定値が得られた。以上の結果から、少なくとも、チタン微粒子刺激による PMN の H_2O_2 生成より、むしろやや大型のチタン粒子やプレートとの PMN の接触により強く H_2O_2 を生じた可能性が示唆された。

The 56th Annual Meeting of
Japanese Association for Oral Biology
September 25 – September 27, 2014
Fukuoka Dental College
Fukuoka, JAPAN



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

Plenary Lecture

PL-1

Regulation of NF- κ B in inflammation and immunity

Sankar Ghosh

Dept. Microbiol. & Immunol., Coll. Physicians & Surgeons, Columbia Univ.

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L-1

Comprehensive understanding of transcriptional regulation and program during bone development

Riko Nishimura

Dept. Molecular & Cell. Biochem., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

JAOB/Rising Members Award Winner

Y-1

Toward a unified comprehension of the crosstalk between tumor parenchymal cells and extracellular matrix in oral tumors

Masayuki Tsuneki

Dept. Pathol., Yale Univ. Sch. Med.

Y-2

Novel therapeutic mechanism of chronic pain through the microglial BK channel

Yoshinori Hayashi

Dept. Aging Sci. Pharmacol., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.

Y-3

Group A streptococcal exotoxin cleaves epithelial junctions

Tomoko Sumitomo

Dept. Oral & Mol. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

Symposium (Science Council of Japan; SCJ) : Role of dental basic sciences in super-aging society

CS-1

Anti-aging action of CCN family member 2

Masaharu Takigawa

Adv. Res. Center Oral & Craniofac. Sci. (ARCOCS), Okayama Univ. Dent. Sch.

CS-2

Role of dental basic sciences in super-aging society from a morphological viewpoint

Akira Yamaguchi

Dept. Oral Pathol., Tokyo Med. & Dent. Univ.

CS-3

Importance of biomedical gerontology in the super-aging society in Japan

Tamao Endo

Tokyo Metro. Inst. Gerontol.

CS-4

Roles of bone-gut-metabolism (BGM) signaling for prevention of metabolic syndrome

Masato Hirata¹, Akiko Mizokami¹, Tomoyo Kawakubo-Yasukochi¹, Hiroshi Takeuchi²

¹Dept. Mol. Cell. Biochem. Fac. Dent. Sci. Kyushu Univ., ²Dept. Appl. Pharmacol. Kyushu Dent. Univ.

JAOB Symposium : Frontline of the immune response research with oral and whole body

KS-1

Generation of regulatory T cells (Tregs) by TGF-beta and NR4a nuclear factor

Akihiko Yoshimura

Keio Univ. Sch. Med., Dept. Microbiol. & Immunol.

KS-2

Understanding of oral-systemic immune system based on immune cell migration between organs

Michio Tomura

Center Innovation in Immunoregulative Tech. & Therapeutics, Kyoto Univ. Grad. Sch. Med.

KS-3

The role of DOCK family proteins in migration and activation of leukocytes

Yoshinori Fukui

Div. Immunogenetics, Med. Inst. Bioregulation, Kyushu Univ.

KS-4

Regulation of immune responses in the intestinal mucosa

Kiyoshi Takeda

Grad. Sch. Med., Immunol. Front. Res. Center, Osaka Univ.

KS-5

Regulatory mechanisms on oral immune responses

Miyuki Azuma

Tokyo Med. & Dent. Univ.

Lotte Symposium : Divergent roles of TRP channels in oral physiology/pathophysiology—Their value as therapeutic targets—

FS-1

Physiological and pathophysiological implications of TRP channels in oral medicine

Ryuji Inoue

Dept. Physiol., Fukuoka Univ. Sch. Med.

FS-2

Physiological function of TRPM7 kinase activity in lipid homeostasis and tooth development

Masayuki Matsushita

Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus

FS-3

Targeting dental pain with TRP channels: from mechanisms to therapeutics

Seog Bae Oh

Dept. Neurobiol. & Physiol., Sch. Dent., Seoul Natl. Univ.

FS-4

TRP channels and sensations in oral cavity including pain

Makoto Tominaga

Div. Cell Signal., Okazaki Inst. Integr. Biosci.

Main Symposium 1: The contribution of oral biosciences to our understanding of systemic diseases in relation to tooth development and temporomandibular disorder

MS1-1

Zinc signaling in oral medicine and homeostasis

Toshiyuki Fukada

Div. Pathol., Dept. Oral Diagnostic Sci., Showa Univ. Sch. Dent.

Center Integrative Med. Sci., RIKEN

MS1-2

Role of glucose metabolism in tooth morphogenesis

Hiroko Ida-Yonemochi

Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.

MS1-3

Patients suffering temporomandibular disorder and schizophrenia exhibit dysfunction of the cerebral cortex comprising the mirror neuron system

Yoshiyuki Shibukawa¹, Yutaka Kato^{2,3}

¹Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll., ²Dept. Neuropsychiatry, Keio Univ. Sch. Med., ³Univ. Aachen

MS1-4

The potential for differentiation of neural Crest-derived cells and mesodermal cells and roles of these cells in the thymus and bone marrow

Hidetoshi Yamazaki

Dept. Stem Cell & Dev. Biol., Mie Univ. Grad. Sch. Med.

Main Symposium 2: Genetic and epigenetic changes to determine development, differentiation and carcinogenesis

MS2-1

Epigenomic regulation of development: Genomic imprinting as a model system

Hiroyuki Sasaki

Div. Epigenomics & Dev., Med. Inst. Bioregul., Kyushu Univ.

MS2-2

Histone modification dynamics during development and differentiation

Hiroshi Kimura

Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ.,

Grad. Sch. Biosci. & Biotechnol., Tokyo Inst. Technol.

MS2-3

Epigenetic alterations in oral squamous cell carcinomas

Mitsutoki Hatta¹, Kaori Naganuma^{1,2}, Jun Yamazaki¹

¹Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.

²Dept. Oral Maxillofac. Surg., Fukuoka Dent. Coll.

MS2-4

Genome reprogramming-associated point mutations

Masumi Abe

Natl. Inst. Radiol. Sci.

Satellite Symposium 1: Break the negative spiral consisting of periodontitis, diabetes and Alzheimer's disease: Extending healthy life expectancy through oral health

SS1-1

Molecular mechanism of two-way relationship between periodontitis and diabetes

Fusanori Nishimura

Sec. Periodontol., Div. Oral Rehabil., Kyushu Univ. Fac. Dent. Sci.

SS1-2

Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: The Hisayama Study.

Masaaki Hokama^{1,2}, Sugako Oka^{1,3}, Julio Leon¹, Toshiharu Ninomiya⁴, Hiroyuki Honda⁵, Kensuke Sasaki⁵, Toru Iwaki⁶, Tomoyuki Ohara⁶, Yutaka Kiyohara⁷, Yusaku Nakabeppu^{1,3}

¹Div. Neurofunc. Genomics, Med. Inst. Bioreg., Kyushu Univ., ²Dept. Neurosurg., Fac. Med. Sci., Kyushu Univ., ³Res. Center. Nucleotide Pool, Kyushu Univ, ⁴Center. Cohort Stud, Fac. Med. Sci., Kyushu Univ.,

⁵Dept. Neuropathol., Fac. Med. Sci., Kyushu Univ., ⁶Dept. Neuropsych., Fac. Med. Sci., Kyushu Univ.,

⁷Dept. Environ., Fac. Med. Sci., Kyushu Univ.

SS1-3

Periodontal disease as a possible risk factor for Alzheimer's disease

Kenji Matsushita

Dept. Oral Dis. Res., Natl. Center Geriatr. Gerontol.

SS1-4

Microglial activation through the leptomeninges by periodontal bacteria

Zhou Wu, Hiroshi Nakanishi

Dept. Aging Sci. & Pharmacol., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.

Satellite Symposium 2: From the molecular targeting therapy of cancer to molecular targeting preventive medicine

SS2-1

Molecular targeting therapy of cancer : epigenetic modification of CXCL14 promoter region affects the anti-tumor activity of Cetuximab in oral cancer

Shigeyuki Ozawa

Dept. Oral & Maxillofac. Surg, Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent.

SS2-2

Towards molecular targeting preventive medicine of cancer

Ryu-Ichiro Hata

Dept. Oral Biol. & Oral Health Sci. Res. Center, Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent.

SS2-3

The role of NKT cells and CXCL16 chemokine in tumors

Takeshi Shimaoka

Dept. Mol. Prevent. Med., Fac. Med., Univ. Tokyo

SS2-4

Tumor and NK cells

Kouetsu Ogasawara

Dept. Immunobiol., IDAC, and Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ.

Satellite Symposium 3: Frontiers in the research of ion channels, neurons and neural circuits involved in oral functions. Part I: Mechanisms of information processing in the cerebral cortex

SS3-1

Olfactory sensation and perception

Yoshinori Sahara¹, Hideyuki Hukami¹, Sawa Horie^{1,2}, Satomi Higuchi³, Makoto Sasaki³

¹Dept. Physiol., Iwate Med. Univ. Sch. Dent., ²Dept. Tumor Biol., Inst. Biomed. Sci., Iwate Med. Univ.

³Div. Ultrahigh Field MRI, Inst. Biomed. Sci., Iwate Med. Univ.

SS3-2

Enhancement of neural activities in the piriform-endopiriform cortices raised under stress condition in the oral area

Hiroshi Yoshimura

Dept. Mol. Oral Physiol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.

SS3-3

Spatiotemporal profiles of nociceptive neurons in rat insular cortex: an in vivo optical imaging study

Masayuki Kobayashi

Nihon Univ. Sch. Dent.

SS3-4

The mechanism of synchronous oscillation between columns in the rat barrel cortex

Hiroki Toyoda, Hajime Sato, Mitsuru Saito, Tsutomu Kawano, Youngnam Kang

Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

Satellite Symposium 4: Frontiers in the research of ion channels, neurons and neural circuits involved in oral functions. Part II: Control mechanisms of jaw movements and food intake

SS4-1

Ion-channel mechanisms underlying rank-ordered recruitment of trigeminal motoneurons

Mitsuru Saito¹, Hajime Sato¹, Hiroki Toyoda¹, Takashi Yamashiro², Youngnam Kang¹

¹Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ²Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthopediat., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

SS4-2

Neural mechanisms controlling jaw and tongue movements

Tomio Inoue¹, Shiro Nakamura¹, Kiyomi Nakayama¹, Ayako Mochiduki¹, Atsushi Yoshida², Masaaki Kiyomoto¹

¹Dept. Oral Physiol., Showa Univ. Sch. Dent., ²Dept. Oral Anat. & Neurobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

SS4-3

An action of anticonvulsant phenytoin on the synaptic transmission in hippocampal CA3 region

Hisahiko Kubota¹, Takashi Yoshida¹, Minoru Wakamori¹

¹Lab. Mol. Pharmacol. & Cell Biophys., Dept. Oral Biol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.

SS4-4

PRIP-regulated GABA signaling involved in regulation of feeding behavior

Takashi Kanematsu

Dept. Cell. & Mol. Pharmacol., Inst. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.

Satellite Symposium 5: Consideration of unsolved problems of “Textbook of Dental Anatomy” written by Tsunetaro Fujita with special reference to the morphological evolution of teeth and jaws

SS5-1

Relationship between Crown, Root, DEJ and Pulp cavity form, and its evolution

Yukishige Kozawa

Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo

SS5-2

Revisiting Fujita's theory on dental reduction in human maxillary molars: Quantitative approach by means

of morphometric mapping

Wataru Morita¹, Naoki Morimoto², Hayato Ohshima¹

¹Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci. ²Lab. Phys. Anthropol., Kyoto Univ. Grad. Sch. Sci.

SS5-3

Structure of cervical lines and its distribution in human permanent teeth

Takanori Domon

Dept. Oral Anat., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.

SS5-4

Characteristics of teeth which are not missed in oligodontia

Naoto Suda

Div. Orthodont., Meikai Univ.

Satellite Symposium 6: Tooth evolution and diversity derived from fish

SS6-1

Histological and phylogenetical analyses of horny teeth in the hagfish

Mikio Ishiyama

Dept. Histol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata

SS6-2

Difference between enameloid and enamel in bony fish

Ichiro Sasagawa

Adv. Res. Center, Nippon Dent. Univ., Niigata

SS6-3

Mechanisms of continuous tooth growth and replacement in the pharyngeal dentition of medaka

Yoshiro Takano

Sect. Biostructural Sci., Tokyo Med. & Dent. Univ.

SS6-4

Tooth replacement of the Chinook salmon

Takanori Domon

Dept. Oral Anat., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.

SS6-5

Tooth evolution suggested by the study of the structure of denticles on fish scales of Coelacanth

Makoto J. Tabata

Sec. Biostructural Sci., Tokyo Med. & Dent. Univ.

SS6-6

Development, structure and diversity of dermal denticles in sharks

Masatoshi Goto

Tsurumi Univ.

Satellite Symposium 7: Direct and indirect intervention of mesenchymal stem cell-based therapy

SS7-1

The diverse properties and utilities of periodontal ligament stem cells

Naohisa Wada

Dept. Endodontol. & Operative Dent., Kyushu Univ.

SS7-2

Mesenchymal stem cell transplantation and tissue and cell reactions in recipients

Takayoshi Yamaza

Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent. Sci.

SS7-3

Performance of cell transplantation into tooth extraction socket or periodontal defect

Masanori Honda¹, Takayuki Mashita², Niina Tsurumachi³, Daisuke Akita⁴, Taku Toriumi¹, Keitaro Isokawa²

Nihon Univ. Sch. Dent., Dept. ¹Anat., ²Oral & Maxillofac. Surg., ³Grad. Sch. Dent., ⁴Partial Denture Prosthodont.

SS7-4

The formation of Peri-implant mucosa via systemically-administered mesenchymal stem cells

Ikiru Atsuta¹, Yasunori Ayukawa¹, Takayoshi Yamaza¹, Ryosuke Kondo¹, Yuri Matsuura¹, Kiyoshi Koyano¹

¹Sec. Implant & Rehabil. Dent., Div. Oral Rehabil., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.

²Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.

Satellite Symposium 8: New evolution of study on root and periodontal tissue development from a clinical point of view

SS8-1

Abnormal tooth roots in genetic disorders

Naoto Suda

Div. Orthodont., Meikai Univ.

SS8-2

Novel hypothesis of root formation mechanisms and root anomaly

Mika Kumakami-Sakano¹, Keishi Otsu¹, Naoki Fujiwara¹, Hidemitsu Harada¹

¹Div. Dev Biol. Regul. Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.

SS8-3

Role of cytoskeletal organization and their disorder during tooth root formation

Satoshi Fukumoto¹, Ryoko Hino¹, Aya Yamada¹, Keishi Otsu², Makiko Arakaki¹, Kan Saito¹, Takashi Nakamura¹, Hidemitsu Harada²

¹Div. Pediat. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ²Div. Dev. Biol. Regul. Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.

SS8-4

Effects of neuropeptides on the development of Hertwig's epithelial root sheath

Nobuyuki Kawashima

Pulp Biol. and Endodont., Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., Tokyo Med. & Dent. Univ.

SS8-5

The novel role of HERS during development of periodontal ligament

Kyoko Oka¹, Satoshi Itaya¹, Michiko Kira¹, Naoki Fujiwara², Hidemitsu Harada²

¹Div. Pediat. Dent, Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll.

²Div. Dev. Biol. Regul. Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.

Satellite Symposium 9: Recent advances in understanding the pathogenesis of oral endogenous infections

SS9-1

Comprehensive understanding of oral microbiota by using a meta-analysis of 16S rRNA gene
Yoshihisa Yamashita

Sec. Prevent. & Public Health Dent., Kyushu Univ. Fac. Dent. Sci.

SS9-2

Prevotella intermedia and aspiration pneumonia

Katsunori Yanagihara

Nagasaki Univ.

SS9-3

Pathogenicity of biofilm-forming *Prevotella intermedia*

Takeshi Yamanaka

Dept. Bacteriol., Osaka Dent. Univ.

SS9-4

The dual nature of *Rothia mucilaginosa*

Takayuki Nambu

Dept. Bacteriol., Osaka Dent. Univ.

SS9-5

Association of *Porphyromonas gingivalis* -mediated protein citrullination with rheumatoid arthritis

Tetsuo Kobayashi

General Dent. & Clin. Educ. Unit, Niigata Univ. Med. & Dent. Hosp.

Satellite Symposium 10: The front line of oral biofilm research: Challenges by PhD students and young investigators

SS10-1

Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implications for treatment

Philip D. Marsh

Public Health England, Oral Microbiol., Univ. Leeds, UK

SS10-2

PCR-dipstick DNA chromatography for multiplex analysis of oral microbiota

Linyang. Tian¹, Takuichi Sato¹, Kousuke Niwa², Gen Mayanagi¹, Keiko Yamaki³, Mitsuo Kawase², Anne C.R. Tanner⁴ and Nobuhiro Takahashi¹

¹Div. Oral Ecol. Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ²Tohoku Univ. Grad. Sch. Biomed. Engn.,

³Div. Periodontol. Endodontol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ⁴Dept. Microbiol., The Forsyth Inst., Cambridge, USA

SS10-3

Porphyromonas gulae 41-kDa fimbriae induced osteoclast differentiation and cytokine production

Haruka Sasaki, Kiyoko Watanabe, Nobushiro Hamada

Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ.

SS10-4

Development of new synbiotics, fusion of prebiotics and probiotics, to suppress oral pathogens

Yukako Kojima¹, Tomoko Ohshima¹, Chaminda JAA Seneviratne², Nobuko Maeda¹

¹Dept. Oral Microbiol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med., ²Dept. Oral Sci., Natl. Univ. Singapore

SS10-5

Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* bind to magnetic beads coated with epoxy groups in

a noncovalent, species-specific manner
Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuku
Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis.

Satellite Symposium 11: Frontiers of oral physiology

SS11-1

Gut peptides in taste buds underlies taste specific transmission mechanisms from taste cells to gustatory nerve fibers

Shingo Takai¹, Keiko Yasumatsu², Shusuke Iwata¹, Mayuko Inoue¹, Ryusuke Yoshida¹, Noriatsu Shigemura¹, Daniel J. Drucker³, Robert F. Margolskee⁴, Yuzo Ninomiya^{1,2}

¹Sect. Oral Neurosci., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ., ²Div. Sensory Physiol., Res. & Dev. Center. Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ., ³Dept. Med., Mt. Sinai Hosp., Lunenfeld Tanenbaum Res. Inst., Univ. Toronto, Toronto, Canada, ⁴Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, USA

SS11-2

The integrating mechanism of chemical sense in insular cortex

Naoko Mizoguchi¹, Masayuki Kobayashi², Kazuyo Muramoto¹

¹Div. Physiol., Meikai Univ. Sch. Dent. ²Dept. Pharmacol., Nihon Univ. Sch. Dent.

SS11-3

Effect of estrogen on inhibitory system in TMJ nociception

Akimasa Tashiro

Dept. Physiol., Natl. Def. Med. Coll.

SS11-4

Psychological stress influences TMJ pain

Keiichiro Okamoto, David A. Bereiter

Dept. Diagnostic and Biol. Sci., Univ. Minnesota Sch. Dent.

Satellite Symposium 12: 28th Salivary Gland Research Forum—From analyses of structure and function of salivary glands to diagnosis of disease—

SS12-1

Morphological changes of myoepithelial cells in the rat submandibular gland after surgical stimuli

Yoshihiro Kawabe¹, Kenichi Mizobe¹, Osamu Amano²

¹Div. Oral Rehabil., Meikai Univ. Sch. Dent.

²Div. Anat., Meikai Univ. Sch. Dent.

SS12-2

MicroRNA transport between tissues regulates epithelial development in fetal mouse salivary glands

Toru Hayashi^{1,2}, Masanori Kashimata¹, Matthew P. Hoffman²

¹Asahi Univ. Sch. Dent., ²Lab. Cell & Dev. Biol., NIDCR, NIH

SS12-3

Analysis of bicarbonate secretion mechanisms based on intracellular pH and ionic current measurements in rat parotid intralobular ducts

Chikara Hirono, Kaori Ueno, Michinori Kitagawa, Makoto Sugita, Yoshiki Shiba

Dept. Physiol. & Oral Physiol., Inst. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.

SS12-4

In vivo real-time monitoring of Ca²⁺ responses in rat submandibular gland and salivary secretion

Akihiro Nezu¹, Takao Morita¹, Yosuke Tojyo², Akihiko Tanimura¹

Dept. Pharmacol., ²Dept. Biophys., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido

SS12-5

Salivary biomarker discovery using metabolomics

Masahiro Sugimoto

Keio Univ.

Satellite Symposium 13: The new approach on the observation of ultrastructure combining FIB serial milling and three-dimensional analysis with electron microscope

SS13-1

Correlative three-dimensional reconstruction for confocal laser-scanning microscope and FIB-SEM in the central nervous tissue of the rat

Takahiro Sonomura¹, Takahiro Furuta², Ikuko Nakatani³, Yo Yamamoto³, Satoru Honma¹, Takeshi Kaneko²

¹Anat. II, Kanazawa Med. Univ.

²Dept. Morphol. Brain Sci., Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.

³Hitachi High-Tech Sci. Corp.

SS13-2

Three-dimensional ultrastructural architecture of periodontal ligament fiber and cellular network in periodontal membrane

Shingo Hirashima^{1,2}, Keisuke Ohta¹, Tomonoshin Kanazawa¹, Akinobu Togo³, Jingo Kusakawa², Keiichiro Nakamura¹

¹Div. Microscopic & Dev. Anat., Dept. Anat., Kurume Univ. Sch. Med.

²Dent. Dent. & Oral Med. Center., Kurume Univ. Sch. Med.

³EM. Lab., Center. Research Unit of Kurume Univ.

SS13-3

The three dimensional observation of bone matrix using orthogonally arranged FIB-SEM

Hiroshi Kamioka

Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent., & Pharm. Sci.

SS13-4

Three-dimensional ultrastructural visualization of non-decalcified calcified tissues

Jiro Miura

Div. Interdisciplinary Dent., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.

SS13-5

Application of a FIB-SEM for 3D observation of the dentin bonding interface

Noriyuki Nagaoka

ARCOCS, Okayama Univ. Dent. Sch.

