

# プログラム



**JAOB** JAPANESE ASSOCIATION FOR  
ORAL BIOLOGY since 1958

---

---

ロッテ基金特別講演 (PL-1, PL-2)

ライオン学術賞受賞講演 (L-1, L-2)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (Y-1~Y-4)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS-1~KS-3)

日韓シンポジウム (JKS-1~JKS-4)

先端歯学スクールシンポジウム (MAS-1~MAS-4)

日本学術会議シンポジウム (CS-1~CS-4)

メインシンポジウム (MSA-1~MSF-5)

ランチオンセミナー (LS-1~LS-7)

アップデートシンポジウム (US1~US18)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

---

---

## ■ ロッテ基金特別講演 1

Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 1

PL-1 Roland Baron

(Harvard Sch Med and Dent Med)

**「Wnt signaling in cortical and trabecular bone:  
Complex cellular and receptor–ligand interactions」**

座長：中村 浩彰（松歯大 口腔解剖）

日時：9月17日（日）14：20～15：20

会場：A 会場

## ■ ロッテ基金特別講演 2

Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 2

PL-2 審良 静男

(阪大 免疫学フロンティア研究セ)

**「自然免疫と炎症」**

座長：西原 達次（九歯大 感染分子生物）

日時：9月17日（日）15：30～16：30

会場：A 会場

## ■ ライオン賞受賞講演

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L-1 小林 真之  
(日大 歯 薬理)

「島皮質における口腔顔面感覚の制御機構解明に向けて」

L-2 小林 泰浩  
(松歯大 総歯研)

「Wnt シグナルを基盤にした歯槽骨改造機構の解明」

座長：西原 達次 (九歯大 感染分子生物)

日時：9月17日 (日) 16:40~17:40

会場：A 会場

## ■ 歯科基礎医学会学術奨励賞受賞講演

JAOB/Rising Members Award Winner

平成 29 年度 (第 29 回歯科基礎医学会学術奨励賞)

日時：9月18日 (月・祝) 13:10~14:00

会場：A 会場

【生化学部門】座長：石崎 明 (岩医大 生化 細胞情報科学)

Y-1：小林 冴子 (鶴大 歯 小児歯)

「TGF- $\beta$ 1 オートクリン機構とエナメルマトリックス成分」

受賞対象論文：TGF- $\beta$ 1 autocrine signalling and enamel matrix components.  
Scientific Reports 6: 33644, 2016 DOI:10.1038

【微生物学部門】座長：古西 清司（日歯大 生命歯 微生物）

Y-2：山口 雅也（阪大 院歯 口腔細菌）

「分子系統解析を利用した *Streptococcus agalactiae* のシアル酸分解酵素の機能解析」

受賞対象論文：Evolutionary inactivation of a sialidase in group B *Streptococcus*. *Scientific Reports* 6 巻 28852 頁（2016 年発行）

【生理学部門】座長：岡部 幸司（福歯大 細胞分子生物 細胞生理）

Y-3：四釜 洋介（国立長寿医療研究セ 口腔疾患研究）

「飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に關与する可能性」

受賞対象論文：Possible involvement of palmitate in pathogenesis of periodontitis. *Journal of Cellular Physiology* 230 巻 2981 頁～2989 頁（2015 年発行）

【薬理学部門】座長：戸荊 彰史（愛院大 歯 薬理）

Y-4：水越 堅詞（朝日大 歯 薬理）

「Shh/Ptch と EGF/ErbB シグナルは協調的に顎下腺分枝形態形成を調節する」

受賞対象論文：Shh/Ptch and EGF/ErbB cooperatively regulate branching morphogenesis of fetal mouse submandibular glands. *Developmental Biology* 412 巻 278 頁～287 頁（2016 年発行）

## ■ 歯科基礎医学会学術シンポジウム Symposium of JAOB

「アルツハイマー型認知症の発症メカニズムの新展開と口腔健康からの予防的アプローチ」

オーガナイザー：中西 博（九大 院歯 口腔機能分子科学）

日時：9月17日（日）9：00～11：00

会場：A 会場

KS-1 アルツハイマー病発症機構の解明と創薬研究における新たな展開

富田 泰輔（東大 院薬 機能病態）

KS-2 The role of infection and inflammation in Alzheimer's disease

Jessica L. Teeling (Biol Sci, Fac Nat and Environ Sci, Univ Southampton, UK)

- KS-3 歯周病菌によるアルツハイマー様病態の発症と原因酵素としてのカテプシン群の役割  
武 洲<sup>1,2</sup>, 中西 博<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ)

## ■ 日韓シンポジウム KBDSSA and JAOB Joint Symposium

### The control of odontoblast differentiation and dentin-pulp complex formation

オーガナイザー：大島 勇人 (新潟大 院医歯 硬組織形態)  
山城 隆 (阪大 院歯 顎顔面口腔矯正)  
日時：9月17日 (日) 9:00~11:00  
会場：B会場

- JKS-1 歯の外的侵襲後の歯髄修復機構と歯髄幹細胞の特性  
大島 勇人 (新潟大 院医歯 硬組織形態)
- JKS-2 Role of CPNE7 in odontoblast differentiation and dentin formation  
Joo-Cheol Park (Dept Oral Histol-Dev Biol, Sch Dent, Seoul Natl Univ)
- JKS-3 Calcium signaling in odontogenic differentiation and reparative dentin regeneration  
Reuben H. Kim (The Shapiro Family Lab Viral Oncol and Aging Res, UCLA Sch Dent)
- JKS-4 象牙芽細胞分化と Wnt シグナリングー新たな象牙質の再生療法を目指してー  
山城 隆 (阪大 院歯 矯正)

## ■ 先端歯学スクールシンポジウム Most Advanced Dental School Symposium

### 「骨格形成の分子機構」

オーガナイザー：小守 壽文（長大 院医歯薬 生命医科 細胞生物）

日時：9月17日（日）16：40～17：50

会場：B会場

- MAS-1 転写因子による内軟骨性骨化の制御  
波多 賢二, 高畑 佳史, 村上 智彦, 西村 理行（阪大 院歯 生化）
- MAS-2 骨格形成における遺伝子発現制御機構をゲノムスケールで理解する  
大庭 伸介（東大 院医 疾セ・臨床医工）
- MAS-3 骨髄間葉系幹細胞による骨代謝調節機構の解析  
溝口 利英（松歯大 総歯研）
- MAS-4 Scx/Sox9 陽性前駆細胞は腱・靭帯付着部の形成に寄与する  
吉本 由紀<sup>1</sup>, 滝本 晶<sup>2</sup>, 開 祐司<sup>2</sup>, 宿南 知佐<sup>1</sup>（<sup>1</sup>広大 院医歯薬保  
基礎生命科学 生体分子機能, <sup>2</sup>京大 ウイルス・再生医科学研 生体分  
子設計）

## ■ 日本学術会議シンポジウム Symposium of Science Council of Japan

### 「歯科基礎医学の臨床医歯学へ応用と展開」

オーガナイザー：東 みゆき（医科歯科大 院医歯 分子免疫）

上條竜太郎（昭大 歯 口腔生化）

日時：9月18日（月・祝）10：00～12：00

会場：A会場

- CS-1 関節軟骨の生体恒常性の維持および破綻機構の統合的理解に基づく革新的医療技術の開発  
西村 理行（阪大 院歯 生化）

- CS-2 口腔マイクロバイオームの病原性の解明へのアプローチ  
山下 喜久 (九大 院歯 口腔予防医学)
- CS-3 環境因子による自己反応性獲得機構の解明—自己免疫疾患の新たな病因論—  
石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
- CS-4 X線を用いた微量元素分析技術の生体材料評価と生物組織分析・診断への応用  
宇尾 基弘 (医科歯科大 院歯 先端材料評価)

## ■ メインシンポジウム Main Symposium

### メインシンポジウム A

#### 「骨代謝」

オーガナイザー：自見英治郎 (九歯大 健康促進科学 生命科学 分子情報生化)

片桐 岳信 (埼玉大 ゲノム研究セ 病態生理)

日 時：9月17日 (日) 9:00~11:00

会 場：C会場

- MSA-1 進行性骨化性線維異形成症の病態解析に基づく治療薬開発  
片桐 岳信 (埼玉大 ゲノム研究セ 病態生理)
- MSA-2 破骨細胞分化因子 RANKL の発見がもたらしたもの  
保田 尚孝 (オリエンタル酵母工業 長浜生物科学研)
- MSA-3 低ホスファターゼ症の分子病態と治療への展開  
道上 敏美 (大阪府立病院機構 大阪母子医療セ 研究所 環境影響)
- MSA-4 歯周組織再生剤『リグロス®』誕生—それはひらめきと半信半疑から始まった—  
北村 正博, 村上 伸也 (阪大 院歯 歯周病分子病態)

## メインシンポジウム B

### 「唾液腺機能回復の展望」

オーガナイザー：中本 哲自（松歯大 歯科補綴）

谷村 明彦（北医療大 歯 薬理）

日時：9月18日（月・祝）9：00～11：00

会場：B会場

MSB-1 Basic research: Future directions to restore salivary gland hypofunction  
James E. Melvin<sup>1</sup>, Taro Mukaibo<sup>1,2</sup>, Yusuke Kondo<sup>2</sup>, Tetsuji Nakamoto<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>Secretory Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst of Dent and Craniofac Res, Natl Inst of Health, <sup>2</sup>Dept Oral Reconstruct and Rehabil, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Prosthodont, Matsumoto Dent Univ)

MSB-2 唾液腺機能障害における再生医療研究の現状  
美島 健二（昭大 歯 口腔病理）

MSB-3 受容体刺激による唾液分泌と機能亢進：Ca<sup>2+</sup>応答と遺伝子発現制御  
谷村 明彦<sup>1</sup>, 根津 顕弘<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>（<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化）

## メインシンポジウム C

### 「腸内共生系と免疫」

オーガナイザー：吉田 明弘（松歯大 口腔細菌）

川端 重忠（阪大 院歯 口腔微生物）

日時：9月18日（月・祝）9：00～11：00

会場：C会場

MSC-1 腸内細菌由来の代謝物による免疫修飾作用  
長谷 耕二<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>慶大 薬 生化, <sup>2</sup>東大 医科学研 国際粘膜ワクチン開発研究セ）

MSC-2 腸内細菌と大腸発がん  
山本真悠子, 松本 敏（ヤクルト本社 中央研 基盤研）

MSC-3 食と微生物を介した腸内環境の構築と生体応答・疾患

國澤 純<sup>1,4</sup> ( <sup>1</sup>医薬基盤 健康・栄養研, <sup>2</sup>阪大 医・薬・歯, <sup>3</sup>神戸大  
医, <sup>4</sup>東大 医科研)

メインシンポジウム D

「形態形成」

オーガナイザー：原田 英光 (岩医大 歯 解剖 発生生物・再生医  
学)

阪井 丘芳 (阪大 院歯 顎口腔機能治療)

日時：9月18日 (月・祝) 13:10~15:10

会場：B会場

MSD-1 How to control the cupsal patterning; epithelial morphogenesis

Liwen Li<sup>1</sup>, Qinghuang Tang<sup>1</sup>, Takashi Nakamura<sup>2</sup>, Hayato Ohshima<sup>3</sup>, Han-  
Sung Jung<sup>1,4</sup> ( <sup>1</sup>Div in Anat and Dev Biol, Dept of Oral Biol, Oral Sci Res  
Cent, BK21 PLUS Project, Yonsei Univ Coll of Dent, <sup>2</sup>Tohoku Univ Grad  
Sch Dent, <sup>3</sup>Div Anat and Cell Biol Hard Tissue, Dept Tissue Regen  
Reconstruct, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup>Oral Biosci, Fac Dent,  
The Univ of Hong Kong)

MSD-2 歯根/歯周組織形成を司るヘルトヴィッヒ上皮鞘のダイナミクスと分子制御  
メカニズム

大津 圭史, 藤原 尚樹, 原田 英光 (岩医大 歯 解剖・発生生物)

MSD-3 肺の枝分かれ構造の形成機構

三浦 岳 (九大 院医 生体制御 系統解剖)

MSD-4 ドラッグポジショニングを用いた唾液腺再生療法の開発

阪井 丘芳 (阪大 院歯 顎治)

MSD-5 ヒト ES 細胞の自己組織化による臓器創成～次世代オルガノイドの挑戦～

阿久津英憲<sup>1</sup>, 岡崎 拓矢<sup>2</sup>, 梅澤 明弘<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>国立成育医療研究セ 研究所  
再生医療セ, <sup>2</sup>大日本印刷株式会社 研究開発セ)

## メインシンポジウム E

### 「エナメル質研究の新規展開：エナメル質形成におけるケラチンの役割」

オーガナイザー：細矢 明宏（北医療大 歯 口腔構造・機能発育組織）

大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態）

日時：9月18日（月・祝）13：10～15：10

会場：C会場

- MSE-1 エナメル質形成におけるケラチン研究最前線  
大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態）
- MSE-2 エナメル質形成過程に見出されるケラチン 75 について  
山越 康雄<sup>1</sup>，千葉理紗子<sup>1</sup>，山本 竜司<sup>1</sup>，斉藤 まり<sup>1</sup>，唐木田丈夫<sup>1</sup>，  
西川 純雄<sup>2</sup>（<sup>1</sup>鶴大 歯 分子生化，<sup>2</sup>鶴大 歯 生物）
- MSE-3 FAM83H はケラチン細胞骨格を制御することでエナメル芽細胞維持に働く  
久家 貴寿<sup>1</sup>，佐々木光穂<sup>2</sup>，鈴木 治<sup>2</sup>，中山 祐治<sup>3</sup>，朝長 毅<sup>4</sup>，  
山岸 伸行<sup>1</sup>（<sup>1</sup>摂南大 薬 生体分子分析，<sup>2</sup>医薬基盤健康研 疾患モデル  
小動物，<sup>3</sup>京都薬大 生化，<sup>4</sup>医薬基盤健康研 プロテオームリサーチ）
- MSE-4 *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（九歯大 解剖）
- MSE-5 *Sox21* はエナメル芽細胞分化と角化上皮化抑制に重要な役割を担う  
齋藤 幹，福本 敏（東北大 院歯 小児歯）

## メインシンポジウム F

### 「骨リモデリングの制御機構」

オーガナイザー：宇田川信之（松歯大 口腔生化）

高見 正道（昭大 歯 薬理）

日時：9月18日（月・祝）13：10～15：10

会場：D会場

- MSF-1 骨のカップリングにおける OPG の重要性  
宇田川信之（松歯大 口腔生化）

- MSF-2 カップリング機構における RANKL の役割  
 本間 雅<sup>1</sup>, 池淵 祐樹<sup>1</sup>, 林 円香<sup>1</sup>, 青木 和宏<sup>2</sup>, 苅谷 嘉顕<sup>1</sup>,  
 鈴木 洋史<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大 医病院 薬剤, <sup>2</sup>医科歯科大 口腔基礎工)
- MSF-3 破骨細胞の代謝制御と創薬応用  
 西川 恵三 (阪大 免疫学フロンティア研究セ 免疫細胞生物)
- MSF-4 W9 ペプチドの RANKL を介した骨形成作用  
 古屋優里子, 保田 尚孝 (オリエンタル酵母工業 長浜生物科学研)
- MSF-5 遺伝子改変メダカに見る骨代謝制御機構  
 茶谷 昌宏<sup>1</sup>, 工藤 明<sup>1,2</sup>, 高見 正道<sup>1</sup> (<sup>1</sup>昭大 歯 歯科薬理, <sup>2</sup>東工大)

## ■ ランチョンセミナー Luncheon Seminar

### ランチョンセミナー 1

#### 「口腔感染症予防対策」

座長：石原 裕一 (松歯大 歯科保存)

日時：9月17日(日) 12:10~13:00

会場：A 会場

協賛：株式会社エピオス

- LS-1 口腔感染症予防対策  
 矢島 孝浩 (やじま歯科医院)

### ランチョンセミナー 2

#### 「うま味研究の最前線—基礎・応用と今後の展望」

座長：松本 英希 (味の素(株)イノベーション研究所)

水田栄之助 (山陰労災病院 循環器科)

日時：9月17日(日) 12:10~13:00

会場：B 会場

協賛：味の素株式会社

- LS-2-1 うま味の基礎情報とその応用研究  
 松本 英希 (味の素(株)イノベーション研)

LS-2-2 うま味感度低下と肥満：うま味を生かした生活習慣病対策  
水田栄之助（山陰労災病院 循環器）

ランチオンセミナー 3

「若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成の基本と効率的な PubMed 文献検索法，End-Note や Mendeley を活用した文献データ管理法について」

日時：9月17日（日）12：10～13：00

会場：C 会場

協賛：エルゼビア・ジャパン株式会社

LS-3 若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成の基本と効率的な PubMed 文献検索法，End-Note や Mendeley を活用した文献データ管理法について

大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態，J Oral Biosci 誌編集委員長）

ランチオンセミナー 4

「再生医療資源としての歯髓細胞の可能性」

座長：宇田川信之（松歯大 口腔生化）

日時：9月17日（日）12：10～13：00

会場：D 会場

協賛：朝日レントゲン工業株式会社

LS-4 岐阜大学しずい細胞プロジェクト～たくさんのヒトから細胞を集めて分かったこと～

手塚 建一（岐阜大 院医 組織・器官形成）

## ランチオンセミナー 5

### 「歯槽骨再生医療の実現のための細胞調製システムの構築とその運用」

座長：宇田川信之（松歯大 口腔生化）

日時：9月18日（月・祝）12：10～13：00

会場：B会場

協賛：株式会社カネカ  
ダイダン株式会社

- LS-5-1 大学病院における閉鎖型自動細胞培養装置を用いた細胞培養とその経過  
各務 秀明<sup>1</sup>，李 憲起<sup>1</sup>，秋山 裕和<sup>2</sup>，市村 昌紀<sup>2</sup>，宇田川信之<sup>3,4</sup>（松歯大 歯 口腔顎顔面外科，<sup>2</sup>株式会社カネカ再生・細胞医療研，<sup>3</sup>松歯大生化，<sup>4</sup>松歯大病院 細胞・再生医療セ）
- LS-5-2 大学病院への気流制御型クリーンブースの導入とその効果  
古川 悠<sup>1</sup>，佐々木洋二<sup>1</sup>，岸本 亮<sup>1</sup>，李 憲起<sup>2</sup>，各務 秀明<sup>2</sup>（<sup>1</sup>ダイダン株式会社，<sup>2</sup>松歯大）

## ランチオンセミナー 6

### 「矯正歯科治療における治療技術の現状とレーザーによる歯の移動時の歯周組織誘導能の探索—半導体レーザー機器の開発を目指して—」

座長：吉成 伸夫（松歯大 歯科保存）

日時：9月18日（月・祝）12：10～13：00

会場：C会場

協賛：株式会社ユニタック

- LS-6 矯正歯科治療における治療技術の現状とレーザーによる歯の移動時の歯周組織誘導能の探索—半導体レーザー機器の開発を目指して—  
國松 亮（広大病院 口腔健康発育 歯科矯正）

## ランチオンセミナー7

### 「硬組織の形態・機能解析のための光学顕微鏡のマルチモードな活用法」

座長：溝口 利英（松歯大 総歯研）

日時：9月18日（月・祝）12：10～13：00

会場：D会場

協賛：株式会社ニコンインステック

LS-7-1 共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡一骨の透明化とライブセルイメージング

谷村 明彦（北医療大 歯 薬理）

LS-7-2 デコンボリューション蛍光顕微鏡と超解像レーザー顕微鏡一骨の生物医学的マルチモード解析

飯村 忠浩（愛媛大 プロテオサイエンスセ バイオイメージング）

## ■ アップデートシンポジウム Update Symposium

### アップデートシンポジウム1（601-1）

#### 「骨疾患の病態解明と新たな治療法開発への基礎的アプローチ」

オーガナイザー：東 俊文（東歯大 生化）

小林 泰浩（松歯大 総合歯科医学研）

日時：9月16日（土）12：30～14：10

会場：B会場

US1-1 Apert型変異を伴う可溶性FGFR2を応用した頭蓋縫合早期癒合症に対する新規治療法開発の取り組み

森山 啓司（医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正）

US1-2 未診断疾患イニシアチブを通じた稀少疾患の診断と新規疾患の同定

小崎健次郎（慶大 医 臨床遺伝学セ）

US1-3 マウスジェネティクスを用いたHIV感染患者の骨病態解明

飯村 忠浩<sup>1,2,3</sup>，李 智媛<sup>1</sup>（<sup>1</sup>愛媛大 プロテオサイエンスセ バイオイメージング，<sup>2</sup>愛媛大 学術支援セ 病態機能解析，<sup>3</sup>愛媛大 院医）

US1-4 iPS 細胞を用いた顎骨疾患病態解明へのアプローチ

東 俊文<sup>1,4</sup>, 小野寺晶子<sup>1,2,4</sup>, 齋藤 暁子<sup>1,4</sup>, 中村 貴<sup>1,4</sup>, 大庭 伸介<sup>2</sup>,  
小崎健次郎<sup>3</sup>, 山口 朗<sup>4</sup>, 末石 研二<sup>5</sup>, 柴原 孝彦<sup>6</sup> ( <sup>1</sup>東歯大 生化, <sup>2</sup>東  
大 院医 疾患生命工学セ, <sup>3</sup>慶大 医 臨床遺伝学セ, <sup>4</sup>東歯大 口腔科学  
研究セ, <sup>5</sup>東歯大 矯正歯, <sup>6</sup>東歯大 口腔顎顔面外科)

アップデートシンポジウム 2 (602-1)

「上皮膜輸送の最新生物学」

オーガナイザー：杉田 誠 ( 広大 院医歯薬保 口腔生理)

中本 哲自 ( 松歯大 歯科補綴)

日時：9月16日(土) 12:30~14:10

会場：C 会場

US2-1 Altered salivary gland function in a mouse model of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia

Taro Mukaibo<sup>1,2</sup>, James E. Melvin<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>Secretory Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst Dent Craniofac Res, Natl Inst Health, <sup>2</sup>Dept Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ)

US2-2 唾液腺の腺房細胞と導管細胞におけるアニオン分泌の律速分子活性

杉田 誠, 上野 可織, 北川 道憲, 柴 芳樹, 廣野 力 ( 広大 院  
医歯薬保 口腔生理)

US2-3 外分泌腺タンパク質分泌における MARCKS リン酸化と局在変化

佐藤慶太郎<sup>1</sup>, 柏俣 正典<sup>1</sup>, 瀬尾 芳輝<sup>2</sup>, 杉谷 博士<sup>3</sup> ( <sup>1</sup>朝日大 歯 薬理,  
<sup>2</sup>獨協医大 医 生理, <sup>3</sup>日大 生物資源 獣医生化)

US2-4 唾液腺性差と Runx1cKO マウスの唾液分泌制御機構

小野 瞳<sup>1</sup>, Sarper Safiye Esra<sup>2</sup>, 黒坂 寛<sup>2</sup>, 井階 一樹<sup>1</sup>, 山城 隆<sup>2</sup>,  
阪井 丘芳<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>阪大 院歯 顎治, <sup>2</sup>阪大 院歯 矯正)

US2-5 重炭酸輸送を介した統合的生体内 pH 調節機構の解明—腎臓・上皮細胞から神経系まで—

山崎 修<sup>1</sup>, Shmuel Muallem<sup>2</sup>, 関 常司<sup>3</sup> ( <sup>1</sup>慶大 血液浄化・透析セ及び  
総合診療, <sup>2</sup>NIDCR, Natl Inst of Health, <sup>3</sup>焼津市立総合病院)

### アップデートシンポジウム 3 (201-1)

#### 「口腔顔面痛の新たなストラテジーの構築」

オーガナイザー：林 良憲 (九大 院歯 口腔機能分子)

岩田 幸一 (日大 歯 生理)

日時：9月16日(土) 12:30~14:10

会場：D会場

US3-1 痛みの慢性化スイッチとしてのケラチノサイトの新たな役割

林 良憲 (九大 院歯 口腔機能分子)

US3-2 異所性口腔顔面痛を調節する神経細胞と非神経細胞間クロストーク

篠田 雅路, 岩田 幸一 (日大 歯 生理)

US3-3 一次体性感覚野による慢性疼痛発生機構

江藤 圭 (生理学研 生体恒常性発達研究)

US3-4 真菌感染随伴疼痛の生物学的意義とは？

丸山 健太 (阪大 免疫学フロンティア研究セ)

### アップデートシンポジウム 4 (202-1)

#### 「骨代謝研究の源流を語る」

オーガナイザー：宇田川信之 (松歯大 口腔生化)

網塚 憲生 (北大 院歯 硬組織発生)

羽毛田慈之 (明海大 歯 口腔解剖)

日時：9月16日(土) 12:30~14:10

会場：E会場

US4 我が国の骨代謝研究の源流を探る

久米川正好<sup>1</sup>, 小澤 英浩<sup>2</sup>, 須田 立雄<sup>3</sup> (<sup>1</sup>明海大, <sup>2</sup>新潟大, 松歯大, <sup>3</sup>埼玉医大  
ゲノム医学研究セ)

## アップデートシンポジウム 5 (106-1)

### 「核内タンパク質 HMGB1」

オーガナイザー：佐藤 哲二 (鶴大 歯 解剖・組織細胞)

岡元 邦彰 (岡大 院医歯薬 歯科薬理)

日時：9月16日(土) 12:30~14:10

会場：F 会場

#### US5-1 核内蛋白質 HMGB1 について

佐藤 哲二 (鶴大 歯 解剖・組織細胞)

#### US5-2 ヘムオキシゲナーゼ 1 の発現抑制はカスパーゼ 3 の活性化, HMGB1 の細胞外遊離と破骨細胞分化に必要である

坂井 詠子<sup>1</sup>, 岡元 邦彰<sup>2</sup>, 筑波 隆幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理)

#### US5-3 歯周組織破壊における DAMPs の役割

小林 宏明, 須藤 毅顕, Thatwee Kengwong, 鈴木 苗穂, 加納 千博, 和泉 雄一 (医科歯科大 院医歯 歯周病)

#### US5-4 High mobility group box1 (HMGB1) が舌癌周囲筋線維に与える影響とその意義

崎山 浩司<sup>1</sup>, 瀧澤 将太<sup>2</sup>, 小峰 雄介<sup>2</sup>, 小笠原悠大<sup>1</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup> (<sup>1</sup>明海大 歯 解剖, <sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科 II)

#### US5-5 矯正学的歯の移動と HMGB1

管崎 弘幸, 中村 芳樹 (鶴大 歯 歯科矯正)

#### US5-6 アポトーシス/オートファジーと HMGB1

黒田 範行, 佐藤 哲二 (鶴大 歯 解剖・組織細胞)

## アップデートシンポジウム 6 (107-1)

### 「顎骨壊死の臨床・基礎研究の現状と予防・治療戦略」

オーガナイザー：高垣 裕子 (神歯大 院口腔科学)

岩渕 博史 (神歯大 院歯 顎顔面外科)

日時：9月16日(土) 12:30~14:10

会場：G会場

#### US6-1 病理学的観点から考える顎骨壊死の初期病態

豊澤 悟 (阪大 院歯 口腔病理)

#### US6-2 薬剤関連顎骨壊死の基礎・臨床研究の現状とその予防・治療戦略

黒嶋伸一郎<sup>1,2</sup>, 佐々木宗輝<sup>1</sup>, 中島 和慶<sup>1</sup>, 玉城 沙貴<sup>1</sup>, 早野 博紀<sup>1</sup>,  
澤瀬 隆<sup>1</sup> (<sup>1</sup>長大 院医歯薬 口腔インプラント, <sup>2</sup>長大 病院 イン  
プラントセ)

#### US6-3 非侵襲的な力学的刺激を用いたステージ0 BRONJ 病態進展の予防

日高 恒輝<sup>1</sup>, 竹内 良平<sup>1,2</sup>, 高垣 裕子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>神歯大 院歯 口腔科学, <sup>2</sup>横須  
賀市立市民病院 関節外科)

#### US6-4 骨粗鬆症患者における骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の現状と課題—臨床家の立場から—

岩渕 博史 (神歯大 院歯 顎顔面機能再建)

## アップデートシンポジウム 7 (601-2)

### 「炎症制御と再生医療」

オーガナイザー：山本 朗仁 (徳大 院医歯薬 組織再生制御・口腔  
組織)

本田 雅規 (愛院大 歯 口腔解剖)

日時：9月16日(土) 14:20~16:00

会場：B会場

#### US7-1 急性ストレス曝露による抗炎症作用には延髄 C1 ニューロンが関与する

安部 力<sup>1,3</sup>, 井上 剛<sup>2</sup>, Mark D. Okusa<sup>2</sup>, Patrice G. Guyenet<sup>3</sup> (<sup>1</sup>岐阜  
大 院医 生理, <sup>2</sup>Dept Med, Div Nephrol, UVA, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, UVA)

US7-2 間葉系幹細胞の機能と組織再生

秋山謙太郎 (岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴)

US7-3 ヒト口腔粘膜間質由来幹細胞の再生医療への応用の可能性

阿部 成宏<sup>1,2</sup>, 山口 聰<sup>1</sup> (<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 顎顔面外科, <sup>2</sup>都立広尾病院 歯科口腔外科)

## アップデートシンポジウム 8 (602-2)

### 「Bone Cell Biology—Drug Discovery」

オーガナイザー: 小林 泰浩 (松歯大 総歯研 硬組織疾患制御再建)

青木 和広 (医科歯科大 院医歯 口腔基礎工学)

日時: 9月16日 (土) 14:20~16:00

会場: C会場

US8-1 WNT signaling and cathepsin K as therapeutic targets

Roland Baron (Harvard Sch Med and Dent Med)

US8-2 Roland gave me a seed of my research

Kazuhiro Aoki (Dept Basic Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)

US8-3 The osteocyte as a therapeutic target in the treatment of osteoporosis

Yoshihito Ishihara<sup>1,2</sup>, Mary L. Bouxsein<sup>3,4,5</sup>, Roland Baron<sup>1,3,4</sup> (<sup>1</sup>Harvard Sch Med and Dent Med, USA, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Okayama Univ Hosp, Japan, <sup>3</sup>Harvard Med Sch, USA, <sup>4</sup>Endocr Unit, Mass Gen Hosp, USA, <sup>5</sup>Cent for Adv Orthop Studies, Beth Israel Deaconess Med Cent, USA)

US8-4 Regulation of sclerostin expression by bone resorption

Masanori Koide (Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)

US8-5 Roles of Wnt signals in bone resorption

Yasuhiro Kobayashi<sup>1</sup>, Shunsuke Uehara<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ)

## アップデートシンポジウム 9 (201-2)

### 「健やかな生活をめざす口腔機能の解析基盤」

オーガナイザー：増田 裕次 (松歯大 総歯研 顎口腔機能制御)

佐々木 誠 (岩大 院工 バイオロボ)

日時：9月16日(土) 14:20~16:00

会場：D会場

- US9-1 口唇機能評価の確立と新しい口唇トレーニングシステムの開発  
竹花 快恵<sup>1</sup>, 増田 裕次<sup>2</sup>, 影山 徹<sup>1</sup>, 山田 一尋<sup>1</sup> (<sup>1</sup>松歯大 歯科矯正,  
<sup>2</sup>松歯大 総歯研 顎口腔機能制御)
- US9-2 睡眠中の顎口腔機能異常の病態生理の解析基盤  
加藤 隆史 (阪大 院歯 口腔生理)
- US9-3 咽頭・喉頭領域に発現する TRP チャンネルとその生理学的機能の解析  
Mohammad Zakir Hossain<sup>1</sup>, 海野 俊平<sup>1</sup>, 安藤 宏<sup>2</sup>, 増田 裕次<sup>3</sup>,  
北川 純一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>松歯大 歯 口腔生理, <sup>2</sup>松歯大 歯 生物, <sup>3</sup>松歯大 総歯  
研)
- US9-4 機械学習を用いた舌骨上筋群の表面筋電図解析による口腔機能の見える化  
佐々木 誠 (岩大 院工 バイオロボ)

## アップデートシンポジウム 10 (202-2)

### 「Osteocyte Biology アップデート」

オーガナイザー：中島 友紀 (医科歯科大 院医歯 分子情報伝達)

網塚 憲生 (北大 院歯 硬組織発生)

日時：9月16日(土) 14:20~16:00

会場：E会場

- US10-1 Osteocyte Biology オーバービュー  
網塚 憲生<sup>1</sup>, 長谷川智香<sup>1</sup>, 中島 友紀<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大 院歯 硬組織発生, <sup>2</sup>医科  
歯科大 院医歯 分子情報伝達)
- US10-2 骨細胞による骨リモデリングの制御機構  
中島 友紀 (医科歯科大 院医歯 分子情報伝達)

- US10-3 骨芽細胞から骨細胞へ：微細構造学的知見  
長谷川智香<sup>1</sup>, 永井 伯弥<sup>1,2</sup>, 本郷 裕美<sup>1</sup>, 網塚 憲生<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大 院歯 硬  
組織発生, <sup>2</sup>北大 院歯 機能補綴)
- US10-4 骨細胞ネットワーク形成に与えるコラーゲン線維構築の関与  
上岡 寛<sup>1</sup>, 橋本 真奈<sup>2</sup>, 長岡 紀幸<sup>3</sup>, 大嶋 佑介<sup>4</sup>, 飯村 忠浩<sup>4</sup>, 原  
徹<sup>5</sup> (<sup>1</sup>岡大 院 歯科矯正, <sup>2</sup>岡大病院・矯正歯科, <sup>3</sup>岡大 歯先端研セ, <sup>4</sup>愛  
媛大 プロテオサイエンスセ, <sup>5</sup>物質・材料研究機構)
- US10-5 骨細胞と骨基質アパタイト配向性  
中野 貴由, 石本 卓也, 松垣あいら (阪大 院工 マテリアル生産科学  
生体材料)

## アップデートシンポジウム 11 (106-2)

### 「トランスポーター研究の進展と歯科医療」

オーガナイザー：十川 紀夫 (松歯大 歯科薬理)

稲津 正人 (東京医大 医学総合研)

日時：9月16日(土) 14:20~16:00

会場：F 会場

- US11-1 細胞増殖と生存に対するコリントランスポーター CTLs/SLC44A の役割  
稲津 正人<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>東京医大 医学総合研, <sup>2</sup>東京医大 分子予防医学)
- US11-2 モノアミントランスポーターの制御と鎮痛  
十川 千春<sup>1</sup>, 森田 克也<sup>2</sup>, 大山 和美<sup>3</sup>, 十川 紀夫<sup>4</sup> (<sup>1</sup>岡大 院歯薬  
歯科薬理, <sup>2</sup>広島文化学園大 看護 薬理, <sup>3</sup>岡大 歯 RI, <sup>4</sup>松歯大 歯科薬  
理)
- US11-3 睡眠時ブラキシズム頻度とセロトニントランスポーター機能と関連  
水口 一 (岡大病院)

## アップデートシンポジウム 12 (107-2)

### 「ポストゲノム時代の歯原性腫瘍研究～遺伝子解析から分子病理診断まで」

オーガナイザー：三上 俊成 (岩医大 病理 病態解析)  
落合 隆永 (松歯大 口腔病理)

日時：9月16日(土) 14:20～16:00

会場：G会場

US12-1 歯原性腫瘍の遺伝子解析から腫瘍発生を考え診断に活かす  
岡田 康男 (日歯大新潟 病理)

US12-2 歯原性腫瘍の臨床的動態と分子病理学的知見の矛盾  
三上 俊成<sup>1</sup>, 武田 泰典<sup>2</sup> (岩医大 病理, <sup>2</sup>岩医大 歯 臨病理)

US12-3 CTNNB1 変異は石灰化歯原性嚢胞における主要な遺伝子変異である  
行森 茜 (医科歯科大 歯病院 検査)

US12-4 歯原性腫瘍における形質変化の制御因子  
落合 隆永 (松歯大 口腔病理)

US12-5 歯原性腫瘍の生物学的性格と Notch シグナル  
中野 敬介 (岡大 院医歯薬 口腔病理)

## アップデートシンポジウム 13 (601-3)

### 「受容体研究とリサーチライフダイバーシティ」

オーガナイザー：城戸 瑞穂 (佐賀大 医 生体構造機能 組織・神経解剖)

安松 啓子 (九大 味覚・嗅覚センサ研究開発セ  
感覚生理)

日時：9月16日(土) 16:10～17:50

会場：B会場

US13-1 多様な科学シグナルを感知する味覚受容体味物質認識領域の構造と機能  
山下 敦子 (岡大 院医歯薬 構造生物)

- US13-2 口腔粘膜における温度感受性 TRP チャンネルのダイバーシティ  
城戸 瑞穂<sup>1</sup>, 吉本 怜子<sup>2</sup>, 合島 怜央奈<sup>1</sup>, 曹 愛琳<sup>1,2</sup>, 張 旌旗<sup>3</sup>,  
大崎 康吉<sup>3</sup> (<sup>1</sup>佐賀大 医 組織・神経解剖, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理,  
<sup>3</sup>九大 院歯 分子口腔解剖)
- US13-3 抑制性神経伝達物質の新たな機能  
照沼 美穂 (新潟大 院歯 口腔生化)
- US13-4 口腔内の脂肪センシングメカニズムと今後の医療への期待  
安松-中野 啓子 (九大 味覚・嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理)

アップデートシンポジウム 14 (602-3)

「The Front Line of Oral Biofilm Research : The Challenge  
Reports by Young Researchers」

オーガナイザー : Takuichi Sato (Sch Health Sci, Niigata Univ Sch)  
Tomoko Ohshima (Dept Oral Microbiol, Tsurumi  
Univ Sch Dent Med)

日時 : 9月16日 (土) 16:10~17:50

会場 : C 会場

- US14-1 Understanding oral biofilms  
David Spratt (Microbial Ecol and Educ, UCL Eastman Dent Inst, London,  
UK)
- US14-2 A novel mechanism linking periodontitis and rheumatoid arthritis  
Keisuke Sato<sup>1,2</sup>, Naoki Takahashi<sup>1,3</sup>, Yumi Matsuda<sup>1,2</sup>, Miki Yamada<sup>1,2</sup>,  
Mai Yokoji<sup>1,2</sup>, Koichi Tabeta<sup>1</sup>, Takako Nakajima<sup>4</sup>, and Kazuhisa  
Yamazaki<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Div  
Oral Sci for Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup>Res  
Cent for Adv Oral Sci (CAOS), Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup>Div  
Dent Educ Res Dev, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
- US14-3 Determination of the antibacterial substances produced by probiotic  
lactobacilli against a periodontal pathogen  
Tomomi Kawai<sup>1</sup>, Tomoko Ohshima<sup>1</sup>, Ryoichi Shin<sup>2</sup>, Satoshi Ikawa<sup>3</sup>,  
Atsushi Tani<sup>4</sup>, Naoya Inazumi<sup>5</sup>, Nobuko Maeda<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol,  
Sch Dental Med, Tsurumi Univ, <sup>2</sup>Central Inst, Health Sci, A. L. A.  
Corporation, <sup>3</sup>Technol Res Inst, Osaka Pref, <sup>4</sup>Dept Human Environ Sci,  
Fac Human Dev, Kobe Univ, <sup>5</sup>Tech Support Div, Grad Sch Sci, Osaka  
Univ)

- US14-4 Carbohydrate metabolism of a novel caries-associated bacterium *Scardovia wiggisiae*—A possible role of acetic acid bacteria in the dental caries etiology—  
Mai Kameda<sup>1</sup>, Yuki Abiko<sup>2</sup>, Junpei Washio<sup>2</sup>, Nobuhiro Takahashi<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Tohoku Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dentt)

## アップデートシンポジウム 15 (201-3)

### 「若手の口腔生理学研究最前線」

オーガナイザー：船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)  
山村 健介 (新潟大 院医歯 口腔生理)  
日時：9月16日(土) 16:10~17:50  
会場：D会場

- US15-1 口内炎疼痛に対する半夏瀉心湯の鎮痛メカニズムの解明  
人見 涼露, 伊藤 美紗, 野代 知孝, 氏原 泉, 小野堅太郎 (九歯大 生理)
- US15-2 舌乾燥症による舌痛覚過敏の末梢神経機構  
陳 睿妍, 篠田 雅路, 岩田 幸一 (日大 歯 生理)
- US15-3 マウス咀嚼筋適応機構の解明  
梅木 大輔<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 伊藤 愛子<sup>1</sup>, 八木澤由佳<sup>1</sup>, 成山明具美<sup>3</sup>,  
川村 直矢<sup>4</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 中村 芳樹<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup> (<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正,  
<sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 小児歯, <sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病)
- US15-4 ラット三叉神経運動核の背側網様体に存在する Phox2b 陽性ニューロンの電気生理学的および形態学的特性は Phox2b 陰性ニューロンと異なる  
那小屋公太<sup>1,2</sup>, 中村 史朗<sup>2</sup>, 中山希世美<sup>2</sup>, 望月 文子<sup>2</sup>, 佐藤 文彦<sup>3</sup>,  
吉田 篤<sup>3</sup>, 井上 誠<sup>1</sup>, 井上 富雄<sup>2</sup> (<sup>1</sup>新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生理, <sup>3</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2)

## アップデートシンポジウム 16 (202-3)

### 「骨代謝調節機構における新しい研究展開」

オーガナイザー：長谷川智香（北大 院歯 硬組織発生）  
                    笹野 泰之（東北大 院歯 顎口腔形態創建）  
日時：9月16日（土）16：10～17：50  
会場：E会場

- US16-1 骨基質石灰化における局所リン酸供与と FGF23/klotho シグナル  
          長谷川智香, 本郷 裕美, 網塚 憲生（北大 院歯 硬組織発生）
- US16-2 骨・カルシウム恒常性と 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>作用  
          増山 律子（長大 院医歯薬）
- US16-3 基質小胞の新展開：microRNA キャリアとしての役割  
          南崎 朋子, 吉子 裕二（広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物）
- US16-4 骨髄間葉系幹細胞の骨代謝調節機構  
          溝口 利英（松歯大 総歯研）
- US16-5 生体イメージングで解く骨代謝調節機構  
          菊田 順一（阪大 院医 免疫細胞生物）

## アップデートシンポジウム 17 (106-3)

### 「頭頸部における発生形態学的研究の方向性—骨, 軟骨, 周囲軟組織の発生を統合的に考える」

オーガナイザー：柴田 俊一（医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖）  
                    山本 仁（東歯大 組織・発生）  
日時：9月16日（土）16：10～17：50  
会場：F会場

- US17-1 下顎頭軟骨の構造上の特徴と組織発生  
          柴田 俊一（医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖）
- US17-2 軟口蓋発生を特徴づける細胞外マトリックス発現  
          岡 暁子<sup>1</sup>, 栗原 調<sup>1</sup>, 緒方佳代子<sup>1</sup>, 尾崎 正雄<sup>1</sup>, Chai Yang<sup>2</sup>（<sup>1</sup>福歯大 小児歯, <sup>2</sup>USC, CCMB）

US17-3 “顎関節の筋・腱・骨：機能的複合体” 発生過程における Sox9<sup>+</sup> 前駆細胞の担  
う役割

山本 将仁（東歯大 解剖）

アップデートシンポジウム 18 (107-3)

「細胞外マトリックスを基盤とした疾患生物学」

オーガナイザー：齋藤 正寛（東北大 院歯 歯科保存）

山田 聡（東北大 院歯 歯内歯周治療）

日時：9月16日（土）16：10～17：50

会場：G 会場

US18-1 細胞外マトリックスによる歯周組織の恒常性維持と破綻の分子メカニズム

山田 聡（東北大 院歯 歯内歯周治療）

US18-2 Del-1 分子による歯周炎制御メカニズム解析とサル応用研究

前川 知樹（新潟大 院医歯 高度口腔機能教育研究セ）

US18-3 プロテオーム解析と歯肉幹細胞エクソソームを応用した歯周病治療の開発  
に向けて

福田 隆男（九大 院歯 口腔機能修復 歯周病）

US18-4 ADAMTS superfamily を介した Marfan 症候群の組織破壊機構の解析

折本 愛, 石河 真幸, 半田 慶介, 齋藤 正寛（東北大 院歯 歯科  
保存）

## ■ 一般演題（口演）

9月17日（日）9：00～9：30 D会場

微生物1・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：清浦 有祐（奥羽大 歯 口腔病態解析制御）

<b>O1-D1</b>	インフルエンザウイルス感染による Snail1 の発現誘導は化膿レンサ球菌の上皮バリア突破を亢進させる ○住友 倫子, 中田 匡宣, 山口 雅也, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
<b>O1-D2</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> による Ca9-22 細胞への侵入における galectin-1 の効果 ○玉井利代子, 小林美智代, 清浦 有祐 (奥羽大 歯 口腔病態解析制御)
<b>O1-D3</b>	プロポリスのジンジバリス菌に対する殺菌機構 ○中尾 龍馬, 平山 悟, 泉福 英信 (感染研 細菌1)

9月17日（日）9：30～10：00 D会場

微生物2・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：中澤 太（北医療大 歯 微生物）

<b>O1-D4</b>	化膿レンサ球菌における温度感受性の線毛発現機構 ○中田 匡宣, 住友 倫子, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
<b>O1-D5</b>	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のナイシン耐性株の解析 ○松尾 美樹, 小松澤 均 (鹿大 院医歯 口腔微生物)
<b>O1-D6</b>	未同定 <i>Veillonella</i> 株の遺伝学的多様性 ○Theodora Citra <sup>1</sup> , 眞島いつみ <sup>1,2,3</sup> , 中澤 太 <sup>1</sup> (北医療大 歯 微生物, <sup>2</sup> 学振 特別研究員 PD, <sup>3</sup> ニューヨーク州立大 バッファロー校 口腔生物)

9月17日（日）10：00～10：30 D会場

微生物3・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：桑田 啓貴（昭大 歯 口腔微生物）

<b>O1-D7</b>	オメガ3脂肪酸は歯周病細菌が誘導するインフラマソーム活性を抑制する ○沖永 敏則, 有吉 渉, 西原 達次 (九歯大 感染分子生物)
<b>O1-D8</b>	インフラマソーム活性化物質としてのマイコプラズマ由来リポタンパク質 ○佐伯 歩 <sup>1</sup> , 長谷部 晃 <sup>1</sup> , 鈴木 敏彦 <sup>2</sup> , 柴田健一郎 <sup>1</sup> (北大 院歯 口腔分子微生物, <sup>2</sup> 医科歯科大 院医歯 細菌感染)
<b>O1-D9</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> による低酸素条件下でのインフラマソーム活性化 ○岡野 徳壽, 鈴木 敏彦 (医科歯科大 院医歯 細菌感染)