Satellite Symposium 14: Bone remodeling mechanisms of bone resorption and bone formation

SS14-1

RANKL-binding peptides work as a stimulator of bone formation as well as bone resorption inhibitor
Kazuhiro Aoki¹, Yasutaka Sugamori¹, Genki Kato¹, Tomoki Uehara², Yuki Arai³, Md. Zahirul Haq Bhyuan¹, Neil Alles¹, Masud Khan¹, Mariko Takahashi¹, Yukihiko Tamura¹, Noriyuki Wakabayashi³, Keiichi Ohya^{1,4}

¹Dept. Pharmacol., ²Dept. Pediat. Dent., ³Dept. Removable Partial Denture Prosthodont., Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., Tokyo Med. & Dent. Univ., ⁴Open Univ., Japan

SS14-2

Signaling cross-talk between BMP and NF κ B in osteoblast differentiation

Shoichiro Kokabu¹, Shizu Hirata-Tsuchiya^{1,2}, Hidefumi Fukushima³, Goro Sugiyama¹, Takenobu Katagiri⁴, Eijiro Jimi¹

¹Div. Mol. Signal. & Biochem., Kyushu Dent. Univ.

²Div. Pulp Biol., Operat. Dent., & Endodont., Kyushu Dent. Univ.

³Dept. Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.

⁴Div. Pathophysiol., RCGM, Saitama Med. Univ.

SS14-3

Inhibitory effects of osteocytes on osteoclastogenesis

Takuya Sato, Chiyomi Hayashida, Yoshiyuki Hakeda

Div. Oral Anat., Dept. Human Dev. & Fostering, Meikai Univ. Sch. Dent.

SS14-4

RANKL signaling pathway in osteoclast and osteoblast differentiation

Midori Nakamura¹, Yuriko Furuya², Hisataka Yasuda³, Nobuyuki Udagawa¹

¹Dept. Oral Biochem., Matsumoto Dent. Univ.

²Nagahama Inst. Biochem. Sci., Oriental Yeast Co., Ltd.

³Bioindustry Div., Oriental Yeast Co., Ltd

SS14-5

Roles of osteoblasts and inflammatory signals in osteoclast-precursor generation

Masamichi Takami¹, Takuya Enomoto², Matsuo Yamamoto², Ryutaro Kamijo³

¹Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Showa Univ., ²Dept. Periodont., Sch. Dent., Showa Univ. ³Dept. Biochem., Sch. Dent., Showa Univ.

Satellite Symposium 15: Orofacial function via TRP channels

SS15-1

Effect of thermosensitive TRP channel on oral epithelial maintenance

Mizuho A. Kido¹, Reona Aijima¹, Tomoko Kitsuki¹, Zhang Jing-Qi¹, Yasuyoshi Ohsaki¹

Dept. Mol. Cell Biol. and Oral Anat., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.

SS15-2

Odontoblast hydrodynamic receptor theory : TRP channels mediate sensory transduction mechanism for dentinal pain

Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato, Maki Kimura, Yuki Kojima, Asuka Higashikawa, Kazuhiro Ogura, Hiroyuki Mochizuki, Masakazu Tazaki

Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.

SS15-3

The study of the analgesic mechanisms of eugenol

Takashi Yoshida¹, Kaori Takahashi², Minoru Wakamori¹

¹Div. Mol. Pharmacol. & Cell Biophys., Dept. Oral. Biol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ²Tohoku Univ. Sch. Dent.

SS15-4

TRP channels expression in primary neurons regulates orofacial pain

Masamichi Shinoda, Kinuyo Ohara, Kentaro Urata, Azumi Suzuki, Koichi Iwata

Dept. Physiol., Nihon Univ. Sch. Dent.

■ Oral Presentation

01-C1	Mechanisms involved in regulation of osteoclast formation by beta1-3 glucan-induced sky degradation ○Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
01-C2	The role of new CCN2 partner DCL-1 in osteoclastogenesis ○Aoyama E ¹ , Hoshijima M ¹ , Hattori T ² , Kubota S ¹ , Takigawa M ^{1,2} (¹ Adv. Res. Center. Oral & Craniofac. Sci., Okayama Univ., Dent. Sch., ² Dept. Biochem. & Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci.)
01-C3	SCF/beta-TRCP regulates osteoclastogenesis via promoting CYLD ubiquitination ○Fukushima H ¹ , Nagaoka Y ¹ , Nagashima K ¹ , Kajiji H ¹ , Okamoto F ¹ , Okabe K ¹ (¹ Sec. Cell. Physiol., Fukuoka Dent. Coll.)
01-C4	Identification and functional analysis of a protein regulating podosomal formation in osteoclasts ○Iwatake M ¹ , Okamoto K ¹ , Tsukuba T ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
01-C5	The geranylgeranylation suppressed nitrogen-containing bisphosphonates (NBPs) induced inhibition of osteogenesis ○Nagaoka Y ^{1,2} , Kajiji H ¹ , Sasaki M ^{1,2} , Naganuma K ² , Nagashima K ^{1,2} , Okamoto F ¹ , Fukushima H ¹ , Okabe K ¹ (¹ Dept. Cell Physiol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Oral Sug., Fukuoka Dent. Coll.)
01-C6	Histological assessment on bone cells during daily administration and after the discontinuation of alendronate ○Tsuboi K ^{1,2} , Sasaki M ^{1,3} , Hasegawa T ¹ , Toraya H ¹ , Oda K ⁴ , Kitagawa Y ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Oral Health, Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad Sch. Dent., ² Dept. Oral Pathol., Oral Med., Hokkaido Univ. Grad Sch. Dent., ³ Dept. Oral Implantol. Nagasaki Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ⁴ Dept. Oral Biol. Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
01-C7	Localization of 15N-minodronate by isotope microscopy and histochemical assessment for the biological effects of minodronate in mice ○Sasaki M ^{1,2} , Hongo H ² , Kobayashi S ³ , Yurimoto H ³ , Amizuka N ² (¹ Dept. Appl. Prosthodont., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ² Dept. Dev. Biol. Hard Tissue, Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Dept. Nat. Hist. Sci., Hokkaido Univ.)
01-C8	Osteopontin influences physiological responses of osteoblasts through LMW-PTP upregulation ○Kusuyama J ^{1,2} , Bandow K ² , Ohnishi T ² , Semba I ¹ , Matsuguchi T ² (¹ Dept. Oral Pathol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ² Dept. Oral Biochem., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
01-C9	Extracellular inorganic phosphate functions as a potent inducer of the Dmp1 expression and facilitates the osteocyte differentiation ○Nishino J ^{1,2} , Michigami T ¹ (¹ Dept. Bone & Mineral Res., Osaka Med. Center and Res. Inst. Maternal & Child Health, ² The First Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
01-C10	MTA promotes mineralization in MC3T3-E1 cells via ATF6 expression ○Maeda T ¹ , Suzuki A ¹ , Yuzawa S ¹ , Abe M ² , Kato Y ¹ (¹ Dept. Oral Func. & Mol. Biol. Ohu Univ. Sch. Dent., ² Dept. Biomat. Sci. Ohu Univ. Sch. Dent.)
01-C11	Tensile-stress responsible cell proliferation/differentiation factors in cranial sutures ○Ikegame M ¹ , Hattori A ² , Kawai M ¹ , Yamamoto T ¹ (¹ Dept. Oral Morph., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm., ² Coll. Lib. Art Sci., Tokyo Med. Dent. Univ.)
01-C12	Inhibition of Osteoclastogenesis by IL-33 from mechanical stress of 3D-gel ○Kiyomiya H ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Oral Maxillofac. Surg., Kyushu Dent. Univ.)
01-C13	Effects of the water extract of Chaga mushroom (Inonotus obliquus) by oral administration on bone formation in the defect of rat femur ○Aldartsogt D ¹ , Yamashita K ¹ , Dalkhsuren S ¹ , Sumida K ¹ , Seki S ¹ , Kitamura S ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Tokushima Univ. Grad. Sch. Dent.)
01-C14	Biological effects on the dose and frequency of intermittent PTH injection on bone cells ○Yamamoto T ¹ , Hasegawa T ¹ , Sasaki M ² , Toraya H ¹ , Oda K ³ , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Appl. Prosthodont., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ³ Dept. Biochem, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
01-C15	Histochemical examination on osteocytes and their lacunae induced by administration of parathyroid hormone, lactation and calcium deficient diet in mice ○Hongo H ¹ , Sasaki M ² , Saito M ³ , Toraya H ¹ , Udagawa N ⁴ , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Hard Tissue., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Appl. Prosthodont., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biol. & Sci., ³ Bruker AXS K. K., ⁴ Dept. Biochem., Matsumoto Dent. Univ.)
01-D1	The attachment process of the mandible to the masticatory muscle ○Yamamoto M ¹ , Kitamura K ¹ , Yamane S ¹ , Umezawa T ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
01-D2	Volume of the maxillary sinus in edentulous case with CT3-dimensional measurement method ○Takahashi Y ¹ , Ichijo M ¹ , Tuchiya M ¹ , Watanabe T ¹ , Kumasaka S ² , Takahashi T ¹ (¹ Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Komazawa Univ.)
01-D3	Bone internal structure in bone around incisive canal—Evaluation of used three-dimensional construction image— ○Fukuda M ¹ , Matsunaga S ¹ , Oomine Y ¹ , Kasahara M ¹ , Odaka K ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
01-D4	Three-dimensional image anatomical study of the human hyoid bone —Correlation between the mandible form— ○Ichijo Y ¹ , Tsuchiya M ¹ , Takahashi Y ¹ , Takahashi T ¹ (¹ Dept. Three Dimensional Imaging Anat., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch.)
01-D5	The influence of coculture with mesenchyme cells on MHC of skeletal muscle myoblast cells ○Umezawa T ¹ , Serikawa M ¹ , Yamane S ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
01-D6	Groucho/TLE represses MyoD transcriptional activity and controls myogenesis in vitro ○Kokabu S ¹ , Sugiyama G ¹ , Sato T ² , Yoda T ² , Katagiri T ³ , Jimi E ¹ (¹ Div. Mol. Signal. & Biochem., Kyushu Dent. Univ., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saitama Med. Univ., ³ Div. Pathophysiol., RCGM, Saitama Med. Univ.)

01-D7	The role of cAMP sensor Epac1 in masseter muscle hypertrophy induced by beta2-adrenoceptor stimulation ○Ohnuki Y ¹ , Umeki D ¹ , Okumura S ¹ (¹ Dept. Physiol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. & Med.)
01-D8	The biological events underlying the pathogenesis of aging ○Bhawal U ¹ (¹ Dept. Biochem. & Mol. Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
01-D9	N-BPs, irrespective of alkyl-type or heterocyclic type, enter cells via the phosphate transporter SLC20/34 and cause inflammation and necrosis ○Sato E ^{1,2} , Tsuchiya M ^{1,3} , Kiyama T ¹ , Ohizumi T ¹ , Yamaguchi K ¹ , Sugawara S ¹ , Endo Y ¹ (¹ Tohoku Univ., Div. Oral Immunol., ² Tohoku Univ. Hosp., ³ Tohoku Fukushi Univ.)
01-D10	Biological effects of interleukin-17 on synoviocytes ○Sakurai T ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Oral & Maxillofac. Surg., Kyushu Dent. Univ.)
01-D11	Expression of Tim-3, an immuno-modulatory cell-surface molecule, on osteoclasts and regulation of inflammatory bone destruction Moriyama K ^{1,3} , Kukita A ² , Uehara N ¹ , Zhang JQ ¹ , Kyumoto Y ¹ , Takahashi I ³ , ○Kukita T ¹ (¹ Dept. Mol. Cell Biol. Kyushu Univ. Fac. Dent. Sci., ² Dept. Microbiol., Saga Univ. Fac. Med., ³ Dept. Oral Rehabil., Kyushu Univ. Fac. Dent. Sci.)
01-D12	Team based learning system with memory-tree on dental basic science ○Katsuragi H ¹ (¹ Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent. at Niigata)
01-D13	Anatomical education and contribution to society combined with 3D-CTimages ○Takahashi T ¹ (¹ Dimensional Imaging Anat., Grad. Sch., Kanagawa Dent. Univ.)
01-D14	Effectiveness of the student role-play in the pharmacology education at the school of Dentistry ○Yamazaki J ¹ , Yanagita T ² (¹ Dept. Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Clin. Pharmacol., Fac. Med., Univ. Miyazaki)
01-D15	A role of disaster relief medicine/dentistry & forensic dentistry ○Yamada Y ¹ (¹ Dept. Disaster Relief Med. & Dent., Forensic Dent., Kanagawa Univ. Grad. Sch. Dent.)
01-E1	Localization of multipotential epithelial stem cells that give rise taste buds and von Ebner's gland. ○Ota M ¹ (¹ Dept. Food Biol. Sci., Japan Women's Univ., ² Sect. Mol. Embryol., Tokyo Med. Dent. Univ., Grad. Sch. Med. & Dent.)
01-E2	Disrupting hedgehog and WNT signaling interactions promotes cleft lip pathogenesis ○Kurosaka H ¹ (¹ Stowers Inst. Med. Res., Paul Trainor lab)
01-E3	Establishment of an <i>in vivo</i> model to analyze the development of the periodontal ligament ○Yoshimoto Y ¹ , Shukunami C ¹ (¹ Dept. Mol. Biol. & Biochem., Inst. Biomed & Health Sci., Hiroshima Univ.)
01-E4	The functions of histone methyltransferase G9a during growth and differentiation of mesenchymal cells ○Ideno H ^{1,3} , Shimada A ¹ , Kamiunten T ² , Wada S ² , Komatsu K ¹ , Nakamura Y ² , Abe M ³ , Nakashima K ¹ , Nifuji A ^{1,3} (¹ Dept. Pharmacol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med., ² Dept. Orthodont., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med., ³ Transcriptome Res. Group, Natl. Inst. Radiol. Sci.)
01-E5	Functions of the histone methyltransferase G9a during tenocyte differentiation ○Wada S ¹ , Ideno H ² , Shimada A ² , Kamiunten T ¹ , Nakashima K ² , Nakamura Y ¹ , Nifuji A ² (¹ Dept. Orthodont., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. Pharmacol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
01-E6	Expression and functions of histone methyltransferases during tooth development ○Kamiunten T ¹ , Ideno H ² , Shimada A ² , Nakasima K ² , Nakamura Y ¹ , Nifuji A ¹ (¹ Dept. Orthodont., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. Pharmacol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
01-E7	Involvement of miR-551b whose expression is downregulated in ACTH adenomas, in the tumorigenesis ○Ono S ¹ , Iwata T ¹ , Mizusawa N ¹ , Iwawaki Y ² , Yoshimoto K ¹ (¹ Dept. Med. Pharmacol., Inst. Health Biosci. Univ. of Tokushima Grad. Sch., ² Dept. Oral & Max. Prosthodont., Univ. Tokushima Grad. Sch. Oral Sci.)
01-E8	Methods for isolation of the nuclear reprogramming protein complex ○Kamano Y ^{1,2} , Saeki M ³ , Yatanni H ² , Egusa H ¹ (¹ Div. Mol. Regen. Prosthodont., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Fix Prosthodont., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Pham., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
01-E9	Spontaneous multi-differentiation of dental pulp stem cells-derived spheroids on matrigel: A journey to survival and organogenesis ○Xiao L ¹ , Kumazawa Y ² , Okamura H ² (¹ Dept. Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life of Dent. Tokyo, ² Nippon Dent. Univ. Hosp. Sch. Life Dent. Tokyo)
01-E10	Characteristics of stem cells derived from human dental follicle and periodontal ligament isolated by different methods ○Ohama R ^{1,2} , Suda N ¹ , Nakahara T ² (¹ Dept. Orthodont., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Dept. Dev. & Regen. Dent., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)
01-E11	Effective combination of cytokines for bone repair and its involvement in angiogenesis ○Masuda T ¹ , Otsu K ² , Fujiwara N ² , Kumakami M ² , Harada H ² (¹ Div. Oral & Maxillofac. Surg., Reconstructi. Oral & Maxillofac. Surg., Iwate Med. Univ., ² Div. Dev. Biol. and Regen., Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.)
01-E12	Cloning and characterization of amelogenin cDNA in lobe-finned fish ○Ishiyama M ¹ , Mikami M ² , Oka S ³ , Nakatomi M ⁴ , Tabata M ⁵ , Sato A ⁶ , Inoue K ⁷ , Sato T ⁶ (¹ Dept. Histol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ² Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ³ Dept. Biol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ⁴ Dept. Anat., Kyushu Dent. Univ., ⁵ Dept. Biostruct. Sci., Grad. Sch. Tokyo Med. & Dent. Univ., ⁶ Dept. Anat. & Histocytol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ⁷ Res. Center Elec., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)

01-E13	Molecular evidence for the expression of the <i>amelogenin</i> gene in the lobe-finned fish ○Sato A ¹ , Inoue K ² , Ishiyama M ³ , Mikami M ⁴ , Oka S ⁵ , Nakatomi M ⁶ , Tabata M ⁷ , Sato T ¹ (¹ Dept. Anat. & Histocytol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Res. Center. Elec., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ³ Dept. Histol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ⁴ Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ⁵ Dept. Biol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent., Niigata, ⁶ Dept. Anat., Kyushu Dent. Univ., ⁷ Dept. Biostruct. Sci., Grad. Sch., Tokyo Med. & Dent. Univ.)
01-E14	Developmental origin of bone marrow mesenchymal stem cells ○Mizoguchi T ¹ , Udagawa N ² , Takahashi N ¹ (¹ Div. Hard Tissue Res., Inst. Oral Sci., Matsumoto Dent. Univ., ² Dept. Biochem., Matsumoto Dent. Univ.)
01-E15	The role of PP2A Calpha in adipocyte differentiation ○Okamura H ¹ , Teramachi J ¹ , Haneji T ¹ (¹ Dept. Histol. & Oral Histol., Inst. of Health Biosci, Univ. Tokushima Grad. Sch.)
01-F1	Analysis of maltose metabolism in <i>Streptococcus mutans</i> ○Sato Y ¹ , Azuma T ¹ (¹ Dept. Biochem., Tokyo Dent. Coll.)
01-F2	Increase in hydrogen sulfide production by <i>Streptococcus anginosus</i> under stressful conditions ○Sato S ¹ , Yamaguchi T ² , Oho T ² (¹ Div. Prevent. Dent., Kagoshima Univ. Med. & Dent. Hosp., ² Dept. Prevent. Dent., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
01-F3	Role of hyaluronidase in group A <i>Streptococcus</i> pathogenesis ○Yamaguchi M ¹ , Nakata M ¹ , Sumitomo T ¹ , Kawabata S ¹ (¹ Dept. Oral Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ.)
01-F4	The correlation between antibiotic tolerance and virulence of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates ○Murakami K ¹ , Hirota K ¹ , Miyake Y ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Inst. HBS, Tokushima Univ. Grad. Sch.)
01-F5	Three distinct two-component systems are involved in resistance to the class I bacteriocins, Nukacin ISK-1 and nisin A, in <i>Staphylococcus aureus</i> ○Matsuo M ¹ , Komatsuzawa H ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
01-F6	Detection and purification of autoinducers from <i>Veillonella tobetsuensis</i> ○Mashima I ¹ , Kamaguchi A ² , Miyakawa H ² , Fujita M ² , Nakazawa F ² (¹ Dept. Oral Microbiol., Heal. Sci. Univ. Hokkaido Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent., Heal. Sci. Univ. Hokkaido)
01-F7	Descending projections from the prefrontal cortex to the trigeminal sensory nuclear complex which receives orofacial inputs ○Sato F ¹ , Fujio T ¹ , Kato T ¹ , Yoshida A ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Neurobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
01-F8	Relation of projections from the primary somatosensory cortex to trigeminal premotoneurons to their function ○Uchino K ¹ , Higashiyama K ¹ , Kato T ¹ , Sato F ¹ , Yamamura K ² , Yoshida A ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Neurobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent., ² Dept. Oral Physiol., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent.)
01-F9	Analysis of whole nerve responses in the chorda tympani and the glossopharyngeal nerves from mice after daily intake of sweet solution ○Yasumatsu K ^{1,2} , Sako N ³ , Ninomiya Y ^{1,2} (¹ Sect. Oral Neurosci., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Sensory Physiol., Res. & Dev. Center Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ., ³ Dept. Oral Physiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
01-F10	The neural mechanisms involved in the perception of burning taste of capsaicin and subsequent autonomic responses ○Sato H ¹ , Kawakami S ² , Toyoda H ¹ , Saito M ¹ , Kawano T ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Morinaga & Co., Ltd.)
01-F11	Activation of thermosensitive TRP channel enhances oral wound repair ○Aijima R ^{1,2,3,4} , Ohsaki Y ¹ , Zhang J ¹ , Kitsuki T ¹ , Murata N ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. Mol. Cell Bio. & Oral Anat., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saga Univ., ³ Div. Histol. & Neuroanat., Dept. Anat. & Physiol., Fac. Med., Saga Univ., ⁴ JSPS)
01-F12	Integrins and TRPV1 channels are responsible for keratinocyte migration ○Miyazaki A ¹ , Ohkubo T ² , Hatta M ² , Ishikawa H ¹ , Yamazaki J ² (¹ Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
01-F13	Merkel cells transduce mechanical stimuli and release neurotransmitters ○Higashikawa A ¹ , Kojima Y ¹ , Kimura M ¹ , Satou M ¹ , Ogura K ¹ , Mochiduki H ¹ , Shibukawa Y ¹ , Tazaki M ¹ (¹ Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll)
02-C1	The affect on the tooth and skeletal system by sox21 ○Saito K ¹ , Fukumoto S ¹ (¹ Tohoku Univ., Div. Pediat. Dent.)
02-C2	Morphological analysis of DMP1-posttranslational modification ○Oya K ^{1,2} , Sato S ¹ , Usami Y ³ , Kishino M ¹ , Noda Y ¹ , Hirose M ¹ , Ogawa Y ¹ , Komori T ⁴ , Toyosawa S ¹ (¹ Dept. Oral Pathol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Interdiscip. Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp., ³ Lab. Clin. Investi., Osaka Univ. Dent. Hosp., ⁴ Dept. Clin. Oral Oncol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. BioMed. Sci.)
02-C3	Change of DMP1 in serum associated with age ○Sato S ¹ , Usami Y ² , Oya K ¹ , Kishino M ¹ , Noda Y ¹ , Hirose K ¹ , Ogawa Y ¹ , Komori T ³ , Toyosawa S ¹ (¹ Dept. Oral Pathol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Clin. Lab., Osaka Univ. Dent. Hosp., ³ Dept. Dev. and Reconst. Med., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
02-C4	Insulinogenic sucrose ingestion immediately after resistance exercise increase bone mass and strength compared with non-insulinogenic fructose in growing rats ○Notomi T ^{1,2,3,4} , Ohura K ¹ , Noda M ^{2,3} (¹ Dept. Pharmacol., Osaka Dent. Univ., ² Dept. Mol. Pharmacol., Med. Res. Inst., Tokyo Med. & Dent. Univ., ³ Global Center of Excellence Program for Molecular Sci. for Tooth and Bone Diseases, Tokyo Med. Dent. Univ., ⁴ Lab. Biochem. Exercise & Nutrition, Inst. of Health & Sport Sci., Univ. Tsukuba)
02-C5	Sphingosine 1 phosphonate stimulates osteoclastogenesis in vitro ○Amano H ¹ , Notomi T ¹ , Ohura K ¹ (¹ Dept. Pharmacol., Osaka Dent. Univ.)