9月17日（日）10：30～11：00 D会場

微生物4・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：大原 直也（岡大 院医歯薬 口腔微生物）

<b>O1-D10</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ジンジパインによる COX-2 発現と PGE2 産生の分子機序 ○中山 真彰 <sup>1,2</sup> , 橘 理人 <sup>1,2</sup> , 内藤真理子 <sup>3</sup> , 中山 浩次 <sup>3</sup> , 大原 直也 <sup>1,2</sup> (岡大 院医歯薬 口腔微生物, <sup>2</sup> 岡大 歯先端研セ, <sup>3</sup> 長大 院医歯薬 微生物)
<b>O1-D11</b>	歯周病細菌の産生する短鎖脂肪酸はヒト歯肉上皮細胞の細胞死を誘導し関節リウマチ関連因子を放出する ○津田 啓方, 室伏 貴久, 鈴木 直人 (日大 歯 生化)
<b>O1-D12</b>	霊長類レッサスローロリス ( <i>Nycticebus pygmaeus</i> ) に特異的な歯周病関連菌の探索 ○矢野 航, 渡邊 竜太, 佐藤 和彦, 藺村 貴弘, 江尻 貞一 (朝日大 歯 口腔解剖)

9月17日(日) 11:00~11:30 D会場

軟骨・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：柴田 俊一 (医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)

<b>01-D13</b>	成長軟骨細胞の増殖における NF- $\kappa$ B 非古典的経路の役割 ○中富 千尋 <sup>1</sup> , 松原 琢磨 <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>2</sup> , 古株彰一郎 <sup>1</sup> , 自見英治郎 <sup>3</sup> (1九歯大 分子情報生化学, 2九歯大 解剖, 3九大 院歯 OBT 研究セ)
<b>01-D14</b>	マウス下顎頭軟骨発生過程における MMPs および TIMPs の遺伝子発現に関する研究 ○高橋 将人, 日下 翔太, 柴田 俊一 (医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)
<b>01-D15</b>	22q11.2 欠失症候群モデルを用いた Dgcr2 遺伝子による頭蓋底軟骨の制御メカニズムの解析 ○梶原 景正 (東海大 医 分子生命科学)

9月17日(日) 11:30~12:00 D会場

メカニカルストレス・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：上岡 寛 (岡大 院医歯薬 矯正)

<b>01-D16</b>	新規メカニカルストレス応答性因子 KLHDC8A の骨組織内局在 ○池亀 美華 <sup>1,2</sup> , 内部 健太 <sup>1</sup> , 岡村 裕彦 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 口腔形態, 2岡大 院医歯薬 歯先端研セ)
<b>01-D17</b>	Detection of the bone structure change and periodic osteocytes' expression of sclerostin during orthodontic tooth movement ○Wang Ziyi <sup>1</sup> , 石原 嘉人 <sup>2</sup> , 小田垣直弥 <sup>1</sup> , 上岡 寛 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 矯正, 2岡大病院 矯正)
<b>01-D18</b>	歯科インプラント埋入後に新生されたオステオンの構造特性 ○是澤 和人 <sup>1</sup> , 松永 智 <sup>1</sup> , 小高 研人 <sup>1</sup> , 森田 純晴 <sup>1</sup> , 廣内 英智 <sup>1</sup> , 飯村 忠浩 <sup>2</sup> , 阿部 伸一 <sup>1</sup> (1東歯大 解剖, 2愛媛大 プロテオサイエンスセ)

9月17日(日) 16:40~17:10 D会場

生体材料・軟骨・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：鈴木 治 (東北大 院歯 機能創建)

<b>01-D19</b>	生体高分子の化学リン酸化によるチタン結合性の獲得 ○久保木芳徳 <sup>1</sup> , 八上 公利 <sup>2</sup> , 古澤 利武 <sup>3</sup> , 戸倉 清一 <sup>1</sup> (1北大 院地球環境科学 環境適応科学, 2松歯大 院歯 インプラント, 3山形大 院工)
<b>01-D20</b>	ポリオールとフッ化物イオン共存下におけるフッ化アパタイトの溶解性に関する研究 ○筒井 生, 鈴木 治 (東北大 院歯 機能創建)
<b>01-D21</b>	生後マウス Meckel 軟骨後方部位と gonial bone との位置関係について ○柴田 俊一 <sup>1</sup> , 高橋 将人 <sup>1</sup> , 日下 翔太 <sup>1</sup> , 藤川 芳織 <sup>2</sup> (1医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖, 2昭大 歯 口腔解剖)

9月17日(日) 17:10~17:50 D会場

発生・分化・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 機能形態)

<b>01-D22</b>	現生トガリネズミ科の臼歯の発生は中生代化石哺乳類の臼歯の進化を再現する ○山中 淳之, 岩井 治樹, 倉本恵梨子, Dhar Ashis, 後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 機能形態)
<b>01-D23</b>	マウス歯胚の局所照射法の確立と歯根形成時の照射歯胚の形態学的観察 ○井出 吉昭 <sup>1</sup> , 深田 哲也 <sup>2</sup> , 那須 優則 <sup>2</sup> , 中原 貴 <sup>1</sup> (1日歯大 生命歯 発生・再生, 2日歯大 生命歯 研究セ)
<b>01-D24</b>	鶏胚における脈管新生の形態学的解析 ○原 矢委子 <sup>1</sup> , 井上 孝二 <sup>2</sup> , 佐藤 哲二 <sup>1</sup> (1鶴大 歯 解剖・組織, 2鶴大 歯 電子顕微鏡研究セ)
<b>01-D25</b>	血管内皮細胞の伸張機能に着目した, 血管形成の新たな指標の探索 ○田村-辻 潔美, 田村 正人 (北大 院歯 口腔分子生化学)

9月17日(日) 9:00~9:30 E会場

唾液1 . . . . . 座長: 川口 充 (東歯大 名誉教授)

<b>01-E1</b>	唾液分泌促進因子としてのD体セリン ○吉川 正信 <sup>1</sup> , 大久保みぎわ <sup>2</sup> , 川口 充 <sup>2</sup> (東海大 医 臨床薬理, <sup>2</sup> 東歯大 薬理)
<b>01-E2</b>	ドライアイ誘発性眼痛に対するジクアホソルナトリウム点眼の効果 ○菅原 詩織 <sup>1,2</sup> , 美久月瑠宇 <sup>1,2</sup> , 齊藤 弘人 <sup>2</sup> , 片桐 綾乃 <sup>2</sup> , 岩田 幸一 <sup>2</sup> (医科歯科大 院医歯 歯科心身, <sup>2</sup> 日大 歯生理)
<b>01-E3</b>	三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄における視床または橋投射ニューロンの分布様式 ○齋藤 弘人 <sup>1</sup> , 片桐 綾乃 <sup>2</sup> , 岩田 幸一 <sup>2</sup> (日大 歯 補綴1, <sup>2</sup> 日大 歯 生理)

9月17日(日) 9:30~10:00 E会場

唾液2 . . . . . 座長: 谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)

<b>01-E4</b>	アセチルコリンによるラット顎下腺の唾液分泌における細胞内Ca <sup>2+</sup> 濃度の閾値の算定 ○根津 顕弘 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>2</sup> , 谷村 明彦 <sup>1</sup> (北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup> 日歯大新潟 生化)
<b>01-E5</b>	ヒト顎下腺細胞株NS-SV-ACにおけるmiR-1290の機能解析 ○水澤 典子, 岩田 武男, 吉本 勝彦 (徳大 院医歯薬 分子薬理)
<b>01-E6</b>	管状臓器の管腔維持, 形成におけるCdc42の役割 ○設楽 彰子 (朝日大 歯 薬理)

9月17日(日) 10:00~10:30 E会場

シグナル伝達1 . . . . . 座長: 田中 芳彦 (福歯大 機能構造 感染生物)

<b>01-E7</b>	ヘルパーT細胞に発現する新規免疫シグナル分子の同定とその機能解析 ○池崎晶二郎 <sup>1,2</sup> , 永尾 潤一 <sup>1</sup> , 橋本麻利江 <sup>1</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 安松香奈江 <sup>1</sup> , 成田 由香 <sup>1</sup> , 有田 (森岡) 健一 <sup>1</sup> , 長 環 <sup>1</sup> , 池邊 哲郎 <sup>1</sup> , 田中 芳彦 <sup>1</sup> (福歯大 機能構造 感染生物, <sup>2</sup> 福歯大 口外)
<b>01-E8</b>	治療耐性がん細胞における酸化ストレス応答機構の解析 ○富田 和男 <sup>1</sup> , 高 裕子 <sup>2</sup> , 塚原 飛央 <sup>1</sup> , 古川みなみ <sup>3</sup> , 西谷 佳浩 <sup>2</sup> , 佐藤 友昭 <sup>1</sup> (鹿大 院医歯 応用薬理, <sup>2</sup> 鹿大 院医歯 歯科保存, <sup>3</sup> 鹿大 院医歯 矯正)
<b>01-E9</b>	水素水はヒト唾液・尿の抗酸化力を向上し, 紫外線A及び過酸化水素によるヒト肉内線維芽細胞の酸化ストレス障害およびコラーゲン合成低下を防御する ○肖 黎 <sup>1</sup> , 三羽信比古 <sup>2</sup> (日歯大 生命歯 薬理, <sup>2</sup> 県立広島大)

9月17日(日) 10:30~11:00 E会場

シグナル伝達2 . . . . . 座長: 兼松 隆 (広大院医歯薬保 細胞分子薬理)

<b>01-E10</b>	褐色脂肪細胞におけるアドレナリン刺激によるPRIPを介するエネルギー代謝メカニズム ○大植 香菜 <sup>1,2</sup> , 山脇 洋輔 <sup>2</sup> , 浅野 智志 <sup>2</sup> , 兼松 隆 <sup>2</sup> (広大院 麻酔, <sup>2</sup> 広大院医歯薬保 細胞分子薬理)
<b>01-E11</b>	脂肪細胞特異的GPRC6A欠損が全身代謝に与える影響 ○溝上 顕子 <sup>1,2</sup> , 竹内 弘 <sup>3</sup> , 自見英治郎 <sup>1,2</sup> , 平田 雅人 <sup>4</sup> (九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔細胞工, <sup>3</sup> 九歯大 口腔応用薬理, <sup>4</sup> 福歯大)
<b>01-E12</b>	AMPK/mTOR経路は脂肪組織でのD-dopachrome tautomerase遺伝子の転写を調節する ○岩田 武男, 吉本 勝彦 (徳大 院医歯薬 分子薬理)

9月17日(日) 11:00~11:30 E会場

エナメル質 . . . . . 座長: 岡部 幸司 (福歯大 細胞生理)

01-E13	MMP20 過剰発現はエナメル芽細胞の細胞極性障害によりエナメル質形成不全を呈する ○進 正史 <sup>1</sup> , 岡本富士雄 <sup>1</sup> , 鍛冶屋 浩 <sup>1</sup> , 緒方佳代子 <sup>1,2</sup> , 岡部 幸司 <sup>1</sup> (福歯大 細胞生理, <sup>2</sup> 福歯大 小児歯)
01-E14	象牙芽細胞及びエナメル芽細胞を蛍光標識出来るマウスを用いた象牙芽細胞, エナメル芽細胞の同定と単離の試み ○磯野 加奈, 山崎 英俊 (三重大 院医 幹細胞発生)
01-E15	エナメル質形成不全モデルにおけるアメロジェネシス関連遺伝子発現プロファイル ○Arinawati Dian Yosi <sup>1</sup> , 三好 圭子 <sup>2</sup> , 谷村 綾子 <sup>2</sup> , 堀口 大吾 <sup>2</sup> , 野間 隆文 <sup>2</sup> (徳大 院 口腔科学教育, <sup>2</sup> 徳大 院医 歯薬 医化)

9月17日(日) 11:30~12:00 E会場

発生・分化2 . . . . . 座長: 瀬田 祐司 (九歯大 解剖)

01-E16	組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによるモルモット臼歯 apical bud の観察 ○清野 雄多 <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>2</sup> , 依田 浩子 <sup>1</sup> , 大島 勇人 <sup>1</sup> (新潟大 院医歯 硬組織形態, <sup>2</sup> 九歯大 解剖)
01-E17	CRISPR/Cas システムを用いた in vivo におけるマウス Msx1 機能ドメインの解析 ○泰江 章博, 三井なおみ, 荒井 大志, 田中 栄二 (徳大 院医歯薬 矯正)
01-E18	口唇裂発症モデルマウスにおける遺伝-環境相互作用の解析 ○中富 満城, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司 (九歯大 解剖)

9月17日(日) 16:40~17:10 E会場

イメージング . . . . . 座長: 金森 孝雄 (愛院大 歯 生化)

01-E19	ストア作動性カルシウム流入による歯原性上皮細胞のマイグレーションと遺伝子発現の制御 ○村田 佳織, 森田 貴雄 <sup>2</sup> , 高橋亜友美 <sup>2</sup> , 齊藤 正人 <sup>2</sup> , 谷村 明彦 <sup>1</sup> (北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup> 北医療大 歯 小児歯, <sup>3</sup> 日歯大新潟 生化)
01-E20	3D 培養細胞における分泌タンパク質の生物発光イメージング: 周期性インスリン分泌の可視化 ○鈴木 崇弘 <sup>1</sup> , 金森 孝雄 <sup>1</sup> , 井上 敏 <sup>2</sup> (愛院大 歯 生化, <sup>2</sup> JNC(株) 横浜研)
01-E21	FRET イメージングを利用した炎症反応の時刻依存性解析 ○西出 真也 (北大 院医 細胞生理)

9月17日(日) 17:10~17:50 E会場

法歯学・筋 . . . . . 座長: 阿部 伸一 (東歯大 解剖)

01-E22	歯科所見と DNA 鑑定による身元特定 ○山田 良広 (神歯大 院歯 災害医 法医歯)
01-E23	Polphyromonas gingivalis 由来 LPS が心筋, 骨格筋に及ぼす影響 ○川村 直矢 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 梅木 大輔 <sup>1</sup> , 梅木 大輔 <sup>3</sup> , 氏家 優子 <sup>1</sup> , 伊藤 愛子 <sup>1</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> (鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 矯正)
01-E24	筋再生過程における Tcf4 の役割: 再生筋および筋線維周囲組織における Tcf4 の局在に関する免疫組織化学的検索 ○小川 雄大, 永倉遼太郎, 奈良 倫之, 山本 将仁, 阿部 伸一 (東歯大 解剖)
01-E25	咬筋における $\beta$ アドレナリン受容体シグナルのサブタイプ特異的な役割 ○伊藤 愛子 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 梅木 大輔 <sup>1</sup> , 石川美佐緒 <sup>3</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 川村 直矢 <sup>4</sup> , 八木澤由佳 <sup>1</sup> , 中村 芳樹 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> (鶴大 歯 矯正, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖 1, <sup>4</sup> 鶴大 歯 歯周病)

9月18日(月) 9:00~9:30 D会場

破骨細胞1 . . . . . 座長：久木田敏夫 (九大 院歯 分子口腔解剖)

<b>O2-D1</b>	カモノハシやオポッサムのカルシトニンは非哺乳類と同様に強力な生物活性を持つ ○山下 照仁 <sup>1</sup> , 宇田川信之 <sup>2</sup> , 上原 俊介 <sup>2</sup> , 小林 泰浩 <sup>1</sup> , 高橋 直之 <sup>1</sup> (松歯大 総歯研 硬組織, <sup>2</sup> 松歯大 口腔生化)
<b>O2-D2</b>	ラミニン-332 は骨芽細胞で発現し, 破骨細胞形成を負に制御する ○上原 範久 <sup>1</sup> , 久本由香里 <sup>1</sup> , 久木田明子 <sup>2</sup> , 山座 孝義 <sup>1</sup> , 久木田敏夫 <sup>1</sup> (九大 院歯 分子口腔解剖, <sup>2</sup> 佐賀大 医 微生物)
<b>O2-D3</b>	骨破壊性腫瘍におけるカテプシン K 阻害剤の骨形成誘導作用 ○寺町 順平 (徳大 院医歯薬 口腔組織)

9月18日(月) 9:30~10:00 D会場

破骨細胞2 . . . . . 座長：平田 雅人 (九大 院歯 口腔細胞工学)

<b>O2-D4</b>	シグナル調節分子 PRIP の破骨細胞分化における役割 ○松田 美穂 <sup>1</sup> , 自見英治郎 <sup>1,2</sup> , 平田 雅人 <sup>3</sup> (九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>3</sup> 福歯大)
<b>O2-D5</b>	オートファジーの活性は破骨細胞分化を誘導する ○荒井 敦 <sup>1</sup> , 山田 一尋 <sup>1</sup> , 宇田川信之 <sup>2</sup> , 高橋 直之 <sup>3</sup> , ワンクンユー <sup>4</sup> , キムリユーベン <sup>4</sup> (松歯大 矯正, <sup>2</sup> 松歯大 口腔生化, <sup>3</sup> 松歯大 総歯研 機能解析, <sup>4</sup> カリフォルニア大 ロサンゼルス)
<b>O2-D6</b>	Ror2-Rho-Pkn3 シグナルは破骨細胞の骨吸収活性を促進する ○上原 俊介 <sup>1</sup> , 山下 照仁 <sup>2</sup> , 宇田川信之 <sup>1</sup> , 高橋 直之 <sup>2</sup> , 小林 泰浩 <sup>2</sup> (松歯大 口腔生化, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研)

9月18日(月) 10:00~10:30 D会場

破骨細胞3 . . . . . 座長：天野 修 (明海大 歯 解剖)

<b>O2-D7</b>	老齢期の破骨細胞形成における骨細胞由来の CCN2 の役割 ○西田 崇 <sup>1</sup> , 久保田 聡 <sup>1,2</sup> , 滝川 正春 <sup>2</sup> (岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup> 岡大 歯先端研セ)
<b>O2-D8</b>	破骨細胞由来の LIF は sclerostin の発現低下を介して, 骨形成を促進する ○小出 雅則 <sup>1</sup> , 小林 泰浩 <sup>1</sup> , 山下 照仁 <sup>1</sup> , 上原 俊介 <sup>2</sup> , 中村美どり <sup>2</sup> , 平岡 行博 <sup>3</sup> , 尾崎 友輝 <sup>1</sup> , 飯村 忠浩 <sup>4</sup> , 高橋 直之 <sup>1</sup> , 宇田川信之 <sup>1,2</sup> (松歯大 総歯研 硬組織, <sup>2</sup> 松歯大 口腔生化, <sup>3</sup> 松歯大 化学, <sup>4</sup> 愛媛大 プロテオサイエンスセ バイオイメージング)
<b>O2-D9</b>	マウス脛骨の発生における septoclast の由来と分化 ○坂東 康彦, 坂下 英, 崎山 浩司, 天野 修 (明海大 歯 解剖)

9月18日(月) 10:30~11:00 D会場

破骨細胞4 . . . . . 座長：大浦 清 (大歯大 薬理)

<b>O2-D10</b>	Keap1 遺伝子欠損は IRF-8 と MafB の発現上昇を介して破骨細胞分化を抑制する ○坂井 詠子 <sup>1</sup> , 城戸 瑞穂 <sup>2</sup> , 福岡 裕 <sup>1</sup> , 西下 一久 <sup>1</sup> , 岡元 邦彰 <sup>3</sup> , 筑波 隆幸 <sup>1</sup> (長大 院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup> 佐賀大 医 組織神経解剖, <sup>3</sup> 岡大 院医歯薬 歯科薬理)
<b>O2-D11</b>	JAK 阻害薬は骨芽細胞の RANKL 発現を抑制し, 破骨細胞の分化を阻害する ○村上 康平 <sup>1</sup> , 上原 俊介 <sup>1</sup> , 高橋 直之 <sup>2</sup> , 宇田川信之 <sup>1</sup> , 小林 泰浩 <sup>2</sup> (松歯大 口腔生化, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研)
<b>O2-D12</b>	ヘリオキサントニン誘導体による破骨細胞分化抑制 ○天野 均, 岩城 太, 大浦 清 (大歯大 薬理)

9月18日(月) 11:00~11:30 D会場

骨形成 . . . . . 座長: 羽毛田慈之 (明海大 歯 口腔解剖)

<b>O2-D13</b>	(取り下げ)
<b>O2-D14</b>	ケモカイン CCL25 投与が乳幼児期マウス骨形成に与える影響 ○雪田 聡 <sup>1</sup> , 二宮 禎 <sup>3</sup> , 細矢 明宏 <sup>4</sup> , 中村 浩彰 <sup>2</sup> (1静岡大 院教育 理科, 2松歯大 口腔解剖, 3松歯大 総歯研 硬組織形態解析, 4北医療大 歯 組織)
<b>O2-D15</b>	ゾレドロン酸投与が骨細胞マーカー Dmp1 に及ぼす影響について ○社領 美紀 <sup>1</sup> , 佐藤 淳 <sup>1</sup> , 宇佐美 悠 <sup>1</sup> , 廣瀬 勝俊 <sup>1</sup> , 大家 香織 <sup>2</sup> , 小守 壽文 <sup>3</sup> , 豊澤 悟 <sup>1</sup> (1阪大 院歯 口腔病理, 2阪大病院 検査, 3長大 院医歯薬 細胞生物)

9月18日(月) 11:30~12:00 D会場

骨芽細胞 . . . . . 座長: 池亀 美華 (岡大 院医歯薬 口腔形態)

<b>O2-D16</b>	骨芽細胞の分化におけるプロテインホスファターゼ PP2A C $\alpha$ の役割とその標的因子 ○岡村 裕彦 <sup>1</sup> , 吉田 賀弥 <sup>2</sup> , 内部 健太 <sup>1</sup> , 池亀 美華 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 口腔形態, 2徳大 院医歯薬 口腔保健教育)
<b>O2-D17</b>	KLF4 は一次繊毛の形成・維持及び繊毛を介するシグナルに作用し骨芽細胞の分化を抑制する ○鬼頭 昭吉 <sup>1,2</sup> , 竹内 優斗 <sup>1</sup> , 阿部 真土 <sup>1</sup> , 脇坂 聡 <sup>1</sup> (1阪大 院歯 口腔解剖1, 2阪大 院歯 歯病障害歯)
<b>O2-D18</b>	3次元培養骨髄間葉系幹細胞集塊 Clumps of an MSC/ECM complex の細胞分化を制御するメカノトランスダクション機構の解析 ○小松 奈央, 加治屋幹人, 藤田 剛, 栗原 英見 (1長大 院医歯薬保 歯周)

9月18日(月) 9:00~9:30 E会場

腫瘍1 . . . . . 座長: 久保田 聡 (岡大 院医歯薬 口腔生化)

<b>O2-E1</b>	細胞内におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の役割 ○江口 傑徳 <sup>1,2,5</sup> , 奥舎 有加 <sup>1</sup> , 中野 敬介 <sup>3</sup> , 久保田 聡 <sup>4</sup> , 滝川 正春 <sup>2</sup> , カルダーウッズスチュアート <sup>5</sup> , 小崎 健一 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 歯科薬理, 2岡大 歯先端研セ, 3岡大 院医歯薬 口腔病理, 4岡大 院医歯薬 口腔生化, 5ベイスラエル・ディーコネス医療セ, ハーバード大 医)
<b>O2-E2</b>	抗アポトーシスタンパク質 MCL1 の安定性制御におけるアセチル化の役割 ○清水 康平, 犬塚 博之, 福島 秀文, 福本 敏 (1東北大 院歯 先端再生医学研究セ)
<b>O2-E3</b>	悪性黒色腫の顎骨浸潤と転移における BMP シグナルの役割 ○小川 昌洋 <sup>1</sup> , 古株彰一郎 <sup>1</sup> , 中富 千尋 <sup>1</sup> , 松原 琢磨 <sup>1</sup> , 渡邊 誠之 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>3</sup> (1九歯大 生化, 2九歯大 麻酔, 3九大 院歯 OBTセ)

9月18日(月) 9:30~10:00 E会場

腫瘍2 . . . . . 座長: 清島 保 (九大 院歯 口腔病理)

<b>O2-E4</b>	癌における Ets1 ファミリー分子の機能解析 ○斉藤 正夫 (1山梨大 院 医学教育セ, 生化学)
<b>O2-E5</b>	口腔扁平上皮癌における Snail, Slug の役割の解析 ○中村 亮介 <sup>1,2</sup> , 斉藤 正夫 <sup>1</sup> (1山梨大 院医 生化, 2市立甲府病院 歯科口腔外科)
<b>O2-E6</b>	ヒト肺癌(腺癌および肺扁平上皮癌)における Arl4c の発現は癌形成を促進する ○藤井 慎介 <sup>1</sup> , 清島 保 <sup>1</sup> , 松本 真司 <sup>2</sup> (1九大 院歯 口腔病理, 2阪大 院医 分子病態生化)

9月18日(月) 10:00~10:30 E会場

腫瘍3 . . . . . 座長：佐伯万騎男(新潟大 院医歯 歯科薬理)

<b>O2-E7</b>	非コードRNAによる口腔癌の進展制御 ○川久保-安河内 友世 <sup>1</sup> , 森岡 政彦 <sup>1,2</sup> , 安河内 篤 <sup>2</sup> , 中村 誠司 <sup>2</sup> , 中島 学 <sup>1</sup> (福岡大 薬 免疫・分子治療, <sup>2</sup> 九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)
<b>O2-E8</b>	分子シャペロン R2TP の口腔扁平上皮癌進展における作用機序の解析 ○木口 哲郎 <sup>1,2</sup> , 柿原 嘉人 <sup>1</sup> , 山崎 学 <sup>3</sup> , 高木 律男 <sup>2</sup> , 佐伯万騎男 <sup>1</sup> (新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>2</sup> 新潟大 院医歯 顎顔面口外, <sup>3</sup> 新潟大 院医歯 口腔病理)
<b>O2-E9</b>	頭頸部扁平上皮癌細胞における DKK3 過剰発現は腫瘍細胞の悪性を増大させる ○片瀬 直樹, 藤田 修一 (長大 院医歯薬 口腔病理)

9月18日(月) 10:30~11:00 E会場

神経1 . . . . . 座長：加藤 隆史(阪大 院歯 口腔生理)

<b>O2-E10</b>	咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路：Tourette's syndrome との関与 ○佐藤 文彦 <sup>1</sup> , 上村 夢 <sup>2</sup> , 冠野 千晴 <sup>3</sup> , 堤 友美 <sup>4</sup> , 加藤 隆史 <sup>5</sup> , 吉田 篤 <sup>1</sup> (阪大 院歯 口腔解剖2, <sup>2</sup> 阪大 院歯 矯正, <sup>3</sup> 阪大 院歯 麻酔, <sup>4</sup> 阪大 院歯 口腔生理, <sup>5</sup> 阪大 院歯 口腔生理)
<b>O2-E11</b>	マウス大脳皮質体性感覚野第II/III層錐体細胞において小胞体からのCa <sup>2+</sup> 放出の抑制により細胞死が遅延する ○河野 奨, 佐藤 元, 尹 東旭, 豊田 博紀, 加藤 隆史 (阪大 院歯 口腔生理)
<b>O2-E12</b>	矯正力は大脳皮質興奮性および抑制性ニューロンの歯根膜刺激に対する応答を増大させる ○堀貫 恵利 <sup>1</sup> , 清水 典佳 <sup>2</sup> , 小林 真之 <sup>1</sup> (日大 歯 薬理, <sup>2</sup> 日大 歯 矯正)

9月18日(月) 11:00~11:30 E会場

神経2 . . . . . 座長：若森 実(東北大 院歯 口腔生物 歯科薬理)

<b>O2-E13</b>	ラット下歯槽神経切除モデルにおけるiPS細胞由来神経堤細胞の移植効果 ○鳥海 拓 <sup>1,2</sup> , 渡辺 雅弘 <sup>3</sup> , 篠田 雅路 <sup>3</sup> , 普天間 拓 <sup>1</sup> , 岩田 幸一 <sup>3</sup> , 磯川桂太郎 <sup>2</sup> , 本田 雅規 <sup>1</sup> (愛院大 歯 口腔解剖, <sup>2</sup> 日大 歯 解剖II, <sup>3</sup> 日大 歯 生理)
<b>O2-E14</b>	機械刺激を受けた歯根膜細胞が産生するWnt5aの神経突起伸長効果 ○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実 (東北大 院歯 歯科薬理)
<b>O2-E15</b>	嚥下が顎反射に与える影響 ○鈴木 拓, 吉原 翠, 辻 光順, 真柄 仁, 辻村 恭憲, 井上 誠 (新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

9月18日(月) 11:30~12:00 E会場

神経3 . . . . . 座長：岩田 幸一(日大 歯 生理)

<b>O2-E16</b>	三叉神経損傷により誘導される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄に分布する視床および橋投射ニューロンの形態変化 ○岡田 真治 <sup>1,2</sup> , 片桐 綾乃 <sup>2</sup> , 岩田 幸一 <sup>2</sup> (日大 歯 補綴1, <sup>2</sup> 日大 歯 生理)
<b>O2-E17</b>	抜歯はアルツハイマー病モデルマウスの中脳路核神経細胞のタウ・リン酸化を誘導する ○後藤 哲哉, 倉本恵梨子, Dhar Ashis, 岩井 治樹, 山中 淳之 (鹿大 院医歯 機能形態)
<b>O2-E18</b>	開口負荷がマウスの心房に与える影響 ○吹田 憲治 <sup>1</sup> , 八木澤由佳 <sup>2</sup> , 大貫 芳樹 <sup>1</sup> , 梅木 大輔 <sup>2</sup> , 石川美佐緒 <sup>3</sup> , 伊藤 愛子 <sup>2</sup> , 川村 直矢 <sup>4</sup> , 中村 芳樹 <sup>2</sup> , 奥村 敏 <sup>1</sup> (鶴大 歯 生理, <sup>2</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖I, <sup>4</sup> 鶴大 歯 歯周病)

## ■ 一般演題 (ポスター発表)

9月17日(日) 16:30~17:30 ポスター会場

### 解剖学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-1</b>	高齢者における顎関節の形態学的研究 ○東 雅啓 <sup>1</sup> , 河田 亮 <sup>2</sup> , 松尾 雅斗 <sup>1</sup> (神歯大 院歯 口腔科学 歯科形態, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 口腔科学 神経組織発生)
<b>P1-2</b>	前・後上歯槽管/溝内を走行する上歯槽神経の分布パターン ○真喜志佐奈子, 大島 勇人 (新潟大 院医歯 硬組織形態)
<b>P1-3</b>	歯科用コーンビーム CT による上顎第一小臼歯の根管形態の観察 ○與座 崇史, 佐藤 知哉, 芹川 雅光, 斎藤 博, 宇佐美晶信 (奥羽大 歯 口腔解剖)
<b>P1-4</b>	ヒト上顎神経節における肉眼解剖学的評価 ○光岡 一行, 佐藤 巖 (日歯大 生命歯 解剖1)
<b>P1-5</b>	長骨骨幹端領域における骨修復機構 ○井上 知, 大塚 裕忠, 中村 雅典 (昭大 歯 口腔解剖)
<b>P1-6</b>	組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによるモルモット臼歯 apical bud の観察 ○清野 雄多 <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>2</sup> , 依田 浩子 <sup>1</sup> , 大島 勇人 <sup>1</sup> (新潟大 院医歯 硬組織形態, <sup>2</sup> 九歯大 解剖)
<b>P1-7</b>	TRP チャネルを標的とした口腔癌細胞制御 ○合島怜央奈 <sup>1,2</sup> , 曹 愛琳 <sup>2,3</sup> , 高 イキ <sup>2</sup> , 吉本 怜子 <sup>3</sup> , 森 啓輔 <sup>1</sup> , 植上 敦 <sup>1</sup> , 山下 佳雄 <sup>1</sup> , 清島 保 <sup>3</sup> , 城戸 瑞穂 <sup>2</sup> (佐賀大 医 歯科口腔外科, <sup>2</sup> 佐賀大 医 生体構造機能, <sup>3</sup> 九大 院歯 口腔病理)

### 生化学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-8</b>	Wnt/ $\beta$ -catenin 経路と FGF8 共刺激による歯原性間葉系細胞の象牙芽細胞分化作用の検討 ○木村 基善 <sup>1</sup> , 東 俊文 <sup>2</sup> , 新谷 誠康 <sup>1</sup> (東歯大 小児歯, <sup>2</sup> 東歯大 生化)
<b>P1-9</b>	3次元培養骨髄間葉系幹細胞集塊 Clumps of an MSC/ECM complex の細胞分化を制御するメカノトランスダクション機構の解析 ○小松 奈央, 加治屋幹人, 藤田 剛, 栗原 英見 (広大 院医歯薬保 歯周)
<b>P1-10</b>	多段階癌抑制因子 CXCL14 の発現上昇は p38 $\delta$ マップキナーゼ特異的シグナル経路による ○陽 曉艶 <sup>1,2</sup> , 小澤 重幸 <sup>1,2</sup> , 生駒 丈晴 <sup>1,2</sup> , 前畑洋次郎 <sup>1</sup> , 加藤 靖正 <sup>3</sup> , 畑 隆一郎 <sup>1,2</sup> (神歯大 院歯 口腔難治疾患研, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 顎顔面診断治療, <sup>3</sup> 奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
<b>P1-11</b>	咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明に関する研究—エストロゲンと $\beta$ -crystallinA4 は腱細胞の分化・増殖を促進させる— ○林 直樹 <sup>1</sup> , 佐藤 毅 <sup>1</sup> , 磯崎 祐太 <sup>1</sup> , 伊神 英治 <sup>1</sup> , 湯本 愛実 <sup>1</sup> , 古株彰一郎 <sup>2</sup> , 依田 哲也 <sup>1</sup> (埼玉大 医口外, <sup>2</sup> 九歯大 分子情報生化)
<b>P1-12</b>	モノカルボン酸トランスポーター 1 は骨芽細胞分化の新規制御因子である ○笹 清人, 吉村健太郎, 宮本 洋一, 上條竜太郎 (昭大 歯 口腔生化)
<b>P1-13</b>	低分子量 G タンパク質 Rac1 は骨芽細胞分化の負の制御因子である ○鈴木 大, 山田 篤, 笹 清人, 上條竜太郎 (昭大 歯 口腔生化)
<b>P1-14</b>	Actin-Binding LIM protein 1 は破骨細胞における細胞骨格形成と細胞機能を制御する ○楢原 春菜 <sup>1,2</sup> , 坂井 詠子 <sup>1</sup> , 岡元 邦彰 <sup>3</sup> , 筑波 隆幸 <sup>1</sup> (長大 院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup> 長大 院医歯薬 歯科矯正, <sup>3</sup> 岡大 院医歯薬 歯科薬理)
<b>P1-15</b>	Activin は RANKL 誘導の破骨細胞分化を亢進する ○梶田 倫功 <sup>1,2</sup> , 有吉 渉 <sup>1</sup> , 沖永 敏則 <sup>1</sup> , 西原 達次 <sup>1</sup> (九歯大 感染分子生物, <sup>2</sup> 九歯大 顎顔面外科)
<b>P1-16</b>	形成過程のエナメル質中のケラチン 75 について ○千葉理紗子 <sup>1</sup> , 山本 竜司 <sup>1</sup> , 大久保水羽 <sup>1</sup> , 斉藤 まり <sup>1</sup> , 西川 純雄 <sup>2</sup> , 山越 康雄 <sup>1</sup> (鶴大 歯 生化, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生物)
<b>P1-17</b>	Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラー抽出液が 3 種のヒト由来幹細胞の増殖分化におよぼす影響 ○石樽 大嗣 <sup>1,2</sup> , 川木 晴美 <sup>2</sup> , 新谷 耕平 <sup>1,2</sup> , 巽 勇介 <sup>1,2</sup> , 井殿 泰鳳 <sup>1,2</sup> , 梅村 直己 <sup>2</sup> , 神谷 真子 <sup>3</sup> , 高山 英次 <sup>2</sup> , 堀田 正人 <sup>1</sup> , 近藤 信夫 <sup>2</sup> (朝日大 歯 保存修復, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 朝日大 営 化学)
<b>P1-18</b>	Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーのヒト血清タンパク質塩析効果の検討 ○巽 勇介 <sup>1,2</sup> , 川木 晴美 <sup>2</sup> , 石樽 大嗣 <sup>1,2</sup> , 清水翔二郎 <sup>1,2</sup> , 越智 葉子 <sup>1,2</sup> , 梅村 直己 <sup>2</sup> , 神谷 真子 <sup>3</sup> , 高山 英次 <sup>2</sup> , 堀田 正人 <sup>1</sup> , 近藤 信夫 <sup>2</sup> (朝日大 歯 保存修復, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 朝日大 営 化学)
<b>P1-19</b>	Mmp20 ノックアウトマウス・エナメル質中の TGF- $\beta$ アイソフォームについて ○大久保水羽 <sup>1</sup> , 小林 冴子 <sup>2</sup> , 長野 孝俊 <sup>1</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>3</sup> (鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup> 鶴大 歯 小児歯, <sup>3</sup> 鶴大 歯 生化)

<b>P1-20</b>	<p>抗炎症性分子 Del-1 は Wnt5a-Ror2 伝達経路を阻害し骨吸収を抑制する ○前川 知樹<sup>1,3</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>, 土門 久哲<sup>1,3</sup>, 永井 康介<sup>3</sup>, 寺尾 豊<sup>1,3</sup>, 前田 健康<sup>1</sup> (新潟大 院医歯 高口機教研 セ, <sup>2</sup>松歯大 総歯研, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 微生物)</p>
<b>P1-21</b>	<p>マウス口腔扁平上皮癌細胞株 (Sq1979) の IL-1<math>\alpha</math> による間葉系細胞 (10T1/2) を介した免疫抑制機構 ○伊藤 宏衣<sup>1</sup>, 神谷 真子<sup>2,3</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 稲垣 慶則<sup>2,4</sup>, 村松 泰徳<sup>1</sup>, 住友伸一郎<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup> (朝日大 歯 口腔外科, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化学, <sup>3</sup>朝日大 営 化学, <sup>4</sup>朝日大 歯 麻酔)</p>
<b>P1-22</b>	<p>静脈麻酔薬が口腔扁平上皮癌組織微小環境における免疫制御におよぼす影響 ○稲垣 慶則<sup>1,2</sup>, 神谷 真子<sup>2,3</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 伊藤 宏衣<sup>2,4</sup>, 住友伸一郎<sup>4</sup>, 櫻井 学<sup>1</sup>, 智原 栄一<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup> (朝日大 歯 麻酔, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化学, <sup>3</sup>朝日大 営 化学, <sup>4</sup>朝日大 歯 口腔外科)</p>
<b>P1-23</b>	<p>3次元培養による間葉系幹細胞の骨形成における <math>\beta</math>-catenin の相互作用 ○今村 彩香<sup>1,2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>2,3</sup>, 小島 寛<sup>1</sup>, 岡部 幸司<sup>3</sup>, 大野 純<sup>2</sup> (福歯大 障害歯, <sup>2</sup>福歯大 再生医セ, <sup>3</sup>福歯 大 細胞生理)</p>
<b>P1-24</b>	<p>マウス鼻甲介に含まれる神経堤由来細胞を用いた骨誘導法の確立 ○吉田 寛<sup>1</sup>, 須澤 徹夫<sup>1</sup>, 榎 宏太郎<sup>2</sup>, 上條竜太郎<sup>1</sup> (昭大 歯 口腔生化学, <sup>2</sup>昭大 歯 矯正)</p>
<b>P1-25</b>	<p>マウス iPS 細胞から象牙芽細胞への分化誘導方法における FGF8, KSR の効果についての検討 ○荻原 有記<sup>1</sup>, 小田嶋彩乃<sup>3</sup>, 星野 立樹<sup>1</sup>, 小野寺晶子<sup>2</sup>, 齋藤 暁子<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>, 東 俊文<sup>2</sup> (東歯大 院歯 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生化学, <sup>3</sup>東歯大 口科研)</p>
<b>P1-26</b>	<p>上皮系細胞における B7-H1 発現に関わるシグナル探索 ○金 キン, 永井 重徳, 東 みゆき (医科歯科大 院医歯 分子免疫)</p>
<b>P1-27</b>	<p>PI3K-Akt 経路は IL-27 誘導 Tr1 細胞分化を増強する ○Nadya Niken Adiba, 東 みゆき, 永井 重徳 (医科歯科大 院医歯 分子免疫)</p>
<b>P1-28</b>	<p>動脈硬化の病態におけるオステオカルシンの役割 ○近藤 皓彦<sup>1</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>1,2</sup>, 溝上 顕子<sup>1,3</sup>, 自見英治郎<sup>1,3</sup>, 平田 雅人<sup>1,4</sup> (九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>福 岡大 薬 統合臨床医 免疫・分子治療, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>4</sup>福歯大)</p>

生理学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-29</b>	<p>メルケル細胞-神経細胞間コミュニケーション ○東川明日香<sup>1</sup>, 小島 佑貴<sup>1</sup>, 寺島-重藤 玲子<sup>2</sup>, 井上 博之<sup>2</sup>, 河野 恭佑<sup>1</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup> (東歯大 院歯 生理, <sup>2</sup>東歯大 院歯 麻酔)</p>
<b>P1-30</b>	<p>エンドセリン-1 シグナルを介した口内炎疼痛メカニズム ○野代 知孝<sup>1,2</sup>, 人見 涼露<sup>1</sup>, 伊藤 美紗<sup>3</sup>, 氏原 泉<sup>1</sup>, 正木 千尋<sup>2</sup>, 細川 隆司<sup>2</sup>, 小野堅太郎<sup>1</sup> (九歯大 歯 生理, <sup>2</sup>九歯大 歯 口腔再建リハ, <sup>3</sup>九歯大 歯 顎口腔機能矯正)</p>
<b>P1-31</b>	<p>多チャネル容量性触圧センサを用いた咀嚼時の頬粘膜による接触面圧測定 ○長谷川真奈<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>2</sup>, 岡本圭一郎<sup>2</sup>, 清水 志保<sup>2,3</sup>, 中谷 暢佑<sup>2,3</sup>, 山村 健介<sup>2</sup>, 藤井 規孝<sup>1</sup>, 高木 律男<sup>3</sup>, 山田 好秋<sup>4</sup> (新潟大 医歯病 歯総診, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口外, <sup>4</sup>東歯大短大 歯 衛生)</p>
<b>P1-32</b>	<p>象牙芽細胞における高 pH 感受性 store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE) ○木村 麻記<sup>1</sup>, 小島 佑貴<sup>1</sup>, 東川明日香<sup>1</sup>, 大山 定男<sup>1</sup>, 陽田みゆき<sup>1</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>, 河野 恭祐<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup> (東歯大 生理, <sup>2</sup>東歯大 麻酔)</p>
<b>P1-33</b>	<p>眼窩下神経結紮モデルの島皮質における興奮伝播の可塑的变化 ○坐間 学<sup>1,2</sup>, 堀貫 恵利<sup>1,3</sup>, 金子 忠良<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup> (日大 歯 薬理, <sup>2</sup>日大 歯 口外・顎顔面外科, <sup>3</sup>日大 歯 矯正)</p>
<b>P1-34</b>	<p>ラット三叉神経運動核背側網様体中存在する Phox2b 陽性ニューロンの生理学的・形態学的性質 ○那小屋公太<sup>1,2</sup>, 中村 史朗<sup>2</sup>, 中山希世美<sup>2</sup>, 望月 文子<sup>2</sup>, 佐藤 文彦<sup>3</sup>, 吉田 篤<sup>3</sup>, 井上 誠<sup>1</sup>, 井上 富雄<sup>2</sup> (新潟 大 院医歯 摂食嚥下リハビリ, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生理, <sup>3</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2)</p>
<b>P1-35</b>	<p>三叉神経脊髄路核尾側亜核第 I/II 層中存在する興奮性及びおよび抑制性ニューロンの膜特性 ○中谷 有香, 山本 清文, 小林 真之 (日大 歯 薬理)</p>
<b>P1-36</b>	<p>オレキシンはタンパクキナーゼ C の活性を介してラット島皮質抑制性シナプス伝達を促進する ○臼井 緑<sup>1</sup>, 大井 良之<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup> (日大 歯 薬理, <sup>2</sup>日大 歯 麻酔)</p>
<b>P1-37</b>	<p>嚥下が顎反射に与える影響 ○鈴木 拓, 吉原 翠, 辻 光順, 真柄 仁, 辻村 恭憲, 井上 誠 (新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)</p>
<b>P1-38</b>	<p>三叉神経損傷により誘導される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄に分布する視床および橋投射ニューロンの形態変 化 ○岡田 真治<sup>1,2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup> (日大 歯 補綴 1, <sup>2</sup>日大 歯 生理)</p>
<b>P1-39</b>	<p>三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄における視床または橋投射ニューロンの分布様式 ○齋藤 弘人<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup> (日大 歯 補綴 1, <sup>2</sup>日大 歯 生理)</p>
<b>P1-40</b>	<p>ドライアイ誘発性眼痛に対するジクアホソルナトリウム点眼の効果 ○菅原 詩織<sup>1,2</sup>, 美久月瑠宇<sup>1,2</sup>, 齋藤 弘人<sup>2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup> (医科歯科大 院医歯 歯科心身, <sup>2</sup>日大 歯 生理)</p>

<b>P1-41</b>	ラット三叉神経節細胞における P2X7 受容体の発現検索 ○井上 博之 <sup>1</sup> , 黒田 英孝 <sup>1</sup> , 石川 昂 <sup>3</sup> , 木村 麻記 <sup>2</sup> , 佐藤 正樹 <sup>2</sup> , 澁川 義幸 <sup>2</sup> , 田崎 雅和 <sup>2</sup> , 一戸 達也 <sup>1</sup> (東歯大 麻酔, <sup>2</sup> 東歯大 生理, <sup>3</sup> 東歯大 組織発生)
<b>P1-42</b>	ラット三叉神経節グリア細胞の遅延整流型 K <sup>+</sup> 電流 ○小島 佑貴 <sup>1</sup> , 東川明日香 <sup>1</sup> , 大山 定男 <sup>1</sup> , 河野 恭佑 <sup>1</sup> , 安藤 正之 <sup>1</sup> , 西 孝一 <sup>1</sup> , 黒田 英孝 <sup>2</sup> , 木村 麻記 <sup>1</sup> , 澁川 義幸 <sup>1</sup> , 田崎 雅和 <sup>1</sup> (東歯大 生理, <sup>2</sup> 東歯大 麻酔)
<b>P1-43</b>	口脛部皮膚切開痛に対する新生児期皮膚外傷性ストレスの影響 ○相馬 久実 <sup>1</sup> , 篠田 雅路 <sup>2</sup> , 浦田健太郎 <sup>3</sup> , 白川 哲夫 <sup>1</sup> , 岩田 幸一 <sup>2</sup> (日大 歯 小児歯, <sup>2</sup> 日大 歯 生理, <sup>3</sup> 日大 歯 補綴 1)
<b>P1-44</b>	舌神経損傷後の舌痛に対する三叉神経節 CGRP 陽性細胞の表現型変化と神経-グリア機能連関の関与 ○美久月瑠宇 <sup>1,2</sup> , 菅原 詩織 <sup>1,2</sup> , 片桐 綾乃 <sup>2</sup> , 岩田 幸一 <sup>2</sup> (医科歯科大 院医歯 歯科心身医学, <sup>2</sup> 日大 歯 生理)
<b>P1-45</b>	ラット三叉神経節ニューロンにおけるブラジキニン B <sub>1</sub> 受容体を介した Ca <sup>2+</sup> 動態の検索 ○寺島-重藤 玲子 <sup>1</sup> , 東川明日香 <sup>2</sup> , 小島 佑貴 <sup>2</sup> , 井上 博之 <sup>1</sup> , 川口 綾 <sup>1</sup> , 黒田 英孝 <sup>1</sup> , 木村 麻記 <sup>2</sup> , 澁川 義幸 <sup>2</sup> , 田崎 雅和 <sup>2</sup> , 一戸 達也 <sup>1</sup> (東歯大 麻酔, <sup>2</sup> 東歯大 生理)
<b>P1-46</b>	老化モデルマウスにおける唾液分泌機能の解明 ○宮城 勇大, 近藤 祐介, 楠田優一郎, 宗政 翔, 堀 裕亮, 正木 千尋, 細川 隆司 (九歯大 口腔再建リハ)
<b>P1-47</b>	2型糖尿病が唾液腺における副交感神経性血管拡張反応に与える影響 ○佐藤 寿哉, 石井 久淑 (北医療大 歯 生理)