O2-C6	Laminin-332 negatively regulates osteoclast formation through JNK signaling ○Uehara N ¹ , Kukita A ² , Kyumoto Y ¹ , Kukita T ¹ (Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Microbiol., Fac. Med., Saga Univ.)
O2-C7	Krüppel-like factor 4 expression in osteoblasts represses osteoblast-dependent osteoclast maturation ○Fujikawa J ^{1,2} , Abe M ¹ , Takeuchi Y ^{1,3} , Wakisaka S ¹ (Dept. Anat. & Dev. Biol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Special Care Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp., ³ Dept. of Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
O2-C8	Important role of PKR in LPS or TNF-alpha-mediated stimulation of osteoclastogenesis in periodontal disease ○Teramachi J ¹ , Morimoto H ² , Okamura H ¹ , Haneji T ¹ (Dept. Oral Histol., Univ. of Tokushima. Inst. HBS, ² Dept. Histol., Univ. Occup. & Environm. Health. Grad. Sch. Med.)
O2-C9	Effect of microstructure of honeycomb beta-TCP on hard tissue regeneration ○Takabatake K ¹ , Tsujigiwa H ² , Takebe Y ¹ , Fujii M ¹ , Kawai H ¹ , Yu S ¹ , Nagatsuka H ¹ (Dept. Oral Pathol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² Dept. Life Sci., Fac. Sci., Okayama Univ. of Sci.)
O2-C10	Biological apatite crystallographic orientation of peri-implant bone ○Odaka K ¹ , Kasahara M ¹ , Kinoshita H ¹ , Matsunaga S ¹ , Abe S ¹ (Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
O2-C11	Biochemical mechanism of titanium fixation in bone: bone enhancing function of titanium binding proteins ○Kuboki Y ¹ , Furusawa T ² , Unuma E ² , Yagami K ³ , Takita H ⁴ , Liu C ¹ , Kurasaki M ¹ (Dept. Environm. Adaptation, Hokkaido Univ. Grad. Sch. of Earth Environm. Sci., ² Grad. Sch. Sci. Engn., Yamagata Univ., ³ Grad. Sch. Dent., Matsumoto Dent. Univ., ⁴ Grad. Sch. Oral Med., Hokkaido Univ.)
O2-C12	Histological examinations on bone tissue around titanium implants bearing early occlusal loading after their implantation ○Ikeda Y ^{1,2} , Hasegawa T ² , Oda K ³ , Amizuka N ² , Yokoyama A ¹ (Dept. Oral Func. Pros., Div. Oral Func. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ³ Div. Oral Biochem., Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci., Niigata Univ.)
O2-D1	CD44 regulates microvascular endothelial cell survival ○Tsuneki M ¹ (Dept. Pathol., Yale Univ. Sch. Med.)
O2-D2	Intracellular odontoblast-odontoblast communication via extracellular glutamate ○Nishiyama A ¹ , Sato M ² , Kimura M ² , Tazaki M ² , Katakura A ² , Shibukawa Y ² (Dept. Oral Med., Oral & Maxillofac. Surg., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
O2-D3	Smad8 is a novel type regulator of BMP signaling ○Katagiri T ¹ , Fujimoto M ¹ , Osawa K ¹ , Jimi E ² , Kokabu S ^{1,2} (Div. Pathophysiol., RCGM, Saitama Med. Univ., ² Dept. Health Improvement, Kyushu Dent. Univ.)
O2-D4	Interaction between MH1 domain of Smad4 and TA2 domain of NF-kB, p65 subunit ○Sugiyama G ¹ , Kokabu S ¹ , Tada Y ¹ , Jimi E ¹ (Div. Mol. Signal. and Biochem., Kyushu Dent. Univ.)
O2-D5	Regulation of cell migration by phospholipase C-related catalytically inactive protein ○Asano S ¹ , Kanematsu T ¹ (Dept. Cell. & Mol. Pharmacol., Hiroshima Univ.)
O2-D6	Molecular mechanism of Epiprofin in epithelial cell proliferation ○Nakamura T ^{1,2} , Fukumoto S ¹ (Div. Pediat. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Liaison Center Innovative Dent. Grad. Sch. Dent. Tohoku Univ.)
O2-D7	Regulatory factors of CLCA gene expression in mouse cultured keratinocytes ○Hiromatsu R ¹ , Hatta M ² , Sakagami R ¹ , Yamazaki J ² (Dept. Odontol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
O2-D8	Transcriptional regulation of gene encoding D-dopachrome tautomerase in preadipocytes ○Iwata T ¹ , Kuribayashi K ² , Yoshimoto K ¹ (Dept. Med. Pharmacol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima. Grad. Sch., ² Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.)
O2-D9	Establishment and characterization of novel Tet-Off embryonic stem cell lines carrying BMP receptor, ALK2 ○Fujimoto M ^{1,2} , Osawa K ¹ , Miyamoto A ¹ , Kokabu S ¹ , Suda N ² , Katagiri T ¹ (Div. Pathophysiol., Res. Center. for Genomic Med., Saitama Med. Univ., ² Div. Orthodont., Meikai Univ. Sch. Dent.)
O2-D10	Cbfb is required for chondrocyte differentiation and proliferation and osteoblast differentiation ○Xin Q ¹ , Matsuo Y ¹ , Jiang Q ¹ , Moriishi T ¹ , Rokutanda S ^{1,2} , Miyazaki T ¹ , Komori T ¹ (Dept. Cell Biol., Unit Basic Med. Sci., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Unit Translational Med., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
O2-D11	Dgcr2 gene encoded within the deletional region of 22q11.2 deletion syndrome plays a role in growth of basilar cartilage ○Kajiwara Ka ¹ (Div. Basic Med. Sci. & Mol. Med., Sch. Med., Tokai Univ.)
O2-D12	Expression of perlecan, DMP-1 and MEPE in the developing condylar cartilage of the fetal mouse mandible ○Fujikawa K ¹ , Tamaki T ¹ , Morita T ¹ , Shibata S ¹ (Maxillofac. Anat., Dept. Maxillofac. Biol., Grad. Sch. Tokyo Med. & Dent. Univ.)
O2-E1	Effect of nanoparticles on macrophage inflammatory responses 1 ○Furusawa E ¹ , Ogasawara K ¹ (Dept. Immunobiol., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ.)
O2-E2	Effect of nanoparticles on macrophage inflammatory responses 2 ○Ogasawara K ¹ , Furusawa E ¹ (Dept. Immunobiol., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ.)
O2-E3	Activation of NLRP3 inflammasome by <i>Streptococcus sanguinis</i> ○Saeki A ¹ , Sugiyama M ¹ , Hasebe A ¹ , Nakazawa F ² , Shibata K ¹ (Div. Oral Mol. Microbiol., Dept. Oral Pathobiol. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)

O2-E4	Regulatory mechanism of beta-1,3 glucan in inflammasome activity ○Okinaga T ¹ , Ariyoshi W ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
O2-E5	The influence of Smad3 activation on TLR4 ligand-induced IL-1beta production increased by the nitrogen-containing bisphosphonate ○Tamai R ¹ , Kiyoura Y ¹ (¹ Dept. Oral Med. Sci., Ohu Univ. Sch. Dent.)
O2-E6	Down-regulation of <i>Porphyromonas gingivalis</i> -induced LL-37 expression by IL-33 in human gingival epithelial cells ○Tada H ¹ , Matsushita K ² , Takada H ¹ (¹ Dept. Microbiol. Immunol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Dis. Res., Natl. Center Geriatr. Geroutol.)
O2-E7	CAMP factor of <i>Streptococcus pyogenes</i> induced cytoplasmic vacuolation in mouse macrophages ○Oda M ¹ , Kurosawa M ¹ , Domon H ¹ , Terao Y ¹ (¹ Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
O2-E8	The role of lysophospholipid acyltransferase on macrophage under disorders of lipid metabolism ○Taniguchi K ^{1,3} , Hikiji H ² , Okinaga T ³ , Nishihara T ³ (¹ Div. Oral & Maxillofac. Surg., Kyushu Dent. Univ., ² Dept. Oral Func. Management, Kyushu Dent. Univ., ³ Div. Infections & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
O2-E9	T cell-dependent and -independent regulatory roles of a new inhibitory molecule VISTA ○Ohno T ¹ , Azuma M ¹ (¹ Dept. Mol. Immunol., Tokyo Med. & Dent. Univ.)
O2-E10	Prickle cells in the dorsal surface of tongue and gingiva spontaneously express an immunoregulatory molecule CD274 (B7-H1) ○Kang S ¹ , Ohno T ¹ , Azuma M ¹ (¹ Dept. Mol. Immunol., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
O2-F1	Distortion mechanism of oral homeostasis in polymicrobial diseases inferred from genome information ○Maruyama F ¹ , Watanabe T ² , Endo A ² , Izumi Y ² , Nakagawa I ¹ (¹ Dept. Microbiol., Kyoto Univ. Grad. Sch. Med., ² Dept. Periodontol., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
O2-F2	Novel oligopeptidase of periodontopathic bacterium: Substrate specificity and monomer-oligomer conversion ○Nemoto TK ¹ , Ohara-Nemoto Y ¹ , Ono T ¹ , Shimoyama Y ² , Kimura S ² (¹ Dept. Mol. Biol., Course Med. Dent. Sci., Nagasaki Univ., ² Iwate Med. Univ., Mol. Microbiol.)
O2-F3	Study for the third type fimbriae of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Nagano K ¹ , Yoshida Y ¹ , Hasegawa Y ¹ , Yoshimura F ¹ (¹ Dept. Microbiol., Sch. Dent., Aichi Gakuin Univ.)
O2-F4	Development of new genetic engineering systems for <i>Actinomyces</i> spp. and <i>Rothia</i> spp. ○Mashimo C ¹ , Nambu T ¹ , Muruyama H ¹ , Yamane K ¹ , Yamanaka T ¹ , Fukushima H ¹ (¹ Dept. Bacteriol., Osaka Dent. Univ.)
O2-F5	Analyses of negative regulators of TLR signaling in chronic periodontitis ○Domon H ¹ , Oda M ¹ , Terao Y ¹ (¹ Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
O2-F6	Possibility of involvement of saturated fatty acids in pathogenesis of periodontitis ○Shikama Y ¹ , Kudo Y ² , Ishimaru N ² , Funaki M ¹ (¹ Clin. Res. Center. Diabet., Tokushima Univ. Hosp., ² Dept. Oral Mol. Pathol., Inst. Health Biosci., Tokushima Univ. Grad. Sch.)
O2-F7	Roles of filaggrin and caspase-14 in keratinization of oral mucosa ○Murakami H ¹ , Arita S ¹ , Okamura K ² , Hatta M ³ , Maruo N ¹ , Sakagami R ¹ , Yamazaki J ³ (¹ Dept. Odontol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll., ³ Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
O2-F8	Histochemical assessment on the periodontal tissues around the mandibular molars in aklotho-/- mice and kl/kl mice ○Hikone K ^{1,2} , Hasegawa T ¹ , Sasaki M ³ , Hongo H ¹ , Tuchiya E ^{1,4} , Toraya H ¹ , Oda K ⁵ , Iida J ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Orthodont., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Appl. Prosthodont., Nagasaki Univ. Sch. Dent., ⁴ Dept. Oral Med., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ⁵ Dept. Biochem., Niigata Univ. Grad. Sch. Dent.)
O2-F9	BDNF regulates p75-JNK signaling cascade to induce gingival epithelial cells apoptosis ○Kashiwai K ¹ , Fujita T ¹ , Shiba H ¹ , Kurihara H ¹ (¹ Dept. Periodontal Med., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biosci. & Health.)
O2-F10	Distributional difference in the elastic fiber system composing the periodontal tissue of rats ○Inoue K ¹ , Hara Y ² , Sato T ² (¹ Res. Center. Elec., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. Anat. Hist. Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
O2-F11	The effect of dental epithelial cells on formation of the oxytalan fibers ○Kira M ^{1,2} , Itaya S ¹ , Ozaki M ¹ , Oka K ¹ , Sawa Y ² (¹ Div. Pediat. Dent., Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Div. Funct. Structure, Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
O2-G1	Tooth movement with Periodicity and Zahnreihe ○Kozawa Y ¹ (¹ Comp. Anat. Bone & Tooth)
O2-G2	Histology and elemental composition of the enamel in human unworn mesiodens ○Takahashi M ¹ , Goto S ² (¹ Dept. Dent. Hyg., Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata, ² Dept. Dent. Mat. Sci., Sch. of Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ.)
O2-G3	Responses of infected dental pulp to capping with a mixture of three antibacterial drugs (3Mix) or calcium hydroxide cement in mouse molars ○Quispe-Salcedo A ¹ , Sato T ² , Matsuyama J ³ , Ohshima H ¹ (¹ Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. & Dent. Sci., ² Div. Oral Ecol. & Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Div. Pediat. Dent., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
O2-G4	Study of therapeutic effect of pulmonary fibrosis with a human exfoliated deciduous teeth dental pulp stem cell-derived paracrine factor ○Wakayama H ¹ , Yamamoto A ¹ , Ishikawa J ¹ , Yamaguchi S ¹ , Ueda M ¹ (¹ Dept. OMS., Nagoya Univ. Grad. Sch. Med)

O2-G5	Interaction of dentin sialophosphoprotein-derived proteins and TGF-beta 1 in dentin ○Yamakoshi Y ¹ , Kinoshita S ² , Karakida T ¹ , Oida S ¹ (¹ Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med., ² Dept. Pediat. Dent., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med.)
O2-G6	Effect of inflammatory cytokine to cell differentiation in odontoblast-like cells ○Nakagawa A ^{1,2} , Okinaga T ¹ , Ariyoshi W ¹ , Kitamura C ² , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Endodont. & Restor. Dent., Kyushu Dent. Univ.)
O2-G7	Extraciliary roles of IFT88 in odontoblasts during mitosis ○Kawata K ¹ , Takeda S ¹ (¹ Dept. Anat. & Cell Biol., Yamanashi Univ. Grad. Sch. Med. & Engr.)
O2-G8	Effects of exercise on salivary secretory IgA in rats ○Kurimoto Y ¹ , Yamamoto Y ¹ , To M ¹ , Saruta J ¹ , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. Environ. Pathol., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent.)
O2-G9	Involvement of MARCKS signaling in exocytotic amylase release in parotid and pancreatic acinar cells ○Sato K ¹ , Narita T ² , Sugiya H ² (¹ Dept. Regul. Physiol., Dokkyo Med. Univ. Sch. Med., ² Lab. Vet. Biochem, Nihon Univ. Coll. Bioresour. Sci.)
O2-G10	Analysis of the mechanism of actin polymerization during exocytosis by intravital microscope ○Shitara A ¹ , Takuma T ² (¹ IMTU, OPCB, NIDCR, Natl. Inst. Health, ² Dev. Biochem. Dept. Oral Biosci., Health Sci. Univ. Hokkaido)
O2-G11	Examination of migration to whole body of the salivary gland-derived BDNF ○To M ¹ , Saruta J ¹ , Sugimoto M ^{1,2} , Kondo Y ^{1,3} , Hayashi T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Shimizu T ¹ , Kurimoto Y ¹ , Saito I ⁴ , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept. Environ. Pathol., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ³ Dept. Pathol., Tokai Univ. Sch. Med., ⁴ Dept. Pathol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
O2-D13	Cartilage specific over expression of CCN3 induces degenerative changes in articular cartilage ○Hattori T ¹ , Ono M ² , Hoshijima M ^{1,3} , Kadoya K ⁴ , Kuboki T ² , Takigawa M ³ (¹ Dept. Biochem. Mol. Dent., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm. Sci., ² Dept. Oral Rehabil. Regen. Med., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm. Sci., ³ Okayama Univ. Dent. Sci., ⁴ Okayama Univ. Dent. Sch.)
O2-D14	Influence by excess and deficiency of vitaminA or retinoic acid on septoclasts in the growth plate cartilage of mice ○Bando Y ¹ , Sakashita H ¹ , Sakiyama K ¹ , Amano O ¹ (¹ Dept. Anat., Meikai Univ. Sch. Dent.)
O2-D15	Histological and immunohistochemical studies on changes of the temporomandibular joint cartilage of growing rats fed a liquid diet ○Uekita H ^{1,2} , Takahashi S ² , Kato T ² , Domon T ² (¹ Dept. Oral Rehabil. Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Oral Func. Anal. Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
O2-E11	Relationship between BrdU label-retaining cells (LRCs) and expressions of stem cell markers in the apical bud of incisors and developing molars in mice ○Ishikawa Y ¹ , Ohshima H ² (¹ Dept. Oral Health & Welf., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ² Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
O2-E12	Expression of hyaluronan synthase during tooth development in mice molar ○Morita T ¹ , Tamaki T ¹ , Fujikawa K ¹ , Shibata S ¹ (¹ Dept. of Maxillofac. Anat. Grad. Sch. Tokyo Med. & Dent. Univ.)
O2-E13	Enamel knot-like structure is eternally maintained in the apical bud of postnatal mouse incisors ○Nakatomi C ¹ , Nakatomi M ² , Saito K ³ , Harada H ⁴ , Ohshima H ⁵ (¹ Div. Mol. Signal. & Biochem., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Anat., Kyushu Dent. Univ., ³ Div. Pediat. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ⁴ Div. of Dev. Biol. & Regen. Med., Iwate Med. Univ., ⁵ Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
O2-F12	Responsiveness of digastric muscles to pyramidal tract stimulation during REM sleep ○Higashiyama M ¹ , Kato T ² , Sato F ² , Yatani H ¹ , Yoshida A ² (¹ Dept. Fix. Prosthodont., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Oral Anat. and Neurobiol, Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
O2-F13	The mechanisms underlying the enhanced CICR and SOCE in layer 3 pyramidal cells in the barrel cortex of PRIP-DKO mice ○Kawano T ¹ , Saito M ¹ , Sato H ¹ , Toyoda H ¹ , Kanematsu T ² , Hirata M ³ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ² Div. Integ. Med. Sci., Dept. Dent. Pharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ., ³ Lab. Mol. & Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O2-F14	Coenzyme replacement by peripheral administration of a precursor, sepiapterin, in the salvage pathway of tetrahydropterin ○Ohashi A ¹ , Naito M ¹ , Takahashi T ¹ (¹ Dept. Anat., Nihon Univ. Sch. Dent.)
O2-F15	Non-neuronal cells in the trigeminal ganglion following mental nerve injury of the rat ○Kadono K ¹ , Honma S ¹ , Wakisaka S ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Dev. Biol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
O2-G12	Analgesic effects of the first-generation anti-histaminines ○Takahashi M ¹ , Shima K ^{2,3} , Tsuchiya M ^{2,4,5} , Watanabe M ⁵ , Sugawara S ² , Endo Y ² (¹ Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ., ² Div. Oral Immunol., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., ³ Div. Orthodont. Dentofac. Orthoped., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., ⁴ Div. Oral Diagn., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., ⁵ Tohoku Fukushi Univ.)
O2-G13	Inflammatory and necrotic effects of nitrogen-containing bisphosphonates (N-BPs): augmentation by lipopolysaccharide (LPS) ○Suzuki H ^{1,2} , Shima K ^{1,4} , Sato E ^{1,3} , Yamaguchi T ¹ , Oizumi T ¹ , Sugawara S ¹ , Takahashi T ² , Endo Y ¹ (¹ Div. Oral Immunol., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., ² Div. Oral & Maxillofac. Surg, Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ., ³ Regident, Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ., ⁴ Div. Orthodont. Dentofac. Orthoped, Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ.)
O2-G14	The fate of orally administered osteocalcin and its effect on the glucose utilization in mice ○Mizokami A ¹ , Yasutake Y ^{1,3} , Higashi S ² , Kawakubo-Yasukochi T ¹ , Takahashi I ³ , Takeuchi H ² , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. & Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Div. Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ., ³ Div. Orthodont., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
O2-G15	Modification of glucose uptake in C2C12 myotubes by osteocalcin ○Tsuka S ^{1,2} , Aonuma F ^{1,2} , Hosokawa R ² , Hirata M ³ , Takeuchi H ¹ (¹ Dept. Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ., ² Dept. Oral Reconst. & Rehabil., Kyushu Dent. Univ., ³ Lab. Mol. Cell. Biochem., Dept. Dent., Kyushu Univ.)