組織・発生学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-48</b>	成体マウスの切歯形成における BMP シグナルの役割 ○町谷亜位子 <sup>1,2</sup> , 自見英治郎 <sup>3</sup> , 須田 直人 <sup>2</sup> , 片桐 岳信 <sup>1</sup> (埼玉大 ゲノム 病態生理, <sup>2</sup> 明海大 歯 矯正, <sup>3</sup> 九大 院 歯 OB T 研究セ)
<b>P1-49</b>	骨と軟組織に対するピエゾサージェリーの切削能に関する実験的検討 ○大竹 義雄 <sup>1,2</sup> , 中村 恵 <sup>2</sup> , 逸見 晶子 <sup>2</sup> , 高橋 哲 <sup>1</sup> , 笹野 泰之 <sup>2</sup> (東北大 院歯 顎顔面口外, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎 口腔形態創建)
<b>P1-50</b>	矯正歯の移動による sclerostin 発現の変化は歯槽骨改造を調節する ○小田垣直弥 <sup>1</sup> , 石原 嘉人 <sup>2</sup> , 王 紫儀 <sup>1</sup> , 上岡 寛 <sup>1</sup> (岡大 院医歯薬 矯正, <sup>2</sup> 岡大病院 矯正)
<b>P1-51</b>	マウス Meckel 軟骨における低酸素・オートファジー関連因子の局在と低酸素培養の影響 ○坂下 英 <sup>1</sup> , 坂東 泰彦 <sup>1</sup> , 崎山 浩司 <sup>1</sup> , 天野 修 <sup>1</sup> (明海大 歯 解剖, <sup>2</sup> 明海大 歯 口腔顎顔面外科 II)
<b>P1-52</b>	歯の発生・創傷治癒過程における歯髄恒常性維持に関わる IGF binding protein 5 の役割 ○斎藤浩太郎, 大島 勇人 (新潟大 院医歯 硬組織形態)
<b>P1-53</b>	K14-GFP マウスのヘルトビッチ上皮鞘と大白歯の歯根形成について ○中津川昂平, 黒坂 寛, 山城 隆 (阪大 院歯 矯正)
<b>P1-54</b>	CRISPR/Cas9 による Aqp1 欠損モデルマウスとその歯周組織の組織学的解析 ○河野 芳朗, 杉山 明子, 滝川 俊也 (朝日大 歯 口腔解剖)
<b>P1-55</b>	エナメルマトリックスタンパクによる歯周組織再生 ○Hasan MD Riasat <sup>1,2</sup> , Shalehin Nazmus <sup>1</sup> , 建部 廣明 <sup>1</sup> , 細矢 明宏 <sup>1</sup> , 斎藤 隆史 <sup>2</sup> , 入江 一元 <sup>1</sup> (北医療大 歯 組織, <sup>2</sup> 北医療大 歯 う蝕制御治療)
<b>P1-56</b>	人工再構成歯胚作製法を用いた歯肉接合上皮における遺伝子発現の網羅的解析 ○関 辰明 <sup>1,2</sup> , 相澤 怜 <sup>1</sup> , 美島 健二 <sup>2</sup> , 山本 松男 <sup>1</sup> (昭大 歯 歯周病, <sup>2</sup> 昭大 歯 口腔病理)
<b>P1-57</b>	歯周炎による骨吸収へのホウ酸の効果 ○Shalehin Nazmus, Hasan MD Riasat, 建部 廣明, 細矢 明宏, 入江 一元 (北医療大 歯 組織)
<b>P1-58</b>	温度感受性イオンチャンネル TRPV4 は口腔上皮細胞の細胞間接着と運動性を制御する ○吉本 怜子 <sup>1,2</sup> , 合島怜央奈 <sup>3</sup> , 大崎 康吉 <sup>4</sup> , 張 旌旗 <sup>4</sup> , 曹 愛琳 <sup>1,5</sup> , Gao Wei Qi <sup>5</sup> , 清島 保 <sup>1</sup> , 城戸 瑞穂 <sup>1,5</sup> (九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup> 九大 院歯 歯周, <sup>3</sup> 佐賀大 医 歯科口腔外科, <sup>4</sup> 九大 院歯 分子口腔解剖, <sup>5</sup> 佐賀大 医 組織・神経解剖)
<b>P1-59</b>	喘息モデルマウスの機械的アロディニアと TRPV1 ○曹 愛琳 <sup>1,2</sup> , 高 イキ <sup>1</sup> , 吉本 怜子 <sup>2</sup> , 合島怜央奈 <sup>3</sup> , 大崎 康吉 <sup>4</sup> , 張 旌旗 <sup>4</sup> , 城戸 瑞穂 <sup>1,2</sup> (佐賀大 医 組織・神経解剖, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔病理, <sup>3</sup> 佐賀大 医 歯科口腔外科, <sup>4</sup> 九大 院歯 分子口腔解剖)
<b>P1-60</b>	亜鉛欠乏症ラットにおけるエブネル腺の変化 ○平良芙蓉子 <sup>1,2</sup> , 川邊 好弘 <sup>3</sup> , 坂東 康彦 <sup>1</sup> , 崎山 浩司 <sup>1</sup> , 天野 修 <sup>1</sup> (明海大 歯 解剖, <sup>2</sup> 明海大 歯 口外 II, <sup>3</sup> 明海大 歯 オーラルリハビリ)
<b>P1-61</b>	ラット舌下腺におけるアディポネクチンの局在と糖尿病の影響 ○三宅 言輝 <sup>1,2</sup> , 平良芙蓉子 <sup>1,2</sup> , 小笠原悠大 <sup>1,2</sup> , 坂東 康彦 <sup>1</sup> , 崎山 浩司 <sup>1</sup> , 天野 修 <sup>1</sup> (明海大 歯 解剖, <sup>2</sup> 明海大 歯 口腔顎顔面外科 II)

<b>P1-62</b>	レチノイン酸シグナルと Shh シグナルの相互作用が口蓋裂及ぼす役割 ○Wang Qi, 山城 隆, 黒坂 寛 (阪大 院歯 矯正)
<b>P1-63</b>	頭頸部における2次軟骨の形態学的な特徴の解明 ○北村 啓 <sup>1</sup> , 廣内 英智 <sup>2</sup> , 山本 将仁 <sup>2</sup> , 石川 昂 <sup>1</sup> , 阿部 伸一 <sup>2</sup> , 山本 仁 <sup>1</sup> (東歯大 組織発生, <sup>2</sup> 東歯大 解剖)
<b>P1-64</b>	Rogdi 遺伝子はマウスエナメル質石灰化において重要である ○三井シルビア なおみ, 泰江 章博, 田中 栄二 (徳大 院医歯薬 矯正)
<b>P1-65</b>	Runx-Cbfb シグナル伝達は Stat3 を調節してエナメル形成に関わっている ○Sarper Safiye <sup>1</sup> , 黒坂 寛 <sup>1</sup> , 小野 瞳 <sup>2</sup> , 山城 隆 <sup>1</sup> (阪大 院歯 矯正, <sup>2</sup> 阪大 院歯 顎口)
<b>P1-66</b>	歯髄細胞のスフェロイド形成に及ぼす TGF-β と BMP の影響 ○斉藤 まり, 唐木田丈夫, 山本 竜司, 大井田新一郎, 山越 康雄 (鶴大 歯 生化)
<b>P1-67</b>	ラット切歯上皮シートを用いた初代細胞培養: 構成細胞の再集合と細胞マーカーによる識別 ○中野 崇文 <sup>1,2,3</sup> , 杉浦 真琴 <sup>3</sup> , 坂口もも子 <sup>3</sup> , 神部 芳則 <sup>1</sup> , 森 良之 <sup>1</sup> , 高野 吉郎 <sup>3</sup> , 田畑 純 <sup>3</sup> (自治医大 歯科 口腔外科, <sup>2</sup> 鎌ヶ谷総合病院 口腔外科, <sup>3</sup> 医科歯科大 院医歯 硬組織構造)

微生物学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-68</b>	ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤はマクロファージ分化 THP-1 細胞からの炎症性サイトカインの産生を抑制する ○金子 純也 <sup>1,3</sup> , 沖永 敏則 <sup>1</sup> , 引地 尚子 <sup>2</sup> , 有吉 渉 <sup>1</sup> , 藤井 誠子 <sup>3</sup> , 高橋 理 <sup>3</sup> , 西原 達次 <sup>1</sup> (九歯大 感染分子 生物, <sup>2</sup> 九歯大 口腔保健, <sup>3</sup> 九歯大 顎顔面外科)
<b>P1-69</b>	細胞外 purine nucleotide 刺激はヒト口腔上皮細胞における炎症性サイトカイン産生を増強する ○宍戸 香 <sup>1,2</sup> , 黒石 智誠 <sup>1</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔矯正)
<b>P1-70</b>	黄色ブドウ球菌はプロテイン A による IgG 複合体形成を介して破骨細胞の分化を亢進する ○蒲原 麻菜 <sup>1</sup> , 徐 祥赫 <sup>1,2</sup> , 久木田敏夫 <sup>2</sup> , 久木田明子 <sup>1</sup> (佐賀大 医 微生物, <sup>2</sup> 九大 院歯 分子口腔解剖)
<b>P1-71</b>	カイコ感染モデルを用いた Porphyromonas gulae FimA の病原性解析 ○吉田 翔 <sup>1</sup> , 稲葉 裕明 <sup>2</sup> , 仲野 道代 <sup>2</sup> (岡大病院 小児歯, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 小児歯)
<b>P1-72</b>	泡状陽イオン界面活性剤の殺菌力と洗浄効果の解明 ○重村 侑哉, 王 宝禮 (大歯大 細菌)
<b>P1-73</b>	小児プラークにおける口腔レンサ球菌定着量と齲蝕罹患率の関連 ○蒔苗 剛 <sup>1</sup> , 下山 佑 <sup>2</sup> , 木村 重信 <sup>3</sup> , 石河 太知 <sup>2</sup> , 古玉 芳豊 <sup>2</sup> , 佐々木 実 <sup>2</sup> (岩医大 歯 小児・障害者, <sup>2</sup> 岩医大 歯 分子微生物, <sup>3</sup> 関西女子短大 歯科衛生)
<b>P1-74</b>	非結核性抗酸菌 (non-tuberculous mycobacteria, NTM) の薬剤排出能に関する検討 ○小崎 弘貴, 中山 真彰, 橋 理人, 大原 直也 (岡大 院医歯薬 口腔微生物)
<b>P1-75</b>	MPC ポリマーによる口腔細菌の抑制効果 ○藤原奈津美 <sup>1</sup> , 湯本 浩通 <sup>2</sup> , 弘田 克彦 <sup>3</sup> , 村上 圭史 <sup>4</sup> , 尾崎 和美 <sup>1</sup> (徳大 院医歯薬 口腔保健支援, <sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 保存, <sup>3</sup> 高知学園短期大 医療衛生 歯科衛生, <sup>4</sup> 徳大 院医歯薬 口腔微生物)
<b>P1-76</b>	BCG ThyA, ThyX 変異株の解析 ○竜門亜矢子, 中山 真彰, 橋 理人, 小崎 弘貴, 大原 直也 (岡大 院医歯薬 口腔微生物)
<b>P1-77</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i> のノンコーディング csRNA は IV 型線毛 <i>pilT</i> 遺伝子の発現を負に制御し, バイオフィーム形成を抑制する ○大田 千明 <sup>1</sup> , 森崎 弘史 <sup>2</sup> , 有本 隆文 <sup>2</sup> , 深町はるか <sup>2</sup> , 片岡 嗣雄 <sup>2</sup> , 鈴木 規元 <sup>1</sup> , 増田 宜子 <sup>3</sup> , 宮崎 隆 <sup>1</sup> , 桑田 啓貴 <sup>2</sup> (昭大 歯 歯内治療, <sup>2</sup> 昭大 歯 口腔微生物, <sup>3</sup> 明海大 歯 機能保存回復 保存治療)
<b>P1-78</b>	Myricetin 類縁体を用いたバイオフィーム感染症の制御法の開発 ○有田 (森岡)健一 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>2</sup> , 成田 由香 <sup>2</sup> , 田崎 園子 <sup>2</sup> , 池崎晶二郎 <sup>2</sup> , 安松香奈江 <sup>2</sup> , 長 環 <sup>2</sup> , 田中 芳彦 <sup>1,2</sup> (福歯大 先端科学セ, <sup>2</sup> 福歯大 感染生物)
<b>P1-79</b>	唾液マイクロバイオームに対する IgA の認識 ○影山 伸哉, 竹下 徹, 朝川美加李, 柴田 幸江, 山下 喜久 (九大 院歯 口腔予防)
<b>P1-80</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> のコリン結合タンパク質 CbpJ は肺炎発症における病原因子として働く ○後藤 花奈, 山口 雅也, 広瀬雄二郎, 住友 倫子, 中田 匡宜, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
<b>P1-81</b>	<i>emm12</i> 型 A 群レンサ球菌のタンパク質コード領域における一塩基多型の分布 ○柴崎 真樹 <sup>1</sup> , 渡辺 孝康 <sup>2</sup> , 中川 一路 <sup>3</sup> , 春日井昇平 <sup>1</sup> (医科歯科大 院医歯 インプラント・口腔再生, <sup>2</sup> 東大 院農食の安全セ 食品病原微生物, <sup>3</sup> 京大 院医 微生物感染症)
<b>P1-82</b>	自己溶菌に伴い放出される肺炎球菌の菌体内病原因子の同定と分子解析 ○永井 康介 <sup>1</sup> , 土門 久哲 <sup>1,2</sup> , 前川 知樹 <sup>1,2</sup> , 山口 雅也 <sup>3</sup> , 川端 重忠 <sup>3</sup> , 寺尾 豊 <sup>1,2</sup> (新潟大 院医歯 微生物, <sup>2</sup> 新大 院医歯 高口機教研セ, <sup>3</sup> 阪大 院歯 口腔細菌)
<b>P1-83</b>	糖鎖関連酵素阻害剤が <i>Tannerella forsythia</i> の糖蛋白質に及ぼす影響 ○堀江 俊, 猪俣 恵, 引頭 毅, 村上 幸孝 (朝日大 歯 口腔微生物)

P1-84	EBVによる歯周病の発症・進展機序の解明 —EBVのLMP1はNF- $\kappa$ Bを活性化し歯肉上皮細胞からのIL-8産生を誘導する— ○渡辺 典久 <sup>1,2</sup> , 小池 亮 <sup>2,3</sup> , 早田真由美 <sup>2,4</sup> , 金子 忠良 <sup>3</sup> , 佐藤 秀一 <sup>1</sup> , 今井 健一 <sup>2</sup> (1日大 歯 保存III, 2日大 歯 細菌, 3日大 歯 口腔外科, 4日大 歯 摂食嚥下)
P1-85	インプラント細菌汚染モデルを用いた除染効果の検討 ○安松香奈江 <sup>1,2</sup> , 成田 由香 <sup>1</sup> , 長 環 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>1</sup> , 有田 健一 <sup>1</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 池崎晶二郎 <sup>1</sup> , 城戸 寛史 <sup>2</sup> , 田中 芳彦 <sup>1</sup> (1福歯大 機能生物化学 感染生物, 2福歯大 咬合修復 口腔インプラント)
P1-86	<i>Porphyromonas</i> 属内におけるCRISPRと免疫対象の関係 ○渡辺 孝康 <sup>1</sup> , 柴崎 真樹 <sup>2</sup> , 中川 一路 <sup>3</sup> (1東大 院農 食の安全セ 食品病原微生物, 2医科歯科大 院医歯 インプラント・口腔再生, 3京大 院医 微生物感染症)
P1-87	口唇口蓋裂患者におけるデンタルプラーク細菌叢のメタトランスクリプトーム解析 ○船橋 健太 <sup>1</sup> , 渡辺 孝康 <sup>2</sup> , 芝 多佳彦 <sup>3</sup> , 村本 慶子 <sup>1</sup> , 小川 卓也 <sup>1</sup> , 中川 一路 <sup>4</sup> , 竹内 康雄 <sup>3</sup> , 和泉 雄一 <sup>3</sup> , 森山 啓司 <sup>1</sup> (1医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正, 2東大 院農 食の安全セ 食品病原微生物, 3医科歯科大 院医歯 歯周病, 4京大 院医 微生物感染症)
P1-88	乳酸濃度およびpHの変動が <i>Veillonella atypica</i> の亜硝酸産生能に及ぼす影響 ○Dimas Prasetyanto Wicaksono, 鷲尾 純平, 高橋 信博 (東北大 院歯 口腔生化)
P1-89	口腔接触アレルギーにおける粘膜局所でのCD8 <sup>+</sup> T細胞の不活化 ○Hirunwidchayarat Worawalun, 古澤 慧美, Kang Siwen, 大野 建州, 永井 重徳, 東 みゆき (医科歯科大 院医歯 分子免疫)
P1-90	口腔カンジダ症に対してT細胞応答を誘導する抗原探索 ○田崎 園子 <sup>1,2</sup> , 長 環 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>1</sup> , 成田 由香 <sup>1</sup> , 橋本麻利江 <sup>1</sup> , 池崎晶二郎 <sup>1</sup> , 有田 (森岡) 健一 <sup>1</sup> , 安松香奈江 <sup>1</sup> , 小島 寛 <sup>2</sup> , 田中 芳彦 <sup>1</sup> (1福歯大 機能生物 感染生物, 2福歯大 成長発達 障害者)
P1-91	マウスにおける <i>P. gingivalis</i> 及び <i>A. actinomycetemcomitans</i> 外膜ヴェシクルの複合的経鼻免疫による粘膜ワクチン効果 ○平山 悟, 泉福 英信, 中尾 龍馬 (感染研 細菌1)
P1-92	樹状細胞とマクロファージへの <i>Candida albicans</i> のIL-1 $\beta$ 産生誘導 ○長谷部 晃, 佐伯 歩, 柴田健一郎 (北大 院歯 口腔分子微生)
P1-93	mild heat stress下の <i>Candida albicans</i> バイオフィームと宿主免疫応答の解析 ○長 環, 池崎晶二郎, 田崎 園子, 安松佳奈恵, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 永尾 潤一, 田中 芳彦 (福歯大 口腔歯 機能生物)
P1-94	<i>Porphyromonas gingivalis</i> LPSの生合成に関わる4つの糖転移酵素遺伝子の発見 ○庄子 幹郎, 佐藤 啓子, 雪竹 英治, 内藤真理子, 中山 浩次 (長大 院医歯薬 微生物)
P1-95	実験的歯周炎モデルマウスを用いた病態を惹起する菌体成分の同定 ○成田 由香, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 池崎晶二郎, 田崎 園子, 安松香奈江, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 機能生物 感染生物)

病理学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

P1-96	歯原性角化嚢胞の起源についての考察 —メラノサイトの発現— ○磯村まどか <sup>1</sup> , 佐藤 伸明 <sup>1</sup> , 本田 由馬 <sup>1</sup> , 加藤 郁郎 <sup>1</sup> , 小森 敦夫 <sup>1</sup> , 河合 遼子 <sup>1,2</sup> , 吉田 和加 <sup>1,2</sup> , 杉田 好彦 <sup>1,2</sup> , 久保 勝俊 <sup>1,2</sup> , 前田 初彦 <sup>1,2</sup> (1愛院大 歯 口腔病理, 2愛院大 未来口腔医療研究セ)
P1-97	ラットの皮下組織内に埋入した吸収性縫合糸Vicrylに対し出現するマクロファージ ○中安 喜一 <sup>1,2</sup> , 松田紗衣佳 <sup>2</sup> , 森山 敬太 <sup>2</sup> , 正村 正仁 <sup>1,2</sup> , 辻極 秀次 <sup>3</sup> , 中野 敬介 <sup>4</sup> , 長塚 仁 <sup>4</sup> , 大須賀直人 <sup>1,2</sup> , 川上 敏行 <sup>5</sup> (1松歯大 院 口腔健康分析, 2松歯大 歯 小児歯, 3岡山理大 理 組織病態, 4岡大 院医歯薬 口腔病理病態, 5松歯大 院 病態解析)
P1-98	KIR3DL2/HLAクラスIの結合で誘導されるT細胞分化が骨破壊に及ぼす影響について ○矢原 寛子 <sup>1</sup> , コールンバーガーサイモン <sup>2</sup> (1医科歯科大 院医歯 分子情報伝達, 2カーディフ大 感染免疫)
P1-99	Fam20C過剰発現マウスにおける骨組織の変化について ○廣瀬 勝俊 <sup>1</sup> , 宇佐美 悠 <sup>1</sup> , 佐藤 淳 <sup>1</sup> , 社領 美紀 <sup>1</sup> , 大家 香織 <sup>1</sup> , 小守 壽文 <sup>2</sup> , 豊澤 悟 <sup>1</sup> (1阪大 院歯 口腔病理, 2長大 院医歯薬 細胞生物)
P1-100	LPS長期刺激によるヒト歯肉上皮細胞での老化およびオートファジー遺伝子の発現解析 ○高井 理衣 <sup>1</sup> , 虎谷 斉子 <sup>2</sup> , 植原 治 <sup>2</sup> , 大西 綾 <sup>3</sup> , 吉田 光希 <sup>3</sup> , 佐藤 惇 <sup>3</sup> , 西村 学子 <sup>3</sup> , 安彦 善裕 <sup>3</sup> , 太田 亨 <sup>1</sup> (1北医療大 健康科学研, 2北医療大 歯 保健衛生, 3北医療大 歯 臨床口腔病理)
P1-101	骨髄由来細胞の歯根膜ポリープにおける局所特有の線維芽細胞への移動と分化 ○松田紗衣佳 <sup>1,2</sup> , 正村 正仁 <sup>1,2</sup> , 大須賀直人 <sup>1,2</sup> , 辻極 秀次 <sup>3</sup> , 中野 敬介 <sup>4</sup> , 川上 敏行 <sup>2</sup> (1松歯大 小児歯, 2松歯大 院, 3岡山理大 理 生命科学, 4岡大 院医歯薬)
P1-102	腫瘍溶解アデノウイルスと5-FUとの併用効果の検討 ○金山 純一 <sup>1,2</sup> , 松田-柳川 彩 <sup>1</sup> , 北村 哲也 <sup>1</sup> , 北川 善政 <sup>2</sup> , 東野 史裕 <sup>1</sup> (1北大 院歯 口腔病理病態, 2北大 院歯 口腔診断内科)
P1-103	口腔扁平上皮癌においてGLI-KRT17連関は腫瘍細胞の増殖を促進する ○三上友理恵 <sup>1</sup> , 藤井 慎介 <sup>2</sup> , 永田 健吾 <sup>2</sup> , 和田 裕子 <sup>2</sup> , 長谷川佳那 <sup>2</sup> , 安部みさき <sup>2</sup> , 吉本 怜子 <sup>2</sup> , 中村 誠司 <sup>1</sup> , 清島 保 <sup>2</sup> (1九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, 2九大 院歯 口腔病理)

<b>P1-104</b>	腫瘍細胞全体もしくは浸潤先端における E-cadherin および N-cadherin の発現程度を用いた口腔扁平上皮癌患者の予後予測 ○本田 由 <sup>1,2</sup> , 藤田 修一 <sup>2</sup> , 池田 通 <sup>3</sup> (長大院医歯薬 麻酔, <sup>2</sup> 長大院医歯薬 口腔病理, <sup>3</sup> 医科歯科大 院医歯口腔病理)
<b>P1-105</b>	高転移性腫瘍由来エクソソーム miRNA による血管内皮の薬剤耐性誘導 ○森本 真弘 <sup>1,2</sup> , 間石 奈湖 <sup>1</sup> , 樋田 京子 <sup>1</sup> (北大 遺制研 血管生物, <sup>2</sup> 北大 院歯 口腔診断内科)
<b>P1-106</b>	多能性幹細胞におけるユビキチンプロテアソーム経路による未分化性維持機構 ○常松 貴明, 工藤 保誠, 山田安希子, 新垣理恵子, 石丸 直澄 (徳大院医歯薬 口腔分子病態)

薬理学 (モリタ優秀発表賞応募) . . . . .

<b>P1-107</b>	レーザー照射による矯正痛の制御 ○土屋 隆子 <sup>1</sup> , 長谷川尚哉 <sup>1</sup> , 須田 直人 <sup>1</sup> , 安達 一典 <sup>2</sup> (明海大 歯 矯正, <sup>2</sup> 明海大 歯 薬理)
<b>P1-108</b>	骨吸収抑制薬が若齢マウスの成長と歯の発育に及ぼす影響 ○井澤 基樹 <sup>1,2</sup> , 唐川亜希子 <sup>2</sup> , 坂井 信裕 <sup>2</sup> , 茶谷 昌宏 <sup>2</sup> , 栗谷 未来 <sup>2,3</sup> , 古賀 貴子 <sup>2</sup> , 高見 正道 <sup>2</sup> (昭大 歯 小児歯, <sup>2</sup> 昭大 歯 歯科薬理, <sup>3</sup> 昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯科)
<b>P1-109</b>	破骨細胞分化を制御する新規 Rab タンパク質の同定と機能解析 ○山口 優 <sup>1</sup> , 坂井 詠子 <sup>1</sup> , 岡元 邦彰 <sup>2</sup> , 鍛冶屋 浩 <sup>3</sup> , 岡部 幸司 <sup>3</sup> , 筑波 隆幸 <sup>1</sup> (長大院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup> 岡大院医歯薬 歯科薬理, <sup>3</sup> 福歯大 細胞生理)
<b>P1-110</b>	抗 RANKL 抗体とゾレドロン酸がマウスの LPS 誘導性炎症性骨破壊に及ぼす影響 ○栗谷 未来 <sup>1,2</sup> , 坂井 信裕 <sup>1</sup> , 唐川亜希子 <sup>1</sup> , 茶谷 昌宏 <sup>1</sup> , 伊澤 基樹 <sup>1,3</sup> , 古賀 貴子 <sup>1</sup> , 高見 正道 <sup>1</sup> (昭大院歯 歯科薬理, <sup>2</sup> 昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者歯科, <sup>3</sup> 昭大 歯 小児成育歯)
<b>P1-111</b>	ラット歯髓組織由来の培養上清はマクロファージの増殖抑制により破骨細胞数を減少させる ○森 寛典 <sup>1,2</sup> , 浜村 和紀 <sup>1</sup> , 楊 承諭 <sup>1,2</sup> , 浜島 康祐 <sup>1,2</sup> , 石塚 恭子 <sup>1</sup> , 大谷 憲司 <sup>4</sup> , 本田 雅規 <sup>3</sup> , 後藤 滋巳 <sup>2</sup> , 戸苅 彰史 <sup>1</sup> (愛院大 歯 薬理, <sup>2</sup> 愛院大 歯 矯正, <sup>3</sup> 愛院大 歯 口腔解剖, <sup>4</sup> 株式会社セルテクノロジー)
<b>P1-112</b>	Mmp 遺伝子を標的とし, 高転移性癌細胞の生存と転移を抑制する ○奥舎 有加 <sup>1</sup> , 江口 傑徳 <sup>1</sup> , 十川 千春 <sup>1</sup> , 中野 敬介 <sup>2</sup> , 岡元 邦彰 <sup>1</sup> , 小崎 健一 <sup>1</sup> (岡大院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup> 岡大院医歯薬 口腔病理)
<b>P1-113</b>	ストレスによる GPR30 過剰発現は Akt-WNK1 の過敏反応を惹起し, KCC2 を不活性化させることで, GABA 抑制機能を低下させる ○塚原 飛央 <sup>1</sup> , 古川みなみ <sup>1,2</sup> , 富田 和男 <sup>1</sup> , 岩井 治樹 <sup>3</sup> , 高 裕子 <sup>1,5</sup> , 菌村 貴弘 <sup>4</sup> , 佐藤 友昭 <sup>1</sup> (鹿大院医歯 応用薬理, <sup>2</sup> 鹿大院医歯 矯正, <sup>3</sup> 鹿大院医歯 機能形態, <sup>4</sup> 朝日大 歯 解剖, <sup>5</sup> 鹿大院医歯 歯科保存)
<b>P1-114</b>	母子分離ストレスは雄性マウスにおいて GABA スイッチの時期を遅らせ, 発達性障害様行動異常を誘発する ○古川みなみ <sup>1,2</sup> , 塚原 飛央 <sup>1</sup> , 富田 和男 <sup>1</sup> , 高 裕子 <sup>1,3</sup> , 佐藤 友昭 <sup>1</sup> (鹿大院医歯 応用薬理, <sup>2</sup> 鹿大院医歯 矯正, <sup>3</sup> 鹿大院医歯 歯科保存)
<b>P1-115</b>	機械刺激を受けた歯根膜細胞が産生する Wnt5a の神経突起伸長効果 ○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実 (東北大 院歯 歯科薬理)
<b>P1-116</b>	皮膚ケラチノサイトのカテプシン E を介した神経障害性疼痛の慢性化メカニズムの解明 ○張 競, 林 良憲, 中西 博 (九大 院歯 口腔機能分子)
<b>P1-117</b>	インテグリン $\beta 1$ サブユニットは EGF や FGF10 による顎下腺原基の分枝形態形成と細胞内情報伝達を修飾する ○足立 圭亮 <sup>1</sup> , 小山 典子 <sup>2</sup> , 村松 泰徳 <sup>1</sup> , 柏俣 正典 <sup>2</sup> (朝日大 歯 口腔外科, <sup>2</sup> 朝日大 歯 歯科薬理)
<b>P1-118</b>	ストア作動性カルシウム流入による歯源性上皮細胞のマイグレーションと遺伝子発現の制御 ○村田 佳織 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>3</sup> , 高橋亜友美 <sup>2</sup> , 齊藤 正人 <sup>2</sup> , 谷村 明彦 <sup>1</sup> (北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup> 北医療大 歯 小児歯, <sup>3</sup> 日歯大新潟 生化)

その他 . . . . .

<b>P1-119</b>	NaCl による <i>Staphylococcus aureus</i> を含む複合菌バイオフィーム形成の誘導 ○泉福 英信 (感染研 細菌 I)
<b>P1-120</b>	DNA アフィニティ沈降法を用いたマウスうま味(アミノ酸)受容体 T1R1 遺伝子の転写調節機構の解析 ○豊野 孝 <sup>1</sup> , 平田 祐基 <sup>2</sup> , 片岡 真司 <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>1</sup> , 瀬田 祐司 <sup>1</sup> (九歯大 歯 解剖, <sup>2</sup> 九歯大 口腔再建リハ)
<b>P1-121</b>	イメージング質量分析を用いたマウス骨の解析 ○南崎 朋子, 吉子 裕二 (広大院医歯薬保 硬組織代謝生物)
<b>P1-122</b>	オートクレーブ滅菌象牙質骨補填材顆粒に残留する有機成分の解析 ○奥野公己郎 <sup>1,2</sup> , 川木 晴美 <sup>2</sup> , 田中 雅士 <sup>1</sup> , 梅村 直己 <sup>2</sup> , 高山 英次 <sup>2</sup> , 神谷 真子 <sup>2,3</sup> , 河野 哲 <sup>1</sup> , 近藤 信夫 <sup>2</sup> (朝日大 歯 歯内療法, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 朝日大 営 化学)
<b>P1-123</b>	Pam <sub>3</sub> CSK <sub>4</sub> 局所投与によるラット歯槽骨破壊作用について ○鈴木 恵子 <sup>1,2</sup> , 有本 隆文 <sup>3</sup> , 長岡 正博 <sup>1</sup> , 桑田 啓貴 <sup>3</sup> , 篠田 壽 <sup>4</sup> (奥羽大 歯 歯科薬理, <sup>2</sup> 昭大 歯 歯科薬理, <sup>3</sup> 昭大 歯 口腔微生物, <sup>4</sup> 東北大 院歯 環境歯学研セ)

学部学生ポスター発表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

<b>PS-1</b>	Lipopolysaccharide が誘発する摂食抑制行動における PLC-related catalytically inactive protein の役割 ○白輪地聡美, 山脇 洋輔, 兼松 隆 (広大院医歯薬保 細胞分子薬理)
<b>PS-2</b>	(取り下げ)
<b>PS-3</b>	GDF5 との結合を介した CCN2 の軟骨分化促進作用 ○井田すみれ <sup>1,2</sup> , 青山絵理子 <sup>2</sup> , 久保田 聡 <sup>2,3</sup> , 滝川 正春 <sup>2</sup> (岡大 歯, <sup>2</sup> 岡大院医歯薬 歯先端研セ, <sup>3</sup> 岡大院医歯薬 口腔生化)
<b>PS-4</b>	口腔扁平上皮癌における Periostin スプライシングバリエーションの新たな役割 ○梅田 将旭, 常松 貴明, 山田安希子, 新垣理恵子, 工藤 保誠, 石丸 直澄 (徳大院医歯薬 口腔分子病態)
<b>PS-5</b>	抗癌剤治療による腫瘍血管内皮細胞の薬剤耐性獲得機構 ○武田 遼 <sup>1,2</sup> , 森本 真弘 <sup>2</sup> , 間石 奈湖 <sup>2</sup> , 樋田 京子 <sup>2</sup> (北大 歯, <sup>2</sup> 北大 遺制研 血管生物)
<b>PS-6</b>	アルツハイマー病モデルマウスの抜歯後の行動変化ならびに組織学的解析 ○関 暹, Dhar Ashis, 岩井 治樹, 倉本恵梨子, 山中 淳之, 後藤 哲哉 (鹿大院医歯 機能形態)
<b>PS-7</b>	マウス下顎骨発生過程では破骨細胞は石灰化に先行して出現する ○青山 直樹 <sup>1</sup> , 中村 恵 <sup>2</sup> , 笹野 泰之 <sup>2</sup> (東北大 歯 4年, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔形態創建)
<b>PS-8</b>	マウスの歯胚形成過程における低酸素負荷の影響 ○木部 琴乃 <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>2</sup> , 片岡 真司 <sup>2</sup> , 豊野 孝 <sup>2</sup> , 瀬田 祐司 <sup>2</sup> (九歯大 学生, <sup>2</sup> 九歯大 解剖)
<b>PS-9</b>	歯の発生過程における DMP-1, DSP, FAM20C の局在 ○小野 亜美 <sup>1</sup> , 細矢 明宏 <sup>2</sup> , 中村 浩彰 <sup>3</sup> (一松歯大, <sup>2</sup> 北医療大 歯, <sup>3</sup> 松歯大 口腔解剖)
<b>PS-10</b>	う蝕ならびに歯周病を抑制する口腔内細菌の探索 ○池本梨央南, 豊屋 有希, 永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江, 田崎 園子, 池崎晶二郎, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 機能生物 感染生物)
<b>PS-11</b>	飲料物の飲み口に付着する細菌の量および構成の解析 ○佐野 拓人 <sup>1</sup> , 平吹 有香 <sup>1</sup> , 涌井 杏奈 <sup>1</sup> , 曾田 彩花 <sup>1</sup> , 安彦 友希 <sup>2</sup> , 八巻 恵子 <sup>2</sup> , 真柳 弦 <sup>2</sup> , 鷲尾 純平 <sup>2</sup> , 高橋 信博 <sup>2</sup> , 佐藤 拓一 <sup>1</sup> (新潟大 医保健 検査技術科学, <sup>2</sup> 東北大 院歯 口腔生化)
<b>PS-12</b>	ATP 拭取り検査によるスマートフォンの汚染状況について ○田中 雄祐 <sup>1</sup> , 池澤 勲輔 <sup>1</sup> , 吉田 愛 <sup>1</sup> , 葛城 啓彰 <sup>2</sup> (日歯大 新潟生命歯 2年生, <sup>2</sup> 日歯大 新潟生命歯 微生物)
<b>PS-13</b>	舌下免疫療法による食物アレルギー予防効果の解析 ○秋山なつみ <sup>1</sup> , 桃北 萌子 <sup>1</sup> , 宍戸 香 <sup>1,2</sup> , 黒石 智誠 <sup>1</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔矯正)

9月18日(月) 15:10~16:10 ポスター会場

解剖・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

<b>P2-1</b>	一口量に関わる要因について ○塩澤 光一, 奥村 敏 (鶴大 歯 生理)
<b>P2-2</b>	歯胚発生過程における血管形成制御因子の発現状況および局在の検討 ○春原 正隆, 佐藤 巖 (日歯大 生命歯 解剖1)
<b>P2-3</b>	口蓋溝の形態と大小口蓋動脈・神経分布について ○三輪 容子, 春原 正隆, 佐藤 巖 (日歯大 生命歯 解剖1)
<b>P2-4</b>	イヌ科フォークヘッド・ボックス遺伝子 I3 (FoxI3) のフレームシフト変異はトリボスフェニック型大白歯進化におけるメタコニッドの回転を否定する ○子安 和弘, 池田やよい (愛院大 歯 解剖)

筋・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

<b>P2-5</b>	強制的開口モデルによる心臓リモデリングとベータ遮断薬による抑制効果 ○八木澤由佳 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 梅木 大輔 <sup>1</sup> , 石川美佐緒 <sup>3</sup> , 川村 直矢 <sup>4</sup> , 伊藤 愛子 <sup>1</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 中村 芳樹 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> (鶴大 歯 矯正, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖I, <sup>4</sup> 鶴大 歯 歯周病)
-------------	---

<b>P2-6</b>	(取り下げ)
<b>P2-7</b>	TLE3 による骨格筋組織幹細胞 サテライト細胞の増殖・分化制御機構 ○古株彰一郎 <sup>1</sup> , 中富 千尋 <sup>1</sup> , 松原 琢磨 <sup>1</sup> , 自見英治郎 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 九歯大 分子情報生化, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT セ)
<b>P2-8</b>	ヒト中耳関連筋における CGRP の局在性について ○佐藤 巖, 三輪 容子, 春原 正隆 (日歯大 生命歯 解剖 1)

骨・軟骨・骨代謝・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

<b>P2-9</b>	軟骨石灰化不全 (CCI) ラットの発症メカニズムー頭蓋底軟骨結合と下顎頭軟骨ー ○永山 元彦 <sup>1</sup> , 天野 均 <sup>2</sup> , 江原 道子 <sup>1</sup> , 中尾 寿奈 <sup>1</sup> , 田沼 順一 <sup>1</sup> , 渡辺 実 <sup>3</sup> , 田中 政巳 <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> 朝日大 歯 口腔病理, <sup>2</sup> 大歯大 薬理, <sup>3</sup> 聖マリアンナ医大 院 実験動物飼育管理研究施設, <sup>4</sup> 会津大短大 食物栄養)
<b>P2-10</b>	骨吸収抑制剤投与による骨関連細胞のストレスタンパク質発現の報告 ○定岡 直 <sup>1</sup> , 八上 公利 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 松歯大 口腔衛生, <sup>2</sup> 松歯大 院 健康増進口腔科学)
<b>P2-11</b>	(取り下げ)
<b>P2-12</b>	ヒストンメチル化酵素 G9a による破骨細胞分化制御への関与 ○小松浩一郎 <sup>1</sup> , 出野 尚 <sup>1</sup> , 島田 明美 <sup>1</sup> , 中島 和久 <sup>1</sup> , 山下 照久 <sup>2</sup> , 宇田川信之 <sup>3</sup> , 二藤 彰 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 薬理, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研, <sup>3</sup> 松歯大 口腔生化)
<b>P2-13</b>	cd11b-dectin-1 の相互作用により誘導される syk の分解を介した破骨細胞分化制御機構 ○有吉 渉, 沖永 敏則, 西原 達次 (九歯大 感染分子生物)
<b>P2-14</b>	W9 ペプチド投与は OPG 遺伝子欠損マウスの歯槽骨喪失を改善する ○尾崎 友輝 <sup>1</sup> , 小出 雅則 <sup>2</sup> , 二宮 禎 <sup>2</sup> , 中村美どり <sup>3</sup> , 吉成 伸夫 <sup>1</sup> , 高橋 直之 <sup>2</sup> , 宇田川信之 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 松歯大 保存, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研, <sup>3</sup> 松歯大 口腔生化)
<b>P2-15</b>	オステオプロテゲリン欠損マウスに対するカテプシン K 阻害剤投与は, 骨吸収抑制と共に骨形成促進作用を示す ○中村美どり <sup>1,2</sup> , 中道 裕子 <sup>2</sup> , 溝口 利英 <sup>2</sup> , 小林 泰浩 <sup>2</sup> , 高橋 直之 <sup>2</sup> , 宇田川信之 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 松歯大 口腔生化, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研)
<b>P2-16</b>	破骨細胞のアクチンリング形成および破骨細胞性骨吸収を制御するアクチン結合分子 PPP1r18 ○松原 琢磨 <sup>1</sup> , 古株彰一郎 <sup>1</sup> , 中富 千尋 <sup>1</sup> , 自見英治郎 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 九歯大 分子情報生化, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)
<b>P2-17</b>	Pmepa1 は骨吸収中の破骨細胞で発現が誘導され, 骨吸収を制御する ○徐 祥赫 <sup>1,2</sup> , 蒲原 麻菜 <sup>1</sup> , 久木田敏夫 <sup>2</sup> , 久木田明子 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 佐賀大 医 微生物, <sup>2</sup> 九大 院歯 分子口腔解剖)
<b>P2-18</b>	骨芽細胞の SMS1 は骨芽細胞分化を制御する ○吉川 美弘, 堂前 英資, 鎌田 愛子, 池尾 隆 (大歯大 生化)
<b>P2-19</b>	Concentrated Growth Factors による骨代謝能への影響 ○角田 隆太 <sup>1</sup> , 前田 豊信 <sup>2</sup> , 鈴木 厚子 <sup>2</sup> , 櫻井 裕子 <sup>3</sup> , 遊佐 淳子 <sup>3</sup> , 加藤 靖正 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 奥羽大 院歯 口外, <sup>2</sup> 奥羽大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 奥羽大 歯 口腔病理)
<b>P2-20</b>	骨端板に侵入する毛細血管の形態に関する走査型電子顕微鏡観察 ○山本 恒之, 長谷川智香, 本郷 裕美, 網塚 憲生 (北大 院歯 硬組織発生)
<b>P2-21</b>	RAR $\gamma$ シグナリングは成長板軟骨細胞分化・成熟を制御する ○内部 健太, 池亀 美華, 岡村 裕彦 (岡大 院医歯薬 口腔形態)
<b>P2-22</b>	メッケル軟骨前半の消失における VEGF および MMP-9 の発現部位とその役割 ○井上貴一郎 (北大 院歯 口腔機能解剖)

歯牙・歯髄・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

<b>P2-23</b>	(取り下げ)
<b>P2-24</b>	天然アパタイト結晶と生体硬組織におけるアパタイト結晶の比較 ○三島 弘幸 <sup>1</sup> , 見明 康雄 <sup>2</sup> , 松本 由樹 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 理工, <sup>2</sup> 東歯大 組織・発生, <sup>3</sup> 香川大 農)
<b>P2-25</b>	硬骨魚類ポリプテルスの顎歯エナメロイド形成におけるエナメルタンパク様タンパクの出現 ○笹川 一郎 <sup>1</sup> , 岡 俊哉 <sup>2</sup> , 三上 正人 <sup>3</sup> , 横須賀宏之 <sup>4</sup> , 石山巳喜夫 <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大新潟 先端研セ, <sup>2</sup> 日歯大新潟 生物, <sup>3</sup> 日歯大新潟 微生物, <sup>4</sup> 日歯大新潟 解剖 2)
<b>P2-26</b>	自発性に不死化したアカゲザル由来乳歯歯髄細胞の細胞特性解析 ○小林 朋子 <sup>1,2</sup> , 松井美紀子 <sup>1</sup> , 鈴木 樹理 <sup>3</sup> , 筒井 健夫 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 生命歯 薬理, <sup>2</sup> 医科歯科大 院医歯 歯周病, <sup>3</sup> 京大 霊長類研 人類進化モデル研究セ)

<b>P2-27</b>	凍結保存歯胚を移植すると、歯根の伸長と歯の萌出が起こる ○中村 恵, 笹野 泰之 (東北大学 歯 顎口腔形態創建)
<b>P2-28</b>	ヒト歯髄細胞における炎症性メディエーター産生制御における HIF1α の役割 ○藤井真由子, 川島 伸之, 興地 隆史 (医科歯科大 院医歯 歯髄生物)
<b>P2-29</b>	ヒト歯髄組織創傷治癒過程における骨髄由来間葉系前駆細胞 fibrocyte の動態検索 ○吉羽 永子 <sup>1</sup> , 大倉 直人 <sup>1</sup> , 細矢 明宏 <sup>2</sup> , 中村 浩彰 <sup>3</sup> , 野村由一郎 <sup>1</sup> , 吉羽 邦彦 <sup>1</sup> (新潟大 院医歯 う蝕, <sup>2</sup> 北医療大 歯 組織, <sup>3</sup> 松歯大 口腔解剖 II)
<b>P2-30</b>	ラット炎症惹起歯髄内の prostaglandin E 受容体に対する酸化亜鉛ユージオール練物の作用 ○深田 哲也 <sup>1</sup> , 戸田 智幸 <sup>1</sup> , 橋本 修一 <sup>2</sup> (日歯大 生命歯 共同利用研究セ アイソトープ研究施設, <sup>2</sup> 日歯大 生命歯)
<b>P2-31</b>	水酸化カルシウム系糊材に対するラットの象牙質・歯髄複合体の反応 ○森山 敬太 <sup>1</sup> , 松田紗衣佳 <sup>1</sup> , 正村 正仁 <sup>1</sup> , 川上 敏行 <sup>2</sup> , 大須賀直人 <sup>1</sup> (松歯大 小児歯, <sup>2</sup> 松歯大 院 病態解析)
<b>P2-32</b>	象牙質コラーゲン中の糖化最終産物ペントシジンの分布 ○清水 真人, 三浦 治郎 (阪大 院歯 総診)
<b>P2-33</b>	三叉神経節ニューロンに対するグアヤコールの鎮痛作用 ○陽田みゆき <sup>1</sup> , 木村 麻記 <sup>1</sup> , 佐藤 正樹 <sup>2</sup> , 東川明日香 <sup>1</sup> , 小島 佑貴 <sup>1</sup> , 田崎 雅和 <sup>1</sup> , 澁川 義幸 <sup>1</sup> (東歯大 生理, <sup>2</sup> 東歯大 生物)
<b>P2-34</b>	歯の形成過程における AMP-activated protein kinase (AMPK) の発現と機能 ○依田 浩子 <sup>1</sup> , 大津 圭史 <sup>2</sup> , 原田 英光 <sup>2</sup> , 大島 勇人 <sup>1</sup> (新潟大 院医歯 硬組織形態, <sup>2</sup> 岩医大 解剖 発生物)
<b>P2-35</b>	鯨類における amelogenin 遺伝子の塩基配列の多様性 ○石山巳喜夫 <sup>1</sup> , 三上 正人 <sup>2</sup> , 今井あかね <sup>3</sup> (日歯大新潟 解剖 2, <sup>2</sup> 日歯大新潟 微生物, <sup>3</sup> 日歯大新潟 短大 歯科衛生)

歯周組織

<b>P2-36</b>	口腔ケア用具による荷重がもたらす口腔粘膜損傷の程度に関する検討 ○明瀬 靖奈, 引地 尚子 (九歯大 口腔保健)
<b>P2-37</b>	歯肉および歯根膜由来間葉系幹細胞の分化能について ○高橋 智美, 牛島 夏未, 飯塚 正 (北大 院歯 学術支援)
<b>P2-38</b>	S-PRG フィラー溶出液がヒト歯肉線維芽細胞の Matrix metalloproteinase 産生に及ぼす影響 ○井上 博 <sup>1</sup> , 合田 征司 <sup>2</sup> , 西川 泰央 <sup>1</sup> (大歯大 生理, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 口腔科学)
<b>P2-39</b>	メカニカルストレスが惹起する HSP70 によるマウス歯根膜の修復 ○村岡 理奈 <sup>1</sup> , 中野 敬介 <sup>2</sup> , 山田 一尋 <sup>1</sup> , 川上 敏行 <sup>3</sup> (松歯大 矯正, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 口腔病理病態, <sup>3</sup> 松歯大 院 硬組織疾患病態解析)
<b>P2-40</b>	プラットフォームスイッチングインプラントモデルにおける type-XII コラーゲンの動態 ○堤 貴司 <sup>1</sup> , 鍛冶屋 浩 <sup>2</sup> , 後藤加寿子 <sup>3</sup> , 岡部 幸司 <sup>2</sup> (福歯大 咬合修復 有床義歯, <sup>2</sup> 福歯大 細胞分子生物 細胞生理, <sup>3</sup> 福歯大 医短大)
<b>P2-41</b>	マウス歯周組織改造における骨髄間葉系細胞の移動と分化 ○金子 圭子 <sup>1</sup> , 辻極 秀次 <sup>2</sup> , 松田紗衣佳 <sup>3</sup> , 中野 敬介 <sup>4</sup> , 村岡 理奈 <sup>5</sup> , 長塚 仁 <sup>4</sup> , 川上 敏行 <sup>1</sup> (松歯大 院 病態解析, <sup>2</sup> 岡山理大 組織病態, <sup>3</sup> 松歯大 小児歯, <sup>4</sup> 岡大 院医歯薬 口腔病理, <sup>5</sup> 松歯大 歯科矯正)
<b>P2-42</b>	<i>Slackia exigua</i> はインプラント周囲炎の病的マーカーとなり得る ○内堀 聡史 <sup>1</sup> , 續橋 治 <sup>2</sup> , 小林 平 <sup>1</sup> , 會田 雅啓 <sup>1</sup> (日大松戸歯 クラウンブリッジ, <sup>2</sup> 日大松戸歯 微生物免疫)

腫瘍

<b>P2-43</b>	インターフェロン誘導性ケモカインのマウス扁平上皮癌細胞に対する抗腫瘍作用 ○森 一将 <sup>1</sup> , 廣井 美紀 <sup>2</sup> , 嶋田 淳 <sup>1</sup> , 大森 喜弘 <sup>2</sup> (明海大 歯 口腔顎顔面外科 1, <sup>2</sup> 明海大 歯 微生物)
<b>P2-44</b>	ニコチンは p44/42 MAPK シグナルを介して上皮細胞癌の増殖促進を誘導する ○西岡 貴志 <sup>1,2</sup> , 多田 浩之 <sup>3</sup> (東北大 院歯 口腔診断, <sup>2</sup> 東北大 院歯 インターフェイスプロジェクト支援, <sup>3</sup> 東北大 院歯 口腔分子制御)
<b>P2-45</b>	マウス B16 メラノーマ細胞では、酸性細胞外 pH によって誘導される MMP-9 mRNA の発現は、PLD1 を介す ○前田 豊信, 鈴木 厚子, 加藤 靖正 (奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
<b>P2-46</b>	併用化学療法は口腔扁平上皮癌細胞の CD44 の分解を促進する ○梅村 直己, 高山 英次, 川木 晴美, 神谷 真子, 近藤 信夫 (朝日大 歯 口腔生化)

<b>P2-47</b>	<p>ρ0 細胞における酸化ストレス応答機構の解析</p> <p>○高 裕子<sup>1</sup>, 富田 和男<sup>2</sup>, 塚原 飛央<sup>2</sup>, 古川みなみ<sup>3</sup>, 西谷 佳浩<sup>1</sup>, 佐藤 友昭<sup>2</sup> (鹿大院医歯 歯科保存, <sup>2</sup>鹿大院医歯 応用薬理, <sup>3</sup>鹿大院医歯 矯正)</p>
<b>P2-48</b>	<p>口腔扁平上皮癌における AT1 受容体拮抗薬の影響</p> <p>○森岡 政彦<sup>1,2</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>1</sup>, 中島 学<sup>2</sup> (九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, <sup>2</sup>福岡大 薬 免疫・分子治療)</p>
<b>P2-49</b>	<p>口腔粘膜の角化異常を伴う疾患における Transglutaminase の局在と酵素活性に関する予備研究</p> <p>○嶋田 勝光, 落合 隆永, 長谷川博雅 (松歯大 口腔病理)</p>
<b>P2-50</b>	<p>ヒト扁平上皮癌細胞 HSC-4 において TGF-β1 は BMP-2 シグナルの減弱により BMP-2 誘導性間葉上皮転換を抑制する</p> <p>○加茂 政晴, 客本 斉子, 石崎 明 (岩医大 生化 細胞情報科学)</p>
<b>P2-51</b>	<p>口腔扁平上皮癌における BP180 の局在</p> <p>○安河内 篤<sup>1</sup>, 森岡 政彦<sup>1,2</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>2</sup>, 中島 学<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>1</sup> (九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, <sup>2</sup>福岡大 薬 免疫・分子治療)</p>
<b>P2-52</b>	<p>TGF-β 誘導 CUX1 アイソフォームの強皮症肺線維芽細胞の線維化への関与</p> <p>○池田 哲朗<sup>1,2</sup> (東大 医科研 免疫病態, <sup>2</sup>ユニヴァーシティ・カレッジ・ロンドン 医 リウマチ)</p>

神経 . . . . .

<b>P2-53</b>	<p>小学校児童における味覚の動向</p> <p>○佐伯 周子<sup>1</sup>, 井出 良治<sup>1</sup>, 高橋 誠之<sup>1</sup>, 今井 敏夫<sup>1</sup>, 河内 嘉道<sup>1,2</sup>, 石井 広志<sup>2</sup>, 長谷川 勝<sup>1</sup> (日歯大 生命歯 生理, <sup>2</sup>市川市歯科医師会)</p>
<b>P2-54</b>	<p>マウス味覚器に発現するインスリンレセプターは味細胞の増殖・分化に関与する</p> <p>○高井 信吾<sup>1</sup>, ニノ宮裕三<sup>2</sup>, 重村 憲徳<sup>1,2</sup> (九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理)</p>
<b>P2-55</b>	<p>ラットにおける混合味溶液中の含有味溶液認識に及ぼす溶液濃度の影響</p> <p>○山村 知暉, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 碓 哲崇 (朝日大 歯 口腔生理)</p>
<b>P2-56</b>	<p>離乳前ラットの行動特性と環境ホルモン曝露の影響</p> <p>○藤本 哲也, 西川 泰央 (大歯大 歯 生理)</p>
<b>P2-57</b>	<p>三叉神経入力で生じる口腔内及び口腔外組織の血流動態とサーモレギュレーションにおける相違点</p> <p>○石井 久淑, 佐藤 寿哉 (北医療大 歯 生理)</p>
<b>P2-58</b>	<p>顎顔面皮膚および深部組織への侵害刺激がもたらす吻側延髄腹側部ニューロンの応答特性</p> <p>○黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 長谷川真奈<sup>1,2</sup>, 岡本圭一郎<sup>1</sup>, 清水 志保<sup>1,3</sup>, 中谷 暢佑<sup>1,3</sup>, 藤井 規孝<sup>2</sup>, 高木 律男<sup>3</sup>, 山田 好秋<sup>4</sup>, 山村 健介<sup>1</sup> (新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 医歯病 歯総診, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 顎顔面外科, <sup>4</sup>東歯大短大 歯 衛生)</p>
<b>P2-59</b>	<p>麻酔下ラット延髄の体性感覚一次中継核ニューロンの発火パターン解析: 動的触刺激の方向による変化</p> <p>○戸田 孝史<sup>1</sup>, 穴戸新一郎<sup>1,2</sup> (東北大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>赤門鍼灸柔整専門学校)</p>
<b>P2-60</b>	<p>ラット皮質における咬筋筋紡錘刺激にตอบสนองする興奮伝播の時空間的特徴</p> <p>○藤田 智史, 小林 真之 (日大 歯 薬理)</p>
<b>P2-61</b>	<p>ラット脳幹におけるレニン-アンギオテンシン系の解析</p> <p>○諏訪部 武 (朝日大 歯 口腔生理)</p>
<b>P2-62</b>	<p>タッピング運動時に活動する脳領域の機能結合解析</p> <p>○深見 秀之, 佐原 資謹 (岩医大 歯 生理)</p>
<b>P2-63</b>	<p>エメチンの催吐作用とその中枢機序</p> <p>○佐藤 孝紀, 久留 和成, 平井 喜幸, 船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)</p>
<b>P2-64</b>	<p>『酒は百薬の長』の根拠を科学的に解明するストレス誘発性の咬筋侵害受容反応に対する日本酒の影響について</p> <p>○岡本圭一郎<sup>1</sup>, 中谷 暢佑<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 柿原 嘉人<sup>3</sup>, 木口 哲郎<sup>2,3</sup>, 長谷川真奈<sup>4</sup>, 藤井 規孝<sup>4</sup>, 佐伯万騎男<sup>3</sup>, 高木 律男<sup>2</sup>, 山村 健介<sup>1</sup> (新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口腔外科, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>4</sup>新潟大 医歯病 歯総診)</p>
<b>P2-65</b>	<p>セロトニン再取り込み阻害薬は繰り返しストレスによる咬筋の侵害受容反応の増強を抑制する</p> <p>○中谷 暢佑<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 清水 志保<sup>1,2</sup>, 柿原 嘉人<sup>3</sup>, 木口 哲郎<sup>2,3</sup>, 長谷川真奈<sup>4</sup>, 佐伯万騎男<sup>3</sup>, 高木 律男<sup>2</sup>, 山村 健介<sup>1</sup>, 岡本圭一郎<sup>1</sup> (新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口腔外科, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>4</sup>新潟大 医歯病 歯総診)</p>
<b>P2-66</b>	<p>Laser scanning photostimulation 法を用いた島嶼野無顆粒皮質に投射する梨状皮質からの興奮性入力経路の同定</p> <p>○山本 清文, 小林 真之 (日大 歯 薬理)</p>
<b>P2-67</b>	<p>マウス味覚応答に対するヒト苦味受容体阻害剤の効果</p> <p>○吉田 竜介<sup>1,2</sup>, 重村 憲徳<sup>1</sup> (九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ)</p>

<b>P2-68</b>	カプサイシンによるマウス鼓索神経応答への影響 ○岩田 周介 <sup>1</sup> , 安松 啓子 <sup>1</sup> , ニノ宮裕三 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理, <sup>2</sup> Monell Chemical Senses Center)
<b>P2-69</b>	ロテノン投与マウスにおける嗅覚と味覚の変化。 ○尹 東旭, 佐藤 元, 河野 奨, 松裏 豊, 豊田 博紀, 加藤 隆史 (阪大 院歯 口腔生理)
<b>P2-70</b>	マウス三叉神経節のマクロファージ様細胞は神経傷害によって増殖・活性化する ○岩井 治樹, 倉本恵梨子, 山中 淳之, Dhar Ashis, 後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 機能形態)

唾液・唾液腺 . . . . .

<b>P2-71</b>	ラット顎下腺における GABA <sub>B</sub> 受容体の発現解析 ○原田 史子 <sup>1</sup> , 井上 (野澤) 佳世子 <sup>1</sup> , 前田 健康 <sup>1</sup> , 照沼 美穂 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 新潟大 院医歯 高度口腔機能研セ, <sup>2</sup> 新潟大 院医歯 口腔生化)
<b>P2-72</b>	マウス耳下腺における small membrane A-kinase anchoring protein (smAKAP) の発現 ○梨田 智子 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>1</sup> , 下村-黒木 淳子 <sup>2</sup> , 水橋 史 <sup>3</sup> , 吉村 建 <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大新潟 生化, <sup>2</sup> 日歯大新潟 小児歯, <sup>3</sup> 日歯大新潟 補綴1, <sup>4</sup> 日歯大新潟 解剖1)
<b>P2-73</b>	ラット下顎腺における骨粗鬆症およびビスホスホネート製剤の形態学的影響 ○川島 渉, 上村 守, 戸田 伊紀, 竹村 明道 (大歯大 解剖)
<b>P2-74</b>	液状飼料により萎縮したラット耳下腺の固形飼料への変更による回復について ○高橋 茂, 竹淵 壘, 谷脇 裕人, 土門 卓文 (北大 院歯 口腔機能解剖)
<b>P2-75</b>	カルシウム拮抗薬による口腔乾燥症患者の唾液タンパク質の分析 ○水橋 史 <sup>1</sup> , 小出 馨 <sup>1</sup> , 梨田 智子 <sup>2</sup> , 戸谷 収二 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大新潟 補綴1, <sup>2</sup> 日歯大新潟 生化, <sup>3</sup> 日歯大新潟 口外)
<b>P2-76</b>	ピロカルピン刺激を介した顎下腺及び脳における遺伝子発現の亢進 ○森田 貴雄 <sup>1,2</sup> , 根津 顕弘 <sup>2</sup> , 梨田 智子 <sup>1</sup> , 谷村 明彦 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大新潟 生化, <sup>2</sup> 北医療大 歯 薬理)
<b>P2-77</b>	唾液腺の組織障害時における micro RNA の発現パターンの解析 ○小川 博亮, 櫻井 甫, 横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
<b>P2-78</b>	片側唾液腺傷害による反対側唾液腺への影響 ○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
<b>P2-79</b>	唾液ヒスタチンによるインフルエンザウイルスヘマグルチニンの Toll 様受容体 2 活性化への影響 ○今村 泰弘 <sup>1</sup> , 王 宝禮 <sup>2</sup> , 十川 紀夫 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 松歯大 歯科薬理, <sup>2</sup> 大歯大 細菌)
<b>P2-80</b>	ポリデキストロースとラクチトールの継続摂取がラットにおける腸内発酵と唾液中 IgA 分泌速度に与える影響 ○山本 裕子 <sup>1</sup> , 猿田 樹理 <sup>2</sup> , 東 雅啓 <sup>2</sup> , 槻木 恵一 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 神歯大 短大 歯科衛生, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 口腔科学)
<b>P2-81</b>	胎仔マウス顎下腺における EGF/ErbB 活性化による Hippo シグナルの調節 ○小山 典子, 足立 圭亮, 柏俣 正典 (朝日大 歯 薬理)
<b>P2-82</b>	唾液分泌量の異なる 2 系統マウスのカルシウム動態の比較 ○櫻井 甫, 小川 博亮, 横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
<b>P2-83</b>	マウス顎下腺への放射線照射に対する鉛板の防護条件の検討 ○澤野 和生 <sup>1</sup> , 菊池憲一郎 <sup>1</sup> , 那須 優則 <sup>1</sup> , 堀江 哲郎 <sup>2</sup> , 池田 利恵 <sup>1,3</sup> , 高田 清美 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 生命歯 解剖2, <sup>2</sup> 日歯大 生命歯 研究セ, <sup>3</sup> 日歯大 東京短期大)
<b>P2-84</b>	唾液腺におけるケモカイン CXCL14 の免疫陽性構造の分布 ○水野 潤造, 立花 要, 山本 利春 (神歯大 院歯 口腔科学)

発生・再生 . . . . .

<b>P2-85</b>	頭顔面の発生ステージ特異的な薬物催奇形性解析における「 <i>in vivo</i> 薬物投与方法と全胚培養法を組み合わせた実験系」の確立を目指して ○鈴木 礼子 <sup>1</sup> , 今井 元 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 奥羽大 歯 歯科薬理, <sup>2</sup> 奥羽大 歯 生物)
<b>P2-86</b>	マウス胎生期における Nfix を中心とした舌筋細胞系譜の分化制御 ○田谷 雄二 <sup>1</sup> , 佐々木康成 <sup>2</sup> , 佐藤かおり <sup>1</sup> , 添野 雄一 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 生命歯 病理, <sup>2</sup> 神奈川県立こども医療セ 臨床研 歯科)
<b>P2-87</b>	Hertwig 上皮鞘から遊走する細胞動態の解析 ○藤原 尚樹, 大津 圭史, 原田 英光 (岩医大 解剖 発生生物・再生医学)
<b>P2-88</b>	ニワトリ胚における低温環境下のガス交換に肺と漿尿膜が寄与する割合 ○井出 良治 <sup>1</sup> , 佐伯 周子 <sup>1</sup> , 高橋 誠之 <sup>1</sup> , 橋爪 那奈 <sup>2</sup> , 今井 敏夫 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 生命歯 生理, <sup>2</sup> 日歯大 生命歯 麻酔)

P2-89	カテキジェル使用時における健康高齢者および障害者口腔細菌変動についての網羅的解析 ○田村 宗明 <sup>1,2</sup> , 今井 健一 <sup>1,2</sup> (1日大 歯 細菌, 2日大 総歯研 生体防御)
P2-90	歯周病原性細菌アシルペプチジルオリゴペプチダーゼ(AOP)のアシルペプチド選択機構 ○根本 孝幸, 小野 俊雄, 根本 優子 (長大 院医歯薬 口腔分子生化)
P2-91	歯周病原菌と肺炎発症との関連: <i>Porphyromonas gingivalis</i> は気道上皮細胞において肺炎球菌受容体 PAFR の発現を増強する ○神尾 宜昌 <sup>1</sup> , 早田真由美 <sup>1,2</sup> , 渡辺 典久 <sup>1,3</sup> , 田村 宗明 <sup>1</sup> , 今井 健一 <sup>1</sup> (1日大 歯 細菌, 2日大 歯 摂食機能, 3日大 歯 保存 III)
P2-92	健康人における口腔内 <i>Candida</i> 属保菌と唾液抗菌成分との関連性 ○福井佳代子 <sup>1</sup> , 今井あかね <sup>2,3</sup> , 桑島 治博 <sup>1</sup> , 仲村健二郎 <sup>1</sup> (1日歯大新潟 薬理, 2日歯大新潟 生化, 3日歯大新潟 短大)
P2-93	MTA セメントと <i>Bacillus subtilis</i> 混和材料の相乗効果に関する基礎的研究 ○岡 俊哉 (日歯大新潟 生物)
P2-94	口臭簡易キットの開発と口臭に関わる細菌の検索 ○續橋 治 <sup>1</sup> , 内堀 聡史 <sup>2</sup> , 齋藤 真規 <sup>1</sup> , 小林 良喜 <sup>1</sup> , 瀧澤 智美 <sup>1</sup> , 桑原 紀子 <sup>1</sup> , 落合 智子 <sup>1</sup> (1日大松戸歯 微生物免疫, 2日大松戸歯 クラウンブリッジ補綴)
P2-95	細菌叢解析に基づく機械学習による口臭の判別 ○中野 善夫 <sup>1</sup> , 谷口 奈央 <sup>2</sup> , 桑田 文幸 <sup>1</sup> , 埴岡 隆 <sup>2</sup> (1日大 歯 化学, 2福歯大 口腔保健)
P2-96	遺伝子クローニングを要しないミュータンス連鎖球菌の遺伝子破壊株作製法 ○村田 貴俊, 花田 信弘 (鶴大 歯 探索歯)
P2-97	歯肉溝内における細菌ネットワークの位相的データ解析 ○Cueno Marni <sup>1</sup> , 今井 健一 <sup>1,2</sup> (1日大 歯 細菌, 2日大 総歯研 生体防御)
P2-98	(取り下げ)
P2-99	Terpinen-4-ol 類似体における構造活性-菌体ならびにバイオフィルムにおける抗菌性の解明— ○藤田 真理 <sup>1</sup> , 長田 和実 <sup>2</sup> , 宮川 博史 <sup>1</sup> , 中澤 太 <sup>1</sup> (1北医療大 歯 微生物, 2北医療大 歯 生理)
P2-100	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の硫化水素産生によるマウス生体反応の解析 ○塩屋 幸樹 <sup>1</sup> , 平岡 行博 <sup>2</sup> , 谷口 奈央 <sup>3</sup> , 吉田 明弘 <sup>1</sup> (1松歯大 口腔細菌, 2松歯大 総歯研, 3福歯大 口腔保健)
P2-101	<i>Streptococcus gordonii</i> は単球を樹状細胞へと分化誘導する ○田代有美子, 高橋 幸裕, 古西 清司 (日歯大 生命歯 微生物)
P2-102	義歯安定剤による <i>Candida albicans</i> 病原性の変化 ○村上 智彦 <sup>1</sup> , 下山 佑 <sup>2</sup> , 野村 太郎 <sup>1</sup> , 石河 太知 <sup>2</sup> , 近藤 尚知 <sup>1</sup> , 佐々木 実 <sup>2</sup> (1岩医大 歯 補綴・インプラント, 2岩医大 歯 分子微生物)
P2-103	<i>Fusobacterium nucleatum</i> に特有の硫化水素産生酵素 Fn1055 の立体構造と反応機構 ○毛塚雄一郎 <sup>1</sup> , 吉田 康夫 <sup>2</sup> (1岩医大 薬 構造生物, 2愛院大 歯 微生物)
P2-104	<i>Treponema denticola</i> 病原因子欠損株における遺伝子発現調節 ○新居 由紀 <sup>1</sup> , 菊池有一郎 <sup>2</sup> , 柴山 和子 <sup>2</sup> , 国分 栄仁 <sup>2</sup> , 新谷 誠康 <sup>1</sup> , 石原 和幸 <sup>2</sup> (1東歯大 小児歯, 2東歯大 微生物)
P2-105	口腔バイオフィルム細菌の増殖・代謝抑制作用を有する天然植物抽出物の探索 ○北郡 秀晃 <sup>1,2</sup> , 鷺尾 純平 <sup>1</sup> , 互野 亮 <sup>1,3</sup> , 高橋 信博 <sup>1</sup> (1東北大 院歯 口腔生化, 2小林製薬 中央研, 3東北大 院歯 口腔システム補綴)
P2-106	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の増殖阻害性ペプチド ○才木桂太郎, 古西 清司 (日歯大 生命歯 微生物)
P2-107	<i>Treponema denticola</i> の iron-sulfur cluster-binding protein 調節遺伝子 ( <i>icbR</i> ) の機能解析 ○沼田 由美 <sup>1</sup> , 柴山 和子 <sup>2</sup> , 佐藤 亨 <sup>1</sup> , 菊池有一郎 <sup>2</sup> , 国分 栄仁 <sup>2</sup> , 石原 和幸 <sup>2</sup> (1東歯大 クラウンブリッジ補綴, 2東歯大 微生物)
P2-108	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の OmpA 様蛋白質のヒト血清抵抗性への関与 ○猪俣 恵, 引頭 毅, 堀江 俊, 村上 幸孝 (朝日大 歯 口腔微生物)
P2-109	ブラジル産グリーンプロポリス配合歯磨き粉の口腔環境改善効果 ○天野 滋 <sup>1</sup> , 松本 勝 <sup>2</sup> , 竹下 文章 <sup>4</sup> , 大森 喜弘 <sup>1</sup> , 安井 利一 <sup>3</sup> (1明海大 歯 微生物, 2明海大 歯 スポーツ歯, 3明海大 歯, 4大木製薬)
P2-110	脂質代謝異常による腸管 Dysbiosis と歯槽骨吸収への影響 ○小林 良喜, 落合 智子 (日大松戸歯 微生物免疫)

免疫・・

<b>P2-111</b>	ヒト V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞のサイトカインによる活性化機構 ○堂前 英資 <sup>1</sup> , 合田 征司 <sup>2</sup> , 吉川 美弘 <sup>1</sup> , 鎌田 愛子 <sup>1</sup> , 池尾 隆 <sup>1</sup> (大歯大 生化, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 口腔科学)
<b>P2-112</b>	歯周病病態形成における免疫制御機構の解明 ○永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江, 田崎 園子, 池崎晶二郎, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 機能生物 感染生物)
<b>P2-113</b>	肺炎の重症化に伴い誘導される宿主由来エラスターゼの病原性解析 ○土門 久哲 <sup>1,2</sup> , 前川 知樹 <sup>1,2</sup> , 永井 康介 <sup>1</sup> , 山口 雅也 <sup>3</sup> , 川端 重忠 <sup>3</sup> , 寺尾 豊 <sup>1,2</sup> (新潟大 院医歯 微生物, <sup>2</sup> 新潟大 院医歯 高口機教研セ, <sup>3</sup> 阪大 院歯 口腔細菌)
<b>P2-114</b>	Neutrophil extracellular traps によるヒト血管内皮細胞の Del-1 産生抑制 ○多田 浩之 <sup>1</sup> , 西岡 貴志 <sup>2</sup> , 松下 健二 <sup>3</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup> 東北大 院歯 口腔診断, <sup>3</sup> 国立長寿セ 口腔疾患)

シグナル伝達・・

<b>P2-115</b>	温度感受性チャネル TRPM5 の機能解析 ○内田 邦敏 <sup>1,2</sup> , 喜多 知 <sup>1</sup> , 笠 孝成 <sup>1</sup> , 山崎 純 <sup>1</sup> (福歯大 細胞分子生物 分子機能, <sup>2</sup> 生理研 細胞生理)
<b>P2-116</b>	Regulation of cytokinesis by phospholipase C-related catalytically inactive protein, as a sequestrant of PI (4,5) P <sub>2</sub> in the cleavage furrow ○浅野 智志, 兼松 隆 (広大 院医歯薬保 細胞分子薬理)
<b>P2-117</b>	BMP による骨形成促進を目的とした Smad4 と NF- $\kappa$ B p65 の会合領域の検討 ○浦田真梨子 <sup>1,2</sup> , 松原 琢磨 <sup>2</sup> , 中富 千尋 <sup>2</sup> , 平田-土屋 志津 <sup>3</sup> , 古株彰一郎 <sup>1</sup> , 張 皿 <sup>4</sup> , 北村 知昭 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>5</sup> (九歯大 分子情報生化, <sup>2</sup> 九歯大 保存, <sup>3</sup> 広大 院医歯薬保 歯髄生物, <sup>4</sup> 九歯大 口腔病態病理, <sup>5</sup> 九大 OBT 研究セ)
<b>P2-118</b>	Wnt によるスフェロイド培養細胞への骨分化誘導効果 ○利光 拓也 <sup>1,2</sup> , 小島 寛 <sup>2</sup> , 鍛冶屋 浩 <sup>1</sup> , 大野 純 <sup>1</sup> (福歯大 再生医セ, <sup>2</sup> 福歯大 成長発達 障害歯)

炎症・・

<b>P2-119</b>	白血球の OPZ 貪食時の細胞内顆粒の flavocytochrome b558 (Ce) と myeloperoxidase (N) に関する走査型透過電顕 (EDS-STEM) による元素の数値化解析 ○盛口 敬一, 本田 雅規 (愛院大 歯 口腔解剖)
<b>P2-120</b>	Histamine 処理血管内皮細胞の間隙拡張に対する dexmedetomidine の抑制作用について ○戸円 智幸 <sup>1</sup> , 深田 哲也 <sup>1</sup> , 橋本 修一 <sup>2</sup> , 砂田 勝久 <sup>3</sup> (日歯大 生命歯 共同利用研セ アイソトープ研究施設, <sup>2</sup> 日歯大 生命歯, <sup>3</sup> 日歯大 生命歯 麻酔)
<b>P2-121</b>	TNF- $\alpha$ はヒトマクロファージ様細胞の細胞外小胞の分泌を促進する ○鍵谷 忠慶 (岩医大 歯 機能形態)
<b>P2-122</b>	低出力レーザー照射が血管内皮細胞の活性酸素と活性酸素消去酵素に与える影響 ○茂呂祐利子, 原田 卓哉 (奥羽大 歯 放射線診断)

薬理作用・・

<b>P2-123</b>	明海大学歯科医学総合研究所 (M-RIO) の設立一有害作用の少ない口腔疾患治療薬の開発をめざして ○坂上 宏 <sup>1</sup> , 友村美根子 <sup>1,2,3</sup> , 増田 宜子 <sup>1,4</sup> (明海大 歯科医学総合研, <sup>2</sup> 明海大 総合教育セ, <sup>3</sup> 明海大 歯 生化, <sup>4</sup> 明海大 歯 保存治療)
<b>P2-124</b>	骨の健康維持を助ける食品素材のスクリーニングと作用機序の解析 ○柿原 嘉人, 中田 樹里, 佐伯万騎男 (新潟大 院医歯 歯科薬理)
<b>P2-125</b>	骨芽細胞に取り込まれた bisphosphonates はリソソームに集積する ○田島 雅道 (明海大 歯 薬理)
<b>P2-126</b>	ヒト歯肉線維芽細胞においてフェニトインは IL-1 $\alpha$ による mitogen-activated protein kinase の活性化を増強する ○松本 裕子 <sup>1</sup> , 竹内 麗理 <sup>2</sup> (日大松戸歯 薬理, <sup>2</sup> 日大松戸歯 生化)
<b>P2-127</b>	真武湯および人参湯の抗炎症作用メカニズムの検討 ○荒 敏昭, 十川 紀夫 (松歯大 歯科薬理)
<b>P2-128</b>	18 $\alpha$ -グリチルレチン酸を用いた歯肉増殖症の治療に関する基礎研究 ○竹内 麗理 <sup>1</sup> , 松本 裕子 <sup>2</sup> , 平塚 浩一 <sup>1</sup> (日大松戸歯 生化, <sup>2</sup> 日大松戸歯 薬理)

<b>P2-129</b>	<p>ドキシソルビシンのヒト正常口腔ケラチノサイトに対する細胞毒性およびポリフェノール併用の影響  ○生 宏<sup>1,2</sup>, 小川 徹<sup>2</sup>, 庭野 吉己<sup>3</sup>, 佐々木啓一<sup>2</sup>, 立花 克郎<sup>1</sup> (福岡大 医 解剖, <sup>2</sup>東北大 院歯 口腔システム補綴, <sup>3</sup>東北大 院歯 生体適合性計測工学)</p>
<b>P2-130</b>	<p>Metallothionein-4 のグルコシルコリチコイド応答領域  ○今村 泰弘<sup>1</sup>, 十川 千春<sup>2</sup>, 荒 敏昭<sup>1</sup>, 十川 紀夫<sup>1</sup> (松歯大 歯科薬理, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理)</p>
<b>P2-131</b>	<p>テトラヒドロビオプテリンの尿中排出への有機陰イオン輸送体, OAT1 と OAT3, の関与  ○大橋 晶子, 内藤 昌子, 高橋 富久 (日大 歯 解剖 1)</p>



## 抄 録

---

---

ロッテ基金特別講演 (PL-1, PL-2)

ライオン学術賞受賞講演 (L-1, L-2)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (Y-1～Y-4)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS-1～KS-3)

日韓シンポジウム (JKS-1～JKS-4)

先端歯学スクールシンポジウム (MAS-1～MAS-4)

日本学術会議シンポジウム (CS-1～CS-4)

メインシンポジウム (MSA-1～MSF-5)

ランチョンセミナー (LS-1～LS-7)

アップデートシンポジウム (US1～US18)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

---

---

---

**PL-1 Wnt signaling in cortical and trabecular bone: Complex cellular and receptor-ligand interactions**

---

○Roland Baron, Kenichi Nagano, Francesca Gori

Harvard Sch Med and Dent Med, and Massachusetts Gen Hosp, Boston, USA

---

There are several Wnt ligands that are secreted by several cell types in the bone micro-environment. In addition, Wnt ligands function with an entourage of receptors, co-receptors, agonists and antagonists that can enable or prevent activation of Wnt signaling. Furthermore, the ligands and the receptors can activate canonical, non-canonical or both signaling cascades.

Among the ligands, R-spondins (Rspos) are considered activators of canonical Wnt signaling and thereby should exert a positive influence on bone. *Rspo3* is highly expressed in skeletal elements during development and is associated with bone density in GWAS studies. *Rspo3* is expressed in MEFs and in osteoblasts (OBs) and its expression increases during OB differentiation. While global deletion of *Rspo3* results in embryonic lethality, *Rspo3* haplo-insufficiency led to an increase in bone formation rate (BFR) in mice. *Rspo1* null mice also develop high bone mass. *In vitro* haplo-insufficiency of *Rspo3* results in increased OB differentiation. Remarkably, lack of *Rspo3* leads to activation of canonical Wnt signaling. In addition, *Wnt3a* decreases while *Dkk1* increases *Rspo3* expression suggesting a feedback loop regulating *Rspo3* and thereby canonical Wnt signaling. Finally, deletion of one allele of *Dkk1* or overexpression of *Dkk1* in *Rspo3*<sup>+/-</sup> mice aggravates or normalizes the *Rspo3*<sup>+/-</sup> bone phenotype, respectively, confirming activation of canonical Wnt signaling in these mice.

Other examples of the complex interactions involved in Wnt signaling in bone are the effects of deletion of the soluble antagonist SFRP4 or of the Wnt 16 ligand. In both cases, the main phenotype is an increase in osteoclast numbers and activity, mostly due to local activation of non-canonical Wnt signaling, with both direct and indirect effects on osteoclast precursors.

---

---

## PL-2 自然免疫と炎症

---

○審良 静男<sup>1,2</sup>, 佐藤 莊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>阪大 WPI 免疫学フロンティア研究セ

<sup>2</sup>阪大 微生物病研

---

自然免疫は、従来まで非特異的な免疫反応と考えられ、哺乳動物においては獲得免疫の成立までの一時しのぎと考えられてきた。しかし Toll-like receptor (TLR) の発見を通じて、自然免疫がきわめて特異的に病原体を認識することがあきらかとなった。さらに TLR 以外にも病原体の侵入を感知する細胞質内に存在する受容体の存在もあきらかとなった。一方で、これらの受容体が必ずしも病原体だけでなく、内因性のリガンドによっても活性化され、炎症、自己免疫疾患の原因になっている可能性も示唆されている。これらの病原体センサーの活性化が動脈硬化、糖尿病、メタボリック症候群の原因と考えられている。

マクロファージは、食細胞の一種として病原体を貪食・消化するとともに、多量の炎症性サイトカインを分泌し、炎症反応を引き起こし、自然免疫応答において中心的な役割を果たす細胞である。最近、マクロファージもいくつかのサブセットに分かれ、マクロファージが機能的に異なる機能をもつ極めてヘテロな細胞集団であることがあきらかとなりつつある。われわれは、JMJD3 と呼ばれる histone H3 K27 trimethyl-specific demethylase が、寄生虫感染に伴って誘導されてくる M2 マクロファージの分化に必須であることをあきらかにした。その後、Trib1 が、組織常在 M2 様マクロファージの分化に必須であり、この常在マクロファージが脂肪細胞の恒常性維持に必須であることを見出した。最近、肺線維化に関わる単球 SatM (segregated nucleus-containing atypical monocyte) を同定した。SatM は、単球でありながら 2 つに分葉した核と顆粒をもち、顆粒球に特徴的な遺伝子を発現した非定型な単球であることも判明した。本講演では自然免疫の進歩を概説するとともにマクロファージ・単球のサブセットごとの機能的違いを報告したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Innate immunity and inflammation

---

○Shizuo Akira<sup>1,2</sup>, Takashi Satoh<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>WPI Immunol Frontier Res Cent, Osaka Univ

<sup>2</sup>Res Inst for Microb Dis, Osaka Univ

---

Innate immunity was formerly thought to be a non-specific immune response and considered to be the remnant of immune system. However, the discovery of the Toll-like receptors (TLRs) has shown that innate immunity has considerable specificity, and is capable of discriminating between individual species of microbes by TLRs. Subsequent studies have shown the presence of pathogen recognition sensors in the cytoplasm. On the other hand, these pathogen recognition receptors are activated not only by microbial components but also by endogenous ligands, which indicates their role in pathogenesis of chronic sterile inflammation and autoimmune diseases. It is speculated that activation of these receptors is responsible for the cause of atherosclerosis, diabetes mellitus and metabolic syndrome.

Accumulating evidence indicates the existence of distinct macrophage subsets that exert different biological functions. We previously showed that JMJD3, a H3K27me3 demethylase is involved in M2 polarization of macrophages in helminth infection. We also found that Trib-1 knockout mice lack tissue-resident macrophages and show metabolic syndrome, indicating the role of tissue-resident macrophages in the maintenance of adipose tissue homeostasis. Recently we have identified a novel monocyte subset involved in lung fibrosis. I will review innate immunity and talk about the functional difference of macrophage/monocyte subsets.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## L-1 島皮質における口腔顔面感覚の制御機構解明に向けて

---

○小林 真之

日大 歯 薬理

島皮質には顎顔面口腔領域および内臓における多様な感覚情報が収束する。その部位局在性および当該領域の局所回路の特性は、各種感覚情報を高次脳で統合するメカニズムを考える上で極めて重要であるが、詳細な解析はなされておらず不明な点が多く残されている。そこで我々は、島皮質における情報処理メカニズムについて巨視的および微視的視点双方から基礎的研究を行ってきた。巨視的視点からは、島皮質の神経活動を広範な視野で観察できる *in vivo* 標本の作製法を確立し、光学計測法を導入して口腔内の味覚、触圧覚や痛覚、歯根膜感覚、筋感覚などが投射する様式を解明した。一方、微視的視点においては、遺伝子改変ラットの島皮質脳スライス標本を用いて多チャンネル同時ホールセル・パッチクランプ記録法を適用し、口腔感覚情報が投射する領域の局所神経回路の特性および全身麻酔薬をはじめとする薬物による神経回路の修飾機構について明らかにしてきた。これら基礎研究の蓄積によって、島皮質では極めて近接した領域で異なる感覚情報が処理されており、その領域間で生じる興奮伝播は可塑性に富むことが明らかとなってきた。すなわち島皮質では、他の感覚皮質と異なる独自の神経メカニズムで感覚情報を処理していると考えられる。したがって島皮質における神経回路の改変は、口腔機能に関連する様々な病態を惹き起こすと考えられる。そこで現在「歯科疾患が島皮質における感覚情報処理機構を破綻させる機序を解明し、エビデンスに基づいた治療法を開発する」ことを最終目的として、病態モデル動物の作製とその解析に取り組んでいる。これらの研究成果は、病態の神経機構を明らかにして歯科医療にエビデンスを与えると同時に、そのメカニズムの一部を阻害して症状の発現を抑制する新たな治療法の可能性を提示するものである。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Regulatory mechanisms of orofacial sensation in the insular cortex

---

○Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

The insular cortex (IC) plays critical roles in the processing of multiple sensations such as gustation, visceral sensation, and nociception. Although the IC structural organization of these sensations has been elucidated, the mechanism how multiple sensations are integrated is unclear. To answer this question, we have examined excitatory propagation in the IC and adjacent somatosensory cortex using an *in vivo* optical imaging technique. In addition, the physiological and pharmacological profiles of synaptic connections in the IC have been explored by multiple whole-cell patch-clamp recording. Our studies have demonstrated that a part of IC neurons processes multiple sensations, and these IC neurons are closely interconnected by GABAergic synapses. Interestingly, the excitatory propagation is easily potentiated by tetanus stimulation of the IC, suggesting that the IC local circuits are highly plastic. Therefore, disturbance of peripheral inputs from the orofacial region may induce plastic changes in the IC, which may induce abnormal sensation such as hyperalgesia. Now, we are focusing on the mechanisms how the trigeminal nerve injury induces plastic changes in the IC. In this talk, I'll introduce our recent findings of the IC.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## L-2 Wnt シグナルを基盤にした歯槽骨改造機構の解明

---

○小林 泰浩

松歯大 総歯研

骨組織は、形成された後も生涯骨吸収と骨形成を繰り返す。破骨細胞による骨吸収が終わると、それに続いて骨芽細胞による骨形成が誘導される。歯槽骨の改造によって矯正治療に伴い歯が移動する。骨改造機構の解明は、骨代謝研究における長年の課題である。

Wnt は  $\beta$ -カテニンを介する古典経路とそれを介さない非古典経路を活性化する。Wnt 古典経路は、骨芽細胞の分化を誘導するとともに、osteoprotegerin (OPG) の発現を誘導し、破骨細胞分化を抑制する。しかし、骨吸収における Wnt 非古典経路の役割は未解明であった。我々は、(1) 骨芽細胞が Wnt 非古典経路を活性化する Wnt5a を強く発現すること、(2) Wnt5a が、Ror2 受容体に結合し、破骨前駆細胞において RANK の発現を上昇させる。その結果、RANKL による破骨細胞分化を亢進させることを明らかにした。さらに、Ror2 受容体の下流において Daam2-Rho-Pkn3-Src シグナル伝達が破骨細胞の骨吸収活性を制御することを明らかにした。近年、Wnt4 および Wnt16 が破骨前駆細胞に作用し、破骨細胞の分化を抑制することが報告された (Nat Med, 20, 2014)。OPG<sup>-/-</sup>マウスを用いた解析から、Wnt16 は OPG の発現を介さず、破骨細胞分化を抑制することを我々は、明らかにした。一方、Wnt4 は、OPG の発現を介して破骨細胞の分化を抑制すること、また、Wnt5a は Wnt16 による破骨細胞分化抑制作用を阻害することを明らかにした。これらの結果は、Wnt5a と Wnt16 が協働し、厳密に骨吸収を調節することを示している。さらに、骨芽細胞から分泌される Wnt5a が Wnt 古典経路を活性化する共受容体 Lrp5/6 の発現を亢進し、骨芽細胞の分化を促進することを明らかにした。本講演では、Wnt による骨代謝の制御機構について、新たな知見を含め紹介したい。

**【利益相反】** 利益相反はありません。

---

### Clarification of alveolar bone remodeling mechanism based on Wnt signal

---

○Kobayashi Y

Matsumoto Dent Univ, Inst Oral Sci

Bone is continuously remodeled by bone-resorbing osteoclasts and -forming osteoblasts throughout life. This phenomenon is well known as bone remodeling. Bone remodeling is important for orthodontic tooth movements as well as treatments of osteoporosis. Therefore, establishment of molecular mechanism of bone remodeling is a long-standing problem in dental research as well as bone metabolism.