■ Poster Presentation

P1-1	Studies on the sedative mechanism of eugenol through TRPV1 channel blocking activated by proton ○Takahashi K ¹ , Yoshida T ² , Wakamori M ² (Tohoku Univ. Sch. Dent., ² Div. Mol. Pharmacol. & Cell Biophys., Dept. Oral. Biol. Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-2	Amiloride-sensitive Ca ²⁺ influx induced by acidic and mechanical stimulation in odontoblasts ○Kurasawa K ¹ , Sato M ² , Kimura M ² , Kojima Y ² , Higashikawa A ² , Ogura K ² , Mochizuki H ² , Shimada M ² , Shibukawa Y ² , Tazaki M ² (Student, Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
P1-3	Evaluation of oral bacteria inhibiting the oral colonization of <i>Staphylococcus aureus</i> ○Izumi S ¹ , Matsuo M ² , Komatsuzawa H ² (15th grade of Dept. Dent., Kagoshima Univ., ² Dept. Oral Microbiol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-4	Electrophysiological analysis of TRPV1 channel activated by proton ○Miyamoto H ¹ , Araki K ¹ , Wakamori M ¹ (Lab. Mol. Pharmacol. & Cell Biophys., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-5	Immunohistochemical examination on TNALP and ENPP-1 in bone ○Kobayashi H ¹ , Hongo H ² , Oda K ³ , Amizuka N ² (Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Hard Tissue., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Oral Biol. Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-6	Overexpression of Osterix at a late stage of odontoblast differentiation inhibits odontoblast maturation and matrix protein production ○Inoue M ¹ , Miyazaki T ² , Baba T ³ , Komori T ² (Nagasaki Univ. Sch. Dent., ² Dept. Cell Biol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ³ Dept. Oral Mol. Biol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P1-7	Induced expression of subtilisin-like proprotein convertase in regeneration model of salivary gland ○Minegishi M ^{1,2} , Akamatsu T ¹ , Yao C ¹ , Hasegawa T ¹ , Yoshimura H ¹ (Dept. Mol. Oral Physiol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch., ² 4th year, Fac. Dent., Univ. Tokushima)
P1-8	Dental infection of <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>P.g.</i>) exacerbates progression of non-alcoholic steatohepatitis —Effects of <i>P.g.</i> and <i>P.g.</i> -LPS on Hepatocytes— ○Hirata M ¹ , Furusyo H ² , Miyauchi M ² , Takata T ² (Fac. Dent., Hiroshima Univ., ² Dept. Oral & Maxillofac. Pathobiol., Inst. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.)
P1-9	Distribution of TRPVs, P2X3, and parvalbumin in the human nodose ganglion ○Urata Y ¹ , Sato T ¹ , Okajima T ¹ , Nanno M ¹ , Shimizu Y ¹ , Ichikawa H ¹ (Div. Oral & Craniofac. Anat., Sch. Dent., Tohoku Univ.)
P1-10	Developmental studies on the multicrooked tooth formation in rat ○Osawa E ¹ , Yamazaki T ² , Yamamoto H ² , Shintani S ¹ (Dept. Pediat. Dent., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll.)
P1-11	Histological assessment on bone cells during daily administration and after the discontinuation of alendronate ○Tsuboi K ^{1,2} , Sasaki M ^{1,3} , Hasegawa T ¹ , Toraya H ¹ , Oda K ⁴ , Kitagawa Y ² , Amizuka N ¹ (Dept. Oral Health, Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Pathol., Oral Med., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Oral Implantol. Nagasaki Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ⁴ Dept. Oral Biol. Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-12	The regulatory mechanism of cell adhesion and differentiation by Ca ²⁺ stimulation in dental epithelial cells ○Miyazaki K ¹ , Yoshizaki K ¹ , Arai C ¹ , Zhang L ¹ , Han X ¹ , Haruyama N ¹ , Takahashi I ¹ (Sect. Orthodont. & Dentofac. Orthop., Div. Oral Health, Growth & Dev., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ. Grad. Sch.)
P1-13	Localization of formyl peptide receptor 2 (Fpr2) in rat tooth ○Horibe K ¹ , Hosoya A ¹ , Hiraga T ¹ , Nakamura H ¹ (Dept. Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ.)
P1-14	Range finding of the blood vessel and a nerve which runs in head and neck skeletal muscle ○Kitamura K ¹ , Yamauti M ¹ , Yamamoto M ¹ , Yamane S ¹ , Umezawa T ¹ , Serikawa M ¹ , Abe S ¹ (Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
P1-15	Non-neuronal cells in the trigeminal ganglion following mental nerve injury of the rat ○Kadono K ¹ , Honma S ¹ , Wakisaka S ¹ (Dept. Oral Anat. & Dev. Biol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-16	Host and donor interaction during dental pulp development in transplanted tooth germs ○Saito K ¹ , Ida-Yonemochi H ¹ , Ohshima H ¹ (Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P1-17	Effect of inorganic phosphate on calcified nodules formation in a three-dimensional rat dermal culture sheet ○Suyama T ¹ , Hata S ¹ , Ishikawa H ¹ , Yamazaki J ² (Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-18	Effect of altered collagen crosslinks on the osteoblast and osteoclast activities ○Ida T ¹ , Kaku M ¹ , Kitami M ^{1,2} , Uoshima K ¹ (Div. Bioprosthodont. Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ² JSPS)
P1-19	Mesenchymal connective tissue plays an important role in bone resorption by dentigerous cysts ○Kitamura T ¹ , Sugimoto A ¹ , Nakagawa H ² , Akazawa Y ² , Hasegawa T ¹ , Iwamoto T ^{1,2} (Dept. Pediat. Dent., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch., ² Dept. Pediat. Dent., Tokushima Univ. Hosp.)
P1-20	The analysis of three-dimensional ultrastructure of osteocyticlacunar-canalicular system (OLCS) by using FIB-SEM ○Hasegawa T ¹ , Yamamoto T ¹ , Toraya H ¹ , Amizuka N ¹ (Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-21	Effect of the deletion of TRPV4 on the barrier of gingival epithelia ○Kitsuki T ^{1,2} , Aijima R ^{1,3} , Hatakeyama J ¹ , Oosaki Y ¹ , Zhang J ¹ , Mizuho K ¹ (Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg. Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saga Univ.)

P1-22	Effective combination of cytokines for bone repair and its involvement in angiogenesis ○Masuda T ¹ , Otsu K ² , Fujiwara N ² , Kumakami M ² , Harada H ² (¹ Div. Oral & Maxillofac. Surg., Iwate Med. Univ., ² Div. Dev. Biol. & Regen. Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.)
P1-23	Tight junction formation with altered basal cell marker expression in HaCaT cells ○Kitagawa N ¹ , Inai T ¹ (¹ Dept. Morphol. Biol. Fukuoka Dent. Coll.)
P1-24	The barrier function of the tight junction in mouse palatal epithelium ○Shiotsu N ^{1,2} , Kawamoto T ³ , Kawai M ² , Ikegame M ² , Torii Y ¹ , Yamamoto T ² (¹ Okayama Univ. Hosp., Dept. Comprehensive Dent., ² Dept. Oral Morphol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ³ Radioisotope Res. Inst., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med.)
P1-25	Disrupting hedgehog and WNT signaling interactions promotes cleft lip pathogenesis ○Kurosaka H ¹ (¹ Stowers Inst. Med. Res., Paul Trainor Lab)
P1-26	Muscle-fiber characteristics of the musculus rectus capitis posterior minor and the musculus obliquus capitis inferior ○Yamauchi M ¹ , Kitamura K ¹ , Yamamoto M ¹ , Abe S ¹ (¹ Dept. Anat., Tokyo Dent. Coll.)
P1-27	Involvement of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) in tight junction formation in HaCaT cells ○Minakami M ¹ , Kitagawa N ² , Anan H ¹ , Inai T ² (¹ Dept. Odontol. Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-28	Pancreatic differentiation employing H ₂ S from human tooth pulp cells ○Okada M ¹ , Yaegaki K ¹ , Imai T ¹ (¹ Dept. Oral Health, Nippon Dent. Univ.)
P1-29	The effect of dental epithelial cells on formation of the oxytalan fibers ○Kira M ^{1,2} , Itaya S ¹ , Ozaki M ¹ , Oka K ¹ , Sawa Y ² (¹ Div. Pediat. Dent., Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Div. Func. Structure, Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-30	Localization of 15N-minodronate by isotope microscopy and histochemical assessment for the biological effects of minodronate in mice ○Sasaki M ^{1,2} , Hongo H ² , Kobayashi S ³ , Yurimoto H ² , Amizuka N ² (¹ Dept. Appl. Prosthodont., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ² Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue, Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Dept. Nat. History Sci., Hokkaido Univ.)
P1-31	Identification of the joint enhancer in murine Trps1 proximal promoter region ○Takeuchi Y ^{1,2} , Abe M ¹ , Fujikawa J ^{1,3} , Wakisaka S ¹ , Yamashiro T ² (¹ Dept. Anat. & Dev. Biol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Div. Special Care Dent., Osaka Univ. Dent. Hosp.)
P1-32	Gene transfer to periodontal tissue using in vivo electroporation for alveolar bone regeneration ○Kataoka Y ^{1,2} , Kawai M ¹ , Shiotsu N ^{1,3} , Ikegame M ¹ , Iida S ² , Yamamoto T ¹ (¹ Dept. Oral Morphol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² Dept. Oral & Maxillofac. Reconstruct. Surg., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ³ Okayama Univ. Hosp., Dept. Comprehensive Dent.)
P1-33	Histological examinations on bone tissue around titanium implants bearing early occlusal loading after their implantation ○Ikeda Y ^{1,2} , Hasegawa T ² , Oda K ³ , Amizuka N ² , Yokoyama A ¹ (¹ Dept. Oral Func. Prosthodont. Div. Oral Func. Sci. Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Dev. Biol. of Hard Tissue, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ³ Div. Oral Biochem., Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., Niigata Univ.)
P1-34	Characteristics of stem cells derived from human dental follicle and periodontal ligament isolated by different methods ○Ohama R ^{1,2} , Suda N ¹ , Nakahara T ² (¹ Dept. Orthodont., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Dept. Dev. & Regen. Dent., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)
P1-35	Pharmacological evaluation of the animal model of orthodontic treatment-induced pain ○Sasaki A ¹ , Hasegawa N ¹ , Sakagami H ² , Amano O ³ , Adachi K ² , Suda N ¹ (¹ Div. Orthodont., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Anat., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-36	Endothelin is involved in inhibition of early tongue cancer pain in rats ○Furukawa A ¹ , Shinoda M ² , Honda K ² , Iwata K ² (¹ Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Dept. Physiol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-37	Intracellular odontoblast-odontoblast communication via extracellular glutamate ○Nishiyama A ¹ , Sato M ² , Kimura M ² , Tazaki M ² , Katakura A ² , Shibukawa Y ² (¹ Dept. Oral Med., Oral & Maxillofac. Surg. Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
P1-38	Merkel cells transduce mechanical stimuli and release neurotransmitters ○Higashikawa A ¹ , Kojima Y ¹ , Kimura M ¹ , Satou M ¹ , Ogura K ¹ , Mochiduki H ¹ , Shibukawa Y ¹ , Tazaki M ¹ (¹ Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
P1-39	Thirst sensation is elicited by acetaldehyde-induced activation of the renin-angiotensin system in rat ○Ujihara I ^{1,2} , Hitomi S ¹ , Ono K ¹ , Kakinoki Y ² , Inenaga K ¹ (¹ Div. Physiol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Gerodontology, Kyushu Dent. Univ.)
P1-40	Effects of 5-fluorouracil on stomatitis-induced pain in rats ○Yamaguchi K ¹ , Hitomi S ¹ , Ono K ¹ , Harano N ^{1,2} , Sago T ^{1,2} , Inenaga K ¹ (¹ Div. Physiol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Dent. Anesthesiol., Kyushu Dent. Univ.)
P1-41	Activation of peripheral mGluR5 contributes thermal and mechanical hyperalgesia via TRPA1 and TRPV1 ○Honda K ^{1,2} , Shinoda M ¹ , Furukawa A ² , Iwata K ¹ (¹ Dept. Physiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-42	Involvement of TRPV1 and TRPA1 in intraoral and face mechanical and heat hypersensitivity associated with oral mucosa and facial skin incisions ○Urata K ¹ , Shinoda M ² , Iwata K ² (¹ Dept. Prosthodont., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Dept. Physiol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-43	Long-term feeding on powdered food impairs glucose metabolism and affects behavior in mice ○Chiba K ^{1,3} , Tsuchiya M ² , Watanabe M ¹ , Sugawara S ³ , Endo Y ³ (¹ Div. Aging Geriatr Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Oral Diagn., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Div. Oral Mol. Regul., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)

P1-44	Role of V-ATPase in salivary glands ○Horie S ^{1,2} , Nakanishi-Matsui M ³ , Sahara Y ² (¹ Dept. Tumor. Biol., Inst. Biomed. Sci., Iwate Med. Univ., ² Dept. Physiol., Iwate Med. Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Biochem., Iwate Med. Univ.)
P1-45	Nav1.9 sodium channel and transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) co-expression in myenteric plexus of newborn rat large intestine ○Tamiya J ¹ , Ide R ¹ , Takahashi M ¹ , Saiki C ¹ (¹ Dept. Physiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent.)
P1-46	Effect of superior laryngeal nerve stimulation on the modulation of the jaw opening reflex responses and the transmission in trigeminal nuclei. ○Sakai S ¹ , Tsuji K ¹ , Magara J ¹ , Tsujimura T ¹ , Inoue M ¹ (¹ Div. Dysphagia Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-47	Neural responses to astringent compound applied to the tongue recorded from the lingual and chorda tympani nerves and related temperature perception in rats ○Mikamo S ¹ , Kodama N ² , Mitoh Y ¹ , Kobashi M ¹ , Minagi S ² , Matsuo R ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² Dept. Occlusal & Oral Func. Rehabil., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. Pharm. Sci.)
P1-48	Analgesic effect of Hangeshashinto, a traditional Japanese medicine, on oral ulcer-induced mucosal pain in rats ○Hitomi S ¹ , Ono K ¹ , Inenaga K ¹ (¹ Div. Physiol., Kyushu Dent. Univ.)
P1-49	Histological and physiological analysis of submandibular salivary gland from KK-Ay diabetic mice ○Munemasa T ¹ , Mukaibo T ¹ , Kondo Y ¹ , Masaki C ¹ , Nakamoto T ¹ , Hosokawa R ¹ (¹ Dept. Oral Reconst. & Rehabil., Kyushu Dent. Univ.)
P1-50	The role of glutamate receptors in the nucleus of the solitary tract on the initiation of swallows ○Tsujiura T ¹ , Tsuji K ¹ , Sakai S ¹ , Magara J ¹ , Inoue M ¹ (¹ Div. Dysph Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-51	The interaction between ACh and VIP on parasympathetic blood flow increase in rat sublingual gland ○Sato T ¹ , Ishii H ¹ (¹ Div. Physiol., Dept. Oral Biol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-52	The circadian rhythm in mouse submandibular gland ○Uchida H ¹ , Sakai T ² , Saito I ¹ , Nakamura W ³ (¹ Dept. Pathol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med., ² Dept. Oral-Facial Dis., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Lab. Oral Chronobiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-53	Alkaline sensitivity that drives dentin formation in rat odontoblasts ○Kimura M ¹ , Sato M ¹ , Kojima Y ¹ , Higashikawa A ¹ , Shimada M ² , Ogura K ¹ , Mochizuki H ¹ , Tazaki M ¹ , Shibukawa Y ¹ (¹ Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Clin. Oral Health Sci., Tokyo Dent. Coll.)
P1-54	Involvement of CCK in normal gustatory responses to bitter compounds ○Shin M ¹ , Shigemura N ¹ , Takai S ¹ , Yasumatsu K ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Dent. Oral Neurosci., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-55	The relation of the noradrenergic neurons on feeding suppression and nausea by L-histidine administration ○Okusha Y ^{1,2} , Hirai Y ¹ , Maezawa H ¹ , Yamazaki Y ² , Funahashi M ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Gerodontology, Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-56	Phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in trigeminal spinal subnucleus caudalis contributes dry-tongue pain ○Nakaya Y ¹ , Tsuboi Y ² , Shinoda M ² , Iwata K ² (¹ Dept. Oral Diagn., Nihon Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Physiol., Nihon Univ.)
P1-57	Effects of increases in the occlusal vertical dimension on acquisition and retention of passive-avoidance conditioning in Hartley guinea pig ○Fujinami Y ¹ , Toyoda H ¹ , Saitou M ¹ , Satou H ¹ , Tanaka C ^{1,2} , Kawano T ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Prosth. Gerod. & Oral Rehabil., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-58	Effects of glycine microinjection into the trigeminal motor nucleus on jaw opening reflex excitability in rats ○Odai R ¹ , Hino S ² , Watanabe S ¹ , Sakagami H ³ , Adachi K ³ (¹ Dept. Oral Pediat., Dent. Meikai Univ., ² Dept. Oral Surg., Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., ³ Dept. Pharmacol., Dent. Meikai Univ.)
P1-59	Activation of thermosensitive TRP channel enhances oral wound repair ○Aijima R ^{1,2,3,4} , Ohsaki Y ¹ , Zhang J ¹ , Kitsuki T ¹ , Murata N ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saga Univ., ³ Div. Histol. & Neuroanat., Dept. Anat. & Physiol., Fac. Med., Saga Univ., ⁴ JSPS)
P1-60	Analysis of the mechanism of actin polymerization during exocytosis by intravital microscope ○Shitara A ¹ , Takuma T ² (¹ IMTU, OPCB, NIDCR, NIH, ² Dev. Biochem. Dept. Oral Biosci., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-61	(Withdrawn)
P1-62	(Withdrawn)
P1-63	The establishment of real-time monitoring method for bacterial metabolic activity using a fluorescent dye ○Ishiguro K ^{1,2} , Washio J ² , Sasaki K ¹ , Takahashi N ² (¹ Div. Adv. Prosthodont. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Oral Ecol. Biochem. Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-64	Extraciliary roles of IFT88 in odontoblasts during mitosis ○Kawata K ¹ , Takeda S ¹ (¹ Dept. Anat. & Cell Biol., Yamanashi Univ. Grad. Sch. Med. & Engr.)
P1-65	Functional assessment of dentin particles as a bone substitute ○Oguri K ¹ , Kawaki H ² , Tanaka M ¹ , Mori H ¹ , Kamiya M ² , Kawano S ¹ , Takayama E ² , Yoshida T ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Endodont., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent.)

P1-66	Effects of vacuum ultraviolet photofunctionalization of titanium on human bone marrow derived mesenchymal stem cell activities ○Shintani K ¹ , Kawaki H ² , Kamiya M ² , Takayama E ² , Hotta M ¹ , Doi Y ³ , Kondoh N ² (¹ Dept. Operat. Dent. Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Mat. Sci., Asahi Univ. Sch. Dent)
P1-67	TGF-β1 in porcine immature enamel ○Kinoshita S ¹ , Karakida T ² , Oida S ² , Asada Y ¹ , Yamakoshi Y ² (¹ Dept. Pediat. Dent., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med., ² Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med.)
P1-68	Effects of porous carbonate apatite on the induction of bone-like hard tissue ○Takahashi J ¹ , Kawaki H ² , Kondo Y ¹ , Osaki K ¹ , Kamiya M ² , Takayama E ² , Doi Y ³ , Nagahara K ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Oral & Maxillofac. Implant, Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Mat. Sci., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-69	Osteopontin influences physiological responses of osteoblasts through LMW-PTP upregulation ○Kusuyama J ^{1,2} , Bandow K ² , Ohnishi T ² , Semba I ¹ , Matsuguchi T ² (¹ Dept. Oral Pathol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ² Dept. Oral Biochem., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-70	Dual regulation of cell growth and morphological change in ameloblastoma cells by NFATc1 and NFATc2 ○Yoshimoto S ¹ , Morita H ² , Nakamura S ³ , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. & Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Sec. Gen. Dent., Dept. Gen. Dent., Fukuoka Dent. Coll., ³ Sect. Oral & Maxillofac. Oncol., Div. Maxillofac. Diagn. Surg. Sci., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-71	Extracellular inorganic phosphate functions as a potent inducer of the Dmp1 expression and facilitates the osteocyte differentiation ○Nishino J ^{1,2} , Michigami T ¹ (¹ Dept. Bone & Mineral Res., Osaka Med. Center & Res. Inst. Maternal and Child Health, ² The First Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-72	Establishment of mesenchymal stem cell line derived from salivary gland in tdTomato transgenic mice ○Furukawa S ¹ , Kuwajima Y ¹ , Hatakeyama S ¹ , Chosa N ² , Satou K ¹ , Ohtsuka M ³ , Ishisaki A ² , Fujimura A ⁴ , Miura H ¹ (¹ Div. Orthodont., Dept. Dev. Oral Health Sci., Sch. Dent, Iwate Med. Univ., ² Div. Cell. Biosignal Sci., Dept. Biochem, Iwate Med. Univ., ³ Dept. Mol. Life Sci., Div. Basic Mol. Sci. & Mol. Med, Sch. Med., Tokai Univ., ⁴ Div. Func. Morphol., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.)
P1-73	Sirt1 activity suppresses growth and migration ability of human gingival squamous cell carcinoma cell-line Ca9-22 cells ○Murofushi T ¹ , Tsuda H ¹ , Suzuki N ¹ (¹ Dept. Biochem., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-74	Biological effects of interleukin-17 on synovocytes ○Sakurai T ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Oral & Maxillofac. Surg., Kyushu Dent. Univ.)
P1-75	Characteristics of osteoclast precursor cells isolated from bone marrow, spleen and blood ○Enomoto T ^{1,2} , Takami M ³ , Yamamoto M ² , Kamijo R ¹ (¹ Dept. Biochem., Sch. Dent., Showa Univ., ² Dept. Periodont., Sch. Dent., Showa Univ., ³ Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Showa Univ.)
P1-76	Modulatory effects of mouse OSCC and stromal cells on IFN-γ producing- capability of spleen cells ○Inagaki T ¹ , Kamiya M ² , Kawaki H ² , Takayama E ² , Adachi M ¹ , Muramatsu Y ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Oral Maxillofac. Surg., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-77	Inhibitory effect of fluorides on pH fall activity, evaluated using a pH monitoring device for the biofilm-tooth surface interface ○Ishiguro T ^{1,2} , Mayanagi G ³ , Sasaki K ¹ , Takahashi N ² (¹ Div. Adv. Prosthodont. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Div. Oral Ecol. Biochem., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Res. Unit Interface Oral Health Sci., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-78	Biocompatibility of alpha-TCP/Te-CP cement to human dental pulp stem cells in culture ○Hasegawa T ¹ , Kawaki H ² , Kamiya M ² , Kawano S ¹ , Takayama E ² , Doi Y ³ , Tamaki Y ³ , Yosida T ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Endodont., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Mat. Sci., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-79	Establishment of a co-culture system for simultaneous proliferation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and undifferentiated blood cells ○Takizawa N ^{1,2} , Kyakumoto S ² , Okubo N ³ , Chosa N ² , Ibi M ⁴ , Kamo M ² , Otuka M ⁵ , Yaegashi T ¹ , Ishisaki A ² (¹ Div. Periodont., Dept. Conserv. Dent., Iwate Med. Univ., ² Div. Cell. Biosignal Sci., Dept. Biochem., ³ Dept. Pathophysiol. & Therap., Div. Pharm., Fac. Pharma. Sci. Hokkaido Univ., ⁴ Dept. Tumor Biol., Inst. Biomed. Sci., Iwate Med. Univ., ⁵ Dept. of Mol. Life Sci., Div. Basic Med., Tokai Univ.)
P1-80	Effect of caldecrin in cytoskeletal organization of mature osteoclasts ○Hasegawa H ^{1,2} , Suda N ¹ , Tomomura A ² (¹ Div. Orthodont., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Biochem., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-81	Inhibition of Osteoclastogenesis by IL-33 from mechanical stress of 3D-gel ○Kiyomiya H ^{1,2} , Ariyoshi W ¹ , Okinaga T ¹ , Nishihara T ¹ (¹ Div. Infect. & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Oral & Maxillofac. Surg., Kyushu Dent. Univ.)
P1-82	Critical roles for ARID3B in expression of proapoptotic p53-target genes and cell death following DNA damage ○Endrawan P ¹ , Iseki S ¹ , Ikeda M ¹ (¹ Dept. Mol. Craniofac. Embryol., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P1-83	Functional analysis of dentin-stem cell complex as a bone substitute material ○Tanaka M ¹ , Kawaki H ² , Oguri K ¹ , Mori H ¹ , Kamiya M ² , Kawano S ¹ , Takayama E ² , Yoshida T ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Endodont., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-84	8-Nitro-cGMP is a novel endogenous signaling molecule that promotes elongation of mouse growth plates ○Hoshino M ^{1,2} , Miyamoto Y ¹ , Yoshimura K ¹ , Tanaka J ³ , Mishima K ³ , Baba K ² , Kamijo R ¹ (¹ Dept. Biochem., Showa Univ. Sch. Dent., ² Dept. Prosthodont., Showa Univ. Sch. Dent., ³ Div. Pathol., Dept. Oral Diagn., Showa Univ. Sch. Dent.)
P1-85	Potential roles of sintered carbonate apatite in osteoblast proliferation and differentiation via MAPK signaling pathway ○Kondo Y ¹ , Kawaki H ² , Takahashi J ¹ , Osaki K ¹ , Kamiya M ² , Takayama E ² , Doi Y ³ , Nagahara K ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept. Oral & Maxillofac. Implant, Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Mat. Sci., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-86	Netrin-4 derived from vascular endothelial cells inhibits osteoclast differentiation in vitro and prevents bone loss in vivo ○Enoki Y ¹ , Sato T ¹ , Okubo M ¹ , Kokabu S ² , Usui M ³ , Yoda T ¹ (¹ Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Saitama Med. Univ., ² Div. Mol. Signal. & Biochem., Kyushu Dent. Univ., ³ Div. Periodont., Kyushu Dent. Univ.)
P1-87	New selective inhibitor of NF-κB inhibits bone invasion by oral squamous cell carcinoma ○Tada Y ^{1,2} , Sugiyama G ¹ , Fukushima H ³ , Kokabu S ¹ , Jimi E ¹ (¹ Div. Mol. Signal. & Biochem., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Dent. Anesthesiol., Kyushu Dent. Univ., ³ Sec. Cell. Physiol., Fukuoka Dent. Coll.)