Wnt activates  $\beta$ -catenin-dependent canonical and -independent non-canonical signaling pathways. The activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signals induces the differentiation of osteoblasts and the expression of osteoprotegerin to suppress osteoclast differentiation. However, the role of non-canonical Wnt signals in bone resorption remained unclear. As a result of research on roles of Wnt5a, a non-canonical Wnt in bone resorption, we found that 1) osteoblast lineage cells strongly express Wnt5a; 2) Wnt5a promotes the expression of RANK through Ror2 receptors in osteoclast precursors, which in turn enhanced RANKL-induced osteoclast formation. Furthermore, we found that Wnt5a-Ror2 signals also promotes bone-resorbing activities of osteoclasts. In this lecture, I would like to introduce recent findings on non-canonical Wnt signaling in bone resorption and formation and discuss about roles of Wnt signals in alveolar bone remodeling.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## Y-1 TGF- $\beta$ 1 オートクリン機構とエナメルマトリックス成分

---

○小林 冴子<sup>1</sup>, 山越 康雄<sup>2</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 朝田 芳信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯

<sup>2</sup>鶴大 歯 分子生化

**【目的】**本研究は、形成過程にあるブタエナメル質中のトランスフォーミング増殖因子ベータ 1 (TGF- $\beta$ 1) の動態を明らかにすることを目的とした。**【方法】**生後約 5 ケ月のブタ永久切歯エナメル器を用いて基質形成期, 移行期, 成熟期の潜在型 TGF- $\beta$ 1 (Latent TGF- $\beta$ 1) の遺伝子発現を定量 PCR にて分析した。次にエナメリシン (MMP-20) およびカリクレイン 4 (KLK4) による TGF- $\beta$ 1 の活性化および不活化について調べた。また、同齢のブタ永久大臼歯の幼若エナメル質よりアメロゲニンの分離・精製を行い、TGF- $\beta$ 1 に対する *in vivo* および *in vitro* 相互作用を調べた。さらにブタ永久切歯エナメル器より TGF- $\beta$ 1 受容体 (TGFBR1) を分画し、TGF- $\beta$ 1 との相互作用を時間分解蛍光-蛍光共鳴エネルギー転移法 (TR-FRET) を用いたリン酸化酵素アッセイにて分析した。**【結果】**Latent TGF- $\beta$ 1 はエナメル質形成過程における全ステージで遺伝子発現が認められ、特に移行期で高い発現を示した。TGF- $\beta$ 1 は MMP-20 で活性化され、KLK4 では失活傾向にあった。*In vivo* 相互作用では基質形成期の主要アメロゲニンに TGF- $\beta$ 1 が結合しているタイプが存在することが判明した。*In vitro* 結合実験では、上記精製アメロゲニンにはさらに TGF- $\beta$ 1 と結合できる能力を有していることが判明した。水溶性アメロゲニンを用いた動的な光散乱実験ではアメロゲニン三量体と TGF- $\beta$ 1 (Amel-TGF- $\beta$ 1) がモル比 1:1 で結合していることが判明した。TR-FRET 実験では、Amel-TGF- $\beta$ 1 は TGFBR1 に結合することでシグナル伝達が進行することが示された。**【結論】**エナメル質形成過程における TGF- $\beta$ 1 のオートクリン作用は、エナメルプロテアーゼおよびアメロゲニンとの密接な相互作用の下で行われている。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## TGF- $\beta$ 1 autocrine signaling and enamel matrix components

---

○Kobayashi S<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Asada Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

The **objective** in the present study was to elucidate the dynamics of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) autocrine signaling during enamel formation. **Methods:** The gene expression of latent TGF- $\beta$ 1 was analyzed by quantitative PCR using enamel organ epithelia corresponding to the secretory, transition and maturation stages. Activation or inactivation of TGF- $\beta$ 1 by enamel proteases was evaluated by determining the alkaline phosphatase-inducing activity in human periodontal ligament cells. Both *in vivo* and *in vitro* protein-protein interaction for amelogenins were also analyzed. TGF- $\beta$ 1 signaling was determined by kinase assay with the method of time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR-FRET). **Results:** The latent TGF- $\beta$ 1 was expressed in three stages of ameloblasts. Enamelysin activated TGF- $\beta$ 1, while kallikrein 4 lost its activity. Both *in vivo* and *in vitro* studies revealed that there are amelogenins unbound or bound to TGF- $\beta$ 1 in porcine immature enamel and that the amelogenin-TGF- $\beta$ 1 complex (Amel-TGF- $\beta$ 1) possesses the further binding ability. Moreover, the dynamic light scattering analysis indicated that the binding state of Amel-TGF- $\beta$ 1 corresponds to amelogenin trimer and active TGF- $\beta$ 1 homo dimer with a molar ratio of 1:1. The Amel-TGF- $\beta$ 1 enhanced the FRET signal. **Conclusion:** TGF- $\beta$ 1 autocrine during enamel formation proceeds under the close interaction with enamel proteases and amelogenins.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## Y-2 分子系統解析を利用した *Streptococcus agalactiae* のシアル酸分解酵素の機能解析

○山口 雅也

阪大 院歯 口腔細菌

*Streptococcus agalactiae* は、新生児の細菌性髄膜炎の主たる原因菌である。本菌はシアル酸で修飾された莢膜多糖を産生するにも関わらず、肺炎球菌のシアル酸分解酵素 NanA と相同性の高い分子 NonA を有する。NanA は、髄膜炎の発症に寄与する肺炎球菌の病原因子である。本研究では、*S. agalactiae* における NonA の分子系統ならびに機能解析を行った。

系統関係を解明するため、レンサ球菌の *nanA* 遺伝子のオルソログを検索し、分子系統樹を作成した。その結果、*nanA* 遺伝子オルソログは、肺炎球菌を含む mitis 群レンサ球菌を主とする群と、*Streptococcus iniae* と *S. agalactiae* からなる群に大別された。進化の選択圧を比較したところ、肺炎球菌の *nanA* 遺伝子は変異に強い制約がかかっていたのに対して、*S. agalactiae* の *nanA* 遺伝子は弱い制約下にあることが示唆された。次に、*S. agalactiae* A909 株を親株として *nanA* 欠失株、および *nanA* 欠失株に肺炎球菌の NanA を導入した株を作製し、シアル酸分解能とヒト脳血管内皮細胞への侵入能、ヒト血中における増殖能を比較した。野生株と *nanA* 欠失株はシアル酸分解活性を示さず、表現型に差は認められなかった。一方、NanA 発現 *nanA* 欠失株は高いシアル酸分解活性を呈し、自身の莢膜シアル酸を分解した。さらに NanA 発現 *nanA* 欠失株は、野生株および *nanA* 欠失株と比較して有意に高い脳血管内皮細胞への侵入率を示したが、血液中における増殖能は有意に低下した。マウス髄膜炎モデルにおいて血中と脳内の菌数を比較したところ、脳内の菌数には各菌株とも有意な差が認められなかったが、NanA 発現 *nanA* 欠失株の血中での生存能は両株と比較して有意に低下した。これらの結果から、NonA は進化の過程でシアル酸分解能を失い、*S. agalactiae* の病原性に寄与しないことが示された。また、*S. agalactiae* におけるシアル酸分解活性は、莢膜シアル酸を分解することで菌の生存にとって不利に働くことが示された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

## Functional analysis of sialidase from *Streptococcus agalactiae* based on molecular phylogenetics

○Yamaguchi M

Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

*Streptococcus agalactiae* is a leading cause of bacterial meningitis in newborns. *S. agalactiae* possesses a protein, NonA, with homology to the pneumococcal NanA, known to have sialidase activity and promote blood-brain barrier penetration. In the present study, we analyzed the function of NonA in the pathogenesis of *S. agalactiae* infection. Phylogenetic analysis revealed that *S. agalactiae* and *Streptococcus iniae* are in the same cluster, while another cluster is composed of mitis group *Streptococcus* including *Streptococcus pneumoniae*. Molecular evolutionary analysis indicated that pneumococcal *nanA* was under stronger negative selection than *nanA*. In addition, *S. agalactiae* wild-type and  $\Delta$ *nanA* strains were found to lack sialidase activity, though forced expression of pneumococcal NanA in *S. agalactiae* induced degradation of the terminal sialic acid on its exopolysaccharide capsule. Deletion of *nanA* did not change the survival rate of *S. agalactiae* following human brain microvascular cell invasion. On the other hand, *S. agalactiae* expressing NanA showed increased invasion of the cells. However, forced expression of NanA removed terminal sialic acid residues from the capsule, thus restricting bacterial proliferation in human blood and in infected mice. We hypothesize that *nanA* has lost enzyme activity, allowing preservation of an effective host survival factor, a sialylated exopolysaccharide capsule.

**Conflicts of interest:** The author has no conflicts of interest to declare in association with this study.

---

### Y-3 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<sup>1</sup>, 工藤 保誠<sup>2</sup>, 石丸 直澄<sup>2</sup>, 船木 真理<sup>3</sup>

<sup>1</sup>国立長寿医療研究セ 口腔疾患研究

<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔分子病態

<sup>3</sup>徳大 病院 糖尿病対策セ

---

【背景】2型糖尿病に代表される生活習慣病のリスク要因として内臓脂肪の増大があり、この脂肪組織からの過剰な遊離脂肪酸の放出により慢性炎症を惹起すると考えられている。特に飽和脂肪酸は、Toll様受容体(TLR)を介し、炎症を惹起することが近年明らかになっている。飽和脂肪酸であるパルミチン酸は、CD36を介して細胞内に取り込まれることが知られており、CD36がTLRsと共に働き、慢性炎症を惹起することも報告されている。これまでに、飽和脂肪酸が糖尿病や心血管疾患の病態形成に関与することが明らかになっているが、歯周病への影響は不明である。【目的】本研究では1)歯周組織におけるCD36発現、ヒト歯肉線維芽細胞(HGF)における2)飽和脂肪酸の炎症性サイトカイン産生に対する影響およびCD36阻害剤の効果、3)飽和脂肪酸と*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) LPSまたは死菌体による共刺激の影響について解析した。【方法】高脂肪食負荷(HFD)マウスの歯周組織におけるCD36発現を免疫組織化学染色法で解析した。HGFにおけるパルミチン酸、CD36阻害剤、*P.g* LPSまたは死菌体の炎症性サイトカイン産生におよぼす影響を、mRNAあるいはタンパクレベルで検討した。【結果と考察】1)HFDマウス歯肉線維芽細胞におけるCD36発現は野生型マウスと比較し、発現が有意に上昇していた。2)HGFにおいてパルミチン酸はIL-6, IL-8, CXCL1等のサイトカイン産生を誘導し、CD36阻害剤により有意に抑制された。3)パルミチン酸刺激によるサイトカイン産生は、*P.g* LPSまたは死菌体と共刺激することにより増強した。これら結果から、飽和脂肪酸を介した脂質代謝異常の歯周病への影響が示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Possible involvement of saturated fatty acids in pathogenesis of periodontitis

---

○Shikama Y<sup>1</sup>, Kudo Y<sup>2</sup>, Ishimaru N<sup>2</sup>, Funaki M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Dis Res, Natl Cent Geriatr Gerontol

<sup>2</sup>Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>3</sup>Clin Res Cent for Diabetes, Tokushima Univ Hosp

---

Type 2 diabetes (T2D) is characterized by decreased insulin sensitivity and higher concentrations of free fatty acids (FFA) in plasma. Among FFA, saturated fatty acids (SFA), such as palmitate (Pal), have been proposed to promote inflammatory responses. However, little is known about the clinical significance of SFAs in periodontitis. In this study, we showed that: i) Human gingival fibroblasts (HGF) have cell-surface expression of CD36, which is also known as fatty acid translocase. ii) Pal induces pro-inflammatory cytokines secretion in HGF. iii) *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) LPS and heat killed *P.g* augmented Pal-induced cytokines secretion in HGF. These results suggest a potential link between SFA in plasma and the pathogenesis of periodontitis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## Y-4 Shh/Ptch と EGF/ErbB シグナルは協調的に顎下腺分枝形態形成を調節する

---

○水越 堅詞

朝日大 歯 薬理

分枝形態形成は器官形成における重要なメカニズムであり、様々な因子により時間空間的に制御されている。唾液腺を含む肺、腎臓などの多くの器官は、上皮と間葉の間の分子機構、すなわち上皮-間葉相互作用によって分枝形態形成を進行させる。現在、EGF、FGF など多くの成長因子が顎下腺原基の分枝形態形成を調節すると考えられているが、これらの因子間の相互作用については不明な点が多い。一方、ヘッジホッグファミリーである Shh は、器官発生の際に働く重要なモルフォゲンとして唾液腺、膵臓、腎臓など、多くの器官形成に関与していることが知られており、Shh 欠損マウスでは唾液腺の異常な発達過程を示すことも報告されている。本研究では、ともに分枝形態形成を促進的に制御する Shh/Ptch と EGF/ErbB シグナルの關係に着目し検討を行った。その結果、Shh は顎下腺原基の分枝形態形成を促進するが、この促進効果は EGFR タンパク質の合成とリン酸化の亢進によることが分かった。また、real time RT-PCR の結果から、顎下腺原基を Shh で処理すると EGFR ファミリー (*ErbB1*, *ErbB2* および *ErbB3*) の mRNA が上皮で、EGF リガンドファミリー (*Egf*, *Tgf- $\alpha$*  および *Nrg1*) の mRNA が間葉で特異的に増加することが分かった。さらに、Shh シグナルの転写因子である *Gli1* の mRNA も増加していることが分かった。以上の結果より、Shh は *Gli1* の発現を上昇させ、間葉における EGF ligand の発現上昇と上皮における ErbB 量を増加させることにより EGF/EGFR (ErbB) シグナルを活性化し分枝形態形成を促進させることが明らかになった。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Shh/Ptch and EGF/ErbB signals cooperatively regulate branching morphogenesis of fetal mouse submandibular glands

---

○Mizukoshi K

Dept Pharmacol Asahi Univ Sch Dent

Branching morphogenesis (BrM) is a basic developmental process for formation of many organs, such as the lungs, the kidney and all exocrine glands including salivary glands, driven by epithelio-mesenchymal interactions. The fundamental processes of epithelio-mesenchymal interactions depend both on a variety of growth factors and their receptors, such as EGF ligands and EGF receptors (ErbB) and FGF and FGF receptors. Hedgehog family including Shh are well known as a morphogen that plays many important roles during development of numerous organs including salivary glands. In this study, we investigated the relationship between Shh/Ptch and EGF/ErbB signals of developing fetal mouse SMG. Shh significantly stimulated BrM and induced phosphorylations of ErbB1 and ERK1/2 in SMG rudiments. Shh also significantly induced mRNA syntheses for EGF ligand and ErbB family. Induction of mRNA level of *Egf* was specific in mesenchyme and inductions of mRNA levels for *ErbB1*, *ErbB2* and *ErbB3* were specific in epithelium of SMG rudiments. *Gli1* transcription factor level was dramatically elevated by administrations of Shh to cultured SMG rudiments. These results suggested that Shh stimulates BrM of fetal mouse SMG through an activation of EGF/ErbB/ERK1/2 signaling systems, and the stimulations by Shh may be regulated by the transcription factor, *Gli1*.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## KS-1 アルツハイマー病発症機構の解明と創薬研究における新たな展開

---

○富田 泰輔

東大 院薬 機能病態

アルツハイマー病 (AD) の病理学的な特徴として著明な神経細胞死に加え、アミロイドβタンパク (Aβ) を主要構成成分とする老人斑, そしてタウからなる神経原線維変化が知られている. これまでの解析から, 脳内 Aβ 量の慢性的な増加が神経細胞内のタウ蓄積病態を招来し, 神経細胞死を惹起するという発症メカニズムが考えられてきた. しかし特にこれまでに精力的に進められた脳内 Aβ 量の低下を目指した治療法開発については成功していない. その理由として, 老人斑の蓄積は AD 発症の 10~20 年以上前から開始しており, 認知症と診断された際には脳内 Aβ 量の低下による神経機能の回復が見込めないと想定されている. そこで抗 Aβ 療法については, AD 発症高リスク保因者に対して発症前に介入する先制医療としての開発が行われている. 一方, Aβ からタウ, 神経細胞死へと繋がるメカニズムについては未だに不明な点が多い. 近年, 急速に進んだゲノムワイド関連解析から, 非神経細胞であるグリア細胞が介在する脂質代謝経路や炎症反応経路が AD 発症リスクに大きく寄与していることが明らかとなってきた. すなわち, 慢性疾患として AD を捉え, 発症機構において Aβ やタウが引き起こす「Cellular Phase」の理解が必要と考えられるようになり, その解明は画期的創薬につながる可能性が期待されている. 我々は最近, Aβ によりアストロサイトにおいて発現誘導される炎症性プロテアーゼ KLK7 が脳内 Aβ 量および神経変性を制御していることを明らかとし, Cellular Phase における新たな創薬標的分子となる可能性を見出した.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Novel insights in the pathogenesis and drug development for Alzheimer disease

---

○Tomita T

Lab Neuropathol and Neurosci, Grad Sch Pharm Sci, Univ Tokyo

Pathological features of brains of Alzheimer disease (AD) are massive neuronal loss, senile plaques consisted of amyloid-β protein (Aβ), and neurofibrillary tangles by aggregated tau. Several lines of evidence suggest that chronic increase of brain Aβ level causes the intraneuronal tau aggregation, thereby leading to the neuronal cell death. However, several attempts to develop the effective AD therapeutics by reduction of the brain Aβ levels have been failed. Because the deposition of senile plaques has already started from 10-20 years before onset, brain dysfunction would not be recovered by anti-Aβ therapeutics after the symptoms appeared. Thus, Aβ-targeting therapeutics have been tested as a preemptive/preventive medicine for individuals at high-risk. Moreover, mechanisms connecting Aβ/tau/neuronal death remain unclear. Recently, genome-wide analyses revealed the pathological roles of lipid metabolism and inflammatory response in AD. Thus, in the chronic pathological process of AD, understanding the “Cellular phase” induced by Aβ and tau would be critical for the development of novel therapeutics. We have identified that the expression of inflammatory protease KLK7 in astrocyte is induced by Aβ, and KLK7 regulates the Aβ deposition and neuritic changes in brain. KLK7 might be a novel drug target molecule in the Cellular phase of AD.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **KS-2 The role of infection and inflammation in Alzheimer's disease**

---

○Jessica L. Teeling

Biol Sci, Fac Nat and Environ Sci, Univ Southampton, UK

---

There is growing evidence for a role of microbial infections in the onset and/or progression of a number of chronic neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease (AD). For example, AD patients progress 5x faster when exposed to systemic bacterial infections. While these observations further support a role of the immune system in the pathogenesis of AD, the underlying biological mechanisms by which systemic infections drive disease progression are incompletely understood. We have shown that a real-life bacterial infection with an attenuated bacterial strain of *Salmonella typhimurium* results in long-lasting changes to the blood brain barrier, microglial activation and infiltration of lymphocytes into the brain of adult mice. Using experimental models of AD (Tg2576) we show exaggerated innate immune cell activation in the disease-affected brain regions, and this was associated with increased amyloid load. To explore if systemic infection affects disease progression equally at early and late stage of disease, we next investigated amyloid load, innate immune activation and BBB permeability at different stages of disease (ie. Tg2576 at 12, 16 and 20 months) in the presence or absence of systemic bacterial infection. We will present data on amyloid load at these different stages of disease and explore how plaque load correlates with measures of neuroinflammation, including microglial phenotype and cytokine production. These experiments will allow us to test the hypothesis that environmental stimuli, such as systemic bacterial infections, will contribute to earlier onset and progression of neuronal loss in experimental models, similar as reported in AD patients.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

### KS-3 歯周病菌によるアルツハイマー様病態の発症と原因酵素としてのカテプシン群の役割

○武 洲<sup>1,2</sup>, 中西 博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子

<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

潜伏感染したウイルスや細菌が老化に伴う免疫系の低下により再活性化し、アルツハイマー病 (AD) を引き起こすという「感染症仮説」は 1980 年代に提唱された。一方、1990 年代、慢性的脳炎症が AD の原因となるという「脳炎症仮説」が提唱された。さらに、歯周病が全身性炎症を持続させることで AD 病態の増悪因子となることが提唱され、注目されている。しかし、歯周病が AD 増悪因子となるメカニズムについては不明な点が多い。最近、私たちは主要な歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* (Pg 菌) 由来 LPS を中年マウスに慢性的に全身曝露すると、ミクログリアにおけるリソソーム酵素カテプシン B (CatB) のプロカスパーゼ-1 活性化による IL-1 $\beta$  産生分泌、ニューロンにおける CatB に依存したアミロイド  $\beta$  産生ならびに学習・記憶能低下など AD 様病態が発症することを見出した。さらに、Pg 菌 LPS を慢性的に中年マウスに全身曝露すると、樹状細胞がカテプシン S (CatS) によるプロテアーゼ活性化受容体の活性化を介して IL-6 を産生分泌し、Th17 細胞の分化を促進することで全身性炎症を増幅することを突止めた。一方、Pg 菌 LPS によるこのような変化は若齢マウス、中年 CatB 欠損マウスならびに中年 CatS 欠損マウスでは認められなかった。これらの結果から中年マウスでは Pg 菌感染に伴い、CatS は全身性に炎症シグナルを増幅することで脳への炎症シグナル伝達を促進し、さらに CatB は脳内における炎症シグナルを増幅することで AD 様病態を引き起こすと考えられる。AD 発症の 5 年前にはアミロイド  $\beta$  の蓄積はピークとなり海馬の体積の減少も進み、軽い物忘れが始まる。このため AD が一旦発症すると治療は極めて困難であり、AD の発症や進行を遅らせるための歯科治療からのアプローチの確立は大きな意義があると考えられる。また歯周病の予防治療に加え、CatB ならびに CatS の特異的阻害剤が歯周病による AD の発症や増悪を阻む可能性についても考察する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Critical roles of cathepsins in linking between periodontal disease and Alzheimer's disease

○Wu Z<sup>1,2</sup>, Nakanishi H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ

<sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

A number of clinical and experimental studies have revealed a strong association between periodontitis and accelerated cognitive decline in Alzheimer's disease (AD), however, the mechanism of the association still remains unknown. Recently, we have shown for the first time that chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* (PgLPS) induces AD-like phenotypes, including neuroinflammation through activation of microglia, accumulation of amyloid  $\beta$  and impairment of learning and memory in middle-aged mice, but not in young mice. Furthermore, cathepsin B (CatB), a lysosomal cysteine protease, plays critical roles for inducing these AD-like phenotypes. More recently, we have revealed that chronic systemic exposure to PgLPS amplifies CatS-dependent systemic inflammation by facilitating the differentiation of Th17 cells through activation of dendritic cells in middle-aged mice, but not in young mice. Therefore, both CatB and CatS play critical roles in the link between periodontitis and AD. At 5 years prior to symptom onset, accumulation of amyloid  $\beta$  in the brain peak and hippocampal volume is severely reduced. Therefore, effective management of periodontitis is a potential alternative approach to preventing and ameliorating AD. In addition to the dental approaches, CatB and CatS may be therapeutic targets for preventing periodontitis-associated AD.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## JKS-1 歯の外的侵襲後の歯髄修復機構と歯髄幹細胞の特性

---

○大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

生物のもつ最も生命らしい現象の一つに再生がある。我々のからだは、外傷や切断などの物理的損傷に対しての治癒能力を備えており、その傷を受けた場所に応じて修復し、元通りに再生する。この様な再生現象において、細胞が作り出されるかなめの部分には組織幹細胞 adult stem cells (体性幹細胞) が存在する。歯科領域においても、う蝕、咬耗・摩耗、歯の切削で、歯髄内では局所的に象牙質が形成される様に、歯髄が高い修復能力をもつことは良く知られた事実である。これまで我々は、ラット、マウスを用いた歯の切削、再植、移植等の歯の損傷動物実験モデルを用いて、外的侵襲後の歯髄治癒メカニズムを検索してきた。また、根尖孔が開いた歯根形成期の歯の再植や移植後に歯髄は治癒することが知られているが、その治癒過程においては、歯髄内には象牙質に加え、骨が形成される場合がある。

歯の損傷後に歯髄が高い修復能力をもっているのは、間違いなく局所に存在する細胞の分化能に因るところが大きい。歯髄修復に関わる細胞の供給源になるのは歯髄幹細胞である。我々は、幹細胞の特徴である非対称分裂(細胞分裂後に幹細胞と一時的増幅細胞に分かれる特性)を利用して幹細胞をラベルし、*in vivo* 損傷モデル実験と組合せ、歯髄における組織幹細胞の局在とその分化能について明らかにしてきた。その結果をベースに、従来考えられていたものと異なる歯の損傷後の歯髄修復メカニズムの新規仮説を提唱した。この仮説においては、歯髄には細胞増殖せずに象牙芽細胞(最前線部隊)に分化する前駆細胞(後方部隊)と増殖後直接象牙芽細胞に分化する歯髄幹細胞(本隊)が存在し、損傷の程度によって異なる修復メカニズムが働くと考えられる。局所に存在する細胞の分化能と細胞間シグナルの相互作用によって規定される再生の場の理解、そして歯髄治癒過程における組織幹細胞の動態と分化能・維持機構の理解が、歯髄の再生医療具現化の重要なステップであると考えられる。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Pulpal healing mechanism after exogenous tooth injuries and characteristics of dental pulp stem cells

---

○Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Dentin-pulp complex is capable of repair after tooth injuries such as caries, attrition, abrasion, and dental procedures including cavity preparation, resulting in tertiary dentin formation. Adult stem cells are of paramount importance for physiological tissue renewal and regeneration following injury. To elucidate the biological property of dental pulp stem cells, their localization *in vivo* has been one of the most important subjects in dental pulp biology. Recently, we demonstrated the existence of slow-cycling long-term label-retaining cells (LRCs), or putative adult stem/progenitor cells, which reside in the dental pulp. Using several tooth injury models such as cavity preparation, tooth replantation, tooth or tooth crown transplantation, and tooth germ transplantation, we have clarified the dynamics and differentiation capacity of LRCs postoperatively. On the basis of these findings, we proposed the new hypothesis that both progenitors and stem cells are equipped in the dental pulp and that the stem cells with proliferative capacity play crucial roles in the pulpal healing process following the exogenous stimuli in cooperation with the progenitors. Our understanding of pulpal healing mechanism after exogenous tooth injuries and characteristics of dental pulp stem cells would lead to the essential step for the realization of regenerative dentistry.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **JKS-2 Role of CPNE7 in odontoblast differentiation and dentin formation**

---

○Joo-Cheol Park

Dept Oral Histol-Dev Biol, Sch Dent, Seoul Natl Univ

---

Tooth development involves sequential interactions between dental epithelial and mesenchymal cells. Circumstances like caries, abrasion, trauma, and etc., may cause tooth dentin or pulp exposures. Proper capping materials should be applied to such exposure sites to preserve pulp vitality and eliminate dental pain. Our previous study demonstrated that Cpne7, identified in preameloblast-conditioned medium, induces odontoblast differentiation and mineralization *in vitro*, and promoted tertiary dentin formation in beagle dog IPC (indirect pulp capping) model. The aim of this study is to investigate the effects of CPNE7 in odontoblast differentiation and dentin formation *in vitro* and *in vivo*.

Artificial tooth defects in varying depths were generated in beagle premolars. For hypersensitivity model, the dentin exposure was left open after treating rhCpne7, while for DPC (direct pulp capping) model, composite resin filling followed treating rhCPNE7 and MTA. Tertiary dentin formation was histologically evaluated 3 weeks after the experiment.

Cpne7 induced odontoblast differentiation and promoted formation of dentin/pulp-like tissue with formation of tubular dentin *in vivo* in dental or non-dental mesenchymal cells. We observed tertiary dentin formation in both the hypersensitivity and DPC model. The regenerated dentin showed the characteristics of physiologic dentin. In hypersensitivity model, dentinal tubule structure was clearly observed beneath the remaining dentin. In DPC model, tubular dentin structure was observed instead of bone-like osteodentin commonly formed in MTA capping. These results suggest Cpne7 is a diffusible signaling molecule that is secreted by preameloblasts and regulates the differentiation of mesenchymal cells into odontoblasts. Therefore, regulation of Cpne7 expression in mesenchymal stem cells could be a novel therapeutic approach for the treatment of diseased dentin-pulp complex. In addition, Cpne7 may serve as a potent capping material for pulp exposure and remediating agent for dentin hypersensitivity.

The author indicates no potential conflicts of interest.

1. Choung HW, Lee J-H, Shon WJ, Lee JH, Y. Ku, Park JC. Tertiary dentin formation after indirect pulp capping using protein CPNE7. *J Dent Res.* 95(8):906-912, 2016.
  2. Oh HJ, Choung HW, Lee HK, Park SJ, Lee JH, Lee DS, Seo BM, Park JC. CPNE7, a preameloblast-derived factor, regulates odontoblastic differentiation of mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 37:208-217, 2015.
-

---

### **JKS-3 Calcium signaling in odontogenic differentiation and reparative dentin regeneration**

---

○Reuben H. Kim

The Shapiro Family Lab Viral Oncol and Aging Res, UCLA Sch Dent

---

Caries removal frequently leads to pulp exposure, and direct pulp-capping procedure is often performed on the exposed pulp in order to regenerate reparative dentin, a physical barrier that functions as a “biological seal” to protect the underlying pulp tissues<sup>1</sup>. Although direct pulp capping has been practiced for many decades in dentistry, close to half of the dental practitioners still prefer complete pulp removal due to its unpredictable clinical outcomes<sup>2</sup>, and the underlying mechanism of reparative dentin formation still remains poorly understood. Calcium ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ), one of the major releasable constituents of pulp-capping materials such as calcium hydroxide (CH) or hydraulic calcium-silicate cements (HCSCs), play important roles in mineralized tissues not only by functioning as a structural component of hydroxyapatite but also by mediating intracellular signaling pathways that are involved in maintenance and regulation of cell's normal biological processes<sup>3,4</sup>. Recently, we reported that ORAI1, an essential subunit of the  $\text{Ca}^{2+}$  channels that regulates  $\text{Ca}^{2+}$  influx *via* the store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry (SOCE) mechanism in most non-excitable cells<sup>5</sup>, is required for odontogenic differentiation and mineralization of dental pulp cells (DPCs) both *in vitro* and *in vivo*<sup>6,7</sup>. In this lecture, we will discuss the role of calcium signaling in odontogenic differentiation and its implication in regenerating reparative dentin at the clinical level.

[1] Song M, Yu B, Kim S, Hayashi M, Smith C, Sohn S, Kim E, Lim J, Stevenson RG, Kim RH: Clinical and Molecular Perspectives of Reparative Dentin Formation: Lessons Learned from Pulp-Capping Materials and the Emerging Roles of Calcium. *Dent Clin North Am* 2017, 61:93-110.

[2] Stangvaltaite L, Kundzina R, Bolstad NL, Eriksen HM, Kerosuo E: Deep carious lesions and other consequences of caries among 18-year-olds at Public Dental Health Service in Northern Norway: A cross-sectional age cohort study. *Acta Odontol Scand* 2015, 73:401-7.

[3] Apati A, Paszty K, Erdei Z, Szebenyi K, Homolya L, Sarkadi B: Calcium signaling in pluripotent stem cells. *Mol Cell Endocrinol* 2012, 353:57-67.

[4] Tonelli FM, Santos AK, Gomes DA, da Silva SL, Gomes KN, Ladeira LO, Resende RR: Stem cells and calcium signaling. *Adv Exp Med Biol* 2012, 740:891-916.

[5] Prakriya M, Feske S, Gwack Y, Srikanth S, Rao A, Hogan PG: Orai1 is an essential pore subunit of the CRAC channel. *Nature* 2006, 443:230-3.

[6] Sohn S, Park Y, Srikanth S, Arai A, Song M, Yu B, Shin KH, Kang MK, Wang C, Gwack Y, Park NH, Kim RH: The Role of ORAI1 in the Odontogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells. *J Dent Res* 2015, 94:1560-7.

[7] Lee SH, Park Y, Song M, Srikanth S, Kim S, Kang MK, Gwack Y, Park NH, Kim RH, Shin KH: Orai1 mediates osteogenic differentiation via BMP signaling pathway in bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016.

---

## JKS-4 象牙芽細胞分化と Wnt シグナリング—新たな象牙質の再生療法を目指して—

○山城 隆

阪大 院歯 矯正

象牙芽細胞の分化は歯原性上皮との間で生じる上皮間葉相互作用によって空間的、時間的に極めて精密に制御・維持されている。そのため、象牙芽細胞分化の分子機構の解明には、分化を誘導するシグナル分子の特定とともに、細胞の足場や細胞周辺の微小環境の理解が重要である。我々は Wnt10a が象牙芽細胞に特異的に強く発現することに着目したところ、*in vitro* において Wnt10a が *Dspp* の発現を活性化し、象牙芽細胞への分化の制御に関与することを見出した。特に、古典的 Wnt シグナル経路を活性化することが知られている塩化リチウムを作用させると、*Dspp* の発現が優位に亢進した。さらに、歯の発生における Wnt シグナルの制御において、ヘパラン硫酸の硫酸基の修飾について注目したところ、ヘパラン硫酸の硫酸基の状態が象牙芽細胞の分化によって変化すること、6-O-硫酸基を選択的に取り除くスルファターゼ遺伝子のヌル変異動物の象牙質の形成が著しく阻害されることを見出した。また、ヘパラン硫酸の硫酸基を可逆的に分解する過塩素酸ナトリウムが、象牙芽細胞株において Wnt シグナルを介して *Dspp* の発現を活性化させることを見出した。過塩素酸ナトリウムはヘパラン硫酸の硫酸化を阻止することで、過塩素酸ナトリウムが Wnt を細胞膜や基底膜から外し、受容体に結合可能な環境をつくることで、象牙芽細胞の分化を直接促進させると考えられる。これらの所見をもとに、過塩素酸ナトリウムや塩化リチウムを歯髄に直接作用させる覆髄材として処方することで歯髄細胞から象牙芽細胞へ効率的な分化を誘導し、象牙質の再生を促す再生医療を考案した。その結果、ラットの歯において過塩素酸ナトリウムが象牙質の形成を促進することは確認された。特に、新たに申請された修復象牙質には象牙細管が認められた。一方、過塩素酸ナトリウムも、象牙質の形成を誘導することを見出した。歯の発生における分子機構が解き明かされることで、新たな象牙質再生が応用される日が近いと思われる。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Odontoblast differentiation and Wnt signaling; Basis for the biomimetic regeneration of dentin

○Yamashiro T

Dept Orthodont Dentofac Orthop, Grad Sch Dent, Osaka Univ

Dentin sialophosphoprotein (DSPP) is specifically abundant in dentin and much less so in bone tissues. In humans, mutations in DSPP result in defective dentin mineralization. In mice, *Dspp null* mutant molars display a reduced dentin thickness and hypomineralization. We previously found that the *Dspp* expression is activated by WNT10a *in vitro*. Wnt10a is expressed in the epithelial secondary enamel knots, and that this expression shifted to the underlying mesenchymal cells. The timing and location of this shift corresponds to the initiation of the polarization of preodontoblasts. Interestingly, the cell surface sulfation of HSPGs affects the Wnt canonical signaling pathway and consequently regulates *Dspp* expression in odontogenic cells. Indeed, the double null mutation of *Sulf1* and *Sulf2* genes, both of which encode endosulfatase and modify the affinity of the cell surface HSPGs for Wnt ligands, exhibited a defective dentin matrix formation with downregulated Wnt canonical signaling pathway. Based on such findings, we employed a biomimicry approach using the topical application of LiCl on the amputated pulp surface to achieve transdifferentiation toward odontoblasts from surrounding progenitor cells and subsequent dentin regeneration. We found that novel pulp capping approach using LiCl efficiently achieved dentin regeneration *in vivo*.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## MAS-1 転写因子による内軟骨性骨化の制御

---

○波多 賢二, 高畑 佳史, 村上 智彦, 西村 理行

阪大 院菌 生化

軟骨細胞が主体となる内軟骨性骨化は、ヒトの大部分の骨格形成を担う骨化様式の一つである。内軟骨性骨化は、未分化間葉系細胞から始まる静止軟骨細胞、増殖軟骨細胞、肥大化軟骨細胞への連続的な分化プログラムにより遂行される。歯科領域において重要な研究対象となる顎顔面の骨格形成過程においては、頭蓋底に存在する頭蓋軟骨結合による内軟骨性骨化が重要な役割を演じており、その異常は上顎の劣成長など様々な発育以上の原因となる。そのため、内軟骨性骨化の分子メカニズム解明は、様々な骨格系疾患のメカニズム解明や治療法の開発に重要となる。

内軟骨性骨化は様々な転写因子が協調的または抑制的に相互作用することにより調節されており、その転写ネットワークは非常に複雑である。私たちは、*Col2a1* 遺伝子のエンハンサー活性を指標にしたハイスループットアッセイシステム、軟骨細胞分化能の異なる細胞を用いた RNA-seq 解析さらにはレポーターマウスを用いた In Vivo スクリーニングシステムを駆使し、内軟骨性骨形成に重要な転写因子の同定とその機能的役割の解明を行ってきた。そして、Sox9, Rux2/3 および Ihh-Gli2 シグナルなどと相互作用する内軟骨性骨化に重要な転写ネットワークを明らかにしている。本シンポジウムでは、内軟骨性骨化に関する我々の知見を紹介するとともに、今後解明すべき点も含めて内軟骨性骨化の分子メカニズムについて議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言する

---

## Transcriptional regulation of endochondral bone development

---

○Hata H, Takahata Y, Murakami T, Nishimura R

Dept Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent

Endochondral ossification is critical process for human skeletal development. During endochondral ossification, mesenchymal stem cells differentiate into immature chondrocytes and these cells undergo well-organized sequential steps of differentiation including proliferation, hypertrophy and mineralization. The cranial synchondroses, cartilaginous segments between the ossification centers in the cranial base, play critical roles in the craniofacial development. Thus, to uncover the molecular mechanism of endochondral ossification would contribute to the better understanding of skeletal disorders.

Endochondral ossification is harmoniously regulated by transcriptional network orchestrated by several transcription factors. We have established novel cloning strategy to identify chondrogenic transcription factors and uncover the transcriptional network involved in endochondral ossification. In this symposium, I would like to discuss the transcriptional regulatory mechanism of endochondral ossification.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MAS-2 骨格形成における遺伝子発現制御機構をゲノムスケールで理解する

---

○大庭 伸介

東大 院医 疾セ・臨床医工

組織形成過程の分子メカニズムを正しく理解し、分化・再生誘導刺激のヒントを得ることが組織再生療法への近道であると考えられる。この観点から、我々は最近、次世代シーケンサーを用いたゲノムスケール解析（クロマチン免疫沈降シーケンス、遺伝子発現プロファイリング）を通じて、骨格形成におけるマスター転写因子群が形成する遺伝子制御ネットワークとエピゲノムを理解しようと研究を進めている（*Trends in Genetics*, 2016）。その結果、骨格形成のマスター転写制御因子である Sox9 と Sp7 が結合する領域と結合様式、及び候補標的遺伝子に関してゲノムスケールで得られた情報に基づいて、それらの特徴的な作動様式を提唱するに至った。Sox9 に関しては、基本転写装置を介した間接的な結合により軟骨細胞の基礎活動に関与する一方、二量体を形成し、低親和性・準最適化モチーフを介して複数の遠位エンハンサー領域へ結合することで、軟骨関連遺伝子の発現を高レベルで維持すると考えられた（*Cell Reports*, 2015; *Development*, 2016）。Sp7 については、他の Sp ファミリー転写因子群と異なり、ホメオボックス転写因子を介して間接的にゲノム DNA に作用することで、骨芽細胞の分化に関わる遺伝子の発現を調節することが示唆された。また、Sp7 とその作動様式は脊椎動物に特徴的であることが分かり、進化の過程で骨芽細胞の出現に伴って獲得されたと考えられた（*Developmental Cell*, 2016）。本発表では、一連の知見を紹介しながら、こうした研究手法の限界や今後の展望についても議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Genome-scale understanding of gene regulatory landscape during skeletal formation

---

○Ohba S

Dept Clin Biotech, CDBIM, Univ Tokyo Grad Sch Med

Correct understanding of molecular mechanisms underlying tissue formation leads to development of efficient strategies for tissue regeneration, allowing us to choose appropriate differentiation/regeneration-inducing stimuli. From this viewpoint, we are currently studying epigenome and gene regulatory network, with which master transcriptional regulators are intertwined during skeletal formation (reviewed in *Trends in Genetics*, 2016). Here we take advantage of genome-scale analyses with next-generation sequencers, i. e., chromatin immunoprecipitation-sequencing and transcriptional profiling. Genome-scale information on binding sites, binding manners, and potential target genes led us to propose distinct modes of action of Sox9 and Sp7, master regulators in skeletal formation, as follows: Sox9 binds to multiple distal enhancers through sub-optimal, low affinity dimer motifs in order to ensure appropriate expression of chondrocyte genes, whereas it also engages basal cell activities indirectly through the basal transcriptional complex (*Cell Reports*, 2015; *Development*, 2016). Sp7, unlike other Sp family members, binds to genomic DNA indirectly through homeodomain transcription factors to regulate osteoblast-related gene expression; the acquisition of Sp7 is likely coupled to the emergence of osteoblasts in the vertebrate evolutionary process (*Developmental Cell*, 2016). This presentation will review these data, offering discussion on limitation and future perspective of genome-scale approaches.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### MAS-3 骨髄間葉系幹細胞による骨代謝調節機構の解析

---

○溝口 利英

松歯大 総歯研

骨髄間葉系幹細胞(BM-MSC)は、自己複製能と多分化能を持つ。したがって、骨芽細胞の供給源としてBM-MSCが生涯にわたり機能すると考えられている訳であるが、その骨代謝に対する重要性については十分な理解は得られていない。そこで我々は、マウスの発生過程におけるBM-MSCの起源となる細胞をフェイトマッピング解析により捕らえることを試みた(*Dev Cell* 29:340, 2014)。その結果、新生仔期におけるOsterix(Osx)陽性細胞の一部が、成体のBM-MSCに寄与することが明らかになった。Osx陽性細胞に由来するBM-MSCは、レプチン受容体(LepR)陽性細胞として血管に近接した場所に局在した。LepR陽性細胞は成長にともない骨芽細胞および脂肪細胞に分化した。一方、BM-MSCの軟骨細胞への寄与は、発生段階には認められないものの、骨折治癒過程においては確認された。

さらに我々は、LepR陽性細胞の子孫細胞への分化に対する骨粗鬆症治療薬[副甲状腺ホルモン: PTH(1-34)]の作用を調べた。その結果、PTH(1-34)は、LepR陽性細胞の骨芽細胞への分化を亢進することが示された(*Sci Rep* 2017 in press)。さらに興味深いことに、PTH(1-34)は骨髄の脂肪細胞を減少させた。すなわち、PTH(1-34)は、LepR陽性細胞の子孫細胞への分化の方向性を脂肪細胞から骨芽細胞側にスイッチすることにより骨粗鬆症の改善効果を発揮することが示唆された。本講演では、以上の所見を基に、BM-MSCの骨代謝に対する重要性を議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Analysis of contribution of bone marrow mesenchymal stem cells on bone metabolism

---

○Mizoguchi T

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

Bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSC) have self-renewal and multi-lineage differentiation potential. Although one of the roles of BM-MSC is to be a source of osteoblasts throughout the life time, the necessity of BM-MSC for bone metabolism is still not clear.

Previously, we tried to identify the developmental origin of BM-MSC using genetic mouse models (*Dev Cell* 29:340, 2014). *In vivo* fate mapping analyses revealed that part of Osterix (Osx)<sup>+</sup> cells in the neonatal stage contributed to BM-MSC. Osx<sup>+</sup> cells-derived BM-MSC were localized adjacent to blood vessels, and specifically marked by Leptin receptors (LepR). The LepR<sup>+</sup> cells differentiated into osteoblasts and adipocytes with growth. Although there was no contribution of LepR<sup>+</sup> cells to chondrocytes in the developmental stage, the LepR<sup>+</sup> cells-derived chondrocytes were observed in bone fractured callus during the healing process.