P1-88	Cytological characteristics of foreign body giant cells in the cholesterol granulomas elicited in mice ○Sakai K ¹ , Matsuda S ¹ , Shoumura M ² , Osuga N ² , Nakano K ¹ , Kawakami T ¹ (¹ Hard Tissue Pathol., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch., ² Oral Health Anal., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch.)
P1-89	Pathologically examination of experimentally induced periodontal polyp ○Matsuda S ¹ , Nakano K ¹ , Shoumura M ² , Osuga N ² , Tsujigiwa H ³ , Kawakami T ¹ (¹ Hard Tissue Pathol., Matsumoto Dent. Univ., ² Oral Health Anal., Matsumoto Dent. Univ., ³ Dept. Life Sci., Fac. Sci, Okayama Univ. Sci.)
P1-90	A study of therapeutic effects for acute myocardial infarction by applying conditioned media from human dental pulp stem cells ○Yamaguchi S ¹ , Yamamoto A ¹ , Wakayama H ¹ , Ishikawa J ¹ , Ueda M ¹ (¹ Dept. Oral Maxillofac. Surg., Nagoya Univ. Grad. Sch. Med.)
P1-91	A study of therapeutic effects for rheumatoid arthritis with conditioned medium from human dental pulp stem cells ○Ishikawa J ¹ , Yamamoto A ¹ , Wakayama H ¹ , Yamaguchi S ¹ , Ueda M ¹ (¹ Dept. Oral Maxillofac. Surg. Nagoya Univ. Grad. Sch. Med.)
P1-92	Promotion of diabetic nephropathy by periodontal pathogen-derived TLR ligands ○Takata S ¹ , Kajiwara K ¹ , Ishikawa H ¹ , Sawa Y ² (¹ Dept.Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-93	The study of the relationship between the malignant transformation in oral lichen planus and human papillomavirus type 16 infection ○Kato S ¹ , Kawai R ¹ , Isomura M ¹ , Sato N ¹ , Kato I ¹ , Yoshida W ^{1,2} , Sato E ^{1,2} , Sugita Y ^{1,2} , Kubo K ^{1,2} , Maeda H ^{1,2} (¹ Dept. Oral Pathol., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent., ² Center Adv. Oral Sci., Aichi Gakuin Univ.)
P1-94	Role of mTOR pathway in ameloblastoma ○Baba T ¹ , Yamashita Y ¹ (¹ Dept. Oral & Maxillofac Surg, Fac. Med., Univ. Miyazaki)
P1-95	Sox2 and Oct4 expression in stem cells from cervical loop of murine mandibular incisor ○Maruo N ¹ , Okamura K ² , Sawa Y ³ , Sakagami R ¹ (¹ Sec. Periodontol., Dept. Odontol. Fukuoka Dent. Coll., ² Sec. Pathol., Dept. Morphol. Biol. Fukuoka Dent. Coll., ³ Sec. Func. Struct., Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent Coll.)
P1-96	Interaction between tumor endothelial cells and tumor cells in tumor metastasis ○Maishi N ¹ , Shindoh M ² , Hida K ¹ (¹ Vasc. Biol., IGM, Hokkaido Univ., ² Dept. Oral Pathol. Biol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
P1-97	Histopathological examination of occlusal trauma elicited in mice ○Mimura H ¹ , Takaya T ¹ , Nakano K ² , Matuda S ² , Okafuji N ³ , Osuga N ¹ , Kawakami T ² , Fujii T ¹ (¹ Oral Health Anal., Matsumoto Dent. Univ., ² Hard Tissue Pathol., Matsumoto Dent. Univ., ³ Clin. Eval., Matsumoto Dent. Univ.)
P1-98	Hyperglycemia inhibits osteoblastic differentiation and promotes the production of pro-inflammatory cytokines in human periodontal ligament stem cells ○Kato H ¹ , Okamura T ¹ , Tominaga K ¹ , Wato M ¹ , Nishikawa T ¹ , Tanaka A ¹ (¹ Dept. Oral Pathol., Osaka Dent. Univ.)
P1-99	Possibility of involvement of saturated fatty acids in pathogenesis of periodontitis ○Shikama Y ¹ , Kudo Y ² , Ishimaru N ² , Funaki M ¹ (¹ Clin. Res. Center. Diabet., Tokushima Univ. Hosp., ² Dept. Oral Mol. Pathol., Inst. Health Biosci., Tokushima Univ. Grad. Sch.)
P1-100	DNA methylation of Inflammation-related genes stimulated with LPS for prolonged periods ○Takai R ¹ , Uehara O ² , Harada F ¹ , Utsunomiya M ¹ , Chujo T ¹ , Yoshida K ¹ , Sato J ¹ , Nishimura M ¹ , Chiba I ² , Abiko Y ¹ (¹ Div. Oral Med. & Pathol., Health Sci. Univ. Hokkaido. Sch. Dent., ² Div. Disease Cont. & Mol. Epidemiol. Health Sci. Univ. Hokkaido. Sch. Dent.)
P1-101	Human papilloma virus type 16 infection in oral squamous cell carcinoma with lymph node metastasis ○Kawai R ¹ , Isomura M ¹ , Sato N ¹ , Kato S ¹ , Yoshida W ¹ , Sato E ¹ , Sugita Y ¹ , Kubo K ¹ , Maeda H ¹ (¹ Dept. Oral Pathol., Sch. Dent., Aichi-Gakuin Univ.)
P1-102	Role of TGFbeta signaling in the bone microenvironment by oral cancer ○Nakamura R ^{1,2} , Harada K ² , Yamaguchi A ¹ (¹ Sec.Oral Pathol., Grad.Sch. Med.& Dent., Tokyo Med. & Dent. Univ., ² Sec. Maxillofac. Surg., Grad. Sch. Med. & Dent., Tokyo Med. & Dent. Univ.)
P1-103	Activation of NLRP3 inflammasome by <i>Streptococcus sanguinis</i> ○Saeki A ¹ , Sugiyama M ¹ , Hasebe A ¹ , Nakazawa F ² , Shibata K ¹ (¹ Div. Oral Mol. Microbiol., Dept. Oral Pathobiol. Sci., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-104	Detection and purification of autoinducers from <i>Veillonella tobetsuensis</i> ○Mashima I ¹ , Kamaguchi A ² , Miyakawa H ² , Fujita M ² , Nakazawa F ² (¹ Dept. Oral Microbiol., Health. Sci. Univ. Hokkaido Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Microbiol., Sch Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-105	Prickle cells in the dorsal surface of tongue and gingiva spontaneously express an immunoregulatory molecule CD274 (B7-H1) ○Kang S ¹ , Ohno T ¹ , Azuma M ¹ (¹ Dept. Mol. Immunol., Tokyo Med. Dent. Univ., Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-106	Functional analysis of Bcl-2 family proteins in anti-bacterial autophagic process ○Nakajima S ¹ , Watanabe T ¹ , Nozawa T ² , Aikawa C ² , Maruyama F ² , Nakagawa I ² (¹ Bact. Pathogen., Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Tokyo Med. Dent. Univ., ² Microbiol., Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.)
P1-107	Consideration of the origin of microbiota in saliva using 16S rRNA gene analyses ○Kageyama S ¹ , Takeshita T ¹ , Shibata Y ¹ , Yamashita Y ¹ (¹ Dept. Prevent. Dent., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-108	Search of cell surface antigen expressed on <i>Candida albicans</i> under mild heat stress ○Tasaki S ¹ , Thou T ¹ , Hashimoto M ¹ , Imayoshi R ¹ , Nagao J ¹ , Kojima H ² , Tanaka Y ¹ (¹ Sec. Infect. Biol., Fukuoka Dent. Coll., ² Sec. Dent. for Disabled, Fukuoka Dent. Coll.)
P1-109	Analysis of antigen incorporating and processing cells in sublingual immunotherapy ○Shiraishi D ^{1,2} , Tanaka Y ^{2,3} , Shimauchi H ¹ , Sugawara S ² (¹ Dept. Endodont. & Periodont., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Immunol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Pediat. Dent., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-110	Involvement of the type IX secretion system in gliding motility and biofilm formation of <i>Capnocytophaga ochracea</i> ○Kita D ¹ , Kikuchi Y ² , Kokubu E ² , Shibayama K ² , Saito A ^{1,3} , Nakayama K ⁴ , Ishihara K ^{2,3} (¹ Dept.Periodont., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ³ Oral Heal Sci. Center., Tokyo Dent. Coll., ⁴ Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ.)

P1-111	Regulation of genome evolution by CRISPR in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Watanabe T ¹ , Nozawa T ² , Aikawa C ² , Maruyama F ² , Nakagawa I ² (¹Sec. Periodontol., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ²Dept. Microbiol., Kyoto Univ. Grad. Sch. Med.)
P1-112	Antimicrobial activity and inhibitory effect of alveolar bone resorption by a toothpaste containing Pycnogenol ○Sato T ¹ , Hayasaka N ² , Toyama T ¹ , Takahashi S ³ , Hamada N ¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ., ²R and D Oral Care G., Healthcare Div., Kobayashi Pharmaceutical Co., Ltd., ³Dept. Oral Sci., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ.)
P1-113	The enzymatic activity of the wall-anchored nuclease from <i>Streptococcus sanguinis</i> ○Morita C ^{1,4} , Sumioka R ¹ , Nakata M ¹ , Wada S ¹ , Okahashi N ² , Sumitomo T ¹ , Yamaguchi M ¹ , Hamada S ³ , Yamashiro T ⁴ , Kawabata S ¹ (¹Dept. Oral & Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ²Oral Frontier Center, Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ³Res. Inst. Microbial Dis., Osaka Univ., ⁴Dept. Orthodont. Grad. Sch. Dent., Osaka Univ.)
P1-114	The involvement of smad2 on apoptosis in human gingival epithelial cells ○Yoshimoto T ¹ , Fujita T ¹ , Shiba H ¹ , Kurihara H ¹ (¹Dept. Periodont. Med., Inst. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.)
P1-115	<i>Porphyromonas gingivalis</i> activates influenza HA0 cleavage ○Kamio N ¹ , Imai K ¹ , Saito Y ¹ , Ochiai K ¹ (¹Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-116	Species diversity and functional robustness in polymicrobial diseases ○Kachi H ¹ , Maruyama F ² , Michi Y ³ , Watanabe T ³ , Nakagawa I ² , Harada K ¹ (¹Dept. Maxillofac. Surg., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ²Dept. Microbiol., Kyoto Univ. Grad. Sch & Fac. Med., ³Dept. Periodont., Tokyo Med. Dent. Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P1-117	Evaluation of biofilm formation in thermoplastic resins using biofilm assay by immunoblot ○Konno H ^{1,2} , Yoshida Y ² , Nagano K ¹ , Hasegawa Y ¹ , Nakamura Y ² , Tanaka Y ² , Yoshimura F ¹ (¹Dept. Microbiol. Aichi-Gakuin Univ. Sch. Dent., ²Dept. of Rem. Pro., Aichi-Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P1-118	Role of hyaluronidase in group A <i>Streptococcus</i> pathogenesis ○Yamaguchi M ¹ , Nakata M ¹ , Sumitomo T ¹ , Kawabata S ¹ (¹Dept. Oral Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ.)
P1-119	Hemin effect on growth and activity of <i>Porphyromonas gingivalis</i> in vitro ○Ohya M ^{1,2} , Tamura M ^{2,3} , Cueno M ² , Ochiai K ^{2,3} (¹Div. Oral Health Sci., Nihon Univ. Sch. Dent. Grad. Sch. Dent., ²Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ³Div. Immunol. Pathobiol., Dent. Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-120	Effects of Adzuki extract on biofilm formation of cariogenic <i>Streptococcus mutans</i> ○Mihara M ¹ , Arai T ² , Mohri S ¹ , Tsugane T ¹ , Saeki Y ¹ , Senpuku H ² (¹Oral Sci. Sec., Central Lab., LOTTE, ²Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis.)
P1-121	The analysis of electrostatically-accelerated interaction involving between cationic liposomes and bacterial cells or biofilm ○Sugano M ^{1,2,3} , Morisaki H ⁴ , Kuwata H ⁴ , Yamamoto M ² (¹Div. Biomat. & Engrn., Dept. Conserv. Dent., Showa Univ. Grad. Sch. Dent., ²Dept. Periodontol., Showa Univ. Grad. Sch. Dent., ³JSPS, ⁴Dept. Oral Microbiol., Showa Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-122	Enhancing genetic transformation efficiency of <i>Streptococcus pyogenes</i> by inhibition of deoxyribonuclease Sda1 ○Ogawa M ^{1,2,3} , Sumitomo T ¹ , Kawabata S ¹ (¹Dept. Oral Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ²Dept. Prosthodont. Gerodontol. Oral Rehabil., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ³Div. Infect Dis Hosp Epidemiol., Univ Hosp Zurich., Univ Zurich.)
P1-123	Effect of synthetic glycolipids against biofilm formation of <i>Streptococcus mutans</i> ○Kurosawa M ^{1,2} , Oda M ¹ , Domon H ¹ , Terao Y ¹ (¹Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ²Div. Ped. Dent., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P1-124	Purification and characterization of fimbrial protein from <i>Porphyromonas salivosa</i> ATCC 49407 ○Koyata Y ¹ , Sasaki H ¹ , Watanabe K ¹ , Hamada N ¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ.)
P1-125	Antibiofilm and bactericidal effects of plant-derived extracts on <i>Streptococcus mutans</i> ○Sakaue Y ^{1,2} , Domon H ¹ , Oda M ¹ , Okiji T ² , Terao Y ¹ (¹Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ²Div. Caliol., Operat. Dent. Endodont., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P1-126	Hydrogen peroxide produced by <i>Streptococcus sanguinis</i> induces NET formation ○Sumioka R ^{1,2} , Nakata M ² , Morita T ² , Wada S ² , Okahashi N ³ , Sumitomo T ² , Yamaguchi M ² , Hayashi M ¹ , Kawabata S ² (¹Dept. Restor. Dent. & Endodont., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ²Dept. Oral & Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ³Oral Frontier Center, Grad. Sch. of Dent., Osaka Univ.)
P1-127	Effects of HemCon Dental Dressing ^(R) , a chitosan-derived hemostatic bandages, on bleeding in rats under warfarin treatment ○Karakawa A ¹ , Sakai N ¹ , Kuritani M ^{1,2} , Takami M ¹ , Morohashi T ¹ (¹Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Showa Univ., ²Div. Dent. Persons Disabilities, Dept. Special Needs Dent., Sch. Dent., Showa Univ.)
P1-128	Phenylephrine-induced trafficking of AQP5 to apical plasma membrane via alpha 1B-adrenoceptors in rat parotid glands ○Bragiel A ¹ , Pieczonka T ¹ , Ishikawa Y ¹ (¹Dept. Pharmacol., Tokushima Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-129	Calcium responses in the vitamin D-induced differentiation of dental epithelial cells ○Murata K ¹ , Saitoh M ¹ , Morita T ² , Kurasige Y ¹ , Takahashi A ¹ , Tanimura A ² (¹Dept. Pediat. Dent., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido, ²Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P1-130	The keratin13 gene silencing in oral squamous cell carcinoma cells ○Naganuma K ^{1,2} , Hatta M ² , Yamazaki J ² (¹Dept. Oral. Maxillofac. Surg., Fukuoka Dent. Coll., ²Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-131	Clodronate and etidronate inhibit the phosphate transporter SLC20 in spinal neuronal vesicles and thereby exhibit analgesia ○Shima K ¹ , Yamamoto T ¹ , Sugawara S ² , Endo Y ² (¹Div. Orthodont. Dentofac. Orthoped., Grad. Sch. Dent, Tohoku Univ., ²Div. Oral Immu., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ.)
P1-132	Shh induces activation of EGF/EGFR signaling pathway and upregulates branchingmorphogenesis of fetal mouse submandibular gland ○Mizukoshi K ¹ , Koyama N ¹ , Hayashi T ¹ , Akai T ² , Shikimori M ² , Kashimata M ¹ (¹Dept. Dent. Pharmacol., Asahi Univ. Sch. Dent., ²Dept. Oral Maxillofac. Surg., Asahi Univ. Sch. Dent.)