Furthermore, we examined the effects of parathyroid hormone (PTH) (1-34), a medicine for treatment of osteoporosis, on lineage differentiation of LepR<sup>+</sup> cells. The contribution of LepR<sup>+</sup> cells into osteoblasts was accelerated in response to PTH (1-34) treatment (*Sci Rep* 2017 in press). Interestingly, PTH (1-34) decreased BM adipocytes, indicating that PTH (1-34) treatment recovers osteoporotic bone tissue by skewing the lineage differentiation of LepR<sup>+</sup> cells from adipocytes toward osteoblasts. Based on the above findings, I will discuss the importance of BM-MSC in bone metabolism in this lecture.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## MAS-4 Scx/Sox9 陽性前駆細胞は腱・靭帯附着部の形成に寄与する

○吉本 由紀<sup>1</sup>, 滝本 晶<sup>2</sup>, 開 祐司<sup>2</sup>, 宿南 知佐<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広大院医歯薬保 基礎生命科学 生体分子機能

<sup>2</sup>京大 ウイルス・再生医学研 生体分子設計

硬組織である骨や歯は、関節や靭帯、縫合などの可動性または不動性の線維結合によって連結されている。また、腱は運動の際に、骨格筋からの収縮力を協調して働く骨へと伝達している。これらの連結を担う強靭な結合組織は顎顔面領域にも存在し、頭蓋骨間の縫合や歯周靭帯、顎関節によって、頭頸部の骨格や歯根の安定性及び可動性が維持されている。骨と腱・靭帯の間の連結部は Enthesis と呼ばれ、胎生期に、まず、硝子軟骨と腱・靭帯と間の連結として形成される。生後の成長過程において、連結部の硝子軟骨は徐々に骨と線維軟骨に置換され、腱・靭帯と骨の間に線維軟骨が介在する Enthesis が完成する。我々は、*Sox9 SRY (sex determining region Y)-box 9 (Sox9)* の Cre リコンビナーゼ (*Cre*) ノックインマウス、及び、*Scleraxis (Scx)* の発現領域において *Cre* を発現するトランスジェニックマウスとレポーターマウスを交配し、細胞の系譜解析を行うことによって、*Scx/Sox9* 陽性前駆細胞が、軟骨-腱・靭帯連結部の形成に寄与することを明らかにした。*Scx* は腱・靭帯の成熟に必要な basic helix-loop-helix 型の転写因子で、*Sox9* は軟骨形成に必須の転写因子である。この系譜解析から、*Scx/Sox9* 陽性前駆細胞は、多分化能を有し、軟骨細胞、靭帯細胞、腱細胞へと分化することも明らかとなった。*Sox9* を *Scx/Sox9* 陽性前駆細胞特異的に欠失させたマウスでは、軟骨-腱・靭帯連結部における硝子軟骨が欠損していた。また、*Scx* 欠失マウスにおいても軟骨-腱・靭帯及び骨-腱・靭帯連結部の成熟不全が認められた。本シンポジウムでは、Enthesis である骨-腱・靭帯連結部の形成過程において、*Scx/Sox9* 陽性前駆細胞が持つ役割について議論する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Scx/Sox9 positive progenitors contribute to entheses formation

○Yoshimoto Y<sup>1</sup>, Takimoto A<sup>2</sup>, Hiraki Y<sup>2</sup>, Shukunami C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Mol Biochem, Basic Life Sci, Inst Biomed Health Sci, Hiroshima Univ

<sup>2</sup>Inst for frontier Life and Med Sci, Cellular Differentiation, Kyoto Univ

The osteotendinous/osteoligamentous junction (OTJ/OLJ), or entheses, is the insertion site where tendons and ligaments attach to bone. During development, the primordial entheses initially develops as the chondrotendinous/chondroligamentous junction (CTJ/CLJ). During the postnatal growth, hyaline cartilage in the CTJ/CLJ is gradually replaced by bone and fibrocartilage to generate the fibrocartilaginous entheses in the OTJ/OLJ. Through the lineage tracing studies using *Rosa-CAG-LSL-tdTomato* reporter mice crossed with *Cre-recombinase (Cre)* knock-in mice of *Sox9 SRY (sex determining region Y)-box 9 (Sox9)* or transgenic mice expressing *Cre* in the *Scleraxis (Scx)* expressing region, we demonstrate that *Scx<sup>+</sup>/Sox9<sup>+</sup>* cells contribute to the establishment of the CTJ/CLJ. *Scx*, a basic helix-loop-helix transcription factor, regulates maturation of tendons and ligaments, while *Sox9* is a key transcription factor for cartilage formation. Our lineage tracing revealed that the *Scx<sup>+</sup>/Sox9<sup>+</sup>* cell pool is a unique multipotent cell population that gives rise to tenocytes, ligamentocytes, and chondrocytes. Conditional inactivation of *Sox9* in *Scx<sup>+</sup>/Sox9<sup>+</sup>* cells resulted in defective hyaline cartilage formation in the CTJ/CLJ. In *Scx* null mice, impaired maturation of the CTJ/CLJ and the OTJ/OLJ is observed. In this symposium, functional implications of the *Scx<sup>+</sup>/Sox9<sup>+</sup>* cell population during entheses formation will be also discussed.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

**CS 日本学術会議シンポジウム**  
**「歯科基礎医学の臨床医歯学への応用と展開」**

---

○山口 朗

日本学術会議歯学委員会基礎系歯学分科会委員長  
東歯大 口腔科学研究セ

---

歯科基礎医学における重要な使命の一つは、その研究成果を臨床へ還元させることである。医学、歯学でトランスレーショナルリサーチ、橋渡し研究という言葉が用いられて久しいが、臨床歯科医学においてそれらが実践された優れた例は未だに少なく、この点を克服することは、今後、歯科医学をさらに発展させるために極めて重要なポイントである。

日本学術会議歯学委員会基礎系歯学分科会が行った我が国の歯科大学・大学歯学部における「基礎系研究分野における教員の出身学部及び大学院生数に関するアンケート調査」で、基礎系研究室では臨床系研究室から多くの大学院生の研究委託を受け、基礎-臨床の連携を図っていることが明らかになった。そのため、トランスレーショナルリサーチを推進するための基本的な研究体制はある程度構築できていると予想される。次のステップとして、基礎と臨床の連携をさらに活性化することを念頭において、今年の第58回歯科基礎医学会総会で日本学術会議シンポジウム「歯学研究における基礎と臨床のシグナル伝達」を開催した。このような背景を踏まえて、本シンポジウムでは、先端的研究を推進している研究者の中から研究内容、研究分野のバランスを配慮して人選した4名の先生方に「歯科基礎医学の臨床医歯学への応用と展開」に関するご講演をいただき、歯科医学におけるトランスレーショナルリサーチの新たな展開を図ることを目的とする。

2015年ノーベル生理学・医学賞受賞者の大村 智先生は「世の中に役に立つか」ということを基準に研究をしてきたとっており、出口志向型の研究体制の重要性を実証している。一方、2016年同受賞者の大隅良典先生は「『役に立つ』という言葉は科学をダメにしていると思っています。本当に役立つのは10年後かもしれないし100年後かもしれない。」とっており、現在の短絡的な出口志向型の研究体制への警鐘を鳴らしている。お二人の名言は、ある意味では両極端とも思えるが、堅実な基礎研究の継続が重要であるという点では共通している。さらに、お二人は共に研究で重要なのは「人まねはしない、人がやらないことをやる」ともいっています。今回のシンポジウムで、これらの点も含めて皆さんが今後の「歯科基礎医学の臨床医学への応用と展開」の方向性を探る一助として下さることを期待しています。

---

---

## CS-1 関節軟骨の生体恒常性の維持および破綻機構の統合的理解に基づく革新的医療技術の開発

---

○西村 理行

阪大 院歯 生化

---

超高齢社会に突入した我が国では、関節疾患、特に変形性関節症の患者数が、増加の一途を辿っている。変形性関節症は、歯科領域でも IV 型顎関節症として発症し、現在までのところ、変形性関節症に対する治療法としては人工関節置換術あるいは消炎鎮痛剤による対症療法しかなく、有効な原因療法は見当たらない。変形性関節症の患者で観察される軟骨細胞の肥大化および軟骨組織の石灰化と分解が、内軟骨性骨形成の過程に近似しているため、これまで多くの研究者は、内軟骨性骨形成の制御機構の解明を通じて、変形性関節症の発症機序の理解に努めてきた。

私たちが、軟骨細胞のマスター遺伝子 Sox9 の転写複合体の構成分子の網羅的同定と機能解析、Sox9 による軟骨細胞の肥大化の抑制機構、軟骨細胞の肥大化に必須である転写因子 Runx2 と Sox9 を連携する分子の同定と機能探索、および転写因子 Osterix による軟骨基質の石灰化および分解の制御メカニズムを明らかにしてきた。

しかしながら、内軟骨性骨形成を司る成長軟骨細胞と関節軟骨細胞が、分子生物学的にも細胞生物学的にも異なる形質を有していることが示されつつある。そこで私たちは、第一に関節軟骨細胞の特性を詳細に解析し、その実態を明らかにすることを目指している。第二に、変形性関節症を誘発する分子を網羅的に探索し、その発症機序の解明を進めている。

本シンポジウムでは、変形性関節症に対する有効な新規治療法と早期診断マーカーを確立し、その社会実装への可能性について議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反を有しません。

---

## Development of innovative medical technology based on integrated understanding of both protection and destruction of articular cartilage homeostasis

---

○Nishimura R

Dept Mol Cell Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Along with super-aged society in Japan, patients of joint diseases, especially osteoarthritis, are increasing. In the dental field, osteoarthritis occurs as type IV of temporomandibular joint disorder. To date, there are no effective therapy for osteoarthritis. Because hypertrophy of chondrocytes and calcification and degradation of cartilage matrices seen in the patients are very similar to events of enchondral ossification, several researchers have been investigating pathogenesis of osteoarthritis based on analyses of regulation of enchondral ossification. We have also identified and analyzed the transcriptional complex formed with Sox9, a master gene for cartilage development, studied mechanisms by which Sox9 negatively regulates hypertrophy of chondrocytes, investigated linkage between Sox9 and Runx2 essential for hypertrophy of chondrocytes, and shown critical roles of Osterix in calcification and degradation of cartilage matrices during enchondral ossification. However, it is getting clearer that articular and growth chondrocytes have distinct cellular and molecular characters. We, therefore, attempt to characterize articular chondrocytes precisely in both cellular and molecular levels, and to investigate molecular mechanisms of osteoarthritis by identifying molecules that lead to osteoarthritis. In this symposium, I would like to discuss development of novel therapeutic methods and early diagnostic markers for osteoarthritis, and possibility that we contribute to social implementation of our studies.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## CS-2 口腔マイクロバイオームの病原性の解明へのアプローチ

---

○山下 喜久

九大 院歯 口腔予防医学

ヒトの口腔には700種を超す細菌種が存在すると報告されており、このように膨大な数の細菌種から齲蝕原因菌や歯周病原菌を特定する試みがこれまでに進められてきた。先人の多大な努力によって、ミュータンスレンサ球菌やレッドコンプレックスを代表とするいくつかの細菌種が口腔病原細菌として特定され、それらの病原性発揮のメカニズムが解明されている。しかしながら、これらの研究では特定の細菌種に疾病発症要因としての重みを置きすぎたきらいがあり、ヒトの口腔における齲蝕や歯周病の実際の発症過程を、これらの細菌の有無だけでは十分に説明できていない。このような従来の「Reductionism」を中心とした研究に加えて、近年さまざまな研究分野で「Holism」の観点から真理を追求することが求められている。次世代シーケンサーの飛躍的な発展によって、細菌学の分野でもエコロジーを探究する研究に大きな注目が集まっており、我々の歯学領域においても、特定の病原性細菌に焦点を絞った歯科疾患の病因論の追求だけでなく、口腔マイクロバイオームの「Dysbiosis」が病態の進展に少なからず影響することを踏まえた新規の病因論が必要となっている。このような時代背景の中、我々の研究室では、12年前より口腔マイクロバイオームの解析に着手し、その解析結果と口腔ならびに全身の健康との関連性の解明を目指してきた。口腔マイクロバイオーム研究に着手した当初は、次世代シーケンサーを使うことすら夢のような時代であり、近年10年間でマイクロバイオーム研究の研究環境は激変している。しかしながら、我が国における口腔マイクロバイオーム研究は世界と比較すると遅れをとっているのが現状である。口腔マイクロバイオーム研究においては、本邦のフロントランナーとして様々な側面から研究に挑戦してきた自負心はあるが、いずれも着手したばかりで、皆様に満足いただけるような十分な結果を得るには至っていない。本シンポジウムでは、これまでの我々の経験とその結果を皆様にご紹介し、さらに皆様からのご意見をいただくことで、今後の我が国における口腔マイクロバイオームのあるべき研究の方向性について考察したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Approach for the elucidation of the pathogenicity of oral microbiome

---

○Yamashita Y

Sect Prev Dent, Div Oral Health, Growth and Dev, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

It is well known that more than 700 bacterial species colonize the human oral cavity and pathogens of dental caries or periodontal diseases have been explored among enormous number of oral bacterial species. Through the great effort of numerous ancient oral microbiologists, some bacteria species, e.g. mutans streptococci and red complex bacteria have been identified as pathogens of oral diseases, and mechanism of expressing their pathogenicity has been elucidated. However, actual clinical process of human oral diseases cannot be fully explained by the presence or the absence of these putative pathogens, because too much weight of virulence focuses on limited bacteria. In addition to a conventional research concept of "Reductionism" described above, pursuing truth based on the viewpoint of "Holism" is recently important in various research fields. The rapid development of the next-generation sequencer made the ecological research attractive in bacteriology. In our dental research field, not only the etiologic pursuit of the dental diseases focusing on some specific pathogens, but also the new concept of etiology on the basis of oral microbiome "Dysbiosis" influencing pathologic process is required. We started research of oral microbiome more than 12 year ago in our laboratory in the background described above and analyzed the relationship between construction of oral microbiome and oral & general health. Oral microbiome study in our country falls behind in comparison with the world average. Although we are proud to be a front-runner of oral microbiome researchers in Japan, it is just the beginning and we do not have confidence to satisfy the audiences' expectation. In this lecture, I introduce our research experience and its outcome, and discuss the desirable direction of oral microbiome research in Japan.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### CS-3 環境因子による自己反応性獲得機構の解明—自己免疫疾患の新たな病因論—

---

○石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

自己免疫疾患は様々な要因が病態に絡む多因子疾患であり、その病因の複雑さのために、多くの自己免疫疾患では根本的な治療法が確立していない。ほとんどの自己免疫疾患患者数は近年増加傾向にあり、遺伝学的な要因よりも環境因子がその病態に大きく影響していることが想定されている。

シェーグレン症候群は唾液腺や涙腺を始めとした外分泌腺を標的とする自己免疫疾患である。その疾患モデルとして、特定のマウス種に自然発症するモデル、他の自己免疫疾患モデルに随伴して発症するモデル、薬剤や手術によって誘導するモデル、免疫関連因子や標的臓器関連の遺伝子組み換えマウスなど多彩なモデルが報告されているが、単一の因子だけでは病態の発症や進展を説明できない。例えば、ある遺伝子の欠損マウスにシェーグレン症候群様の病変が観察されても、加齢的变化、性差などによって発症率には大きな隔たりが存在する。したがって、免疫システムが自己反応性を獲得するまでに、多段階的な病態発症機序が存在していることが考えられている。

本シンポジウムでは、中枢性あるいは末梢性の免疫学的トレランスの破綻に至る過程で、生体を取り巻く複数の環境因子がいかに関与しているのかを、多角的な基礎的研究から得られた知見に基づいて、詳述する予定である。加齢、性ホルモン、自己抗体、T細胞シグナル、ケモカイン、脂質代謝などのキーワードからシェーグレン症候群の病理を解説したい。さらに、これまでに得られた基礎研究から、実際の自己免疫疾患の診断や治療法に向けた臨床応用の可能性についても議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Molecular pathogenesis of autoimmunity through environmental factors—A new etiology of autoimmune disease—

---

○Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Autoimmune disease is a multifactorial disease caused by complicated pathogenesis. Radical treatment of many autoimmune diseases has been not established yet due to the complex pathogenesis. The number of patients with autoimmune diseases has recently been increasing, and the various environmental factors are believed to influence the etiology of autoimmunity in addition to genetic factors.

A variety of models, as models for Sjögren's syndrome (SS), have been reported, including naturally occurring models, drug or operation-induced models, and gene-manipulated models. In addition, any environmental factors, such as aging and sex dimorphism, have effects on the onset or development of autoimmunity during various steps of the SS pathogenesis.

In this symposium, molecular mechanisms of the breakdown of immunological tolerance following autoimmunity will be revealed focusing on aging, sex hormone, autoantibody, T cell signaling, chemokine, and lipid metabolism. Furthermore, the diagnostic or therapeutic strategy for SS based on our research will be discussed.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## CS-4 X線を用いた微量元素分析技術の生体材料評価と生物組織分析・診断への応用

---

○宇尾 基弘

医科歯科大 院医歯 先端材料評価

---

ヒトではFe, Zn, Mn, Cu, Se, I, Mo, Cr, Coの9元素が微量必須であり, これ以外にもSr, Pb, Sn, Ni, As, Vが動物で必須性が明らかにされている。これら微量必須元素は種々の代謝やシグナル伝達に関与し, 生命活動で重要な役割を果たすとされる。逆に金属元素の過剰や通常とは異なる経路での体内への取り込みが生体に害をもたらすこともあり, 金属アレルギーもその一つである。また近年ではシスプラチンを代表とする貴金属を含有する薬剤も注目されている。このように金属元素は生命活動の維持に必要なだけでなく, 疾患の原因にも治療薬にもなるなど, 生体と大きな関わりを持つため, その体内での挙動を調べることは大きな意味を持つ。微量金属元素の分析では一般に組織を酸分解して平均濃度を評価されるが, 基本的に生体組織は不均一な構造であり, 平均濃度では特定領域への元素蓄積など重要な情報が失われることになる。従って組織中での元素分布を調べることは, 新たな有益な情報をもたらすと期待されるが, 反面, 微量元素に対して高い検出感度が求められるため, その分析は容易ではない。

著者は強力で指向性の強いX線源であるシンクロトロン放射光を励起源とした放射光蛍光X線分析(SR-XRF)を用い, 口腔粘膜(金属修復物隣接)や顎骨(MRONJ), 肺(塵肺症), 股関節(人工股関節置換)などの組織中での微量金属元素分布を評価し, 病態と元素分布や濃度との関係性を評価してきた。例えば, 金属修復物に隣接した口腔扁平苔癬組織において歯科用合金由来と推定されるAgなどの微量金属元素を検出し, 溶出金属と疾患との関連を示唆する結果が得られた。

本講演では組織中の微量元素分布の視点からの生体材料の安全性評価や病態分析の可能性について, 高感度元素分布の分析手法を用いた組織中の微量元素分布計測から得られた知見を発表する。

**【利益相反】** 著者は利益相反状態がないことを宣言する。

---

## Application of X-ray related elemental analyses for the estimation of biomaterials and the diagnosis of biological tissues

---

○Uo M

Dept Adv Biomater, Tokyo Med Dent Univ

---

Human tissues require many kinds of trace essential elements that act as catalytic or structural components of various biochemical molecules. In contrast, skin, oral and respiratory mucosa are sometimes exposed to various foreign objects and some of eroded ions or debris may induce various lesions. To reveal the effect of trace elements on the tissue abnormality, highly sensitive elemental analysis method is required. The author applied the synchrotron radiation X-ray fluorescence (SR-XRF) analysis for those tissue analysis. Distribution of trace metallic elements in oral and respiratory mucosa, bone and hip joint tissues could be clearly visualized with using SR-XRF. That suggests the new estimation and diagnosis method of tissues and biomaterials with view point of trace metallic element distribution.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSA-1 進行性骨化性線維異形成症の病態解析に基づく治療薬開発

---

○片桐 岳信

埼玉大 ゲノム研究セ 病態生理

進行性骨化性線維異形成症 (Fibrodysplasia Ossificans Progressiva, FOP) は、成長に伴い全身の骨格筋組織の中で異所性の骨形成が起こる遺伝性の希少疾患で、FOP の異所性骨化に有効な治療法は確立されていない。FOP の異所性骨化は、強力な骨誘導因子として知られる BMP を筋組織に移植した場合と類似していることから、BMP 関連分子の変異が FOP に関与する可能性が指摘されてきた。その結果、2006 年に典型的 FOP 症例から、予想通り BMP の I 型受容体である ALK2 の細胞内領域にアミノ酸置換を起こす遺伝子変異が同定された。FOP 症例から同定された ALK2 変異体は、野生型よりも強い BMP 活性を示す機能獲得型変異であった。ALK2 変異体の解析から、これらは単独で活性を示す構成的活性型変異体というより、微量のリガンド存在下で BMP の II 型受容体による活性化を受けやすい高感受性変異体と考えられた。最近、異所性骨化を誘導しない Activin A が変異 ALK2 のリガンドとして結合し、細胞内で BMP シグナルが活性化される新しい機序が提唱されている。BMP による筋組織の異所性骨化に寄与する軟骨細胞や骨芽細胞は、筋細胞系譜の前駆細胞ではなく、間質に存在する間葉系細胞や腱細胞に由来する可能性が示されている。こうした発見に基づき、FOP の治療薬開発を目指して、さまざまな BMP の細胞内シグナル阻害分子が開発されつつある。本講演では、この 10 年余りの間に急速に進歩した筋組織における異所性骨化に関する研究と FOP の治療薬開発について述べる。

**【利益相反】** 演者は第一三共株式会社より共同研究費を受けた。

---

## Development of therapeutic drugs for fibrodysplasia ossificans progressiva based on pathophysiological research

---

○Katagiri T

Div Pathophysiol, Res Cent for Genomic Med, Saitama Med Univ

Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) is a rare genetic disorder characterized by progressive heterotopic bone formation in soft tissues, such as skeletal muscle, tendon and ligament. There are no effective treatments for preventing heterotopic bone formation in FOP. Bone morphogenetic proteins and their signaling molecules have been suggested to be involved in FOP, because BMPs are potent inducer of heterotopic bone formation in soft tissues. A missense mutation in ALK2, a BMP type I receptor, was identified from patients with FOP in 2006. The mutant ALK2 showed higher BMP activity than that of wild type ALK2, suggesting that they are gain-of-function mutations. Moreover, they are hypersensitive to BMP type II receptor-dependent activation. Chondrocytes and osteoblasts involved in the heterotopic bone formation are derived from interstitial mesenchymal cells rather than myoblast-lineage cells. Various types of inhibitors for ALK2 are studied to develop new therapeutic drugs for FOP.

**Conflict of Interest:** The author received research grants from Daiichi-Sankyo, Co.

---

---

## MSA-2 破骨細胞分化因子 RANKL の発見がもたらしたもの

---

○保田 尚孝

オリエンタル酵母工業 長浜生物科学研

破骨細胞形成抑制因子 OPG, 破骨細胞分化因子 RANKL 及びその受容体 RANK の発見から今日まで, 破骨細胞分化や骨破壊のメカニズム解明が飛躍的に進んだ. 特に最近では完全ヒト RANKL 中和抗体 (denosumab) が開発され, 骨粗鬆症治療薬や癌骨転移による骨病変の治療薬として日欧米はじめ多くの国で臨床応用されている. 本講演では, これまで演者が関わった OPG/RANKL/RANK の発見を振り返り, RANKL 研究がどのようにして医薬品開発に結び付いたのかを概説したい. また, 基礎研究の実施例として研究用試薬 sRANKL や抗マウス RANKL 中和抗体 (OYCI) によるマウスを用いた薬理解析を紹介する.

閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出ラットの作製には, 通常 1ヶ月かかるが, 演者らが開発した sRANKL 投与骨量減少症モデルマウスは, わずか 1~2 日で作製可能である. 既に大手製薬会社にも採用されているが, RANKL 投与マウスは今後の骨量減少症モデルのスタンダードになることを期待している.

一方, 抗 RANKL 中和抗体 (OYCI) の単回投与により, 正常マウスにおいて 4 日で顕著な骨量増加を認めた. 持続的な骨量増加と破骨細胞活性の低下は 4 週間後も観察され, 抗体投与により RANKL の機能をほぼ完全に抑制できた. Denosumab はヒト RANKL を特異的に認識し, マウス RANKL に交差しないので, OYCI はマウス用の denosumab として広く使われている.

最近, 演者らは RANKL 結合性アンタゴニストであるペプチド W9 に新規骨形成促進があることを見出した. この W9 は *in vitro* で骨芽細胞の分化・石灰化を促進し, *in vivo* では骨形成促進作用を示す. 骨芽細胞上の RANKL に結合して逆シグナルを入れている可能性があり, 作用機序の解明は骨形成促進薬創生に道を開くと信じている.

**【利益相反】** 著者は利益相反状態にあります.

---

## Discovery of an osteoclast differentiation factor, RANKL

---

○Yasuda H

Nagahama Inst for Biochem Sci, Oriental Yeast Co., Ltd.

Discovery of RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand) resulted in identification of the mechanisms regulating osteoclast differentiation and function. The discovery contributed to development of a fully human anti-RANKL monoclonal neutralizing antibody (denosumab). Denosumab has been clinically available for treatment of osteoporosis and cancer-induced bone diseases in the US, Europe, Japan and many countries. Because RANKL is the absolute factor for osteoclast differentiation, anti-RANKL antibody is very effective and its application is good news for many patients.

In this presentation I will describe a story from bench to bedside. Discovery of RANKL has opened a new era of bone biology and clinical application in bone diseases.

**Conflict of Interest:** The author declares conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### MSA-3 低ホスファターゼ症の分子病態と治療への展開

---

○道上 敏美

大阪府立病院機構 大阪母子医療センター 研究所 環境影響

骨格の石灰化は、骨芽細胞や成熟軟骨細胞から出芽的に分泌される基質小胞内にカルシウムとリン酸が取り込まれ、形成された hidroキシアパタイト結晶がコラーゲン線維に沈着・成長することにより進行する。基質小胞には高い組織非特異型アルカリホスファターゼ (tissue-nonspecific alkaline phosphatase; TNSALP) 活性が存在し、石灰化抑制因子であるピロリン酸などを分解してリン酸を産生することにより、石灰化を促進する。低ホスファターゼ症 (hypophosphatasia; HPP) は TNSALP をコードする *ALPL* 遺伝子の機能喪失変異にもとづく遺伝性骨疾患であり、骨石灰化障害や骨変形、乳歯早期脱落などの症状を呈する。重症度には幅があり、周産期重症型・周産期良性型・乳児型・小児型・成人型・歯牙限局型の6病型に分類されている。当研究室ではこれまで80例を超えるHPPの遺伝子診断を行い、日本人患者では特有の2つの変異 (c.1559delT, p.F327L) の頻度が高いことを明らかにした。活性を完全に喪失している c.1559delT のホモ接合体は致死的経過を示し、一方、残存活性が高い p.F327L は周産期良性型と関連する。c.1559delT のアレル頻度が高いため、日本では欧米に比べて周産期重症型が多い。近年、骨への親和性を高めた ALP 酵素補充薬 Asfotase alfa が開発され、HPP を取り巻く状況は大きく変化した。日本でも臨床治験および医師主導治験が行われ、2015年7月に世界に先駆けて本薬剤が販売承認され、市販が開始された。今後、重症型 HPP の生命予後は大きく改善することが期待され、歯科の対象となる症例も増加することが推察される。一方、成人型 HPP においてはビスホスフォネート投与が骨軟化症を悪化させることが示されており、注意が必要である。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Molecular pathogenesis of hypophosphatasia and therapeutic advance

---

○Michigami T

Dept Bone and Mineral Res, Res Inst, Osaka Women's and Children's Hosp, Osaka Pref Hosp Organ

Hypophosphatasia (HPP) is an inherited disease caused by loss-of-function mutations in the *ALPL* gene encoding tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP), and is associated with impaired skeletal mineralization, bone deformity and premature loss of baby teeth. HPP is highly variable in its clinical presentation and is classified into six subtypes: perinatal lethal, perinatal benign, infantile, childhood, adult and odonto-type. We have performed *ALPL* mutation analyses in more than 80 patients and have found that two mutations (c.1559delT and p.F327L) are common in Japanese HPP. The c.1559delT mutant ALP has lost its enzymatic activity completely, and its homozygotes exhibit perinatal lethal phenotype. On the other hand, p.F327L retains substantial residual activity and is associated with perinatal benign HPP. Because of high allele frequency of c.1559delT, perinatal lethal HPP is more frequent in Japan than in Western countries. Recently, enzyme replacement therapy using bone-targeted recombinant ALP (Asfotase alfa) was developed and approved in Japan in July 2015, which was the fastest in the world. Thanks to it, the prognosis of severe HPP will be much improved. In adult HPP, administration of bisphosphonate may worsen osteomalacia and should be avoided.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with the manuscript.

---

---

## MSA-4 歯周組織再生剤「リグロス®」誕生—それはひらめきと半信半疑から始まった—

---

○北村 正博, 村上 伸也

阪大 院歯 歯周病分子病態

---

近年“再生医療”に対する期待が高まっています。歯科領域では他の医療分野に先立ち歯周組織再生誘導法（GTR法）がいち早く登場し、既に一部が健康保険に導入されています。しかしながら、GTR法は人工膜を設置するなど技術的に難易度が高く、より簡便で有効な歯周組織再生療法の開発が求められていました。そこで、我々の研究室では、科研製薬（株）との共同研究で、強力な血管新生作用と間葉系細胞の増殖誘導能を有する塩基性線維芽細胞成長因子（FGF-2）を歯周外科処置時に投与することにより歯周組織再生を誘導する、新規の歯周組織再生療法の開発に25年以上前から取り組んできました。すなわち、ビーグル犬やカニクイサルを用いた動物実験でFGF-2の歯周組織再生効果を明らかにするとともに、*in vitro*でFGF-2が歯周組織再生をもたらすメカニズムの解析を行いました。その後、FGF-2の歯周組織再生薬としての有効性と安全性を探索・確認するため、歯周炎患者を対象に臨床研究（治験）を多施設で実施し、歯周組織再生をもたらすFGF-2の至適濃度の決定を行いました。この度、それらの研究成果が結実し、世界初の歯周組織再生用FGF-2製剤として歯周組織再生剤「リグロス®歯科用液キット」が製造販売承認され、昨年12月より販売が開始されました。

今回のシンポジウムでは、「リグロス®」の開発にまつわる一連の基礎研究ならびに臨床試験についてご紹介し、新たに生まれた歯周組織再生療法の選択肢の将来について皆さんとともに考えたいと思います。

**【利益相反】** 演者は利益相反状態にあります。

---

## The development of a new FGF-2 medicine for periodontal regeneration (REGROTH®)—It began with a chanceful idea and a doubtful sense—

---

○Kitamura M, Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Basic fibroblast growth factor (FGF-2) has the strong angiogenic activity and the ability to induce the proliferation of mesenchymal cells. In cooperation with Kaken Pharmaceutical Co., Ltd., we have been working for many years on the development of new periodontal tissue regeneration therapy by applying FGF-2 at the periodontal surgery. We clarified the periodontal regenerative effects of FGF-2 in animal models with beagle dogs and *Macaca fascicularis*, and analyzed the mechanism of periodontal tissue regeneration induced by FGF-2 *in vitro*. Furthermore, the clinical trials were conducted to investigate the effectiveness of FGF-2 as periodontal tissue regenerating medicine in periodontitis patients at multiple facilities and the optimal concentration of FGF-2 for periodontal tissue regeneration was determined.

In December of 2016, "REGROTH® Dental Kit" was approved as the world's first FGF-2 formulation for periodontal tissue regeneration by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan, and began selling. In this symposium, I will introduce a series of basic research and clinical trials related to the development of "REGROTH®". I would like to discuss with you the future of a new option for periodontal tissue regeneration therapy.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **MSB-1 Basic research: Future directions to restore salivary gland hypofunction**

---

○James E. Melvin<sup>1</sup>, Taro Mukaibo<sup>1,2</sup>, Yusuke Kondo<sup>2</sup>, Tetsuji Nakamoto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Secretary Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst Dent Craniofac Res, Natl Inst Health

<sup>2</sup>Dept Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Prosthodont, Matsumoto Dent Univ

---

Saliva protects the health of the hard and soft tissues of the oral cavity and upper gastrointestinal tract by preventing mucositis and opportunistic infections, the increased risks of which are clearly evident in patients suffering from dry mouth. The prevalence of dry mouth is about 20% in the general population with a greater incidence in the elderly. A basic understanding of salivary gland physiology and the pathophysiology associated with dry mouth provides the foundation for the development of treatments that address salivary gland dysfunction caused by a myriad of etiologies, e.g. hypohidrotic ectodermal dysplasia, diabetes mellites, Sjögren's syndrome and iatrogenic-induced dry mouth. Mammalian saliva is primarily secreted by three major pairs of exocrine glands, the parotid, submandibular and sublingual salivary glands. The secretion of fluid and electrolytes by acinar cells and the subsequent NaCl reabsorption in the ducts require the coordinated activity of multiple signaling pathways, and ion transport and channel proteins. Although many of these receptors, transporters and channels are known, the molecular basis for the functional differences between the major salivary glands remains unclear. Importantly, it is underappreciated that the different types of salivary glands are fundamentally unique, and thus, often respond differently to secretagogues and therapeutic agents. To explore these differences, we compared the gene expression and functional properties of the adult murine major salivary glands. The amount of saliva secreted in response to a cholinergic agonist by the major salivary glands differed greatly, i.e. the amount of saliva secreted by the parotid gland was more than 2-fold greater. This appeared to be related to a larger agonist-induced intracellular  $[Ca^{2+}]$  increase and stimulated  $Cl^{-}$  efflux via the  $Ca^{2+}$ -activated  $Cl^{-}$  channel TMEM16A, the major apical  $Cl^{-}$  efflux pathway in salivary acinar cells. On the other hand, the submandibular gland reabsorbed more NaCl than the other glands, and consistent with greater NaCl reabsorption, the submandibular gland expressed higher transcript levels for the cAMP-activated chloride channel/*Cftr* and epithelial sodium channel subunits (ENaC)/*Scnn1*. In summary, transcriptional and functional profiling of the three major murine salivary glands identified differences in gene expression that may underlie the unique gland-specific physiology of these exocrine glands. It may be possible to exploit these differences to target therapies to specific glands, while minimizing side-effects.

---

---

## MSB-2 唾液腺機能障害における再生医療研究の現状

---

○美島 健二

昭大 歯 口腔病理

頭頸部癌の放射線治療後の副作用やシェーグレン症候群でみられる唾液腺機能（分泌）障害では、唾液分泌促進薬の服用が治療法として行われているが、必ずしも奏功しない重症例が少なからず認められる。これらの症例においては、唾液腺実質組織の萎縮・消失が著しく、失われた腺組織を新たに構築する再生医療の応用が期待されている。再生医療の主体である細胞治療では多分化能を有する幹細胞の移入が行われており、これまで放射線照射により唾液腺を損傷した動物モデルにおいて、組織幹細胞、すなわち造血幹細胞（HSC）、間葉系幹細胞（MSC）や唾液腺幹細胞の移入により唾液腺機能が回復することが報告されている。また、そのメカニズムについても解析が進み HSC や MSC においては、これらの細胞より分泌される液性因子を介した既存の腺組織の保護作用によること、また、唾液腺幹細胞においては、移入細胞自身の腺組織再構築能によることが明らかとなっている。これまで我々も脂肪由来幹細胞や血管内皮様細胞に液性因子を介した損傷唾液腺の回復能があることや、マウス唾液腺幹細胞が CD133 陽性細胞として採取可能であり、これらの細胞に腺組織再構築能があることを明かにしてきた。

臨床応用の現状として、HSC や MSC においては多くの疾患患者への応用実績が多数認められることから、唾液腺機能障害を有する患者に対しても米国 NIH 主導で、これらの細胞を用いた臨床試験が実施されている。一方、唾液腺幹細胞については、これらの細胞の採取方法や採取された細胞の *ex vivo* での増幅法の開発など解決すべき課題があるため未だ臨床応用には至っていない今後展開が期待される。

本講演では、組織幹細胞を用いた唾液腺再生医療の現状を概説し、我々が最近、3次元的に ES 細胞からの誘導に成功した機能性唾液腺についての応用の可能性についても触れる予定である。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Regenerative medicine for salivary gland hypofunction

---

○Mishima K

Div Oral Pathol, Showa Univ Sch Dent

Radiation therapy in head and neck cancer patients and Sjogren's syndrome can result in salivary gland hypofunction. In severe cases of salivary gland hypofunction, sialagogue is not always effective due to loss of salivary parenchyma. Therefore, regenerative medicine using stem cell therapy is a promising treatment for these severe cases. Stem cells are classified into three groups: tissue stem cells, embryonic stem cells (ES cells), and induced pluripotent stem cells (iPS cells). To date, it has been reported that tissue stem cells such as hematopoietic stem cells (HSCs), mesenchymal stem cells (MSCs) and salivary stem/progenitor cells could rescue the irradiation-induced salivary gland hypofunction. Interestingly, both HSCs and MSCs can rescue salivary gland hypofunction through soluble factors in a paracrine manner, while salivary stem/progenitor cells can reconstitute the damaged salivary glands. Actually, we have reported that adipose tissue-derived stem cells and endothelial-like cells could rescue the salivary gland hypofunction of irradiated mice through soluble factors. In addition, we clarified that CD133-positive cells in mouse submandibular glands showed stem cell feature, which reconstituted the damaged salivary glands. Finally, we will focus on the challenge to produce the functional salivary glands, which are 3-dimensionally induced from mouse ES cells.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### MSB-3 受容体刺激による唾液分泌と機能亢進：Ca<sup>2+</sup>応答と遺伝子発現制御

---

○谷村 明彦<sup>1</sup>, 根津 顕弘<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理

<sup>2</sup>日歯大新潟 生化

アセチルコリンやピロカルピンなどのムスカリン受容体作動薬は、Ca<sup>2+</sup>応答を介して唾液分泌を促進することが明らかにされている。一方で、副交感神経の切除が唾液腺を萎縮させることや、シェーグレン症候群の治療に用いられる低濃度のピロカルピンは、継続的な投与によって唾液分泌亢進作用を示すことが報告されている。これらの知見は、ムスカリン受容体がCa<sup>2+</sup>を介する唾液分泌に加えて、何らかの遺伝子発現を伴った機能亢進に関与する可能性を示している。

唾液腺腺房細胞を使った多くの研究で、受容体を介するCa<sup>2+</sup>応答とイオンチャネルの活性化機構が明らかにされ、腺腔側へのCl<sup>-</sup>イオン分泌を駆動力として水・電解質分泌が起こると考えられている。しかし唾液分泌と唾液腺血流の関係や、唾液腺導管部からの分泌の可能性を解析するためには個体レベル実験系が必要である。我々は、遺伝子導入によって、生きたラットの顎下腺にCa<sup>2+</sup>センサーを発現させ、Ca<sup>2+</sup>応答と唾液分泌をリアルタイムで解析する実験系を確立した。また、レーザースペックル血流計を使った血流のイメージング解析を組合わせて、Ca<sup>2+</sup>応答や血流と唾液分泌の関係を直接的に解析している。本シンポジウムでは、組織レベルで同期したCa<sup>2+</sup>オシレーション、分泌刺激薬によるCa<sup>2+</sup>応答の違い、薬物刺激と神経刺激による唾液腺の反応の違いなど、この実験系で明らかになった現象を紹介する。またこの解析から、ムスカリン受容体の部分アゴニストであるピロカルピンは、弱いCa<sup>2+</sup>応答と唾液分泌に加えて、アセチルコリン感受性の増大による「機能亢進」を起こすことが明らかになった。さらに、顎下腺の片側結紮でも、反対側のアセチルコリン感受性が増大した。この機能亢進には何らかの遺伝子発現が関与すると考えられる。これらの結果に基づいて、ムスカリン受容体刺激を介する「機能亢進」の生理的意義と口腔乾燥症治療における重要性について議論する。

**【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言する。

---

### Receptor-mediated salivary secretions and hyper activations in submandibular glands: Regulation of Ca<sup>2+</sup> responses and gene expressions

---

○Tanimura A<sup>1</sup>, Nezu A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

It has been thought that the muscarinic receptor-mediated salivary secretions are regulated by the rise in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) that leads opening of ion channels (Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup>) and triggers salivary secretions. These models have been constructed mainly with in vitro studies using isolated salivary acinar cells. How much of this idea is applicable in real salivary secretions? To ask this question, we developed an intravital imaging system for monitoring Ca<sup>2+</sup> responses in rat submandibular gland in live animals by expressing the genetically encoded Ca<sup>2+</sup> indicators. We also employed a fibre optic pressure sensor and a laser speckle imaging flowmeter for the real-time monitoring of salivary flows and blood flows, respectively.

These novel experimental techniques allowed us to estimate the [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> that required for activating the salivary secretions. We also found that acetylcholine induced a tissue-wide synchronization of Ca<sup>2+</sup> oscillations with the fluctuation of the salivary secretion and the blood flow. Diverse effects of different agonists and neuronal stimulations on Ca<sup>2+</sup> responses and salivary secretions were also observed. Furthermore, we found a hyper activation of salivary secretion with pilocarpine. Based on these results, functions of muscarinic receptors in the therapeutic effects of sialagogues will be discussed.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSC-1 腸内細菌由来の代謝物による免疫修飾作用

---

○長谷 耕二<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>慶大 薬 生化

<sup>2</sup>東大 医科学研 国際粘膜ワクチン開発研究セ

---

ノーベル生理学・医学賞受賞者である Joshua Lederberg は、「宿主とその共生生物は、それぞれのゲノムが入り組んだ集合体であり、superorganism (超生命体)として存在していると考えべきである」と定義している。事実、我々の消化管、特に大腸内腔は、細菌の生育にとって最適な環境を提供しており、非常に高密度で細菌が棲息している。これら腸内細菌叢 (マイクロバイオーム) は、必須アミノ酸、ビタミン、短鎖脂肪酸などの有用な代謝物を作り出す。一方、宿主免疫系は、病原微生物に対する生体防御応答を保証しつつ、マイクロバイオームに対する免疫応答を抑制する。この免疫バランスが破綻すると、炎症性腸疾患 (IBD) に代表される慢性的な腸管の炎症の原因となる。我々は腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸が制御性 T 細胞 (Treg) の分化を促進することを見出している。短鎖脂肪酸は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害作用を示し、*Foxp3* 遺伝子のプロモーターならびに CNS1-3 領域のヒストンアセチル化を促すことで Treg 分化を促進する。本セミナーでは、腸内細菌由来の短鎖脂肪酸が Treg 細胞を誘導することで、IBD のみならず、関節リウマチなど自己免疫疾患の発症抑制にも寄与するメカニズムについて紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言します。

---

## Microbial metabolites shape host immunity

---

○Hase K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fac Pharm Sci, Keio Univ

<sup>2</sup>Int R&D Cent for Mucosal Vaccine, The Inst of Med Sci, The Univ of Tokyo

---

Human intestinal microbiota is a complex community composed of more than 500 species. The total genes of gut microbiota outnumber our genes by more than 100-fold. Many of these microbial genes are involved in main metabolic pathways such as carbon metabolism and amino acid synthesis. Using the abundant genes, commensal microbiota actively perform microbial fermentation and produce a diversity of metabolites. We demonstrated that certain microbial metabolites regulate barrier functions as well as mucosal immunity. For instance, short chain fatty acids (SCFAs) plays a critical role in development of intestinal regulatory T (Treg) cells in response to bacterial colonization early in life. SCFAs facilitate induction of *Foxp3*, the master transcription factor of Treg cells, by enhancing histone acetylation of regulatory regions of the gene though inhibition of histone deacetylase (HDAC). SCFAs also ameliorate development of collagen-induce autoimmune arthritis (CIA). Our data suggest that SCFA regulates not only local inflammation in the gut, but also systemic autoimmune response.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSC-2 腸内細菌と大腸発がん

---

山本真悠子, ○松本 敏

ヤクルト本社 中央研 基盤研

---

腸管は、消化吸収にとって重要な器官であるとともに体内最大級の免疫器官でもある。無菌動物の腸管免疫系が未熟であることは腸管免疫系が腸内細菌の定着に依存して発達することを示している。マウスの小腸では、セグメント細菌の定着によって IgA 産生細胞の誘導、小腸上皮細胞間 T 細胞の機能的変化が誘導される。一方、大腸においては、*Clostridium* 属細菌の定着によって、IgA 産生細胞や制御性 T 細胞の分化が誘導される。イムノグロブリン重鎖遺伝子の体細胞高頻度点突然変異 (SHM) の誘導酵素である AID 遺伝子を SHM 能の失活した変異 AID 遺伝子に変換したマウスでは、腸内細菌の過剰な増殖が認められることから、抗原特異的な IgA 応答が腸内細菌の制御と関連していることが明らかになった。従って、宿主は、腸内細菌の定着を介して腸管免疫系を発達させることにより、腸内細菌叢を制御していると考えられる。生理的な状態では、腸内細菌叢と腸管免疫系の間で、動的平衡関係が保たれることにより腸内細菌と宿主の共生関係が成立している。一方、ヒトの炎症性腸疾患に類似する病態を示すマウスは、腸内菌叢のバランスが破綻している。我々は、マウス炎症関連大腸がん (CAC) の発症時に腸管粘膜における IL6-*trans*-signaling の活性化と大腸粘膜付随細菌叢 (MACB) の破綻が生じることを見出した。興味深いことに、MACB の大腸粘膜への生着には、分泌型 IgA が重要な役割を担った。また、CAC に付随する MACB の破綻に伴って、腸管粘膜透過性の亢進と腸管粘膜への腸内細菌の生体内移行が観察された。CAC 粘膜から単離した大腸粘膜樹状細胞は腸内細菌を貪食し、活発に可溶性 IL6 受容体を遊離する性質を示した。以上の結果より、MACB の消失により腸管粘膜に生体内移行した腸内細菌を樹状細胞が貪食し、IL6-*trans*-signaling が活性化されることが、CAC の発症に寄与していることが推定される。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Gut microbiota and colorectal cancer

---

Yamamoto M, ○Matsumoto S

Basic Res Dept, Yakult Central Inst

---

Gut plays the important roles not only as the digestive organ but also as the largest immune organ. Immature mucosal immunity which observed in germfree animals are suggesting that gut microbiota is responsible for the development of mucosal immunity. SFB induced both IgA plasma cells and the differentiation of IELs in the small intestine, whereas *Clostridia* were responsible for the generation of IgA plasma cells and Treg in the colon. From the analyses of AID-G23S knockin mice revealed that antigen-specific IgA are important for regulation of gut microbiota. Therefore, host may regulate gut microbiota by developing their mucosal immunity through the colonization of gut microbiota. In a physiological condition, the symbiotic relationship between gut microbiota and the host is established by maintaining dynamic balance of gut microbiota and mucosal immunity. On the other hand, dysbiosis of the gut microbiota is prominent in IBD models. We showed that IL6 *trans*-signaling is activated in the colon in mouse model of colitis-associated cancer (CAC). Moreover, we confirmed that disturbance of mucosa-associated-commensal-bacteria (MACB) on the colonic mucosa is related with the development of CAC. Interestingly, secretory IgA are essential for recruitment of MACB. In connection with the disturbance of MACB, we confirmed both the increasing of mucosal permeability and translocation of microbiota in the colon. Moreover, mucosal DC had engulfed gut microbiota and had the property to release actively soluble IL6 receptor. These results suggested that the engulfment of gut microbiota by mucosal DC promotes the activation of IL6 *trans*-signaling and results in CAC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### MSC-3 食と微生物を介した腸内環境の構築と生体応答・疾患

---

○國澤 純<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>医薬基盤 健康・栄養研

<sup>2</sup>阪大 医・薬・歯

<sup>3</sup>神戸大 医

<sup>4</sup>東大 医科研

---

腸管は多くの免疫細胞を有する体内最大の免疫臓器であり、病原体に対する生体防御を行いつつ、食事や腸内細菌など有益な異物を利用するためのシステムとして機能している。同時に腸管には数千種類とも言われる共生細菌も存在しており、免疫機能の発達を始めとする様々な生体機能の制御に関与している。そこでは菌そのものだけではなく、食餌成分などを基質に産生される代謝物も生体に影響する因子となっている。近年、次世代シーケンサーや質量分析器を始めとする多くの分析技術の発展により、腸内細菌叢と食事、生体応答の詳細が明らかになってきた。その結果、免疫の発達や制御、アレルギーや炎症などの免疫疾患、さらには生活習慣病や神経疾患などこれまでは免疫とは関係ないと思われていた疾患にも腸内細菌叢が関わっていることが示唆されており、その実効分子も徐々に同定されてきている。本講演では腸内細菌を介した生体応答との関わりについて、ワクチン開発やヘルスサイエンスへの展開といった観点も含め、我々の研究を中心に紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

#### Diet-commensal interaction in the control of health and diseases

---

○Kunisawa J<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>Natl Inst Biomed Innov, Health and Nutr (NIBIOHN)

<sup>2</sup>Grad Sch Med, Grad Sch Pharm Sci, Grad Sch Dent, Osaka Univ

<sup>3</sup>Kobe Univ, Grad Sch Med

<sup>4</sup>Inst Med Sci, The Univ of Tokyo

---

It is now recognized that, in addition to the pathogenic bacteria, commensal bacteria play an important role in the regulation of various host responses and subsequent healthy condition. In this process, diets affect the composition and function of gut commensal bacteria and gut commensal bacteria is reciprocally involved in the digestion of diets to consequently produce either beneficial or detrimental metabolites. We recently found that dietary materials such as oils and vitamins affect the development of allergic and inflammatory diseases, which were at least partly mediated by commensal bacteria. In this talk, I describe recent findings regarding the immunologic crosstalk between commensal bacteria and dietary components in the regulation of host immunity and its influence on the development of allergic and inflammatory diseases.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **MSD-1 How to control the cuspal patterning; epithelial morphogenesis**

---

○Liwen Li<sup>1</sup>, Qinghuang Tang<sup>1</sup>, Takashi Nakamura<sup>2</sup>, Hayato Ohshima<sup>3</sup>, Han-Sung Jung<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Div in Anat and Dev Biol, Dept Oral Biol, Oral Sci Res Cent, BK21 PLUS Project, Yonsei Univ Coll of Dent

<sup>2</sup>Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Dept Tissue Regen Reconstruct, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Oral Biosci, Fac Dent, The Univ of Hong Kong

---

The anatomic and functional combinations of cusps and lophs (ridges) define the tooth shape of rodent molars, which distinguishes species. The species-specific cusp patterns result from the spatiotemporal induction of enamel knots (EKs), which require precisely controlled cellular behavior to control the epithelial invagination. Despite the well-defined roles of EK in cusp patterning, the determinants of the ultimate cuspal shapes and involvement of epithelial cellular geometry are unknown. Using two typical tooth patterns, the lophodont in gerbils and the bunodont in mice, we showed that the cuspal shape is determined by the dental epithelium at the cap stage, whereas the cellular geometry in the inner dental epithelium (IDE) is correlated with the cuspal shape. Intriguingly, fine tuning Rac1 and RhoA interconvert cuspal shapes between two species by remodeling the cellular geometry. Either inhibition of Rac1 or ectopic expression of RhoA could region-distinctively change the columnar shape of IDE cells in gerbils to drive invagination to produce cusps. Conversely, RhoA reduction in mice inhibited invagination and developed lophs. Furthermore, we found that Rac1 and RhoA modulate the choices of cuspal shape by coordinating adhesion junctions, actin distribution, and fibronectin localization to drive IDE invagination.