P1-133	Matrix metalloproteinase inhibitor suppresses differentiation from fibroblast to myofibroblast in a wound-healing model of rat skin ○Hata S ¹ , Okamura K ² , Ishii T ¹ , Kji T ¹ , Ishikawa H ¹ , Yamazaki J ³ (Dept. Oral Growth & Dev., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Morphol. Biol., Fukuoka Dent. Coll., ³ Dept. Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-134	Involvement of miR-551b whose expression is downregulated in ACTH adenomas, in the tumorigenesis ○Ono S ¹ , Iwata T ¹ , Mizusawa N ¹ , Iwawaki Y ² , Yoshimoto K ¹ (Dept. Med. Pharmacol., Inst. Health Biosci. Univ. Tokushima Grad. Sch., ² Dept. Oral & Maxillofac. Prosthodont., Univ. Tokushima Grad. Sch. Oral Sci.)
P1-135	Modification of glucose uptake in C2C12 myotubes by osteocalcin ○Tsuka S ^{1,2} , Aonuma F ^{1,2} , Hosokawa R ² , Hirata M ² , Takeuchi H ¹ (Dept. Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ., ² Dept. Oral Reconstruct. & Rehabil., Kyushu Dent. Univ., ³ Lab. Mol. Cell. Biochem., Dept. Dent., Kyushu Univ.)
P1-136	Intercell communication between neuronal cells and osteoblast in co-culture system ○Kodama D ¹ , Togari A ¹ (Dept. Pharmacol., Aichi-Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P1-137	Fasudil suppresses head and neck squamous carcinoma growth by stimulating expression and secretion the chemokine CXCL14/BRAK ○Miyamoto C ¹ , Maehata Y ¹ , Wada-Takahashi S ¹ , Yoshino F ¹ , Yoshida A ¹ , Takahashi SS ¹ , Lee MC ² (Dept. Oral Sci., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch., ² Kanagawa Dent. Univ. Yokosuka-Shonan Disaster Health Emergency Res. Center)
P1-138	Characteristics of ingredients of whey inhibiting age-dependent atrophy and gene expression changes of salivary glands ○Pieczonka T ¹ , Bragiel A ¹ , Ishikawa Y ¹ (Dept. Pharm, Tokushima Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-139	Morphological and <i>in vivo</i> imaging analyses of diurnal changes in two types of microglial processes ○Takayama F ¹ , Hayashi Y ¹ , Zhou Wu ¹ , Nakanishi H ¹ (Dept. Aging Sci. & Pharmacol., Kyushu Univ. Fac Dent. Sci.)
P1-140	Identification of a rab protein regulating multinucleation and lysosomal function in osteoclasts ○Sugawara M ^{1,2} , Sakai E ¹ , Fukuma Y ¹ , Nishishita K ¹ , Okamoto K ¹ , Yoshida Y ² , Tsukuba T ¹ (Dept. Dent. Pharmacol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., ² Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
P1-141	Effect of beryllium on Na,K-ATPase activity and its phosphorylated intermediate ○Okino Y ¹ , Deyama Y ¹ , Yoshimura Y ¹ , Suzuki K ¹ (Dept. Oral Pathobiol. Dev. Mol. Cell. Pharmacol., Grad. Sch. Dent. Med, Hokkaido Univ.)
P1-142	Mechanical stress – responsive miR-494-3p suppresses expression of FGFR2 ○Iwawaki Y ¹ , Mizusawa N ² , Ono S ² , Iwata T ² , Yoshimoto K ² (Dept. Oral Maxillofac. Prosthodont., Inst.HBS, Univ. Tokushima Grad. Sch., ² Dept. Med. Pharmacol., Inst. HBS, Univ. Tokushima Grad. Sch.)
P1-143	Serum albumin induced physicochemical alteration of LPS ○Komatsu T ¹ , Aida Y ¹ (Dept. Periodontol., Div. Oral Rehabil., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-144	Roles of fibrocytes on the development of fibrous diseases in temporomandibular joint ○Ibi M ^{1,2} , Horie S ^{1,3} , Chosa N ² , Yoshida M ² , Kamo M ² , Kyakumoto S ² , Ohtsuka M ⁴ , Sahara Y ³ , Fujimura A ⁵ , Ishisaki A ² (Inst. Biomed. Sci., Dept. Tumor Biol., Iwate Med. Univ., ² Div. Cell. Biosig. Sci., Dept. Biochem., Iwate Med. Univ., ³ Sec. Cell. Physiol., Dept. Physiol., Iwate Med. Univ., ⁴ Div. Basic Molec. Sci. & Mol. Med., Dept. Mol. Life Sci., Tokai Univ. Sch. Med., ⁵ Div. Func. Morphol., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.)
P1-145	Analysis of anti-inflammatory action of <i>Sasa Senanensis</i> Rehder alkaline extract in human gingival fibroblast ○Sakagami H ^{1,2} , Ohkoshi E ² , Kato T ^{1,3} , Shimoyama T ³ , Kitajima M ⁴ , Jia J ⁴ , Oizumi T ⁴ , Sugimoto M ⁵ (Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ² MPL, Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Oral Maxillofac. Surg., Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., ⁴ Daiwa Biol. Res. Inst. Co. Ltd., ⁵ Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)
P1-146	Regulation of the Th1 immune response by propolis through inhibition of the cathepsin S expression ○Zhang X ¹ , Wu Z ² , Nakanishi H ² (Center. Implant Dent., Sch. Stomatol., China Med. Univ., ² Dept. Aging Sci. & Pharmacol., Fac of Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P1-147	Immunohistochemical study of oral lichen planus, lichenoid stomatitis, and lichenoid dysplasia ○Okada Y ¹ (Dept. Pathol., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent. at Niigata)
P1-148	Difference of mechanism between macrophages and dendritic cells on IL-1β production induced by <i>Candida albicans</i> ○Hasebe A ¹ , Saeki A ¹ , Sugiyama M ^{1,2} , Shibata K ¹ (Div. Oral Mol. Microbiol., Dep. Oral Pathobiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., ² Div. Oral Diagn. Med., Dept. Oral Pathobiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
P1-149	Identification of antigen epitopes for periodontal pathogen reactive T cells ○Imayoshi R ¹ , Tasaki S ¹ , Hashimoto M ¹ , Nagao J ¹ , Cho T ¹ , Tanaka Y ¹ (Sec. Infect. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-150	Gingival tissue as a viable route to introduce biomedical compounds and antigens into the elderly rats ○Cueno M ¹ , Tamura M ^{1,2} , Ochiai K ^{1,2} (Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Div. Immunol. Pathobiol., Res. Center., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P1-151	Transcriptional regulation of chemokine genes by mediator complex ○Hiroi M ¹ , Ohmori Y ¹ (Div. Microbiol. & Immunol., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-152	The identification and characterization of a novel signaling molecule involved in allergic response ○Hashimoto M ¹ , Nagao J ¹ , Tasaki S ¹ , Imayoshi R ¹ , Cho T ¹ , Yuasa K ² , Tanaka Y ¹ (Sec. Infect. Biol., Fukuoka Dent. Coll., ² Sec. Image Diagn., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-153	Roles for the signaling molecule MyD88 in production of antibodies and antimicrobial proteins in the salivary gland ○Into T ¹ , Inomata M ¹ , Inaba H ¹ , Murakami Y ¹ (Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P1-154	Inhibitory effect of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) against <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Shimoyama Y ¹ , Ishikawa T ¹ , Ohara-Nemoto Y ² , Nemoto TK ² , Sasaki M ¹ , Kimura S ¹ (Div. Mol. Microbiol., Iwate Med. Univ., ² Dept. Mol. Biol., Course of Med. Dent. Sci., Nagasaki Univ.)

P1-155	The role of Arg- and Lys-gingipains in oxidization of LDL ○Ochiai T ¹ , Takizawa T ¹ , Kobayashi R ¹ (1 st Dept. Oral Immunol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P1-156	Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion ○Nozawa T ¹ , Nakagawa I ¹ (1 st Dept. Microbiol. Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.)
P1-157	Malignant phenotypes of mouse OSCC cell lines, differentially affect antitumor immune response of host spleens cells Adachi M ^{1,2} , Kamiya M ² , Kawaki H ² , Takayama E ² , Inagaki T ¹ , Muramatsu Y ¹ , Kondoh N ² (1 st Dept. Oral Maxillofac. Surg., Asahi Univ. Sch. Dent., 2 nd Dept. Oral Biochem., Asahi Univ. Sch. Dent)
P1-158	Dynamic state of periodontal ligament cells in occlusal trauma model ○Takaya T ¹ , Mimura H ¹ , Matsuda S ² , Nakano K ² , Kawakami T ² , Okafuji N ³ , Osuga N ¹ (1 st Oral Health Promotion, Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. Oral Med., 2 nd Hard Tissue Pathol., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. Oral Med., 3 rd Clin. Evaluation, Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. Oral Med.)
P1-159	Role of osteopontin and mechanical stress for maintenance of function in human periodontal ligament cells ○Arakawa T ¹ , Okayama M ² , Mizoguchi I ² , Takuma T ¹ (1 st Dept. Biochem., Sch. Dent., Health. Sci. Univ. Hokkaido, 2 nd Dept. Orthodont., Sch. Dent., Health. Sci. Univ. Hokkaido)
P1-160	Remodeling of periodontal tissues during orthodontic tooth movement in rat ○Jue SS ¹ , Kim JY ¹ , Shin JW ¹ (1 st Dept. Oral Anat. Dev. Biol., Sch. Dent., Kyung Hee Univ.)
P1-161	Effect of the occlusal stimuli on osteoclastogenesis induced by periodontal fibroblasts ○Takahashi T ¹ , Takita H ¹ , Ushijima N ¹ , Iizuka T ¹ (1 st Support Sec. for Educ. & Res. Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
P1-162	Effect on periodontium with the stress-responsive material : The second report ○Sadaoka S ¹ , Yagami K ^{2,3} , Kawahara I ¹ (1 st Dept. Oral Health., Matsumoto Dent. Univ., 2 nd Dept. Social Dent., Matsumoto Dent. Univ., 3 rd Dept. Health Promotion Stomatol., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch. Dent.)
P1-163	Hypermethylation of XII-collagen and fibronectin in HPDL cells stimulated with LPS for prolong periods ○Nishimura M ¹ , Takai R ¹ , Uehara O ² , Harada H ¹ , Utsunomiya M ¹ , Chujo T ¹ , Yoshida K ¹ , Sato J ¹ , Saitoh M ³ , Abiko Y ¹ (1 st Div. Oral Med. & Pathol., Health Sci. Univ. Hokkaido Sch. Dent., 2 nd Div. Dis. Cont. & Mol. Epidemiol. Health Sci Univ. Hokkaido Sch. Dent., 3 rd Div. Ped. Dent. Health Sci Univ. Hokkaido Sch. Dent.)
P1-164	Particle simulation on alveolar bone regeneration and angiogenesis ○Matsuo M ^{1,2} , Nagayama K ³ (1 st Dept. Oral Sci, Dent. Anat., Kanagawa Dent. Univ., 2 nd Inst. Res. Disaster Dent. Med. in Yokosuka and Shonan., 3 rd Kyushu Inst. Technol.)
P1-165	Preventive effects of Daiokanzoto on 5-fluorouracil-induced cell death through by reactive oxygen species and NLRP3 inflammasome in human gingival cells ○Yoshida K ¹ , Yoshioka M ² , Okamura H ³ , Hinode D ⁴ (1 st Dept. Oral Healthcare Education, Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch., 2 nd Dept. Oral Health Sci. & Social Welfare, Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch., 3 rd Dept. Histol. and Oral Histol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch., 4 th Dept. Hyg. & Oral Health Sci., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.)
P1-166	Expression of mechanosensor Piezo on oral mucosa ○Hatakeyama J ¹ , Kitsuki T ² , Aijima R ^{2,3} , Murata N ⁴ , Hatakeyama Y ⁵ , Anan H ¹ , Kido M ² (1 st Dept. Endodont, Fukuoka Dent. Coll., 2 nd Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Kyushu. Univ. Grad. Sch. Dent., 3 rd Dept. Oral and Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saga Univ., 4 th Dept. Orthodont., Kyushu. Univ. Grad. Sch. Dent., 5 th Dept. Anat., Fukuoka Dent. Coll.)
P1-167	Designing of new cytotoxic isoquinolines against human oral squamous cell carcinoma (Part4) ○Ishihara M ¹ , Yamauchi M ² (1 st Div. Basic Chem., Meikai Univ. Sch. Dent., 2 nd Div. Med. Informatics, Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-168	Improvement in absorption of anti-inflammatory agents through the oral mucosa by the branched-chain fatty acids and its ester ○Narimatsu S ¹ , Kawanobe Y ¹ , Arai M ¹ , Takahashi Y ¹ (1 st Oral-Care Res. Lab., LION Corp.)
P1-169	Substrate selectivity and inhibitor sensitivity of human alkaline phosphatase derived from various tissues ○Fukeda E ¹ , Deyama Y ² , Yoshimura Y ² , Suzuki K ² , Yamazaki Y ¹ (1 st Dept. Oral Health Sci., Grad. Sch., Dent. Med., Hokkaido Univ., 2 nd Dept. Oral Pathobiol. Sci., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P1-170	Effects of the intravenous anesthetics on various ATPase activity in rat brain Miyamoto T ¹ , Deyama Y ¹ , Yoshimura Y ¹ , Suzuki K ¹ (1 st Dept. Oral Pathobiol. Sci., Grad. Sch., Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P1-171	Effects of chitosan oligosaccharides on nociceptive stimulus-induced pain and cyclooxygenase ○Yonehara N ¹ , Nagaoka M ¹ (1 st Dept. Oral Med. Sci., Ohu Univ. Sch. Dent.)
P1-172	Antiallodynic effect and other pharmacological actions of NNC 05-2090 ○Sogawa C ¹ , Jinzenji A ² , Ohyama K ³ , Miyawaki T ⁴ , Morita K ⁵ , Sogawa N ¹ , Kozaki K ¹ (1 st Dept. Dent. Pharmacol. Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., 2 nd Kagawa Univ., 4 th Dept. Dent. Anesthet. & Spec. Care. Dentist., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm. Sci., 3 rd RI. Res. Center., Okayama Univ. Dent. Sch., 5 th Dept. Pharmacol., Fac. Nursing, Hiroshima Bunka Gakuen Univ.)
P1-173	Glutamic acid suppresses the zoledronate-induced cytotoxicity of osteoblastic cells ○Tajima M ¹ , Sakagami H ¹ (1 st Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P1-174	Effects of dental monomers on osteoclast differentiation ○Inamitsu H ^{1,2} , Okamoto K ¹ , Sakai E ¹ , Murata H ² , Tsukuba T ¹ (1 st Dept. Dent. Pharmacol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., 2 nd Dept. Prosthodont. Dent. Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
P1-175	Osteonecrosis of jawbones in patients treated with nitrogen-containing bisphosphonates (N-BPs): attempts to replace the N-BPs with etidronate (a non-N-BP) ○Oizumi T ^{1,2,4} , Yamaguchi K ^{1,2} , Suzuki H ^{1,2} , Tsuchiya M ³ , Sugawara S ¹ , Takahashi T ² , Endo Y ¹ (1 st Dept. Mol. Regul., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., 2 nd Dept. Maxillofac. Surg., Grad. Sch. Dent., Tohoku Univ., 3 rd Tohoku Fukushi Univ., 4 th JCHO Sendai Hospital Oral & Maxillofac. Surg.)

P1-176	Clarification of inhibitory mechanisms of ellagitannins in osteoclastogenesis Iwatake M ¹ , Sakai E ¹ , Nishishita K ¹ , Okamoto K ¹ , ○Tsubuka T ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P1-177	The inhibitory mechanism of arctigenin on osteoclast differentiation ○Yamashita T ¹ , Uehara S ² , Kobayashi Y ¹ , Udagawa N ² , Takahashi N ¹ (¹ Inst. Oral Sci., Matsumoto Dent. Univ., ² Dept. Biochem., Matsumoto Dent. Univ.)
P1-178	Whole genome analysis of a novel mutans streptococci <i>Streptococcus troglodytae</i> TKU31 ○Okamoto M ¹ , Naito M ² , Imai S ³ , Hanada N ³ (¹ Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ., ² Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., ³ Dept. Translational Res., Sch. Dent. Med., Tsurumi Univ.)
P1-179	Study of the preventive effect of initial enamel caries by carbon dioxide laser irradiation ○Kanri Y ¹ , Okada Y ¹ (¹ Dept. Pathol., Nippon Dent. Univ. at Niigata.)
P1-180	BMP in porcine immature enamel ○Muraō I ¹ , Kinoshita S ¹ , Oida S ² , Asada Y ¹ , Yamakoshi Y ² (¹ Dept. Pediat. Dent., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med., ² Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med.)
P2-1	The morphologic study about a course of the maxillary artery and a branch of the posterior deep temporal artery ○Maeda S ^{1,3} , Iimura A ^{1,3} , Kageyama I ² , Matsuo M ^{1,3} (¹ Dept. Oral Sci., Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Anat., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent. at Niigata, ³ Yokosuka-Shonan Disaster Health Emergency Res. Center, Kanagawa Dent. Univ.)
P2-2	Study of zygomatic complex morphology in Japanese ○Matsuno M ¹ , Kondo S ¹ (¹ Dept. Anat I, Nihon Univ. Sch. Dent. Matsudo)
P2-3	Morphological characteristics of the adhesion interface in pharyngeal of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) ○Matsumura K ^{1,2} , Domon T ² , Iida J ¹ (¹ Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med., Div. Oral Func., Dept. Orthodont., ² Dept. Oral Func. Anat. Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent. Med.)
P2-4	Histopathological observation of cemental metaplasia in human dental pulp tissues ○Utsunomiya T ¹ , Yamamoto H ² , Kuyama K ¹ (¹ Dept. Oral Pathol., Nihon Univ. Sch. of Dent. at Matsudo, ² Nihon Univ.)
P2-5	Immunolocalization of prostaglandin E ₂ transporting proteins and receptors in human dental pulp ○Ohkura N ¹ , Ohkura M ² , Yoshida N ¹ , Yoshida K ¹ , Oda Y ³ , Ida H ⁴ , Ohshima H ⁴ , Okiji T ¹ (¹ Div. Cariol., Operative Dent. & Endodontics, Dept. Oral Health Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ² Div. Orthodont., Dept. Oral Biol. Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ³ Div. Tissue Regen. & Reconst., Dept. Reconst. Surg. Oral & Maxillofac. Region, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ⁴ Div. Anat. & Cell Biol. of Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P2-6	The expression pattern of FRG1 during development of mouse tooth germ ○Hasegawa K ^{1,2} , Wada H ¹ , Nagata K ¹ , Fujiwara H ¹ , Someya H ^{1,3} , Jinno A ^{1,4} , Mikami Y ^{1,4} , Kiyoshima T ¹ (¹ Lab. Oral Pathol, Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. Endodont. & Oper., Dent. Fac. Dent. Sci, Kyushu Univ., ³ Sec. Implant & Rehabil, Dent. Fac. Dent. Sci, Kyushu Univ., ⁴ Sec. Oral and Maxillofac. Oncol, Fac. Dent. Sci, Kyushu Univ.)
P2-7	Immortalization and cloning of cells isolated from porcine pulp ○Karakida T ¹ , Yamamoto R ¹ , Oida S ¹ , Yamakoshi Y ¹ (¹ Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med.)
P2-8	Splice variant of porcine DSPP gene ○Yamamoto R ¹ , Karakida T ¹ , Oida S ¹ , Yamakoshi Y ¹ (¹ Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med.)
P2-9	Structural change of the enamel sheath with aging ○Miake Y ¹ , Tsutsui S ² , Eshita Y ² (¹ Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll., ² Kao R&D Personal Health Care Products Res.)
P2-10	Semaphorin-RhoA signaling in ameloblast differentiation ○Otsu K ¹ , Kumakami-Sakano M ¹ , Masuda T ¹ , Fujiwara N ¹ , Harada H ¹ (¹ Div. Dev. Biol. & Regen. Med., Dept. Anat., Iwate Med. Univ.)
P2-11	Roles of Bmi-1 during odontoblast differentiation ○Hosoya A ¹ , Ninomiya T ² , Yoshida K ³ , Yoshida N ³ , Nakatsuka M ⁴ , Nakamura H ¹ (¹ Dept. Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ., ² Inst. Dent. Sci., Matsumoto Dent. Univ., ³ Div. Cariol., Operat. Dent. & Endodont., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ⁴ Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-12	Glycation of dentinal collagen with aging ○Shimizu M ¹ , Miura J ¹ (¹ Div. Interdisc. Dent., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-13	Continuous fever-range mild heat stress induces thermotolerance in odontoblast-lineage cells ○Morotomi T ¹ , Okinaga T ² , Nishihara T ² , Kitamura C ¹ (¹ Div. Endodont. & Restor. Dent., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Infect & Mol. Biol., Kyushu Dent. Univ.)
P2-14	IL-1β-induced matrix metalloproteinase-3-regulated proliferation of odontoblastic cells-derived from mouse ES cells mediated by Wnt5 signaling pathway ○Ozeki N ¹ , Yamaguchi H ¹ , Hiyama T ¹ , Morita A ² , Mogi M ² , Nakata K ¹ (¹ Dept. Endodont., Sch. Dent., Aichi Gakuin Univ., ² Dept. Med. Biochem., Sch. Pharmacy, Aichi Gakuin Univ.)
P2-15	Preapplication of guaiacol to mouse odontoblast-lineage cells inhibits hypotonic stimulation-induced Ca ²⁺ influx ○Shimada M ¹ , Kimura M ² , Sato M ² , Tazaki M ² , Shibukawa Y ² (¹ Dept. Clin. Oral Health Sci., Tokyo Dent. Coll., ² Dept. Physiol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-16	Dynamics and effects of Zn liberated into dental pulps from zinc-oxide eugenol mixture ○Fukada T ¹ , Toen T ¹ , Hashimoto S ¹ (¹ Sec. Radioisotopes Res., Res. Center Odontol., Sec. Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-17	Inhibition of <i>in vitro</i> calcification by a cationic dendrimer ○Fujisawa R ¹ , Tamura M ¹ (¹ Dept. Oral Biochem. & Mol. Biol., Sch. Dent., Hokkaido Univ.)