---

---

## MSD-2 歯根/歯周組織形成を司るヘルトヴィッヒ上皮鞘のダイナミクスと分子制御メカニズム

---

○大津 圭史, 藤原 尚樹, 原田 英光

岩医大 歯 解剖・発生生物

歯の発生では歯冠形成に続き歯根と歯周組織の形成が起こる。この過程では、エナメル上皮細胞由来のヘルトヴィッヒ上皮鞘 (HERS) が根尖方向に伸長しながら歯根を形づくっていく一方、HERS 歯冠側では、細胞が離脱してマラッセの上皮遺残(ERM)となり、その周囲に歯周組織形成が誘導される。しかしこれまで HERS や ERM の挙動をリアルタイムで解析する実験手法がないこと、またそのダイナミクスを制御するシグナル因子が同定されていないなどの理由から HERS、ERM 形成の詳細な制御メカニズムは不明であった。そこでわれわれは、エナメル上皮特異的 tdTomato 発現マウスを用いた歯根発生 ex vivo ライブイメージング法を開発し、HERS 伸長と ERM 形成をリアルタイムで観察した。そしてこのイメージング解析と、HERS/歯小嚢細胞の共培養リアルタイムイメージング、マウス臼歯器官培養、in vivo 組織解析の結果より、1) ERM 形成時の HERS からの細胞離脱は、上皮間葉転換(EMT)によっておこる、2) 離脱した細胞が移動する際、他の細胞に接触すると逆方向に移動方向を変える contact inhibition of locomotion (CIL)がおこる、3) これらの現象は TGF- $\beta$  や RhoA シグナルによって制御されていることを明らかにした。さらに、HERS 特異的ドミナントネガティブ RhoA 発現マウスでは、HERS の伸長、断裂だけでなく、セメント質や歯根膜形成にも変化が生じることから、HERS における TGF- $\beta$  RhoA シグナルを介した EMT や CIL が、歯根のみならず歯周組織の発生も協調的に制御していると考えられた。本シンポジウムでは、これらのデータを示しながら我々が考える歯根/歯周組織形成メカニズムの新しい視点と展望について議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Cellular dynamics and molecular regulatory mechanism of Hertwig's epithelial root sheath during tooth root and periodontal tissue formation

---

○Otsu K, Fujiwara N, Harada H

Iwate Med Univ Sch Dent, Div Dev Bio Reg Med

During tooth root formation, Hertwig's epithelial root sheath (HERS) grows in apical direction outlining the shape of the future root, while the crown side detaches and forms the epithelial cell rests of Malassez (ERM) to induce periodontal tissue. However, the regulatory mechanism remain unknown, since there is no experimental techniques to analyze the cellular behavior in real time, and the signal factors have not been identified. Therefore, we established imaging system to observe HERS/ERM formation in real time using HERS-specific tdTomato expressing mice. The imaging system, co-culture of HERS and dental follicle, organ culture of mouse molars and histological analyses revealed that 1) Epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced the detachment of HERS during ERM formation. 2) The detached cells migrate via contact inhibition of locomotion (CIL), the process through which cells move away from each other after cell-cell contact. 3) These were regulated by TGF- $\beta$  and RhoA signaling. Moreover, in HERS-specific dominant negative RhoA expressing mice, the formation of cementum and periodontal tissue were altered, suggesting that EMT and CIL in HERS coordinately regulated formation of tooth root and periodontal tissue. In this symposium, we will discuss the outlook and new perspective of tooth root and periodontal tissue formation mechanism.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### MSD-3 肺の枝分かれ構造の形成機構

---

○三浦 岳

九大 院医 生体制御 系統解剖

---

哺乳動物の肺は、ガス交換の効率を上げるために樹状構造をしている。この構造は、消化管の腹側の上皮が周辺の間葉と相互作用しながら先端の二分岐を繰り返すことによって形成される。枝分かれ構造形成に関与する遺伝子は数多く知られているが、それらの相互作用によってなぜ形が形成されるのか、そのメカニズムはよくわかっていなかった。

我々は、枝分かれ構造形成を再現する最も簡単な実験系として、マウス胎仔肺上皮の単離培養系に着目した。この培養系では、FGFを含むマトリゲル内で肺の上皮を培養すると枝分かれ構造が自発的に形成される。この培養系に関して、(1)上皮組織がFGFを消費して成長する(2)FGFはマトリゲル内で受動的に拡散するという2つの作用のみを含む数理モデルで、培養系で観察される枝分かれと嚢胞構造が再現できた。

次に、生体内での肺の枝分かれ形成を理解するため、鳥類胚に着目した。鳥類の肺は枝分かれ構造と、気嚢と呼ばれる嚢胞構造が同時に存在する。我々は、前述の数理モデルを用いて、なぜ枝分かれ構造と嚢胞構造が同時に存在するのかを解明した。

現在我々は、以上の知見を生かして生体内での枝分かれ構造形成のメカニズムの解明を目指して研究を進めている。生体内では、FGFの消費ではなくSHHによるFGFの発現制御がパターン形成に必須であることがわかって来た。これらの未発表データを元に枝分かれ構造形成の原理について議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Mechanism of lung branching morphogenesis

---

○Miura T

Dept Anat Cell Biol, Kyushu Univ Grad Sch Med Sci

---

Mammalian lung has tree-like structure to facilitate gas exchange. This structure is generated by repeated tip bifurcation via epithelial-mesenchymal interaction during development. Various molecules are known to be involved in this process, but how the interaction of these molecules results in branching morphogenesis remain to be elucidated.

At first, we utilize embryonic mouse epithelium culture as a model system of pattern formation. In this culture system, branch structure is spontaneously generated when we cultured the lung epithelium in Matrigel with FGF. We formulated a mathematical model in which (1) Epithelial cell consume FGF and grow and (2) FGF diffuses passively in Matrigel. Using the model, we could reproduce cyst-branch difference observed in the culture system.

Next, we extend this result to avian lung. Avian lung consists of cystic structure (air sac) and branch structure simultaneously. We utilize the previous model to show the mechanism of cyst-branch difference in the avian lung.

Recently we try to understand the pattern formation mechanism including the role of mesenchyme. We found that FGF inhibition by SHH, not FGF consumption, is working in vivo. In this talk I will discuss the principle of lung branching morphogenesis.

**Conflict of interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSD-4 ドラッグリポジショニングを用いた唾液腺再生療法の開発

---

○阪井 丘芳

阪大 院歯 顎治

頭頸部癌に対する放射線療法は、外科療法、化学療法と同様に有効な治療法の1つである。しかしながら、放射線照射に伴い唾液腺が破壊され唾液分泌障害を生じた場合、著しい口腔乾燥症に対して、効果的な解決策は見いだされていないのが現状である。

本研究では胎仔と成体のマウス唾液腺に放射線照射を行い、それぞれの形態変化を観察した。さらに、早期の臨床応用を目指して、ドラッグリポジショニングの観点から既存薬剤・サプリメントの唾液腺再生に関する再評価を行い、そのメカニズムを検討したので報告する。

Lactferrin は胎生期唾液腺に対する分枝形態形成を誘導する作用を認め、ERK と AKT のリン酸化に関与していた。Lactferrin の成体マウスへの腹腔内投与では、放射線照射直後から腺組織を保護する効果を認め、唾液腺の腺房形態と AQP5 の発現、唾液分泌機能の維持に有効であった。

最新の知見を交えながら、唾液腺発達と再生に対する評価、腺房形態の保護、唾液分泌機能の回復を中心にそれらのシグナル伝達機構について議論する予定である。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Regenerative approach of salivary gland by drug repurposing

---

○Sakai T

Dept of Oral-facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent

Head and neck cancer patients treated by radiation commonly suffer from a devastating side effect known as dry-mouth syndrome, resulting from the irreversible loss of salivary gland function via mechanisms that are not completely understood. Additionally, effective treatments for dry-mouth syndrome do not yet exist. Overall, there is a limited understanding of the physiological mechanisms associated with xerostomia and hyposalivation. In this study, we used mouse models of irradiation-induced salivary hypofunction to investigate the outcomes of morphological damage and subsequent serial regeneration in salivary glands. Milk protein, Lactferrin was investigated with respect to whether it was effective at enabling regeneration. We demonstrate the recovery of both the morphology and function of salivary glands after irradiation. These results suggest that treatments of Lactferrin may be components of a promising therapeutic strategy for the preservation of salivary gland function in head and neck cancer patients undergoing radiotherapy.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSD-5 ヒト ES 細胞の自己組織化による臓器創成～次世代オルガノイドの挑戦～

---

○阿久津英憲<sup>1</sup>, 岡崎 拓矢<sup>2</sup>, 梅澤 明弘<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立成育医療研究センター 研究所 再生医療セ

<sup>2</sup>大日本印刷株式会社 研究開発セ

---

臓器は複数細胞種が有機的につながる機能的な多細胞構造体である。多能性幹細胞から生体器官のような機能的な多細胞構造体（オルガノイド）を作り出すことは、アプリケーションとして大きな可能性を秘める一方で、技術的に課題が多い。一般的に幹細胞によるオルガノイド研究は活発化しているものより生体に近い機能性を有するレベルには到達できていない。私たちは、マイクロファブリケーション技術によるマイクロパターン基材を基に多能性幹細胞の新たな培養空間を創出する研究を行ってきた。マイクロパターン基材の応用により幹細胞の自己組織化を誘導することでより機能的なオルガノイドを作製することに世界で初めて成功した。

小腸などの消化管組織は、腸上皮組織（粘膜組織）、血管・神経組織・結合組織からなる粘膜下組織と蠕動運動を可能とする消化管平滑筋と固有筋層による複合機能器官である。腸管各組織の機能不全に起因する疾患は、先天性のものも多く腸管発生に根ざした疾患研究アプローチが重要になる。消化管の組織機能を有する構造体を *in vitro* で作製するためには、多能性幹細胞を用いた新たなアプローチが必要となる。

ヒト多能性幹細胞から腸管蠕動様運動を認める多細胞構造体かつ機能性を有する小さい臓器，“ミニ小腸”を作製することに成功した。今回、多能性幹細胞からの臓器創成としてオルガノイド研究を概説しつつオルガノイド研究から応用に向けた可能性について報告する。

**【利益相反】** 著者（阿久津英憲）は利益相反状態にあります。

---

## Generating functional organoids self-organized from human embryonic stem cells: the next generation of organoids

---

○Akutsu H<sup>1</sup>, Okazaki T<sup>2</sup>, Umezawa A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Natl Res Inst for Child Health and Dev, Center for Regen Med

<sup>2</sup>Dai Nippon Printing Co.

---

Structures resembling whole organs, termed organoids, have been generated from stem cells through the development of three dimensional culture systems. Organoids are derived from pluripotent stem cells that differentiate to form an organlike tissue exhibiting multiple cell types. However, no one reported that organoids *in vitro* possessed similar functions of “real” organs. Generally, cells respond differently to substrates of varying stiffness of culture plates. In the current work, we set up several conditions of cell patterning using micro-fabrication technique and investigate the effect of microstructural features on the differentiation of hPSCs.

Intestines are generated through a highly orchestrated, serial developmental process and are composed of cell types from all three primary germ layers. Recently, we have developed a simple protocol based on a tissue self-organization concept for generation of mature functional intestinal organoids from hPSCs under xenogeneic-free conditions. Here, we present our recent achievements of mini-guts and discuss about future applications with 3D organoids.

**Conflict of Interest:** The author (Hidenori Akutsu) declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSE-1 エナメル質形成におけるケラチン研究最前線

---

○大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

間葉細胞が造る象牙質・セメント質・骨はヒドロキシアパタイトとI型コラーゲンを主成分とする硬組織であるが、上皮細胞が造るエナメル質は、ヒドロキシアパタイトとエナメルタンパクを主成分とし、①未石灰化の前駆物質層が見られない(石灰化前線がない)、②エナメル質基質は分泌後直ちに(軽度に)石灰化する、③石灰化の進行はゆるやかで基質形成期と成熟期の二段階で進行するなどの特徴がある。2016年の10月30日~11月3日に第9回エナメル質国際シンポジウム(Enamel 9)が英国 Harrogate で開催され、世界21ヶ国から100名以上の研究者が集まり、活発な意見が交わされた。Biom mineralization, タンパク質-タンパク質・タンパク質-基質間相互作用、遺伝性エナメル質形成不全、フッ素症、Molar Incisor Hypomineralization (MIH)などが話題の中心であったが、エナメル質形成におけるケラチンの役割が注目を浴びていた。最近の研究では、毛包ケラチンがエナメル器で発現しており、その中のKRT75タンパクがエナメル象牙境やエナメル小柱鞘に存在し、KRT75の変異はエナメル質形成不全を惹起することが報告されている。歯の発生において口腔粘膜上皮→エナメル器→退縮エナメル上皮→接合上皮となる事実から、歯の発生過程でデフォルトの重層扁平上皮をエナメル器に分化・維持するためのシグナルが存在し、その制御が外れるとデフォルトに戻り重層扁平上皮化すると考えられる。最近、転写因子Msx2やSox21、そしてFAM83Hがエナメル器の機能発現の調節因子として重要な働きをすることが明らかになっている。また、エナメル器の機能発現の阻害と歯原性角化嚢胞形成メカニズムとの関連も推察される。本シンポジウムでは、エナメル質形成におけるケラチンの役割について、多面的な視点で理解を深めたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Recent topics on the significance of keratins during amelogenesis

---

○Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Enamel is a unique hard tissue that is different from dentin, cementum, and bone from several aspects: it is an epithelial origin, consists of hydroxyapatite and enamel proteins, lacks unmineralized matrix, develops via two steps such as secretory and maturation stages, and so on. More than 100 researchers attended the Ninth International Symposium on Dental Enamel (Enamel 9) held at Harrogate, UK during 30<sup>th</sup> Oct to 3<sup>rd</sup> Nov, 2016. The symposium mainly focused on biomineralization, protein-protein or protein-matrix interaction, amelogenesis imperfecta, fluorosis, and so on. A recent report revealed that hair follicle specific keratins were expressed in the enamel organ in mice. Moreover, KRT75 protein was detected at the enamel-dentin junction and in the rod sheath of mature human enamel; those with a specific genetic variant in KRT75 had altered enamel structure. During tooth development, epithelial morphological changes occur through distinct configurations such as oral mucous epithelium, enamel organ, reduced enamel epithelium, and junctional epithelium, suggesting the existence of factors regulating the differentiation and maintenance of enamel organ from the default as stratified squamous epithelium. Transcription factors such as Msx2 or Sox2 and FAM83H are the candidates that regulating the phenotypes of enamel organ during enamel organ. The current symposium shall focus on the recent topics on the significance of keratins during amelogenesis from various perspectives.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSE-2 エナメル質形成過程に見出されるケラチン 75 について

---

○山越 康雄<sup>1</sup>, 千葉理紗子<sup>1</sup>, 山本 竜司<sup>1</sup>, 斉藤 まり<sup>1</sup>, 唐木田丈夫<sup>1</sup>, 西川 純雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 分子生化

<sup>2</sup>鶴大 歯 生物

ケラチン 75 (KRT75) 遺伝子の突然変異は抜け毛のみならず虫歯など歯に対しても様々な問題を引き起こす可能性があることが示唆されており, 近年エナメル質に存在することが報告されているが, その存在意義については不明である. そこで我々はエナメル質形成に及ぼす KRT75 の動態および機能を解明することを目的とし, これまでに免疫組織化学実験では, 生後 5 日齢および 11 日齢のマウス下顎臼歯切片を作製して KRT75 抗体を用いた免疫染色を行い, KRT75 が生後 5 日齢では主に中間層に, 11 日齢では主に乳頭層に局在していることを見出した. また遺伝子実験では, 生後約 5 ケ月のブタ永久切歯エナメル器より基質形成期, 移行期, 成熟期に相当する領域から total RNA を調製して KRT75 の遺伝子発現を定量 PCR にて分析し, KRT75 遺伝子がエナメル質形成過程の全ステージで発現し, 特に移行期で発現が高いことを確認した. さらにタンパク実験では, 同齢のブタ永久第二大臼歯の幼若および成熟エナメル質より KRT75 の分離精製を行い, KRT75 抗体を用いたウェスタンブロット (WB) にて KRT75 タンパク質が幼若エナメル質の主タンパク質であるアメロゲニンとは異なる画分に抽出されることが判明し, WB ポジティブに相当する電気泳動ゲルを切り出して, 液体クロマトグラフィー質量分析法にて解析を行って KRT75 を同定した. また, 他のエナメルタンパク質とは異なり, KRT75 は幼若および成熟エナメル質でほぼ均一に存在する様相を示した. 本シンポジウムでは, 上記結果を示しながら他のエナメルタンパク質との相互関係, そして最大の謎である KRT75 のエナメル基質への分泌機構などについて討論が出来ればと考えている.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Identification of keratin 75 in developing enamel

---

○Yamakoshi Y<sup>1</sup>, Chiba R<sup>1</sup>, Yamamoto R<sup>1</sup>, Saito MM<sup>1</sup>, Karakida T<sup>1</sup>, Nishikawa S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

<sup>2</sup>Dept Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

The **objective:** is to investigate the dynamics of keratin 75 (KRT75) during enamel formation. **Methods:** Immunohistochemical study with KRT75 antibody was performed for mandibular molars sections of the 5- and 11-day-old mice. For genetic study, enamel organ epithelia corresponding to the secretory, transition and maturation stages were prepared from tooth germs of permanent incisors of 5-month-old pig and the gene expression of KRT75 was analyzed by quantitative PCR. Both immature and mature enamel proteins were extracted from tooth germs of the second molars of 5-month-old pig. Each of protein fractions was characterized by SDS-PAGE and Western blotting. The KRT75 antibody-positive bands were further characterized by LC-MS/MS. **Results and Discussion:** The KRT75 was mainly localized in stratum intermedium at day 5 mouse, whereas in papillary layer at day 11 mouse. The mRNA of porcine KRT75 expressed in three stages of ameloblasts, and its level, in particular, was high at the transition stage. The porcine KRT75 protein was identified by LC-MS/MS analysis. Western blotting showed that the KRT75 was present in both porcine immature and mature enamel with almost equal amount. These findings suggest that KRT75 may have the different status with other enamel proteins during enamel formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSE-3 FAM83H はケラチン細胞骨格を制御することでエナメル芽細胞維持に働く

---

○久家 貴寿<sup>1</sup>, 佐々木光穂<sup>2</sup>, 鈴木 治<sup>2</sup>, 中山 祐治<sup>3</sup>, 朝長 毅<sup>4</sup>, 山岸 伸行<sup>1</sup>

<sup>1</sup>摂南大 薬 生体分子分析

<sup>2</sup>医薬基盤健康研 疾患モデル小動物

<sup>3</sup>京都薬大 生化

<sup>4</sup>医薬基盤健康研 プロテオームリサーチ

---

FAM83H は、優性遺伝性低石灰化型エナメル質形成不全症の原因遺伝子として、2008年に同定された。我々は、これまでに、FAM83Hが大腸がんで高発現していることを見出している。大腸がん細胞において、FAM83Hが、CK1キナーゼをケラチン骨格上に係留させることで、ケラチン骨格構造を制御していることを明らかにしている (Kuga et al., J. Cell Sci., 2013)。FAM83Hの過剰発現は、CK1を過剰にケラチン骨格上に係留させることでケラチン骨格を崩壊させ、がん細胞の浸潤等を促進している可能性が示唆されている。FAM83Hは、エナメル上皮腫細胞株においても、ケラチン骨格を制御していることが明らかになっている (Kuga et al., Sci. Rep., 2016)。エナメル上皮腫細胞株にFAM83H疾患原因変異体を発現させると、変異体がCK1と優先的に結合することでドミナントネガティブ効果を発揮し、ケラチン骨格制御異常が生じることが示唆されている。さらに我々は、最近、FAM83Hの遺伝子変異の影響をin vivoで調べるために、FAM83H遺伝子改変マウスを作成した。今回の発表では、FAM83H遺伝子改変マウスの解析結果を踏まえて、FAM83Hによるケラチン骨格制御が、エナメル芽細胞の細胞構造維持に必要な可能性について言及する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## FAM83H maintains the cell structure of ameloblasts by properly organizing the keratin cytoskeleton

---

○Kuga T<sup>1</sup>, Sasaki M<sup>2</sup>, Suzuki O<sup>2</sup>, Nakayama Y<sup>3</sup>, Tomonaga T<sup>4</sup>, Yamagishi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab Anal Biomol, Fac Pharm Sci, Setsunan Univ

<sup>2</sup>Lab Anim Models Hum Dis, Natl Inst Biomed Innov Health Nutr

<sup>3</sup>Dept Biochem Mol Biol, Kyoto Pharm Univ

<sup>4</sup>Lab Proteome Res, Natl Inst Biomed Innov Health Nutr

---

FAM83H has been identified as a protein that plays an important role in the formation of dental enamel because a mutation in the FAM83H gene causes autosomal-dominant hypocalcified amelogenesis imperfecta. We have found that FAM83H is overexpressed in invading colorectal cancer cells. Overexpression of FAM83H disassembles keratin filaments by excessively recruiting CK1 kinases to keratin filaments (Kuga et al., J. Cell Sci., 2013). We have also demonstrated that FAM83H is involved in the organization of the keratin cytoskeleton in ameloblastoma cells. The mutant proteins of FAM83H prevent the proper organization of the keratin cytoskeleton by dominant-negative inhibition of CK1 kinases (Kuga et al., Sci. Rep., 2016). Here, we show that FAM83H maintains the cell structure of ameloblasts by properly organizing the keratin cytoskeleton.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSE-4 *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  
九歯大 解剖

*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* 欠損マウス（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解明な点が多い。本研究では生後3日から25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、組織学的および分子生物学的解析を試みた。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 (*Amel* 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細胞増殖活性を示した。組織学的解析によりエナメル器内に角化重層扁平上皮の分化マーカーである K10, 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。

**【利益相反】** 筆者は利益相反がないことを宣言する。

---

## *Msx2* deficiency transforms the dental outer enamel epithelium to skin and causes enamel dysplasia

---

○Nakatomi M

Div Anat, Kyushu Dent Univ

Tooth enamel is manufactured by the enamel organ, which is composed of ameloblasts, stratum intermedium (SI), stellate reticulum and outer enamel epithelium (OEE). Although *Msx2* loss-of-function is known to cause the accumulation of epithelial cells in the enamel organ in mice, the precise mechanism by which this occurs is not understood. To clarify the specific role of *Msx2* during enamel formation, we performed detailed histological and molecular analyses of *Msx2* null mice. Whereas ameloblasts and SI cells differentiated normally in the early stages of amelogenesis, the OEE became highly proliferative and transformed into a keratinized stratified squamous epithelium that expressed the skin markers Heat-shock protein 25, Loricrin and Keratin 10, and hair follicle specific keratins such as *Keratin 26* and *Keratin 73*. With the accumulation of keratin and subsequent odontogenic cyst formation, SI cells gradually lose the ability to differentiate leading to ameloblast depolarization. Our study reveals novel roles for *Msx2* in preventing the transformation of OEE into a keratinized stratified squamous epithelium, and in supporting enamel organ development.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSE-5 Sox21 はエナメル芽細胞分化と角化上皮化抑制に重要な役割を担う

---

○齋藤 幹, 福本 敏

東北大 院歯 小児歯

---

外胚葉器官はプラコードと呼ばれている上皮肥厚から始まり, 上皮と間葉の相互作用で分化が誘導され, 上皮が陥入する. この分化過程や関連分子は様々な外胚葉器官形成で類似しているため, 遺伝子疾患により, 複数の外胚葉器官に影響が出ることがある. Sox (SRY-box containing gene) は転写因子群の1つであり, 胚の分化に重要な分子として知られている. 更に血管や軟骨だけでは無く, 毛髪, 神経や網膜などの外胚葉器官へ分化誘導する分子でもある.

我々は, 包括的な遺伝子解析から, Sox2, 11, 21 が歯胚で発現していることを発見した. Sox11 は未分化な上皮及び間葉細胞共に発現が見られた. しかし, Sox2 は未分化な上皮細胞で限局して発現しているのに対し, Sox21 は成熟したエナメル芽細胞で強く発現していた. そこで Sox21 のエナメル質形成における役割を解明する為に, Sox21 遺伝子欠損マウスの解析を行った. 電子顕微鏡像ではエナメル質が薄く, エナメル小柱構造も失われ, 明らかなエナメル質形成不全を認めた. H-E 染色では, 成熟エナメル芽細胞は多層化しており, 細胞極性は失われていた. この原因を突き止めるべく, エナメル芽細胞のマイクロアレイを行った所, アメロジェニンや MMP20 の発現に変化が無く, Klk4 や Amtn の発現量が減少していた. この事から, Sox21 が欠損することにより, 終末エナメル芽細胞への分化が抑制された. しかし, 面白いことに, Sox21 欠損したエナメル芽細胞ではケラチン関連因子の mRNA の発現が増加した. この結果は Sox21 が単にエナメル芽細胞分化を誘導するのではなく, 上皮細胞からエナメル芽細胞へ変化させるスイッチの役割を持っていると考えられた. そこで, このメカニズムを検討したため, 報告する.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Sox21 induces ameloblast differentiation and plays an important role for suppression of keratinization, epithelization

---

○Saito K, Fukumoto S

Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Sox (SRY-box containing gene) induces differentiation of not only blood vessel and cartilage, but also ectodermal organs such as a hair, a nervous system and the retina. Expression of Sox2, 11, 21 was detected in a tooth germ by a comprehensive genetic analysis. Sox21 was expressed in mature ameloblast whereas Sox2 was localized in immature epithelial cells. Therefore, the function of ameloblastic Sox21 was investigated by analysis of the Sox21 deficient mice. Obvious amelogenesis imperfecta such as thin enamel and defect of rod structure was observed by the SEM analysis. As a result of microarrays, Klk4 and Amtn were decreased in ameloblast. Interestingly, the expression keratin-related molecules increased in the Sox21 deficient ameloblasts. It was suggested that Sox21 is not only ameloblast differentiation but also switching molecule from ectoderm to mature ameloblasts.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict associated with this manuscript.

---

---

## MSF-1 骨のカップリングにおける OPG の重要性

---

○宇田川信之

松歯大 口腔生化

破骨細胞は高度に石灰化した骨組織を破壊・吸収する唯一の細胞である。その起源は、生体に広く分布するマクロファージ系の細胞である。骨吸収と骨形成の量は、動的に均衡した共役状態に保たれており、骨吸収と骨形成は共役（カップリング）関係にある。そのため、骨吸収と骨形成を仲介する骨代謝共役因子の存在が想定されているが、その実態は不明である。

骨芽細胞由来の破骨細胞分化因子である RANKL の発見（1997 年）から 20 年経過した。現在では、RANKL 中和抗体が骨粗鬆症の治療薬として臨床応用されるに至った。一方、RANKL のデコイ受容体である OPG 遺伝子欠損マウスと RANKL の高発現マウスは、共に骨粗鬆症となる。これらの骨粗鬆症マウスを用いた実験結果から、骨細胞が産生する OPG が皮質骨や歯槽骨の維持に重要な役割を果たしていることが、OPG の新しい機能として明らかとなった。また、OPG の発現低下が歯周疾患の進行に影響を与えることを示す実験結果も集積してきた。今回のシンポジウムにおいては、骨のカップリングにおける OPG の重要性について講演したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する

---

## Important role of osteoprotegerin in bone remodeling

---

○Udagawa N

Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

Osteoclasts, the multinucleated cells that resorb bone, originate from monocyte-macrophage lineage cells. Various hormones, cytokines and growth factors are involved in osteoclastogenesis, via interaction with osteoblasts. Deficiency of osteoprotegerin (OPG), a soluble decoy receptor for receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL), in mice induces osteoporosis caused by enhanced bone resorption but also accelerates bone formation. OPG-deficient mice exhibit high serum alkaline phosphatase activity and osteocalcin concentration, both of which are decreased to the levels of wild-type mice by the bisphosphonate injection. This suggests that bone formation is coupled with bone resorption *in vivo*. RANKL expressed by osteoblasts is a requirement for osteoclastogenesis, osteoblasts also play important roles in osteoclastogenesis through offering the critical microenvironment for the action of RANKL.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSF-2 カップリング機構における RANKL の役割

---

○本間 雅<sup>1</sup>, 池淵 祐樹<sup>1</sup>, 林 円香<sup>1</sup>, 青木 和宏<sup>2</sup>, 荻谷 嘉顕<sup>1</sup>, 鈴木 洋史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東大 医病院 薬剤

<sup>2</sup>医科歯科大 口腔基礎工

---

骨は骨吸収と骨形成のサイクルがバランスを保って繰り返されることで維持されているが、骨吸収フェーズから骨形成フェーズへのスムーズな移行には、破骨細胞から骨芽細胞へのカップリングシグナルが重要な役割を果たすと考えられている。RANKLは成熟破骨細胞の形成を制御する中心的な分子であるが、近年の研究から、生理的な破骨細胞形成過程におけるRANKLシグナルの出力源としての役割は、骨芽細胞よりもむしろ骨細胞の寄与が大きいと指摘されており、骨芽細胞と破骨細胞に直接的な細胞間接触が生じていない可能性が考えられている。そのため、骨芽細胞に発現しているRANKLの生理的な役割には未だ不明瞭な点があると考え、本研究では細胞膜貫通型のTNFスーパーファミリー分子に共通する、双方向シグナル分子としての性質に着目して検討を進めた。まず、破骨細胞はその成熟過程において、RANKを含む膜小胞を放出することが明らかになり、また放出された膜小胞を回収して骨芽細胞に添加した場合、骨芽細胞内のRANKL逆シグナル伝達経路の活性化を引き起こし、骨芽細胞の分化を促進する作用を発揮することが明らかとなった。さらに、RANKL細胞内ドメインに存在するプロリンリッチモチーフにアミノ酸を置換する点変異を導入した場合、破骨細胞由来の膜小胞によるRANKL逆シグナル経路の活性化が減弱し、当該変異を有するマウスにおいては、骨吸収フェーズから骨形成フェーズへのカップリングが障害されていることも明らかとなった。以上の結果を総合し、骨芽細胞に発現するRANKLの重要な生理的役割の一つとして、破骨細胞から放出される膜小胞型RANKを認識し、カップリングシグナルとして機能していると考えられる。

**【利益相反】** 本研究に関して、開示すべき利益相反はありません

---

### Role of RANKL in the coupling process

---

○Honma M<sup>1</sup>, Ikebuchi Y<sup>1</sup>, Hayashi M<sup>1</sup>, Aoki K<sup>2</sup>, Kariya Y<sup>1</sup>, Suzuki H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharma, the Univ of Tokyo Hosp

<sup>2</sup>Basic Oral Health Engin, Tokyo Med Dent Univ

---

Bone homeostasis is maintained through coordinated cycles of osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation, and coupling signals from osteoclasts to osteoblasts are necessary to complete a smooth transition from a bone resorption phase to a bone formation phase. RANKL is known to play a central role in the formation of mature osteoclasts by binding to RANK expressed on osteoclast precursors. Recent evidences have indicated that osteocytes are the major suppliers of RANKL during osteoclastogenesis and the direct cell-cell interactions between osteoblasts and osteoclasts are lacking under physiological conditions. Based on these, we focused on the physiological role of RANKL in osteoblasts. A series of experiments have indicated that osteoclasts secrete RANK incorporated in small extracellular vesicles during their maturation process, and the vesicular RANK can bind osteoblastic RANKL to trigger RANKL reverse signaling and to stimulate osteoblast activation. Introduction of a point mutation in RANKL intracellular domain disrupted RANKL reverse signaling and the coupling of bone resorption to bone formation in mice. Conclusively, osteoblastic RANKL functions as an osteogenic receptor for vesicular RANK derived from osteoclasts, and this signal transduction pathway plays an important role in the coupling of bone resorption to bone formation.

**Conflict of Interest:** Authors declare no conflict of interest.

---

---

### MSF-3 破骨細胞の代謝制御と創薬応用

---

○西川 恵三

阪大 免疫学フロンティア研究セ 免疫細胞生物

破骨細胞は、骨吸収機能を介して骨の恒常性維持にかかわるマクロファージサブセットであり、単球・マクロファージ系前駆細胞から分化する。破骨細胞が示す形態の特徴のひとつに、酸化的代謝の中心オルガネラであるミトコンドリアを豊富にもつことが古くから知られている。実際に、これまでの研究によって、破骨細胞のミトコンドリアの生合成は細胞分化とともに亢進し、これに伴って酸化的代謝が高まることが見出されている。本発表では、この酸化的代謝が破骨細胞制御にかかわる重要な機構であることを明らかにするとともに、様々な破骨細胞関連疾患に対する新たな創薬標的として有用となることを示したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する

---

### Role of metabolic reprogramming in osteoclast differentiation

---

○Nishikawa K

IFReC, Osaka Univ

Bone-resorbing macrophages (so-called osteoclasts) dramatically alter their metabolic activity during cell differentiation. This change in the metabolic status is termed 'metabolic reprogramming', but its role in osteoclast is not fully understood. Using metabolomics approach, we found that metabolic reprogramming during osteoclast differentiation increased intracellular S-adenosyle methionine (SAM), a metabolite of the methionine cycle. SAM is the universal methyl donor for methylation reactions, including histone and DNA methylation. Furthermore, SAM-mediated DNA methylation is required for osteoclast differentiation. These findings reveal the novel role of SAM metabolism in regulating osteoclast differentiation.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSF-4 W9 ペプチドの RANKL を介した骨形成作用

---

○古屋優里子, 保田 尚孝

オリエンタル酵母工業 長浜生物科学研

破骨細胞の分化誘導因子である NF- $\kappa$ B 活性化受容体(RANK)リガンド (RANKL) は発見当初に見出された破骨細胞分化作用だけでなく多彩な機能を有していることが報告されている。我々は、RANKL-RANK のシグナルを抑制し、破骨細胞形成を抑制することが報告されていた9個のアミノ酸から成る WP9QY (W9) ペプチドが、実は、骨芽前駆細胞及びヒト間葉系幹細胞を分化させることで、骨形成作用も有することを見出した。W9 ペプチドは in vivo においても骨形成作用を示し、さらに BMP-2 との相乗効果から、異所骨形成時の骨塩量の増大も確認できた。これらの結果から、我々は骨芽細胞分化には RANKL を介した本来とは逆方向のシグナルが存在するとの仮説を立て、RANKL/RANK シグナルが骨芽細胞 (骨形成) と破骨細胞 (骨吸収) 間のカップリングを調節している可能性を考えている。さらに W9 ペプチドの新しいメカニズムを解析できたため、その詳細についても報告する。

**【利益相反】** 著者は利益相反状態にあります。

---

## The effect of W9 on osteoblast differentiation via RANKL

---

○Furuya Y, Yasuda H

Nagahama Inst for Biochem Sci Oriental Yeast Co.,Ltd.

Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) discovered as the essential factor for osteoclast differentiation has various functions in other cells and other tissues. We have identified the stimulating effect of WP9QY (W9) peptide constructed by 9 amino acids on osteoblastic differentiation in mouse preosteoblastic MC3T3-E1 cells and human mesenchymal stem cells although it is known to suppress osteoclast formation in vitro and in vivo. W9 peptide accelerated bone formation in vivo and calcification of collagen pellets in ectopic bone formation with BMP-2.

We hypothesize RANKL reverse signaling induces osteogenesis and controls coupling between bone formation and bone resorption. We will discuss a new mechanism of W9 action.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## MSF-5 遺伝子改変メダカに見る骨代謝制御機構

---

○茶谷 昌宏<sup>1</sup>, 工藤 明<sup>1,2</sup>, 高見 正道<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 歯科薬理

<sup>2</sup>東工大

---

近年、疾患研究の実験モデル動物としてゼブラフィッシュやメダカなどの小型魚類が用いられ、血管、心臓、筋肉、神経、骨の解析が可能となった。硬骨魚類の一種であるメダカは体の一部が透明であるため、破骨細胞や骨芽細胞の動態をリアルタイム観察で追跡するのに適しており、特にメダカの脊椎骨は膜性骨化様式によって形成されるため、骨、骨芽細胞、破骨細胞を細胞レベルで観察することが可能である。そこで、破骨細胞に発現する *TRAP* 遺伝子のプロモーターおよび、骨芽細胞に発現する *osterix* 遺伝子プロモーターを利用して破骨細胞と骨芽細胞で蛍光タンパク質を発現する *TRAP* promoter-EGFP/*osterix* promoter-DsRed 遺伝子改変メダカを作製した。観察の結果、骨芽細胞は脊椎骨全体的に局在し、破骨細胞は脊椎骨を構成する神経棘と血管棘の内側において局在していることがわかった。脊髄は神経棘を、血管は血管棘の内側を通過しており、器官の成長と共に骨の内側を骨吸収する、骨モデリングを担う破骨細胞であると考えられる。さらに、破骨細胞分化抑制因子である Osteoprotegerin (OPG) の遺伝子欠損メダカを作製したところ、脊椎骨全体に破骨細胞が出現し、過剰な骨吸収が生じることが明らかになった。このことから、OPG が破骨細胞の局在を決定する 1 つの要因であることが示唆された。今後は血管に関連した遺伝子改変メダカも解析することで、新たな制御機構を明らかにしたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Advantages of genetically modified medaka fish for study of bone

---

○Chatani M<sup>1</sup>, Kudo A<sup>1,2</sup>, Takami M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ

<sup>2</sup>Tokyo Inst Technol

---

Small fish are often used as an animal model for research of a variety of diseases. The Japanese rice fish (medaka) is a bony fish useful for studying bone development, because the embryo body is transparent. Furthermore, the bone tissues are formed by membrane ossification, thus it is possible to observe osteoblasts and osteoclasts in living medaka. To perform real-time imaging of osteoclasts and osteoblasts in these fish, we established a *TRAP* promoter-EGFP/*osterix* promoter-DsRed double transgenic medaka line, in which osteoclasts are specifically localized in the neural and hemal arches, and osteoblasts in the vertebral body. To examine regulation of osteoclast localization, we generated an Osteoprotegerin (OPG) deletion mutant medaka line. In these mutant fish, osteoclasts were found to appear and absorbed bone in the vertebral body. Since no osteoclasts exist in the vertebral body of the wild type, these findings suggest that OPG inhibits osteoclast differentiation on bone surfaces in non-mutant medaka. Based on our results, we consider that the promotion of osteoclast differentiation is regulated by OPG, which is a critical factor for regulation of osteoclast localization. In addition, establishment of blood vessel-related gene modified medaka will be helpful to clarify mechanisms related to bone metabolism.

**Conflicts of interest:** The authors have no conflicts of interest to declare in association with this study.

---

---

## LS-1 口腔感染症予防対策

---

○矢島 孝浩

やじま歯科医院

---

### 【エピオスエコシステム】

歯科治療で使われる通常の水道水は、治療装置の維持管理を適切に行わないと多くの細菌に汚染される心配があります。歯を削ったり歯の汚れを除去したりする治療は、患者さんの口の中に機器から水を注入しながら行います。

国内のある歯科医療機関のチェアの水を調べてみると、1 ml 中に 3800 個もの細菌が存在していました。水道法の水質基準は細菌数が 1 ml 当たり 100 個以下と定められています。1 ml 中、3800 個は基準をはるかに上回っています。溜まっていた水を排出すると細菌数は 4 個程度に減り、水道法の水質基準を満たしますが、水の排出だけで細菌対策が十分とは言い切れません。バイオフィルムの付着の程度や水道水に含まれる細菌数などの条件によって、水質基準以下にならないこともあります。歯科医療機関の細菌対策に対する意識は不十分と言わざるを得ません。エピオスエコシステムは不純物を極限まで取り除いた「超純水」と「食塩」を混合し「電気分解」した薬品を全く使用しない安全な除菌治療水を、コップ給水からユニット内、手洗いの水まで全ての水に流す消毒滅菌システムです。

### 【PLASMA POIC WATER】

この新世代型除菌水生成装置は、不純物を極限まで取り除いた「超純水」と「食塩」を電気分解し 500 ppm の次亜塩素酸除菌水を、薬品などをまったく使用しない除菌水を生成します。

歯を極力削らず虫歯を治療するドックベストセメント療法で成功率を上げる小峰一雄先生も推奨する「POIC WATER」は、安心・安全でしかもプラークやバイオフィルム等のタンパク汚れを容易に取り除きバイオフィルム、プラークを分解・洗浄し、除菌までを瞬時に行います。治療からホームケアまで幅広く利用可能。

### 【Nd:YAG レーザー】

痛み、音、振動、臭……、歯の治療から想される嫌なイメージの原因のひとつは、治療時の不快感にあります。歯を削る際の音はもちろん、削る音や振動も人間にとってのストレスになります。痛みのストレスを抑制することは、MI=最小侵襲にも繋がります。それが「パルス幅可変」です。作用と侵襲は相反するものですが、ストリークではパルス幅を 4 種類に可変させることによって作用と侵襲をパルス幅の選択でもコントロール可能としました。

酸化チタン乳剤を流しながら冷却と殺菌を同時に行い、さらに鈍麻を行うことで麻酔を極力避け、軟組織では血流を確保し、最後は近赤外線ので治癒促進が期待できます。

神経を取らなければならないとされる深い虫歯治療の多くの場合麻酔をせずに無菌的に健康な歯質をほとんど削ることなく即日神経を残して治療を完了することが出来ます。

### 【利益相反】なし

---

---

## LS-2-1 うま味の基礎情報とその応用研究

---

○松本 英希

味の素(株)イノベーション研

1908年東京帝国大学の池田菊苗博士により、L-グルタミン酸及びその塩（Glu）がうま味物質として我が国で発見されました。その翌年には、グルタミン酸のナトリウム塩（MSG）が、うま味調味料として提供され、1世紀以上にわたり世界中の人々の豊かな食卓に貢献しています。このGluは、我々が摂取している食品中（母乳、チーズ、トマトなど）に含まれ食品の味に影響を与えているばかりではなく、日本料理に欠かせない出汁、西洋料理や中華料理のスープストックなどではGluを濃縮する調理手法が施されています。また、2000年にGluに独自の感受性を持つ受容体が発見されたことで、それまでに知られていた甘味、酸味、塩味及び苦味の4基本味に加え、第5の基本味としてのうま味の地位が確立しました。

うま味としてのGluの認知は、Gluが舌や消化管に存在するGlu受容体に作用し、活性化されることで迷走神経などのシグナル伝達経路を介して脳に伝わります。次いで、脳でうま味が認知されると、下行性シグナル伝達経路を介して様々な生理作用を引き起こすことが知られています。一方で、Gluは、脱アミノ化反応により $\alpha$ -ケトグルタル酸（KG）を生成し生体内のTCAサイクルを介してエネルギー源として使用され、逆に、Gluは $\alpha$ -KGにアミノ基が転位して生成される可欠アミノ酸の一つでもあります。この様に、Gluはうま味を呈するばかりではなく栄養素としての側面も持っています。

本セミナーでは、生体内で様々な生理的な役割を担っていることが知られているGluの基本情報から臨床活用の実施例を紹介いたします。特に、生体におけるGluの基本的な情報、MSGによる口腔内での唾液分泌促進作用と唾液分泌による口腔衛生への影響、唾液や胃液の分泌促進を介する消化への関与、うま味調味料を用いたおいしい減塩食を用いた入院患者への減塩適用例等を紹介できればと思います。

**【利益相反】** 利益相反がないことを宣言する。

---

---

## LS-2-2 うま味感度低下と肥満：うま味を生かした生活習慣病対策

---

○水田栄之助

山陰労災病院 循環器

---

個々の味覚感度は食習慣に影響を与え、肥満・高血圧・脂質異常症などの生活習慣病に関与することが考えられるが、これらの関係を調べた研究は数少ない。そこで我々は鳥取県内の医療機関を対象に内科外来通院中の患者および健診受診者計約 200 名に対して味覚感度検査を行い、個々の味覚感度・嗜好と食習慣・生活習慣病との関係について検討を行った。結果、甘味嗜好が強いと肥満になり、LDL コレステロールが有意に高値を示すことや、塩味感度低下があると 1 日塩分摂取量が増加すること、高血圧患者や心臓病患者は健常者に比べて有意に塩味感度低下を有していることなどが判明した。また最近 5 大基本味の 1 つである「うま味」について、うま味感度が低下すると女性において有意に肥満になることが報告されたため (Pepino MY, et al. Obesity, 2010)、うま味感度・嗜好が個々の食習慣・各生活習慣病に与える影響について検討したところ、うま味感度低下がある群では対照群に比べて有意に肥満が多かった (肥満: 感度障害群 36.4%, 対照群 11.5%,  $p=0.038$ )。以上よりうま味をはじめ、個々の味覚感度・嗜好の把握、およびそれに対する治療は新たな生活習慣病対策になり得ると考えられた。

「おいしいものは脂と糖でできている」とよく言われるように、脂肪と甘いものは食の満足感を与えるが、その反面、カロリーが多く中毒性が高いため肥満と大いに関係する。一方、和食などうま味を生かした食事は脂肪・甘いものと同様に食の満足感を得ることができるにも関わらず低カロリー食が期待できるため、最近うま味を利用した抗肥満・生活習慣病対策が注目されている。本セミナーでは味覚、特にうま味と生活習慣病との関係について最新の知見を踏まえて解説する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

---

### LS-3 若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成の基本と効率的な PubMed 文献検索法，EndNote や Mendeley を活用した文献データ管理法について

---

○大島 勇人<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態

<sup>2</sup>J Oral Biosci 誌編集委員長

---

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。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。研究者は物事を明らかにしようとするときに仮説を提唱し、その仮説を検証していく。先人たちの研究結果や自分の実験により得られた結果をベースに、いかに論理的に仮説を構築して、それを検証していくかが重要になる。それには、徹底した情報取得と得られた情報の信頼性の評価が「科学的方法」の活用の必要条件となる。また、「仮説」と「実験」との間には密接な相互関係があり、実験的に立証不可能な仮説は空想であるといえる (Paul K Nakane 2014)。

良い論文の作成には、(1) 目的と範囲 (Aims and Scope)、論文の種類、読者層、話題がジャーナルに適していること、(2) 他者の論文を盗用しない、同じ研究に関する複数の論文を出版しない、複数のジャーナルに投稿しない、他者の論文を適切に引用する、大きな貢献をした共著者のみを示すなど出版倫理を遵守していること、(3) 投稿規定 (Guide for Authors) に従うことが前提になる。その上で、あなたの発見が特定の研究分野の理解に貢献するのか、読者の関心を惹きつけるものなのか、適切な構成に則って作成されているか、結論は結果で裏付けされているか、参考文献に偏りはないか、図表は適切か、適切な英語で書かれているかが重要である。

本講演では、若手研究者を対象に、研究の方略、論文の構成、論文の骨格作りなどの学術論文作成の基本から情報取得の鍵となる効率的な PubMed (Medline) 検索方法、EndNote や Mendeley を活用した文献データ管理法について解説することにより、学術論文を効率的に作成するコツを伝えたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Author workshop for young researchers supported by Elsevier: How to make a scientific paper, how to search the PubMed, and how to utilize the EndNote or the Mendeley

---

○Ohshima H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>EIC of J Oral Biosci