P2-18	SEM-EDX analysis of Ca, P and C during the calcification process in enamel and dentin of rat incisors ○Maruyama K ¹ , Henmi A ¹ , Sasano Y ¹ (¹ Craniofac. Dev. & Regen., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-19	Comparison between staining and QLF-D plaque detecting methods by bland-altman plot ○Watanabe K ¹ , Suzuki R ¹ , Nakamura A ¹ , Ikeda H ¹ , Yoshihara K ¹ , Watanabe S ¹ (¹ Div. Ped. Dent, Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-20	Histological observation of teeth in <i>Tetraodon nigroviridis</i> ○Yamamoto H ¹ , Fujiseki M ¹ , Yamazaki T ¹ (¹ Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-21	Cusp formation of the upper and lower first molars in shrews ○Yamanaka A ¹ , Iwai H ¹ , Goto T ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Cell Biol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P2-22	Tooth structure and tooth supporting structure of <i>Eusthenopteron foodi</i> of rhipidistians from Devonian ○Mishima H ¹ , Miake Y ² , Sasagawa I ³ (¹ Dept. Med. Hyg., Dent. Hyg. Course, Kochi Gakuen Coll., ² Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll., ³ Adv. Res. Center, Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata)
P2-23	Factors influencing the differentiation and functional maintenance of osteoclast progenitors produced by stromal cells ○Amano S ¹ , Ohmori Y ¹ (¹ Dept. Oral Biol. Tissue Engr., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-24	Identification and functional analysis of osteoclast-specific genes differentially expressed in mononuclear preosteoclasts and multinuclear osteoclasts. Funakubo N ^{1,2} , Kukita T ³ , Xu X ¹ , Nakamura S ² , ○Kukita A ¹ (¹ Dept. Microbiol. Med. Saga Univ., ² Dept. Oral Maxillofacial. Oncol. Grad. Sch. Dent. Kyushu Univ., ³ Dept. Mol. Cell Biol & Oral Anat. Grad. Sch. Dent. Kyushu Univ.)
P2-25	The effect of IL-17A stimulation on JNK and c-fos in osteoclast differentiation of RAW264.7 cells ○Inoue H ¹ , Uchihashi K ¹ , Nishikawa Y ¹ (¹ Dept. Physiol., Osaka Dent. Univ.)
P2-26	Effect of immune response by bacterial infection on osteoclastogenesis ○Nakayama M ¹ , Inoue T ¹ , Nakayama K ² , Ohara N ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² Dept. Microbiol. & Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
P2-27	Hydrogen sulfide induces the osteoclastic differentiation in bone marrow stem cells ○Imai T ¹ , Nasu M ² , Yaegaki K ¹ (¹ Dept. Oral Health, Life Dent., Nippon Dent. Univ., ² Res.Center., Life Dent., Nippon Dent. Univ.)
P2-28	The involvement of PRIP in osteoclast differentiation ○Matsuda M ¹ , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. Cell. Biochem. Grad. Sch. Dent.Sci., Kyushu Univ.)
P2-29	RelB-induced expression of Cot, an MAP3K family member, rescues RANKL-induced osteoclastogenesis in alymphoplasia mice by promoting NF-κB2 processing by IKKα ○Taniguchi R ^{1,2} , Fukushima H ² , Maki K ² , Jimi E ¹ (¹ Div. Mol. Signal & Biochem, Kyushu Dent. Univ., ² Div. Dev. Stomatognathic Func. Sci., ³ Sec. Cell. Physiol., Dept. Physiol. Sci. & Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-30	Optimum compressive force accelerates osteoclast differentiation ○Yoshimura Y ¹ , Hayakawa T ^{1,2} , Hasegawa T ³ , Deyama Y ¹ , Suzuki K ¹ , Iida J ² (¹ Dept. Mol. Cell. Pharmacol., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Dept. Orthodont., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Dept. Pediat Dent., Tokushima Univ.)
P2-31	Oxidative stress and osteoclastogenesis in Nrf2-deficient mice ○Sakai E ¹ , Fukuma Y ¹ , Sugawara M ² , Nishishita K ¹ , Okamoto K ¹ , Tsukuba T ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., ² Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P2-32	Bone Morphogenetic Protein 2 activates BSP gene transcription through bone-specific transcription factor Runx2 ○Yamauchi M ¹ , Iwata T ² , Kawata T ² (¹ Dept. Highly Adv. Stomatol., Orthodont., Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. Orthodont. Kanagawa Dent. Univ.)
P2-33	Effects of cobalt protoporphyrin on osteoclastogenesis Yashima Y ^{1,2} , ○Okamoto K ¹ , Sakai E ¹ , Nishishita K ¹ , Tsukuba T ¹ (¹ Dept. Dent. Pharmacol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci., ² Fac. Dent., Hiroshima Univ.)
P2-34	A RANKL binding peptide stimulates bone formation and Inhibits bone resorption in bovine Collagen Typell-Induced Murine Arthritis ○Kato G ¹ , Shimizu Y ² , Sugamori Y ¹ , Tamura Y ¹ , Ono T ² , Ohya K ¹ , Aoki K ¹ (¹ Pharmacol., Dept. Bio-Matrix, Grad. Sch., Tokyo Med. & Dent. Univ., ² Orthodont. Sci., Dept. Orofac. Dev. & Func., Div. Oral Health Sci., Grad. Sch., Tokyo Med. & Dent. Univ.)
P2-35	Analysis of zinc-binding protein in FBS and osteoblastic-like cells MC3T3-E1 ○Toen T ¹ , Fukada T ¹ , Hashimoto S ¹ (¹ Sec. Radioisotopes Res., Res. Center Odontol., Sch. Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-36	A histological study of mineralised tissue formation around implants with culture of HMS0014 cells in Cellmatrix [®] Type I-A collagen scaffold <i>in vitro</i> ○Morishita A ¹ , Kumabe S ¹ , Nakatsuka M ¹ , Iwai Y ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-37	The proliferation and differentiation of osteoblastic cells derived from mesenchymal stem cell in diabetes model rat on titanium surface ○Sugita T ^{1,2} , Jinno M ¹ , Honda Y ¹ , Kato S ¹ , Kawai R ¹ , Isomura M ¹ , Sato N ¹ , Yoshida W ^{1,2} , Kubo K ^{1,2} , Maeda H ^{1,2} (¹ Dept. Oral Pathol., Sch. Dent., Aichi Gakuin Univ., ² Center Adv. Oral Sci., Aichi Gakuin Univ.)
P2-38	Effect of TRPV4 channel gene deletion on fracture healing ○Oki Y ¹ , Yoneme H ¹ , Aijima R ¹ , Hatakeyama J ¹ , Kituki T ¹ , Tyou Z ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat. Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-39	Milk basic protein supplementation enhances fracture healing in mice ○Yoneme H ¹ , Hatakeyama J ¹ , Danjo A ² , Aijima R ² , Murata N ¹ , Watanabe T ¹ , Oki Y ¹ , Kido M ¹ (¹ Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent. Sci., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Saga Univ. Grad. Sch. Med.)

P2-40	Resorption range by endochondral-type ossification of anterior region of mouse mandibular corpus area Meckel's cartilage ○Inoue K ¹ , Higuchi Y ² , Kagechika F ² , Ushijima N ³ , Uekita H ¹ , Matsumura K ¹ , Yagihara S ¹ , Takahashi S ¹ , Domon T ¹ (Dept. Oral Func. Anat., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Lab. EM, Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P2-41	Histological aspects on the bone formation of posterior region of mouse mandibular corpus area Meckel's cartilage ○Ushijima N ¹ , Kagechika F ² , Higuchi Y ² , Inoue K ³ , Uekita H ³ , Matsumura K ³ , Yagihara S ³ , Takahashi S ³ , Iizuka T ¹ , Domon T ³ (Lab. EM, Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ² Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ., ³ Dept. Oral Func. Anat., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P2-42	Expression of nitric oxide synthesis mRNA in mice femur growth plate ○Ambe K ¹ , Kashiwabara Y ² , Kikuchi R ³ , Nakagawa T ¹ , Watanabe H ¹ (Div. Oral Histol., Ohu Univ., Sch. Dent., ² Dept. Cell Biol. Oral Histol., Ohu Univ., Grad. Sch. Dent., ³ Dept. Oral Maxillofac. Surg., Ohu Univ., Grad. Sch. Dent.)
P2-43	Morphologic analyses of mandibular alveolar bone on a patient with marble bone disease ○Mikami T ¹ , Miake Y ² , Takeda Y ¹ (Div. Anat. & Cell. Pathol., Dept. Pathol., Iwate Med. Univ., ² Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-44	Progesterone inhibits medullary bone osteoclasts in laying Japanese quail ○Yamamoto T ¹ , Shiotsu N ^{1,2} , Kataoka Y ^{1,3} , Kawai M ¹ , Ikegame M ¹ (Dept. Oral Morphol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² Okayama Univ. Hosp., Dept. Comprehensive Dent., ³ Dept. Oral & Maxillofac. Reconst. Surg. Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci.)
P2-45	The osteogenic differentiation of periodontal ligament cells induced by cocktails of certain growth factors ○Kumabe S ¹ , Nakatsuka M ¹ , Hosoya A ² , Ueda K ¹ , Inui-Yamamoto C ¹ , Morishita A ¹ , Iwai Y ¹ (Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ., ² Dept. Oral Histol., Matsumoto Dent. Univ.)
P2-46	The study of functional differentiation of GDFs in chondrocyte cell kinetics ○Hatakeyama Y ¹ , Matsuda Y ⁴ , Hatakeyama J ² , Oka K ³ , Anan H ² , Inai T ¹ , Ishikawa H ⁴ , Sawa Y ¹ (Func Struct., Fukuoka Dent. Coll., ² Operative Dent., Fukuoka Dent. Coll., ³ Pediat. Dent., Fukuoka Dent. Coll., ⁴ Orthodont., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-47	Possible participation of the desmin-immunopositive type B and RECA-1-positive type A lining cells in synovial vascularization from rat temporomandibular joint ○Nozawa-Inoue K ¹ , Magara J ² , Kawano Y ¹ , Ohazama A ¹ , Maeda T ¹ (Div. Oral Anat., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci., ² Div. Dysphagia Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P2-48	Immunohistochemical analysis of a putative osteocalcin receptor, GPRC6A ○Higashi S ¹ , Mizokami A ² , Ohsumi T ¹ , Hirata M ² , Takeuchi H ¹ (Div. Appl. Pharmacol., Kyushu Dent. Univ., ³ Lab. Mol. Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-49	Maternal osteocalcin practice permits pups to escape from their prospective metabolic syndrome ○Kawakubo-Yasukochi T ¹ , Kondo A ¹ , Yasutake Y ¹ , Mizokami A ¹ , Hirata M ¹ (Lab. Mol. & Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-50	Analysis of regulatory mechanism in angiogenesis during tooth germ development ○Sunohara M ¹ , Sato I ¹ (Dept. Anat., Sch. Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-51	Shh in tongue development ○Okuhara S ¹ , Iseki S ¹ (Sect. Mol. Craniofac. Embryol., Grad. Sch. Med. & Dent., Tokyo Med. & Dent. Univ.)
P2-52	The emergence of gonadotropes is independent of the migration of GnRH-neurons to preoptic nucleus in mouse embryos ○Imai H ¹ , Baba O ¹ (Dept. Biol., Ohu Univ. Grad. Sch. of Dent. & Pharm.)
P2-53	Overexpressing fibroblast growth factor (FGF) 10 at mid- and late-embryonic stages perturbs craniomaxillofacial development in mice ○Kagawa K ¹ , Yoshioka H ² , Kuremoto K ¹ , Takei Y ² , Minamizaki T ² , Tsuga K ¹ , Yoshiko Y ² (Dept. Adv. Prosthodont., Hiroshima Univ. Inst. Biomed. & Hlth. Sci., ² Dept. Calif. Tissue Biol., Hiroshima Univ. Inst. Biomed. & Hlth. Sci.)
P2-54	A study of relationship between miR-206 and acetylcholine receptor genes on developing masseter muscle ○Shimazaki E ¹ , Nariyama M ¹ , Andou H ² , Yamane A ² , Asada Y ¹ (Dept. Pediat. Dent., Tsurumi Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Biophys. Dent., Tsurumi Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-55	An evaluation of transfection in rat embryonic organ-cultured lingual tissue by the <i>in vitro</i> electroporation method ○Yoshimura K ¹ , Nashida T ² , Mikami M ³ , Kageyama I ¹ (Dept. Anat., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata, ² Dept. Biochem., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata, ³ Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata)
P2-56	Abnormal enamel formation in thermosensitive TRPV3 channels knockout mice ○Zhang JQ ¹ , Aijima R ^{1,2} , Kitsuki T ¹ , Ohsaki Y ¹ , Kukita T ¹ , Kido M ¹ (Dept. Mol. Cell Biol. & Oral Anat., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Dept. Oral & Maxillofac. Surg., Fac. Med., Saga Univ.)
P2-57	Study on the pharmacological improvement of the cleft palate phenotype of TGF-beta 3 knockout mice by the administration of DNA methyltransferase inhibitor ○Sugiyama A ¹ , Takigawa T ¹ , Into T ² (Dept. Oral Anat., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-58	<i>Msx2</i> deficiency transforms the outer enamel epithelium into keratinized stratified squamous epithelium in mice ○Nakatomi M ^{1,2} , Ida H ² , Ohshima H ² (Div. Anat., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Anat. & Cell Biol. Hard Tissue, Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent. Sci.)
P2-59	Difference of gene expression profiles and differentiation potentials in clones derived from dental pulp stem cells ○Kobayashi T ¹ , Torii D ¹ , Tsutsui T ² , Tsutsui T ¹ (Dept. Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo, ² Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)
P2-60	Function recovery of hyperbilirubinemia-damaged human dental pulp-derived stem cells ○Hoshino Y ¹ , Yamaza T ² , Ma L ¹ , Tomoda E ¹ , Yamaza H ¹ , Nonaka K ¹ (Dept. Pediat. Dent., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent. Sci., ² Dept. Mol. Cell Bio. & Oral Anat., Kyushu Univ. Grad. Sch. Dent. Sci.)
P2-61	Development of a transplantation method using human dental pulp stem cells into pulp extirpation mouse tooth ○Tsutsui T ¹ (Dept. Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)

P2-62	Analysis of cementogenic differentiation in cultured human periodontal ligament cells ○Torii D ¹ , Tsutsui TW ¹ , Konishi K ² (¹ Dept. Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo, ² Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)
P2-63	Bioactive substances in emdogain gel ○Niwa T ¹ , Kinoshita S ² , Murao I ² , Oida S ³ , Gomi K ¹ , Yamakoshi Y ³ (¹ Dept. Periodontol., ² Dept. Pediat. Dent., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med., ³ Dept. Biochem. & Mol. Biol., Tsurumi Univ., Sch. Dent. Med.)
P2-64	Vascularization and inter-granular spaces in the bone defects filled with beta-TCP granules ○Toda I ¹ , Yasumitsu H ¹ , Ohnishi Y ¹ , Yoshimoto G ¹ , Uemura M ¹ , Suwa F ¹ (¹ Dept. Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-65	Implications for diagnostic markers using sugar chains expression in oral precancerous lesions ○Ehara M, Nakao J, Nagayama M, Tanuma J (Dept. Oral Pathol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-66	Regulatory mechanisms of expression of apoptosis inducing factor GRIM19 in oral carcinoma cells ○Mori K ¹ , Hiroi M ² , Shimada J ¹ , Ohmori Y ² (¹ Div. First Oral & Maxillofac. Surg., Dept. Diag. & Ther. Sci., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Microbiol. & Immunol., Dept. Oral Biol. & Tissue Engr., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-67	Influence of <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS on oral squamous carcinoma cell line HSC-3 ○Ohkubo T ¹ , Yamazaki J ¹ (¹ Dept. Physiol. Sci. Mol. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-68	Downregulation of Notch pathway by berberine in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) ○Ohkoshi E ¹ , Umemura N ² , Sakagami H ² (¹ MPL, Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-69	Study on correlation with telomerase activity and cancer progression in the oral cavity ○Miyazaki Y ¹ , Kikuchi K ¹ , Hoshino M ² , Inoue H ¹ , Yamauchi M ³ , Kusama K ¹ (¹ Div. Pathol., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Oral Surg., Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Oral health Prevent. Dent., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-70	Overexpression of foxp3 gene represses cell growth, cell migration, and MMP9 secretion on human oral squamous cell carcinoma Ca9-22 cells ○Tsuda H ¹ , Murofushi T ¹ , Suzuki N ¹ (¹ Dep. Biochem., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-71	Reactive oxygen species induce cellular senescence through dimethylation of p16 promoter region in normal epidermal keratinocytes Sasaki M ^{1,2} , Kagiya H ¹ , Nagashima K ^{1,2} , Nagaoka Y ^{1,2} , Naganuma K ² , Ohgi K ¹ , Okamoto F ¹ , Fukushima H ¹ , Okabe K ¹ (¹ Cell. Physiol., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Oral Surg., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-72	Tumor-infiltrating macrophages hold immunosuppressive property with glycolytic activity ○Umemura N ¹ , Sakagami H ¹ (¹ Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-73	Silencing of the cell growth regulatory genes by DNA methylation in IFN resistance of mouse squamous carcinoma cells ○Yamaguchi H ¹ , Hiroi M ¹ , Ohmori Y ¹ (¹ Div. Microbiol. & Immunol., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-74	Suppression of oral carcinoma invasion by mucosa-associated lymphoid tissue 1 ○Chiba T ¹ , Mihara N ¹ , Sudo H ¹ , Imai K ¹ (¹ Dept. Biochem., Sch. Life Dent. Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-75	Effects of liquid diet on the growth of rat parotid glands ○Takahashi S ¹ , Uekita H ¹ , Kato T ¹ , Ushijima N ¹ , Inoue K ¹ , Domon T ¹ (¹ Dept. Oral Func. Anat., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-76	Stimulatory effect of salivary protein histatin on cell proliferation and ubiquitination ○Imamura Y ^{1,2} , Wang PL ³ (¹ Dept. Pharmacol., Matsumoto Dent. Univ., ² Div. Mol. Engr. & Drug Dev. Sci., Grad. Sch. Oral Med., Matsumoto Dent. Univ., ³ Dept. Dent. Educ. Innov., Osaka Dent. Univ.)
P2-77	Metabolomic analysis of saliva from children and adults, especially focused on the ratio of proline to glycine ○Tanaka S ¹ , Akita A ¹ , Taniguchi K ¹ , Katayama T ¹ , Ogiwara T ² , Oguchi H ² , Watanabe S ² , Sakagami H ³ , Sugimoto M ⁴ (¹ Div. Gen. I Cli. Dent., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Oral Pediat., Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Pharmacol., Meikai Univ. Sch. Dent., ⁴ Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)
P2-78	Difference of mRNA expression encoding intracellular transport proteins in parotid acinar cells from non-obese diabetic mice ○Nashida T ¹ , Sato R ² , Shimomura-Kuroki J ³ (¹ Dept. Biochem., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata, ² Dept. Dent. Hyg., Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata, ³ Dept. Pediat. Dent., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata)
P2-79	Sorting mechanism of secretory proteins into regulated and constitutive secretory pathways in salivary glands ○Yoshigaki J ¹ , Yokoyama M ¹ , Kato O ¹ (¹ Dept. Physiol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-80	Intracellular localization and role of Rab33A in parotid acinar cells ○Imai A ^{1,4} , Tsujimura M ^{2,3} , Sato R ^{1,4} , Yoshie S ² (¹ Dept. Dent. Hyg., Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata, ² Dept. Histol., Sch. Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ., ³ Adv. Res. Center., Sch. Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ., ⁴ Dept. Biochem, Sch. Life Dent. at Niigata, Nippon Dent. Univ.)
P2-81	Real-time monitoring of sialogogue-induced Ca ²⁺ response and salivary secretion in submandibular gland in living animals ○Nezu A ¹ , Morita T ¹ , Tojo Y ² , Tanimura A ¹ (¹ Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido, ² Dept. Biophys., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-82	Expression of Ca ²⁺ biosensor to the salivary cells using adeno-associated virus (AAV) vectors and application to long-term Ca ²⁺ imaging ○Morita T ¹ , Nezu A ¹ , Tojo Y ² , Tanimura A ¹ (¹ Dept. Pharmacol., ² Dept. Biophys., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-83	Dynamic change of PAC1R with the development of granular ducts in male mouse submandibular glands ○Nonaka N ¹ , Nakamura M ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Dev. Biol., Showa Univ. Sch. Dent.)

P2-84	Effect of bFGF on atrophied and injured submandibular gland ○Kikuchi K ¹ , Yaegaki K ² , Tsutsui T ³ , Nasu M ⁴ , Ikeda R ⁵ , Takada K ¹ , Horie T ⁴ (¹ Dept. Histol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo, ² Dept. Oral Health, Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. Tokyo, ³ Dept. Pharmacol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. Tokyo, ⁴ Res. Cent. Odontol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. Tokyo, ⁵ Dept. Dent. Hyg, Nippon Dent. Univ. Coll. Tokyo)
P2-85	Orexins excite the superior salivatory nucleus neurons innervating the submandibular salivary glands in rats ○Mito H ¹ , Sato T ² , Fujita M ¹ , Kobashi M ¹ , Ichikawa H ² , Matsuo R ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharm. Sci., ² Div. Oral Craniofac. Anat., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-86	Developmental study on the TRP expression in rat salivary gland ○Fujiseki M ¹ , Yamazaki T ¹ , Yamamoto H ¹ (¹ Dept. Histol. & Dev. Biol., Tokyo Dent. Coll.)
P2-87	Functional analysis of Hippo signaling pathway during salivary gland development in mice ○Kitagawa M ¹ , Hirono C ¹ , Sugita M ¹ (¹ Dept. Oral Phys., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. & Health Sci.)
P2-88	Difference of responses to growth factors between E12 and E13 submandibular gland rudiments ○Akai T ¹ , Mizukoshi K ² , Hayashi T ² , Shikimori M ¹ , Kashimata M ² , Koyama N ² (¹ Dept. Oral Maxillofac. Surg., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Dent. Pharmacol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-89	Expression of water channel AQP5 in regeneration model of salivary gland ○Yao C ¹ , Akamatsu T ¹ , Hasegawa T ¹ , Yoshimura H ¹ (¹ Dept. Mol. Oral Physiol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.)
P2-90	Enhanced ubiquitylation and downregulation of aquaporin-5 by ubiquitin ligases ○Hasegawa T ¹ , Yao C ¹ , Akamatsu T ¹ , Yoshimura H ¹ (¹ Dept. Mol. Oral Physiol., Inst. Health Biosci., Univ. Tokushima Grad. Sch.)
P2-91	Evaluation of the methods for RNA extraction from saliva ○Sato R ^{1,2} , Nashida T ² , Imai A ^{1,2} (¹ Dept. Dent. Hyg., Nippon Dent. Univ. Coll. at Niigata, ² Dept. Biochem., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata)
P2-92	Oxidization of salivary proteins – possible measure of stress among the model evacuees staying in a shelter ○Taniguchi M ¹ , Iizuka J ² , Mukai Y ² , Mikuni-Takagaki Y ³ (¹ Dept. Radio. Sci., Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. Cario. Restor. Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. Mol. Cell. Biol. Mine. Tissue. Kanagawa Dent. Univ.)
P2-93	3D-Rendering of the tongue muscles using micro-CT ○Aoyagi H ¹ , Iwasaki S ² , Asami T ³ (¹ Adv. Res. Center., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata., ² Dept. Physiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Niigata., ³ Sch. Med. Tech., Gumma Paz. Coll.)
P2-94	Vascular distribution of tensor tympani muscle and tensor veli palatini in elderly ○Sato I ¹ , Miwa Y ¹ , Fukuyama Y ¹ , Sunoha M ¹ (¹ Dept. Anat., Sch. Life Dent. at Tokyo, Nippon Dent. Univ.)
P2-95	Relation of the growth factor and irisin ○Sakiyama K ¹ , Bando Y ¹ , Kawabe Y ² , Sakashita H ^{1,3} , Amano O ¹ (¹ Div. Anat., Meikai Univ. Sch. Dent., ² Div. Oral Rehabil., Meikai Univ. Sch. Dent., ³ Div. Oral Maxillofac. Surg., Meikai Univ. Sch. Dent.)
P2-96	Promoter analysis of umami (amino acid) receptor, T1R1 gene in C2C12 cells ○Toyono T ¹ , Seta Y ¹ , Kataoka S ² , Toyoshima K ¹ (¹ Div. Oral Histol. & Neurobiol., Dept. Health Improv., Kyushu Dent. Univ., ² Div. Anat., Dept. Health Improv., Kyushu Dent. Univ.)
P2-97	Effects of beta2-adrenoceptor agonist and glucocorticoid on rat masseter muscle phenotype ○Umeki D ¹ , Ohnuki Y ² , Nakamura Y ¹ , Okumura S ² (¹ Dept. Orthodont., Tsurumi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Physiol., Tsurumi Univ. Sch. Dent.)
P2-98	Posterior hypothalamic modulation of ocular-responsive trigeminal subnucleus caudalis neurons is mediated by Orexin-A and Orexin1 receptors ○Katagiri A ^{1,2} , Iwata K ² (¹ Dept. Giag. and Biol. Sci., Univ. Minnesota Sch. Dent., ² Dept. Physiol, Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-99	The submandibular salivary secretory responses elicited by activation of the NMDA receptors in the superior salivatory nucleus neurons ○Ishizuka K ¹ , Satoh Y ¹ (¹ Dept. Physiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. Niigata)
P2-100	Possible contribution of noradrenergic neurons in the area postrema and the nucleus tractus solitarius to the induction of nausea and/or vomiting ○Hirai Y ¹ , Maezawa H ¹ , Funahashi M ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Grad. Sch. Dent. Med., Hokkaido Univ.)
P2-101	Downregulation of TASK3 conductance by activation of cGMP-dependent protein kinase ○Tanaka T ^{1,2} , Saito M ¹ , Toyoda H ¹ , Sato H ¹ , Kawano T ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Prosthodont. Gerodont. & Oral Rehabil., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-102	The effect of TRPV1 and TRPA1 agonist on dry-responsive corneal primary afferent neuron ○Kurose M ¹ , Hatta A ^{1,2} , Fujii N ² , Yamamura K ¹ (¹ Div. Oral Physiol., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent., ² Gen. Dent., Niigata Univ. Hosp. Med. & Dent.)
P2-103	Roles of peripheral dopamine in body color-dependent pain sensitivity ○Ono K ¹ , Hitomi S ¹ , Inenaga K ¹ (¹ Div. Physiol., Kyushu Dent. Univ.)
P2-104	Involvement of astroglial glutamate-glutamine shuttle in modulation of the jaw-opening reflex in rats with infraorbital nerve ligation ○Takahashi K ^{1,2} , Shinoda M ³ , Unno S ³ , Takatsuji H ^{1,2} , Saito I ¹ , Yamamura K ² , Iwata K ³ , Kitagawa J ² (¹ Div. Orthodont., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ² Div. Oral Physiol., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ³ Dept. Physiol., Nihon Univ.)
P2-105	Electrophysiological and histological properties of gamma motoneurons in the dorsolateral region of the trigeminal motor nucleus ○Nishimura K ¹ , Isogai Y ¹ , Saito M ² , Toyoda H ² , Sato H ² , Kawano T ² , Yamashiro T ¹ , Kang Y ² (¹ Dept. Orthodont. & Dentofac. Orthoped., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-106	Corticomuscular synchronization during isometric tongue protrusion in humans: A magnetoencephalographic study ○Maezawa H ¹ , Mima T ² , Shiraishi H ³ , Hirai Y ¹ , Funahashi M ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Dent., ² Human Brain Res. Center, Kyoto Univ. Grad. Sch. Med., ³ Dept. Pediat., Hokkaido Univ. Grad. Sch. Med.)

P2-107	Activity of cortical somatosensory neurons during sequential tongue movements: with special reference to the temporal structure of spike trains ○Toda T ¹ , Kudo T ¹ (¹ Div. Oral Physiol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-108	The mechanisms of kainic acid-induced synchronous oscillation in the rat barrel cortex ○Toyoda H ¹ , Sato H ¹ , Saito M ¹ , Kawano T ¹ , Kang Y ¹ (¹ Dept. Neurosci. & Oral Physiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-109	Convergent nociceptive inputs to the medullary dorsal horn after injury to the inferior alveolar nerve ○Terayama R ¹ , Maruhama K ¹ , Tsuchiya H ^{1,2} , Omura S ² , Sugimoto T ¹ (¹ Dept. Oral Func. & Anat., Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. & Pharm. Sci., ² ASAHI Med. Coll. at Okayama)
P2-110	Correlation between timing of neurogenesis and cellular distribution of neurons in the rat nucleus of the solitary tract ○Suwabe T ¹ , Yasuo T ¹ , Sako N ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Div. Oral Func. Sci. & Rehabil., Sch. Dent., Asahi Univ.)
P2-111	Gustatory projections from the intralaminar thalamic nuclei to the ventral part of the caudate putamen in the rat ○Iwai H ¹ , Yamanaka A ¹ , Goto T ¹ (¹ Dept. Oral Anat. & Cell Biol., Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P2-112	The effects of aging on neuronal activity in response to taste stimuli in rat brain ○Inui-Yamamoto C ¹ , Yamamoto T ² , Ueda K ¹ , Nakatsuka M ¹ , Kumabe S ¹ , Matsuda Y ¹ , Iwai Y ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ., ² Health Sci., Kio Univ.)
P2-113	The functional role of GLP-1 receptors on taste nerve fibers ○Takai S ¹ , Yasumatsu K ² , Shin M ¹ , Yoshida R ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ^{1,2} (¹ Sec. Oral Neurosci., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Div. Sensory Physiol., Res. & Dev. Center Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ.)
P2-114	Acrinol, a disinfectant used for oral mucosa, suppresses the taste responses to several sweeteners ○Yasuo T ¹ , Katagawa Y ² , Suwabe T ¹ , Gen K ² , Sako N ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Disability & Oral Health, Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-115	AngiotensinIII modulates sweet taste sensitivity via endocannabinoid receptor ○Iwata S ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Oral Neurosci., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-116	functional analysis of Mash1 in adult mousetaste bud using Cre-lop system ○Seta Y ¹ , Toyono T ¹ , Kataoka S ² , Toyohima K ¹ (¹ Div. of Oral Histol. Neurobiol., Kyushu Dent. Univ., ² Div. of Anat., Kyushu Dent. Univ.)
P2-117	Sweet suppressive effect of leptin is mediated by activation of K _{ATP} channel in mice ○Yoshida R ¹ , Noguchi K ¹ , Shigemura N ¹ , Ninomiya Y ¹ (¹ Sect. Oral Neurosci., Grad. Sch. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-118	Involvement of cervical sympathetic nerves in the increase of blood flow in jaw muscle mediated by circulating adrenaline released from sympathoadrenal system ○Ishii H ¹ , Sato To ¹ (¹ Div. Physiol., Dept. Oral Biol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-119	Inhibition of the swallowing reflex by stimulation of the red nucleus ○Sato Y ¹ , Tsuji K ² , Tsujimura T ² , Inoue M ² , Ishizuka K ¹ , Iwasaki S ¹ (¹ Dept. Physiol., Nippon Dent. Univ., Sch. Life Dent. Niigata, ² Div. Dysphagia Rehabil., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. & Dent.)
P2-120	Visual sensory inputs involved in control of masticatory movement ○Munakata Y ¹ , Ohsuga K ¹ , Furuyama A ¹ (¹ Dept. Oral Func., Ohu Univ. Sch. Dent.)
P2-121	Postnatal changes of dendritic processing in the jaw-closing motoneurons ○Nakamura S ¹ , Nagata S ² , Mochizuki A ¹ , Nakayama K ¹ , Kiyomoto M ¹ , Yamamoto M ² , Inoue T ¹ (¹ Dept. Oral Physiol., Showa Univ. Sch. Dent., ² Dept. Periodontol., Showa Univ. Sch. Dent.)
P2-122	Activation of p38 MAPK in the brainstem evoked by inflammatory stimulation of the masticatory muscle ○Nakatsuka M ¹ , Inui-Yamamoto C ¹ , Kumabe S ¹ , Ueda K ¹ , Iwai Y ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-123	Contextual learning-dependent delivery of AMPA receptors into the CA3-CA1 synapses occurs bilaterally in the dorsal hippocampus, but not in ventral hippocampus ○Mizuno J ¹ , Mitsushima D ^{1,2} (¹ Dept. Oralsci, Kanagawa Dent. Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Syst. Neurosci., Yamaguchi Univ. Grad. Sch. Med.)
P2-124	Evaluation of the odor masking of dimethyl sulphide odors by food derived aroma chemicals through the use of trained odor sensor mice ○Osada K ¹ (¹ Div. Physiol., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-125	The relation between GABA signaling molecules and behavior disorder in repeated oral administration stress received ovariectomized mice ○Tsukahara T ¹ , Masuhara M ¹ , Sonobura T ² , Iwai H ³ , Sato T ¹ (¹ Dept. Appl. Pharmacol., Kagoshima Univ. Sch. Dent., ² Dept. Anat. 2., Kanazawa Med. Univ. Sch. Med., ³ Dept. Oral Anat. & Cell. Biol., Kagoshima Univ. Sch. Dent.)
P2-126	Role of putative ECF sigma factors of <i>Porphyromonas gingivalis</i> on biofilm formation ○Kikuchi Y ^{1,2} , Shibayama K ¹ , Kokubu E ^{1,2} , Ohara N ³ , Nakayama K ⁴ , Ishihara K ^{1,2} (¹ Dept. Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ² Oral Health Sci. Center hrc8., Tokyo Dent. Coll., ³ Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., ⁴ Div. Microbiol. Oral Infect., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)
P2-127	Identification and enzymatic characterization of novel CoA transferase associated with butyrate production in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Yoshida Y ¹ , Nagano K ¹ , Hasegawa Y ¹ , Nakamura Y ² , Tanaka K ² , Yoshimura F ¹ (¹ Dept. Microbiol., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent., ² Dept. Removable Prosthodont., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P2-128	A novel gene involved in extracellular gingipain activity in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Taguchi Y ¹ , Inoue T ² , Sato K ³ , Kano K ⁴ , Nakayama M ² , Naito M ³ , Nakayama K ³ , Ohara N ² (¹ Dept. Pathophysiol. Periodontal Sci. Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent & Pharmsci., ² Dept. Microbiol., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharmsci., ³ Div. Microbiol. Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed., ⁴ Dept. Orthodont., Okayama Univ. Grad. Sch. Med. Dent. & Pharmsci)

P2-129	Analysis of the role of Mfa4 in assembly of Mfa1 fimbriae in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Hasegawa Y ^{1,3} , Ikai R ² , Izumigawa M ² , Hirie T ² , Inomata M ¹ , Kitai N ² , Yoshimura F ³ , Murakami Y ¹ (Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Orthodont. Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Microbiol., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P2-130	Effect of protein phosphorylation on bacterial growth in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Izumigawa M ^{1,2} , Ikai R ¹ , Horie T ^{1,2} , Hasegawa Y ³ , Inomata M ² , Inaba H ² , Into T ² , Yoshimura F ³ , Kitai N ¹ , Murakami Y ² (Dept. Orthodont., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Microbiol., Aichi Gakuin Univ. Sch. Dent.)
P2-131	Involvement of VAMP2 in <i>Porphyromonas gingivalis</i> in recycling endosomes ○Takeuchi H ¹ , Amano A ¹ (Dept. Prev. Dent., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)
P2-132	Effect of the herbal medicine <i>Jixueteng</i> on circulation improvement in mouse experimental periodontitis model ○Toyama T ¹ , Todoki K ² , Takahashi SS ³ , Yoshino F ³ , Yoshida A ³ , Matsuo M ³ , Takahashi-Wada S ³ , Watanabe K ¹ , Hamada N ¹ (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ., ² Dept. Nursing., Kanagawa Dent. Univ., ³ Dept. Oral Sci., Grad. Sch. Dent., Kanagawa Dent. Univ.)
P2-133	Effect of propolis on periodontopathic bacterium, <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Nakao R ¹ , Senpuku H ¹ (Dept. Bacteriol. I., Natl. Inst. Infect. Dis.)
P2-134	Relationship between HIV infection and periodontal bacterial infection in Kenya ○Nakayama K ¹ (Div. Microbiol. Oral Infect., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
P2-135	<i>Porphyromonas gingivalis</i> adheres to endothelial cells via OmpA-like proteins and induces cell responses and cytotoxicity ○Inomata M ¹ , Into T ¹ , Inaba H ¹ , Horie T ² , Kitai N ² , Murakami Y ¹ (Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Orthodont., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-136	Analysis of adherence of OmpA-like protein from <i>Tannerella forsythia</i> to host cell surface lectins ○Horie T ¹ , Inomata M ² , Izumikawa M ¹ , Inaba H ² , Into T ² , Kitai N ¹ , Murakami Y ² (Dept. Orthodont., Asahi Univ. Sch. Dent., ² Dept. Oral Microbiol., Asahi Univ. Sch. Dent.)
P2-137	Effect of supernatant of <i>P. acnes</i> on VSCs production from <i>F. nucleatum</i> subsp. <i>polymorphum</i> AK strain ○Kamaguchi A ¹ , Osada K ² , Sasamoto Y ³ , Okamoto M ⁴ , Nakazawa F ¹ (Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent., Heal. Sci. Univ. Hokkaido, ² Dept. Oral Physiol., Sch. Dent. Heal. Sci. Univ. Hokkaido, ³ Dept. Fixed Prosthodont. Oral Implant., ⁴ Dept. Oral Microbiol. Sch., Tsurumi Univ.)
P2-138	Site-directed mutagenesis in <i>Prevotella intermedia</i> : genetic analysis of virulence factors ○Naito M ¹ , Shoji M ¹ , Narita Y ¹ , Nakayama K ¹ (Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)
P2-139	Expression of the green fluorescent protein in <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ○Hashizume-Takizawa T ¹ , Shinozaki-Kuwahara N ² , Kurita-Ochiai T ¹ (Dept. Oral Immunol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ² Dept. Oral Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-140	The behavior of epithelial cells for the invasion by <i>Treponema denticola</i> ○Kokubu E ^{1,2} , Kikuchi Y ^{1,2} , Shibayama K ^{1,2} , Ishihara K ^{1,2} (Dept. Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ² Oral Health Sci. Center, Tokyo Dent. Coll.)
P2-141	Elucidation of molecular mechanisms of EBV latency and its reactivation –Possible causal link of EBV reactivation to periodontal disease progression– ○Saito Y ¹ , Imai K ¹ , Ochiai K ¹ (Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-142	EBV promotes production of inflammatory cytokines through NF-κB pathway ○Imai K ¹ , Saito Y ¹ , Ochiai K ¹ (Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-143	Study of oral bacteria which are useful for an indicator of the healthy marker of periodontal tissue ○Tsuizukibashi O ¹ , Uchibori S ² , Saito M ¹ , Kuwahara N ¹ (Dept. Oral Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ² Dept. Crown Bridge Prosthodont., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-144	Functional analysis of Hsp70 family protein Sse1 in <i>Candida glabrata</i> ○Nagao J ¹ , Cho T ¹ , Imayoshi R ¹ , Hashimoto M ¹ , Tasaki S ¹ , Tanaka Y ¹ (Sec. Infect. Biol., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-145	Evaluating the effects of a new S-PRG biomaterial filler on adhesion and dimorphism of <i>Candida albicans</i> ○Tamura M ^{1,2} , Abe K ¹ , Ohya M ^{1,3} , Seki K ^{1,3,4} , Ochiai K ^{1,2} (Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ² Div. Immunol. Pathobiol., Dent. Res. Center., Nihon Univ. Sch. Dent., ³ Div. Oral Health Sci., Nihon Univ. Sch. Dent. Grad. Sch. Dent., ⁴ Dept. Compre. Dent. Clin. Edu., Nihon Univ. Sch. Dent.)
P2-146	Estimation of antifungal activity of protamine-derived peptide from salmon ○Cho T ¹ , Nagao J ¹ , Imayoshi R ¹ , Hashimoto M ¹ , Tasaki S ¹ , Tanaka Y ¹ (Dept. Func. Biosci., Fukuoka Dent. Coll.)
P2-147	Effect of zinc chloride on species in human oral microbiota ○Suzuki N ¹ , Nakano Y ² , Matsuo T ³ , Yoneda M ¹ , Hirofuji T ¹ (Dept. Gen. Dent., Fukuoka Dent. Coll., ² Dept. Chem., Nihon Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Dent. Hyg., Fukuoka Coll. Health.Sci.)
P2-148	Effects of pine bark extract chewing gum on oral malodor ○Watanabe K ¹ , Hamada N ¹ (Dept. Microbiol., Kanagawa Dent. Univ.)
P2-149	Distribution and genotype of staphylococci in oral cavities, denture plaque, and hands of denture wearers ○Uchibori S ¹ , Kobayashi T ¹ , Aida M ¹ (Dept. Crown Bridge Prosthodont., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)
P2-150	PI type 2 pili of oral streptococci ○Okahashi N ¹ , Nakata M ² , Kawabata S ² (Center Frontier Oral Sci, Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., ² Dept. Oral Mol. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)

P2-151	Metabolomic analysis of inhibitory effects of nitrite on the acid production of <i>Streptococcus mutans</i> ○Washio J ¹ , Yamamoto Y ² , Takahashi N ¹ (¹ Div. Oral Ecol. & Biochem., Dept. Oral Biol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Dent., ² An incorporated medical institution, Meiseikai, Yamamoto Dental Clinic, Tsuda Dental Clinic)
P2-152	Effects of combination of terpenoids on planktonic cells and the preformed biofilm of <i>Streptococcus mutans</i> ○Fujita M ¹ , Osada K ² , Miyakawa H ¹ , Kamaguchi A ¹ , Nakazawa F ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Health Sci. Univ. Hokkaido Sch. Dent., ² Div. Physiol., Dept. Oral Biol., Health Sci. Univ. Hokkaido Sch. Dent.)
P2-153	Induction of the aberrant AID expression in epithelial cells by the stimulation with <i>Streptococcus anginosus</i> ○Sasaki M ¹ , Kodama Y ¹ , Shimoyama Y ¹ , Ishikawa T ¹ , Kimura S ¹ (¹ Div. Mol. Microbiol., Dept. Microbiol., Iwate Med. Univ. Sch. Dent.)
P2-154	Analysis of GTF gene from <i>Streptococcus dentasini</i> ○Kuwahara N ¹ , Tsudzukibashi O ¹ , Saito M ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent at Matsudo)
P2-155	Characterization of <i>dbfB</i> gene and identification of gene mutation in <i>srtA</i> gene of <i>Streptococcus criceti</i> ○Tamura H ¹ , Yamada A ¹ , Kato H ¹ (¹ Div. Bioregul. Pharmacol., Dept. Pharmacol., Iwate Med. Univ.)
P2-156	Characterization and identification of streptococci isolated from the oral cavity of tufted capuchin ○Saito M ¹ , Tsuzukibashi O ¹ , Kuwahara N ¹ (¹ Dept. Oral Microbiol., Sch. Dent. Matsudo, Nihon Univ.)
P2-157	Study of biofilm formation-related regulator genes to <i>gbpC</i> expression in <i>Streptococcus mutans</i> ○Senpuku H ¹ , Suzuki Y ¹ (¹ Dept. Bacteriol. 1, Natl. Inst. Infect. Dis.)
P2-158	Beta-adrenergic receptor signaling regulates clock genes and <i>Ptgs2</i> expression in osteoblasts ○Hirai T ¹ , Tanaka K ¹ , Togari A ¹ (¹ Dept. Pharmacol., Sch. Dent., Aichi-Gakuin Univ.)
P2-159	Functional analysis of SNAREs in HeLa cells using TALENs ○Takuma T ¹ , Arakawa T ¹ , Okayama M ² , Mizoguchi I ² (¹ Dept. Biochem., Health Sci. Univ. Hokkaido, Sch. Dent., ² Dept. Orthodont., Health Sci. Univ. Hokkaido, Sch. Dent.)
P2-160	A concept of competitive fluorescent ligand binding assay (CFLA) for the development of novel IP ₃ biosensors ○Tanimura A ¹ , Murata K ² , Saito M ² , Morita T ¹ , Nezu A ¹ (¹ Dept. Pharmacol., Health Sci. Univ. Hokkaido, ² Dept. Pediat. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido)
P2-161	Butyric acid affects pre-caspase activity in NGF (+)– and NGF (–)–treated PC12 neuronal cell ○Seki K ^{1,2} , Kamio N ^{3,4} , Cueno M ³ , Tamura M ^{3,4} , Kamimoto A ² , Ochiai K ^{3,4} (¹ Div. Oral Health Sci., Nihon Univ. Sch. Dent., Grad. Sch. Dent., ² Dept. Compre. Dent. Clin. Edu., Nihon Univ. Sch. Dent., ³ Dept. Microbiol., Nihon Univ. Sch. Dent., ⁴ Div. Immunol. Pathobiol., Dent. Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent)
P2-162	Structure and function of adherence junction molecules ○Suzuki M ¹ (¹ Inst. Protein Res., Osaka Univ.)
P2-163	Promoter analysis of Kruppel-like factor 5 gene ○Mihara N ¹ , Chiba T ¹ , Sudo H ¹ , Imai K ¹ (¹ Dept. Biochem., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent.)
P2-164	Studies on the insulin signaling in PRIP knockout mice ○Hirata M ¹ , Kuratani A ¹ , Yasutake Y ¹ , Takahashi I ² , Hirata M ¹ (¹ Lab. Mol. & Cell. Biochem., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ² Orthodont., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ.)
P2-165	The effects of continuous casein restriction on taste preference ○Ueda K ¹ , Inui C ¹ , Nakatsuka M ¹ , Kumabe S ¹ , Iwai Y ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Osaka Dent. Univ.)
P2-166	Reaction of <i>p</i> -aminobenzoic acid with lactoperoxidase system ○Onishi M ¹ , Odajima T ² (¹ Div. Biochem., Sch. Dent., Health Sci. Univ. Hokkaido, ² Sapporo Res. Inst. Basic Med. & Pedagogy)
P2-167	Relationship between eating habit and body mass index (BMI) ○Shiozawa K ¹ , Okumura S ¹ (¹ Dept. Physiol., Tsurumi Univ. Sch. Dent. Med.)
P2-168	Mouse subcutaneous tissue reaction to root canal filling material ○Shoumura M ¹ , Matsuda S ² , Osuga N ¹ , Nakano K ² , Kawakami T ² (¹ Oral Health Anal., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch., ² Hard Tissue Pathol., Matsumoto Dent. Univ. Grad. Sch.)
P2-169	Observation of H ₂ O ₂ production in human leukocytes when stimulated with titanium particles and plate ○Moriguchi K ¹ , Ohno N ¹ (¹ Dept. Oral Anat., Aichi-Gakuin Univ.)