---

Research urges researchers to publish papers and books. In other words, researchers is obliged to contribute their research outcomes back to the general public with the publication of papers and books. Thus, making a scientific paper is a quite important social activity for researchers. For the clarification of some concerns, researchers aim to propose a hypothesis and verify whether this hypothesis is right or not. To achieve this purpose, it is essential to create a logical hypothesis based on the findings obtained from the previous studies and how the researchers verify the hypothesis is a key step in their success. The thorough information acquisition and the evaluation of information reliability are prerequisite steps for the application of scientific strategy. In this lecture, I focus on the PubMed search and how to utilize the EndNote or the Mendeley. Finally, I would give a talk about some knowledge of making a scientific paper.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## LS-4 岐阜大学しずい細胞プロジェクト～たくさんのヒトから細胞を集めて分かったこと～

---

○手塚 建一

岐阜大 院医 組織・器官形成

---

われわれは2005年より、主として若年者親知らずの歯髄から細胞を取り出し、研究用ヒト歯髄細胞コレクションを構築している。歯髄細胞は、歯科治療において医療廃棄物として得られる抜去歯や乳歯から容易に採取でき、高い増殖能や多分化能を持つなど、再生医療用の細胞資源として必要な性質を有している。歯髄細胞は、主に神経堤に由来すると考えられており、特に若年者から単離されたものは、長期にわたって高い増殖能を示す。主として象牙芽細胞様分化能を有し、石灰化もするため、スキヤフォールドに播種して人工骨として用いる臨床応用が先行している。また、神経幹細胞マーカーのひとつNestinを発現しており、損傷した神経の再生を促す能力を持ち、多方面への応用が期待されている。

人工多能性幹細胞(iPS細胞)の樹立効率も0.2%程度と高く、若年者の歯髄細胞からは新規のリプログラム因子DLX4も同定された。また、HLAタイプを調べた178ラインのうち、3ラインが、A、B、DRの3ローカスすべてにおいてホモの表現型を示した。これらのHLAハプロタイプの日本人における出現頻度は、それぞれ8.7%、1.8%、1.5%であり、この3ラインから誘導したiPS細胞だけで、日本人人口の約24%に強い拒絶反応なく移植できると考えられる。iPS細胞を経ずとも、その高い増殖能と採取の容易さによって、他家移植を目的としたHLAハプロタイプホモ細胞ストックが構築でき、様々な移植治療に使える細胞資源として活用することが可能である。

本演題では、歯髄細胞が持つこれらの利点に加え、われわれがおこなった、iPS細胞誘導系や脊髄損傷モデルラットにおける効果の「ドナー個人差」を利用した研究例についても最近の知見を紹介したい。

**【利益相反】** 本研究において演者は第一三共株式会社からの共同研究経費と十六銀行からの奨学寄附金を得ている。

---

---

## LS-5-1 大学病院における閉鎖型自動細胞培養装置を用いた細胞培養とその経過

---

○各務 秀明<sup>1</sup>, 李 憲起<sup>1</sup>, 秋山 裕和<sup>2</sup>, 市村 昌紀<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯 口腔顎顔面外科

<sup>2</sup>株式会社カネカ 再生・細胞医療研

<sup>3</sup>松歯大 生化

<sup>4</sup>松歯大病院 細胞・再生医療セ

---

培養細胞を用いた再生医療は、皮膚、軟骨、骨、あるいは神経系疾患の治療などに幅広く用いられている。新たな再生医療安全確保法の下でも、すでに多くの臨床研究や実際の治療として応用が開始されている。その一方で、細胞培養には高額な施設や専門技術を有する人材の確保やトレーニングが課題であり、治療普及の妨げとなっている。われわれのグループでは、再生医療のボトルネックともいえる細胞調製過程を自動化することで、より多くの施設で、安価に再生医療が実施できることを目指して研究を行ってきた。開発を行った自動培養装置を用いて、同一個人から穿刺吸引された骨髓液を2つに分け、人手による通常培養と自動培養装置とで培養を行い、細胞増殖能、回収細胞数および骨分化について比較を行った。その結果、得られた細胞の数、質ともに有意差はなく、その同一性が証明された。この結果に基づいて、今回新たに自動培養装置を用いた歯槽骨再生臨床研究を行うことを計画した。松本歯科大学病院にて閉鎖型自動培養装置に対応したクリーンブース（ダイタン社製）を設置し、その中に自動培養装置を設置した。ここで初代培養から1継代までの培養を行うことが可能であり、その後開放系で行う分化誘導工程については病院内アイソレーターにて実施する。技術的にもっともばらつきが大きくトレーニングが困難な初代培養から1継代までの工程を自動化した。さらに閉鎖系培養装置を、通常CPCではなく今回あらたに設計されたクリーンブース内に設置したことで、安全性を犠牲にすることなくコストの大幅な削減をはかることが可能となった。今回用いるプロトコルによる歯槽骨再生臨床研究についてはすでに特定・認定再生医療等委員会の承認を得ており、厚生労働省への届出をへて実施される段階となっている。本セミナーでは、安全性を十分に確保したうえでトレーニングや設備コストを抑えた新たな細胞調製システムについて紹介する。本システムの有用性が臨床応用からも検証されれば、今後の再生医療の一層の普及に貢献するものと考えている。

**【利益相反】** 発表者は、株式会社カネカとの共同研究の代表者および分担研究者として関連する研究に従事した。

---

## The development of clinical level cell culture using automated cell culture machine in the University Hospital

---

○Kagami H<sup>1</sup>, Li X<sup>1</sup>, Akiyama H<sup>2</sup>, Ichimura M<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral and Maxillofac Surg, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Kaneka Corporation Ltd

<sup>3</sup>Dept of Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>4</sup>Cent for Cell Therapy and Regen Med, Matsumoto Dent Univ Hosp

---

---

## LS-5-2 大学病院への気流制御型クリーンブースの導入とその効果

---

○古川 悠<sup>1</sup>, 佐々木洋二<sup>1</sup>, 岸本 亮<sup>1</sup>, 李 憲起<sup>2</sup>, 各務 秀明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ダイダン株式会社

<sup>2</sup>松歯大

---

緒言：再生・細胞治療の実施には，細胞調製施設（CPF：Cell Processing Facility）が必要となる．一方で，当該施設では施設の構築や維持・運用のために比較的高額なコストが必要となり，結果的に治療費が高額になる場合が多い．今回われわれは，再生医療用の特定細胞加工物の調製を行う環境の構築に，クリーンブースと自動培養装置を用いることを計画した．クリーンブースは，設置する局所空間を高浄度化することが可能であり，限定されたスペースへ設置できる利点がある．また，導入・運用のためのコストが比較的安価で，再生医療に必要なコスト削減の効果が期待できる．

目的：クリーンブース内が，閉鎖型自動培養装置を用いての一連の細胞培養工程に問題のない環境であるかを確認することを目的とする．

方法：松本歯科大学病院内に導入した気流制御型クリーンブース（ダイダン株式会社）と閉鎖型自動培養装置（株式会社カネカ）について，実機を用いたトレーニング時の環境データを計測する．環境データの測定項目はブース内の清浄度，温度，湿度，室内圧力の4項目とする．

結果：閉鎖型自動培養装置や安全キャビネットなどの細胞調製に必要な機器類を気流制御型クリーンブース内に設置することで，比較的安価でありながら，細胞調製に十分な清浄度を確保・維持することができた．

考察：局所空間の清浄度維持のためにクリーンブースを用いるが実用上問題ないことが分かった．今後は臨床試験に向けて継続的に作業環境のデータを蓄積する．

**【利益相反】** 開示すべき利益相反状態はない．

---

### Effect of the airflow control booth for tissue engineering

---

○Kogawa Y<sup>1</sup>, Sasaki Y<sup>1</sup>, Kishimoto A<sup>1</sup>, Kagami H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DAI-DAN CO., LTD.

<sup>2</sup>Matsumoto Dent Univ

---

The cost of the building and the operating of CPF (Cell Processing Facility) is expensive, and a medical cost also becomes expensive. Therefore, a clean booth and an automatic cell culture device were used for a cell preparation. It's possible to clean some space, and clean booth can establish easily. The operating cost is inexpensive and the effect of the treatment cost reduction can be expected. The environmental data of clean booth was measured during embryologist's training. The measurement items of environmental data were the air cleanliness, the temperature, the humidity and the room pressure. The environment in the clean booth was enough for a cell preparation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## LS-6 矯正歯科治療における治療技術の現状とレーザーによる歯の移動時の歯周組織誘導能の探索—半導体レーザー機器の開発を目指して—

---

○國松 亮

広大病院 口腔健康発育 歯科矯正

---

矯正歯科治療は、顎顔面・口腔組織の正常な成長発育を誘導し、良好な顎顔面と正常な口腔機能の獲得を達成する医療である。不正咬合を有する患者は、咀嚼および構音等の機能的障害に加えて、顔貌や歯列の審美障害を主訴とすることが多い。また、不正咬合は自浄作用の低下を引き起こし、う蝕や歯肉炎の誘因となる。不正咬合患者に対して矯正歯科治療を施行することにより、様々な口腔機能障害が改善し、歯の喪失の潜在的な誘因が除去されるものと考えられる。しかしながら、矯正歯科治療経験者は地域差があるものの、7-18%に止まっている。その理由の一つとして、治療期間が長期に及ぶことが挙げられる。矯正歯科治療中の歯の移動は、圧迫側における骨吸収と牽引側における骨添加により生じる。この一連の骨リモデリングは、不正咬合の種類や歯根形態などの局所的要因や、年齢や骨代謝疾患などの全身的要因によって個人差がある上に、歯の移動が遅すぎたり、あるいは意図しない歯の移動が生じることにより、治療期間が長期に及ぶことがある。もし、矯正歯科治療中に特定の歯の移動のみを選択的に促進させることができれば、より効率的な矯正歯科治療を行うことが可能となる。さらに、矯正歯科治療期間が短縮されれば、矯正装置が目に触れる事による心理的負担や、歯の移動に伴う痛みなどの不快症状に起因する患者のストレスを軽減する効果があり、患者の受診動機の向上につながることを期待される。一方、レーザーは励起状態にある物質の誘導放射により発生する特定の電磁波であり、その波長により様々な特徴を有するため、医療分野に広く応用されており有効性が報告されている。近年、超短パルス（パルス幅が0.001秒以下）を発振できるスーパーパルス半導体レーザーが開発されるようになり、高い光エネルギーをより効率的に組織内へ浸透させることが可能となってきた。

今回、矯正歯科治療における治療技術の現状を説明させて頂くとともに、レーザーによる歯の移動時の歯周組織誘導能の探索と新規矯正用レーザー機器開発への試みについてお話ししたいと考えています。

**【利益相反】**「歯科基礎医学会 利益相反（COI）に関する基本指針・運用指針」に基づき、利益相反状態ではありません。

---

---

## LS-7-1 共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡—骨の透明化とライブセルイメージング—

---

○谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

---

共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡は、どちらも光学的なスライスによって従来の顕微鏡よりも鮮明なイメージを得ることができる。また複数の焦点面のスライス画像の重ね合わせによって3次元画像を構築することができる。特に近年は、組織を透明化する技術によって、脳を始めとして様々な臓器の微細な3次元構造の解析が可能になってきた。このような臓器レベルの3次元構造解析において良い画像を得るためには、励起光による光退色の低減や適切なレンズの選択が重要である。

共焦点レーザー顕微鏡は、焦点面以外の広い深さ領域を励起し、ピンホールによって焦点からの蛍光だけを検出装置へ送ることでスライス画像を得る。特に厚みのある組織の3次元構造解析では、励起光が同じ部位に何度も照射されるため光退色が起こりやすい。一方、多光子レーザー顕微鏡では、焦点面の狭い領域だけを励起するため光退色が起こり難い。また臓器レベルの3次元構造解析では、焦点距離が長く開口数の大きなレンズを使用することで、深い部位を高解像度で観察することが可能になる。

本セミナーでは、我々が行っている新しい透明化試薬を使った硬組織透明化の例を紹介し、共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡の違いや、目的に応じたレンズ選択ポイントなどを解説する。また、多光子レーザー顕微鏡による第二次高調波発生や光学的透明化など例を紹介する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

---

## LS-7-2 デコンボリューション蛍光顕微鏡と超解像レーザー顕微鏡—骨の生物医学的マルチモード解析—

---

○飯村 忠浩

愛媛大 プロテオサイエンスセ (PROS) バイオイメーキング, 学術支援セ (ADRES) 病態機能解析

---

骨代謝研究においては, CT,  $\mu$ CT, DEXA, 骨形態計測法など画像からの定量解析がスタンダードな方法である. このような解析法に加えて, 私どもの研究グループでは, ワイドフィールド蛍光顕微鏡 (いわゆる汎用型の蛍光顕微鏡) の応用として, タイリング, デコンボリューションおよび高分解能微分干渉法を用いて, 広視野・高分解能での骨組織観察を行っている. さらに, ライブイメージング法を用いた破骨細胞の機能解析や, 超解像顕微鏡を用いた破骨細胞のシグナル分子複合体の解析を組み合わせ, マルチモードな画像からの定量解析を行っている. 本セミナーでは, このような私どもの取り組みと成果について紹介させていただきたい.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

---

## US1-1 Apert 型変異を伴う可溶性 FGFR2 を応用した頭蓋縫合早期癒合症に対する新規治療法開発の取り組み

---

○森山 啓司

医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正

---

近年の分子遺伝学的研究の進歩により、頭蓋縫合早期癒合症 (craniosynostosis) を伴う骨系統疾患の一部が、線維芽細胞増殖因子受容体 2 (FGR2) の変異によって生じることが明らかとなった。Apert 症候群は、冠状縫合の早期癒合、中顔面の劣成長、眼球突出、四肢の合指症などを主徴とする常染色体優性遺伝性疾患であるが、FGFR2 の細胞外ドメインのミスセンス変異 (S252W/P253R) により、リガンド結合能の上昇やリガンド特異性の喪失を引き起こすことで病態が発症すると考えられている。過去に我々は、Apert 型変異を伴う FGFR2 (FGFR2<sup>S252W</sup>) の細胞外領域からなる可溶性受容体 (sFGFR2<sup>S252W</sup>) が、全長 FGFR2<sup>S252W</sup> を過剰発現する MC 3T3E1 細胞の増殖、シグナル分子のリン酸化、石灰化をそれぞれ抑制することを報告した。そこで、sFGFR2<sup>S252W</sup> を応用した新たな分子標的薬の開発を目指して、分子シャペロン機能を有するナノゲルキャリアとの複合体を作製し、Apert 症候群モデルマウス (AS マウス) 頭蓋冠縫合の癒合に対する影響を検討した。その結果、AS マウスにおいて、ナノゲル-sFGFR2<sup>S252W</sup> 複合体添加群が縫合の癒合阻害作用を示すことを見出した。sFGFR2<sup>S252W</sup> はリガンド結合領域を保持するため、膜貫通型受容体への FGF 結合を抑制し、decoy receptor として機能する。また、その特性から変異を含まない可溶性受容体と比較して作用の増強が期待される。

本講演では、sFGFR2<sup>S252W</sup> を用いた骨芽細胞分化の抑制に関する知見について述べるとともに、ナノゲルをドラッグキャリアとして応用した頭蓋縫合早期癒合症に対する新たな治療法開発の試みについて言及したい。

【謝辞】本研究は、東医歯大 院医歯 顎顔面矯正学 小林起穂 博士、ならびに、京大 院工 生体機能高分子 秋吉一成、佐々木善浩 両博士との共同研究によって行われた。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Therapeutic effect of nanogel-based delivery of soluble FGFR2 with S252W mutation on craniosynostosis

---

○Moriyama K

Dept Maxillofac Orthognath, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Apert syndrome is an autosomal dominantly inherited disorder characterized by craniosynostosis and bony syndactyly of hands and feet, caused by missense mutations (S252W, P253R) of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2). Ligand-dependent constitutive activation of FGFR2 is known to be a cause of Apert syndrome phenotypes; however, the precise mechanism remains unclear. Here we aimed to clarify the etiological mechanisms of craniosynostosis and verify the effects of soluble FGFR2 harboring the S252W mutation (sFGFR2<sup>S252W</sup>) on calvarial sutures in Apert syndrome mice (AS mice). Administration of sFGFR2<sup>S252W</sup> inhibited FGFR2-stimulated proliferation, phosphorylation of intracellular signal molecules, and mineralization of FGFR2<sup>S252W</sup>-overexpressing MC3T3-E1 osteoblasts. The sFGFR2<sup>S252W</sup> complexed with nanogels maintained the patency of coronal sutures, whereas synostosis was observed only where the vehicle nanogel was applied in an organ culture system of calvarial tissue of AS mice. We suggest that appropriate delivery of purified sFGFR2<sup>S252W</sup> could be effective for treating this disorder.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US1-2 未診断疾患イニシアチブを通じた稀少疾患の診断と新規疾患の同定

---

○小崎健次郎

慶大 医 臨床遺伝学セ

「未診断疾患」は、近年国内外で注目されるようになった疾患概念で、多臓器におよぶ・家族性に発症しているなどの理由により単一遺伝子疾患が疑われるが、原因が判明していない疾患を指す。確定診断ができれば、予防的な管理による合併症の回避、エビデンスに基づく遺伝カウンセリングを行える他、正しい患者データベースの構築や病態生理に基づく新規治療法の開発へも繋がる。診断の手がかりとして、ヒト全2万遺伝子の網羅的遺伝子解析（エクソーム解析）の情報を参考にする。はじめに患者の症状やこれまでの検査結果を検討し、既知の稀少疾患にあてはまらないかどうか、また遺伝子解析が診断に有用と予測されるかを判断する。有用と判断された場合は採血を行い、次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を行っている。その結果を臨床症状に照らし合わせて考察し、総合的な結果を患者・家族へ説明している。解析方法の性質上、診断可能な疾患は単一遺伝子病に限られる。わが国では、未診断疾患イニシアチブ(IRUD)が2015年7月に開始され、全国の臨床医・患者さんが参画可能なネットワークが形成されつつある。すでに2000人以上の患者さんの解析が行われ、これまでの解析では約30%の診断率を得ている。極めて稀な疾患の原因遺伝子に変異が同定される場合と、全く新しい疾患が同定される場合がある。未知の新規疾患の原因を確定するには、同一の遺伝子に変異を有していて、同様の症状の組み合わせを有する患者を2名以上見いだす必要がある。われわれが同定した新規疾患のCDC42異常症(MIM 616737 Takenouchi-Kosaki syndrome)や、過成長症候群(MIM 616592 Kosaki Overgrowth syndrome)を含め、紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Initiative on rare and undiagnosed diseases

---

○Kosaki K

Keio Univ Sch Med

Whole exome sequencing and whole genome sequencing projects unraveled genetic bases of many Mendelian disorders which are established as a known clinical entity. In contrast to such projects that aims to find genetic basis of already-known diseases, our national project, Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases [IRUD] tries to unravel genetic bases of patients who have no apparent clinical diagnosis but may have genetic basis because of familial occurrence or multisystem distribution. These classes of disorders are referred to as undiagnosed disease, yet-to-be-described diseases, or syndromes-without-a-name. Currently, our diagnostic rate is about 30%. There is no consensus regarding the definition of establishment of new entity. Example criteria include the NIH-NHGRI guideline (2014), define as follows: Variants in the same gene and similar clinical presentations have been confidently implicated in multiple unrelated individuals. We have succeeded in finding and establishing two new syndromes: a new overgrowth syndrome caused by PDGFRB mutations and a new thrombocytopenic syndrome caused by CDC42 mutations. However, it is difficult for a particular clinician to have a chance to evaluate two patients with the same condition which is presumably yet-to-be-described and thus rare. Identification of two or more patients with similar spectrum of phenotypic features and pathogenic mutation(s) in the same gene is difficult from a practical standpoint when those patients are being followed in separate clinics. Standardized method that ensures systematic comparison would facilitate inter-individual comparison on a global scale and thus delineation of two or more patients with "yet-to-be-described" disorder.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US1-3 マウスジェネティクスを用いた HIV 感染患者の骨病態解明

---

○飯村 忠浩<sup>1,2,3</sup>, 李 智媛<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛媛大 プロテオサイエンスセ バイオイメージング

<sup>2</sup>愛媛大 学術支援セ 病態機能解析

<sup>3</sup>愛媛大 院医

---

感染症治療薬の長期投与が、高齢化に伴う運動器疾患にどのように影響を与えるかは、重要な検討課題である。一般にケモカイン受容体は主にリンパ球に発現し炎症部位への遊走に関わる。その一つである CCR5 は HIV の共受容体で、その阻害薬は HIV 感染症患者の延命に強く貢献している。疫学的調査から CCR5 の機能阻害は、リウマチや骨粗鬆症などの骨吸収性疾患に対して抵抗性があるらしいことが報告されているが、その実験医学的な裏付けは不明である。

そこで、本研究では CCR5 の骨代謝への影響を、CCR5 欠損マウスやヒト培養細胞を用いて調べた。

その結果、CCR5 は破骨細胞の細胞骨格と運動性を調節する分子シグナルに必須であることが明らかとなった。これらの観察結果は、上記の疫学研究を裏付ける結果であり、CCR5 を標的とした HIV 治療が骨吸収性疾患に対してもメリットをもたらす可能性を示した。これらの基礎研究成果と臨床データとの相関からの研究展開についても言及し、本シンポジウムの議論の一助としたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Pathophysiological study of CCR5, a therapeutic target of HIV transmission, in bone using mice genetics

---

○Imura T<sup>1,2,3</sup>, Lee J-W<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bio-Imaging, PROS, Ehime Univ

<sup>2</sup>Analytical Bio-Medicine, ADRES, Ehime Univ

<sup>3</sup>Grad Sch Med, Ehime Univ

---

C-C chemokine receptor 5 (CCR5) is a co-receptor of macrophage-tropic viruses including HIV. Pharmaceutical blockade of CCR5 prevents HIV transmission, and effectively expands the life span of the HIV patients. Some epidemiological findings have reported that functional loss of CCR5 correlates with the beneficial effects for the bone destruction diseases such as rheumatoid arthritis and osteoporosis. However, the roles of CCR5 in bone pathophysiology have not been well documented.

Our integrative analyses of *Ccr5*-deficient mice and cultured human bone cells demonstrated that CCR5-mediated signaling regulated cellular architecture and motility of differentiated osteoclasts, thus suggesting critical roles of CCR5-mediated signaling in pathological bone destruction. These our findings experimentally support the epidemiological studies suggesting skeletal benefits of CCR5-targeted therapy.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US1-4 iPS 細胞を用いた顎骨疾患病態解明へのアプローチ

---

○東 俊文<sup>1,4</sup>, 小野寺晶子<sup>1,2,4</sup>, 齋藤 暁子<sup>1,4</sup>, 中村 貴<sup>1,4</sup>, 大庭 伸介<sup>2</sup>, 小崎健次郎<sup>3</sup>,  
山口 朗<sup>4</sup>, 末石 研二<sup>5</sup>, 柴原 孝彦<sup>6</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生化, <sup>2</sup>東大 院医 疾患生命工学セ

<sup>3</sup>慶大 医 臨床遺伝学セ, <sup>4</sup>東歯大 口腔科学研究セ

<sup>5</sup>東歯大 矯正歯, <sup>6</sup>東歯大 口腔顎顔面外科

---

口腔顎顔面領域には多くの先天性遺伝性疾患の存在が知られている。骨芽細胞分化におけるマスター転写因子 RUNX2 変異による鎖骨頭蓋骨異形成症 (CCD), 細胞の基本的機能・分化・増殖を多岐にわたり調節する Hedgehog 受容体 PTCH1 遺伝子変異による Gorlin 症候群, 骨芽細胞増殖分化に必須な成長因子 FGF2 受容体 2 の点変異をもつ Apert 症候群, では iPS 細胞を作製し解析を開始した。そして新たな病態メカニズムを解明し, iPS 細胞を用いた疾患研究の有用性を確認した。特に CCD では骨分化進行の遅延のみならず, 核形態異常が起こることを発見した。核内には核形態保持に重要な役割を果たし, かつ RUNX2 が転写調節している核内タンパク質が存在していることを確認した。核形態の著しい異常が RUNX2 を含めた転写因子制御を乱し骨分化, メカニカルストレス応答など骨組織に機能障害を生じさせることが病態の一因と考えられた。Gorlin 症候群では骨分化特に石灰化過剰が起こる。この過程が Hedgehog の標的転写因子 Gli3 の活性化調節機構の異常に基づくことを解明した。Hedgehog 経路過剰は骨分化のみならず腫瘍性疾患でも生ずるのでこの新たな機序解明は疾患病態治療へも結びつく可能性がある。Apert 症候群 iPS 細胞は FGF2 情報伝達経路過剰を来していた。MacCuneAlbright 症候群の遺伝子変異は体細胞モザイクで存在するため疾患細胞の採取が困難であるため遺伝子編集技術を用いて iPS 細胞作製を行った。口腔顎顔面領域における 4 疾患 iPS 細胞を作製解析し, 多くの有用な知見が得られ稀少疾患病態解明に大きく役立つと期待される。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Approaches on pathophysiological mechanism of jaw bone disease with iPS cells

---

○Azuma T<sup>1</sup>, Onodera S<sup>1,2,4</sup>, Saito A<sup>1,4</sup>, Nakamura T<sup>1,4</sup>, Ohba S<sup>2</sup>, Kosaki K<sup>3</sup>, Yamaguchi A<sup>4</sup>,  
Sueishi K<sup>5</sup>, Shibahara T<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Cent for Dis Biol and Integrative Med The Univ of Tokyo

<sup>3</sup>Cent for Med Genet, Sch Med Keio Univ, <sup>4</sup>Oral Health Sci Cent Tokyo Dent Coll

<sup>5</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop Tokyo Dent Coll, <sup>6</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Dent Coll

---

We generated induced pluripotent stem cells of 4 different kinds of craniofacial diseases.

First disease was Cleidocranial dysplasia (CCD) which is caused by RUNX2 gene mutation well known as a key transcription factor for osteogenesis. We found numerous morphological abnormality in nuclei of osteogenic cells derived from CCD iPS. We found that RUNX2 controls nuclear proteins important for maintenance of nuclear morphology. These nuclear abnormality might play an important role in CCD pathological mechanism. Gorlin syndrome is a second disease from which we generated iPS. We found new mechanism of hedgehog upregulation. Our finding revealed that active Gli3 was dominant in Gorlin iPS cells while negative Gli3 is common in normal iPS cells. We made Apert syndrome iPS cells and MaccCune Albright syndrome iPS cells. These iPS cells must have potential to elucidate new pathological mechanism and pave way for new diagnostic and therapeutic methods.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript..

---

---

**US2-1 Altered salivary gland function in a mouse model of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia**

---

○Taro Mukaibo<sup>1,2</sup>, James E. Melvin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Secretary Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst of Dent Craniofac Res, Natl Inst Health

<sup>2</sup>Dept Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ

---

X-Linked Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia (X-LHED) is one of more than 150 types of ectodermal dysplasias in humans. X-LHED, the most common form of ectodermal dysplasia, is caused by mutations in the *Ectodysplasin A* (*EDA*) gene. This disease is associated with abnormal development of the skin, hair, nails, teeth, and sweat glands. Nearly half of people with X-LHED also report dry mouth, although the salivary gland dysfunction mechanism is unknown. The “Tabby 6J” X-LHED mouse, which has a single nucleotide deletion mutation of the *EDA* gene, was used to investigate salivary gland hypofunction. Like humans, affected Tabby mice have sparse scalp and body hair, absent teeth and teeth that are malformed. Affected male Tabby mice display reduced body and gland weights. The volume of *ex vivo* stimulated saliva secretion was not reduced in affected mice when normalized to gland weight, suggesting that the fluid secretion mechanism remains intact. In contrast, NaCl reabsorption decreased dramatically in affected Tabby mice. There is currently no treatment for X-LHED, thus the Tabby mouse provides an excellent model to test the efficacy of potential therapies.

---

**US2-2 唾液腺の腺房細胞と導管細胞におけるアニオン分泌の律速分子活性**

○杉田 誠, 上野 可織, 北川 道憲, 柴 芳樹, 廣野 力

廣大 院医歯薬保 口腔生理

グラミシジン穿孔パッチクランプ法および細胞内 pH 動態測定を用い、唾液腺の腺房細胞と導管細胞におけるアニオン分泌の律速分子活性を明らかにすることを目的とした。唾液腺の腺房細胞において、副交感神経性作働薬 carbachol 刺激時には、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性の振動性  $\text{Cl}^-$  電流が観察された。本  $\text{Cl}^-$  電流は  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$  共輸送体 (NKCC) の阻害により顕著に抑制されることより、NKCC により細胞内に供給された  $\text{Cl}^-$  が  $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{Cl}^-$  チャネルを介して腺腔側に分泌されることが明らかとなった。 $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{Cl}^-$  チャネルの部分的阻害は  $\text{Cl}^-$  電流量に影響を与えないが、NKCC のさらなる活性化は  $\text{Cl}^-$  電流量を増大させることより、腺房細胞では NKCC 活性が  $\text{Cl}^-$  分泌の律速過程であることが示唆された。導管細胞においては、carbachol 刺激および細胞内 cAMP 濃度を上昇させる forskolin 刺激により非振動性のアニオン電流が観察された。本アニオン電流は炭酸脱水酵素の阻害により抑制され、炭酸脱水酵素依存的に細胞内で産生された  $\text{HCO}_3^-$  がチャネルを介して分泌されることが解明された。導管細胞の安静時の細胞内 pH は 7.4~7.9 であり、forskolin 刺激は常に細胞内 pH を安静時よりも減少させたが、carbachol 刺激は細胞内 pH を 7.6 に収束させた。炭酸脱水酵素阻害下、forskolin 刺激により誘発される細胞内 pH 減少は抑制される一方で、carbachol 刺激時には常に細胞内 pH が上昇し、 $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulin 依存的に  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  交換体が顕著に活性化されていた。導管細胞では carbachol と forskolin 刺激時において、それぞれ  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  交換体活性と炭酸脱水酵素活性が、細胞内 pH 調節および  $\text{HCO}_3^-$  分泌の律速過程として優位に働くことが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

**The rate-limiting activities for anion secretion from acinar and duct cells in salivary glands**

○Sugita M, Ueno K, Kitagawa M, Shiba Y, Hirono C

Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

To characterize the rate limiting activities for anion secretion from salivary glands, we analyzed carbachol- and forskolin-induced anion currents in acinar and ductal cells using the gramicidin-perforated patch configuration. Since gramicidin creates monovalent cation-selective pores, anion currents in the gramicidin-perforated patch recording were carried by  $\text{Cl}^-$  or  $\text{HCO}_3^-$  efflux via  $\text{Cl}^-$  channels, dependent on  $\text{Cl}^-$  entry through  $\text{Cl}^-$  transporters or  $\text{HCO}_3^-$  production in the cells. In acinar cells, carbachol induced oscillatory  $\text{Cl}^-$  currents which represented the  $\text{Cl}^-$  exit via  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{Cl}^-$  channels, dependent on  $\text{Cl}^-$  entry through a  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$  cotransporter (NKCC). Pharmacological manipulation of the activities of the channel and NKCC revealed that the NKCC rather than the  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{Cl}^-$  channel plays a substantial role in determining the amplitude of carbachol-activated  $\text{Cl}^-$  currents. In duct cells, both carbachol and forskolin induced non-oscillatory anion currents that were suppressed by inhibiting carbonic anhydrase (CA), suggesting that the anion currents were carried by  $\text{HCO}_3^-$  efflux via  $\text{Cl}^-$  channels, dependent on the CA-mediated production of  $\text{HCO}_3^-$ . Carbachol- and forskolin-induced changes in  $\text{pH}_i$  under pharmacological manipulation of the activities of  $\text{Cl}^-$  channels, CA, and a  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  exchanger (NHE) revealed that carbachol and forskolin primarily activate NHE and CA, respectively, to regulate  $\text{pH}_i$  for  $\text{HCO}_3^-$  secretion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US2-3 外分泌腺タンパク質分泌における MARCKS リン酸化と局在変化

---

○佐藤慶太郎<sup>1</sup>, 柏俣 正典<sup>1</sup>, 瀬尾 芳輝<sup>2</sup>, 杉谷 博士<sup>3</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 薬理

<sup>2</sup>獨協医大 医 生理

<sup>3</sup>日大 生物資源 獣医生化

---

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) は PKC の基質であり, リン酸化により細胞膜から細胞質へ細胞内局在が変化する膜ドメインとして働く. このことから, 開口放出など細胞膜周辺で起こるダイナミックな現象に寄与すると考えられている. 耳下腺および膵外分泌腺腺房細胞においてタンパク質成分は開口放出により分泌される. 糖質分解酵素のアミラーゼは両外分泌腺から分泌されるタンパク質成分であり, 耳下腺では $\beta$ 受容体-cAMP系が, 膵臓ではコレシストキニン受容体- $\text{Ca}^{2+}$ /diacylglycerol系が, それぞれ細胞内情報伝達系として働く. 本研究では, 開口放出における MARCKS リン酸化とその細胞内局在変化について, 耳下腺および膵外分泌腺アミラーゼ分泌をモデルに検討した. 両腺房細胞の刺激時に, アミラーゼ分泌と MARCKS リン酸化および細胞内局在変化を認めた. 非刺激時のみ, MARCKS の一部が脂質ラフトに局在していた. 両腺房細胞において, PKC $\delta$ 阻害剤は MARCKS リン酸化を抑制した. 耳下腺腺房細胞において, PKA 阻害剤および phospholipase D 阻害剤は MARCKS リン酸化を抑制した. 両腺房細胞において, PKC $\delta$ 阻害剤および MARCKS 阻害ペプチドはアミラーゼ分泌を抑制した. 耳下腺腺房細胞において, 分泌刺激は PKC $\delta$ を活性化し, PKA 阻害剤はそれを抑制した. 以上より, 耳下腺および膵外分泌腺において, リガンドや細胞内情報伝達系が異なるにも関わらず, PKC $\delta$ による MARCKS リン酸化とそれに続く細胞内局在変化が共通して起こり, 開口分泌に関与していることが示唆された.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Involvement of MARCKS phosphorylation and translocation in protein secretion in exocrine glands

---

○Sato K<sup>1</sup>, Kashimata M<sup>1</sup>, Seo Y<sup>2</sup>, Sugiya H<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Regul Physiol, Dokkyo Med Univ Sch Med

<sup>3</sup>Lab Vet Biochem, Nihon Univ Coll Bioresouce Sci

---

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) is a major cellular substrate for PKC. The phosphorylation and translocation from the membrane to the cytosol of MARCKS are implicated in membrane trafficking in several cell types. Exocytotic amylase secretion occurs in parotid gland and exocrine pancreas, and  $\beta$ -receptors-cAMP and cholecystokinin-receptors- $\text{Ca}^{2+}$ /diacylglycerol signalings contribute to the amylase secretion in parotid and pancreatic acinar cells, respectively. Here, we investigated the involvement of MARCKS phosphorylation and translocation in the amylase secretion in both parotid and pancreatic acinar cells. In both acinar cells, secretagogues induced amylase secretion, and MARCKS phosphorylation and translocation. A part of MARCKS was located in lipid raft of the cells without stimulation. In both acinar cells, a PKC $\delta$  inhibitor attenuated secretagogue-induced MARCKS phosphorylation. In parotid acinar cells, inhibitors of PKA and phospholipase D also inhibited the MARCKS phosphorylation. In both acinar cells, a PKC $\delta$  inhibitor and MARCKS-related peptide (an inhibitor of MARCKS) inhibited secretagogue-induced amylase secretion. In parotid acinar cells, secretagogue activated PKC $\delta$ , but which was inhibited by a PKA inhibitor. These findings suggest that MARCKS phosphorylation and translocation are involved in exocytotic amylase secretion irrespective of ligands and signal transductions in the parotid gland and exocrine pancreas.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US2-4 唾液腺性差と Runx1cKO マウスの唾液分泌制御機構

---

○小野 瞳<sup>1</sup>, Sarper Safiye Esra<sup>2</sup>, 黒坂 寛<sup>2</sup>, 井階 一樹<sup>1</sup>, 山城 隆<sup>2</sup>, 阪井 丘芳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 顎治

<sup>2</sup>阪大 院歯 矯正

---

性ホルモンの生理的役割を理解するとともに臓器形態形成の性差を理解することは、男女それぞれに好発する疾病の予防や治療戦略を立てる上で重要である。シェーグレン症候群は女性優位に発症する自己免疫疾患であり、閉経期前後の女性に好発することが知られている。疾患の発症に性差が認められることは古くから報告されているが、性ホルモンが関連する分子機構については不明な点が多い。構造学的に導管の一部である顆粒性膨大部 (granular convoluted tubule; GCT) に唾液腺の性差が顕著に表れる。GCTは細胞増殖因子を発現し、唾液分泌にも重要とされている。本発表では性ホルモンと関与が示唆される転写因子 Runt-related transcription factor (RUNX)のうち Runx1 に注目し、唾液腺の形態形成および唾液分泌機構に性ホルモンが関わる役割を検討した。WT マウス唾液腺、Runx1 を上皮特異的に欠損させたコンディショナルノックアウトマウス (Runx1cKO) および、性器を摘出したマウスを作成し検討を行った結果、Runx1cKO の成体雄マウスでは唾液分泌量の低下を認めた。また免疫組織染色を行ったところで水チャネル AQP5 の局在に変化が認められ、上皮膜輸送への関与が示唆された。Runx1cKO における唾液腺の機能的低下および導管形成不全を認めたことから、二次性徴の性ホルモン依存的に制御され、Runx1 が導管形成および唾液分泌において重要な役割を果たしていることが明らかになった。また現在、シェーグレンモデルマウスを用いた唾液分泌機能の解析を進めており、今後の計画にも触れていきたい。

**【利益相反】** 開示すべき COI はありません。

---

## Sexual dimorphism and salivation control in the Runx1cKO mouse

---

○Ono H<sup>1</sup>, Sarper ES<sup>2</sup>, Kurosaka H<sup>2</sup>, Ikai K<sup>2</sup>, Yamashiro T<sup>2</sup>, Sakai T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral-facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Orthodont and Dentofac Orthopedics, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Sexual dimorphism of the salivary gland is evident in submandibular gland. The mice granular convoluted tubule (GCT) which only locates at submandibular gland is known to develop and maintain the structure with androgen-dependent manner. It is well known that Runx/Cbfb signaling pathway plays important roles in broad developmental events in different tissues. However, it is not clear which of the RUNX proteins plays useful role in the development of salivary glands by activating the Runx/Cbfb signaling pathway. In the present study, we found that epithelial-specific Runx1 conditional knock-out (cKO) mice demonstrated the remarkable involution of GCT. The results indicate that Runx1 works during the development of the GCT. We also discovered that the depletion of Runx1 resulted in the reduced secretion of saliva in male mice. Consistent with this finding, one of the water channels, Aquaporin-5 (AQP5) was miss-localized in the cytoplasm of the Runx1 mutants, suggesting a novel role of Runx1 in the membrane trafficking of AQP5. In addition, now we also analyze the salivation and function in Sjogren model mouse and mention the future plan.

**Conflict of Interest:** I have no financial relationships to disclose.

---

## US2-5 重炭酸輸送を介した統合的生体内 pH 調節機構の解明—腎臓・上皮細胞から神経系まで—

○山崎 修<sup>1</sup>, Shmuel Muallem<sup>2</sup>, 関 常司<sup>3</sup>

<sup>1</sup>慶大 血液浄化・透析セ及び総合診療

<sup>2</sup>NIDCR, Natl Inst of Health

<sup>3</sup>焼津市立総合病院

ナトリウム重炭酸イオン共輸送体 (NBCe1) には複数のヴァリエントが存在し、腎臓に発現する NBCe1A は腎でのナトリウムと重炭酸の再吸収を司り、機能低下により近位尿細管性アシドーシスを生じる。一方で膵臓や唾液腺では NBCe1B が重炭酸分泌を司る事で、胃液の中和作用や口腔内清浄化を担っている。発表者は、NBCe1A SNP 変異体から機能低下型 K558R 変異体を同定し、一般母集団のなかにも NBCe1A の機能低下による近位尿細管機能低下などが起こる可能性を明らかにした (Pflugers Arch 461:245, 2011)。更に発表者は、L522P ホモ接合体変異体の片頭痛発症機序が細胞膜発現欠如による事を証明し、この変異がドミナントネガティブ効果を有することを明らかにした (Pflugers Arch 465:1281, 2013)。この片頭痛発症は、脳のアストロサイトに発現している NBCe1B がシナプス間隙の pH 調整を司っており、pH 調整の破綻がシナプス間隙のアルカリ化をもたらし、脱分極を助長する機序が想定されている。発表者は膵臓に発現し重炭酸分泌輸送機能を担う NBCe1B にも着目し、留学先である NIDCR (Prof. Muallem 研究室) で唾液腺・膵臓の重炭酸分泌の機能解析を行った。その結果として、NBCe1B の重炭酸輸送能に細胞内塩素イオン濃度が関与することを見出した (PNAS 112:E329, 2015)。NBCe1B はその活性に IP3 受容体結合蛋白 IRBIT が必要であることが知られており、NBCe1B および IRBIT が幅広い臓器に発現していることから、腸管・角膜をも含めた上皮輸送の重炭酸の統合制御を行う master regulator としての機能を持つと推測される。このように重炭酸輸送体を介した体内機能調整の現状と今後の展望について、特定臓器にとどまらない幅広い解説を行いたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

## Master regulator of bicarbonate, $\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$ cotransporter. From kidney to multiple organs

○Yamazaki O<sup>1</sup>, Muallem S<sup>2</sup>, Seki G<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Apheresis and Dialysis Cent/Gen Med, Keio Univ Med

<sup>2</sup>NIDCR, NIH

<sup>3</sup>Yaizu City Hosp

$\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$  cotransporter NBCe1 encoded by SLC4A4 plays essential roles in the regulation of intracellular/extracellular pH. Homozygous mutations in the NBCe1 cause proximal renal tubular acidosis (pRTA) associated with extrarenal manifestations such as ocular abnormalities and migraine.

We analyzed nonsynonymous single nucleotide polymorphisms (SNPs), and K558R variant had a significantly reduced transport activity. (Pflugers Arch 461:245, 2011) We also demonstrated that the NBCe1 Leu<sup>522</sup> plays an important role in the structure and trafficking of NBCe1. The trafficking defect may underlie the dominant negative effect, leading to migraine. (Pflugers Arch 465:1281, 2013) These and other results suggest that the defective NBCe1 activity in astrocytes can cause migraine potentially through dysregulation of synaptic pH. We also demonstrated a cellular chloride sensing mechanism that plays an important role in the regulation of NBCe1B, leading to the maintenance of cellular ion homeostasis and epithelial fluid and electrolyte secretion. (PNAS 112:E329, 2015) IRBIT, 1,4,5-trisphosphate receptors binding protein binds NBCe1B and has an important role of regulating pH through NBCe1B at many organs. Our findings revealed pH regulating system in human multiple organs, not only kidney or epithelial grand, but also synaptic system in neuron, ocular system and gastrointestinal tract.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US3-1 痛みの慢性化スイッチとしてのケラチノサイトの新たな役割

---

○林 良憲

九大 院歯 口腔機能分子

神経障害性疼痛は神経の障害によって生じ、器質的な異常が改善された後も慢性的に痛みを呈する疾患である。中枢神経系の神経回路の変調などの多くのメカニズムが提唱される中、どのようにして痛みが急性期から慢性期へとシフトしていくのかそのメカニズムは十分に解明されていない。そこで本研究では、痛みの急性期と慢性期の境界が何によって規定されているのかを明らかにするために、その分子メカニズムの解析を行った。神経障害性疼痛モデルにおいて CatE 欠損マウスは野生型と同様に急性期の痛みを発症する一方で、野生型と異なり慢性期の痛みが消失した。疼痛時において脊髄ミクログリアでの CatE の発現変動を想定していたが、脊髄での CatE のタンパク量の変化は認められなかった。予想に反して、障害を受けた一次求心神経の投射する皮膚で CatE の発現上昇が認められ、痛みの慢性期だけでこれらの変化は認められた。CatE は皮膚ケラチノサイトの中でも有棘層および顆粒層で発現誘導された。そこで CatE 欠損マウスのケラチノサイト特異的に CatE 遺伝子をレスキューしたところ、CatE 欠損マウスの慢性期の痛みの消失がキャンセルされた。さらに神経障害性疼痛が既に発症した状態において、皮膚ケラチノサイトで誘導された CatE を siRNA でノックダウンを行うことで慢性痛が改善された。以上のことから、障害を受けた神経が皮膚へとシグナルを伝播させ、ケラチノサイトでの CatE の産生亢進を起こすことで痛みを慢性期へとスイッチさせている可能性が示唆された。これらの知見は慢性痛を皮膚で制御することができる新たな可能性を有しており、新たな治療法の確立につながることを期待できる。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Dysfunction of epidermal keratinocytes drives the chronicity of pain

---

○Hayashi Y

Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Aging Sci Pharmacol

Neuropathic pain is a highly debilitating symptom of pain induced by peripheral nerve injury. Regardless of accumulating evidence that neural circuit in the central nervous system is changed during neuropathic pain, the factor that determines chronic phase of pain is poorly understood. Here we found that cathepsin E (CatE), an aspartic protease, in skin innervated by injured nerve determines chronic phase of neuropathic pain. CatE-deficient (*CatE*<sup>-/-</sup>) mice attenuated chronic phase of nerve injury-induced mechanical allodynia without affecting acute phase of pain. The protein levels of CatE was significantly upregulated in skin innervated by injured nerve but not in the spinal cord. Furthermore, induction of CatE in skin innervated by injured nerve was detected in chronic phase of pain, but not in acute phase. Immunohistochemistry revealed that CatE protein was localized in the spinous and granule layer of keratinocytes. Keratinocytes in the footpad specific restoration of *CatE* gene abolished attenuation of neuropathic pain in *CatE*<sup>-/-</sup> mice. In addition, keratinocytes specific knockdown of *CatE* ameliorated ongoing pain. These results suggest that CatE in the epidermal keratinocytes requires the acute and chronic phase-shifting of neuropathic pain.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript

---

---

## US3-2 異所性口腔顔面痛を調節する神経細胞と非神経細胞間クロストーク

---

○篠田 雅路, 岩田 幸一

日大 歯 生理

頭頸部に生じる炎症や腫瘍あるいは末梢神経傷害といった末梢組織損傷が、口腔顎顔面領域の広範囲にわたる異所性疼痛を引き起こすことが知られている。三叉神経系の神経細胞とグリア細胞、炎症性細胞といった非神経細胞との間に存在する情報伝達機構の可塑的変化がその発症要因の一つとして考えられており、その変化は末梢組織損傷が修復された後も持続することが報告されている。今回われわれは、下歯槽神経損傷後に発症する異所性異常疼痛に対するマクロファージの役割について検討した。下歯槽神経損傷後、口髭部に機械痛覚過敏が生じ、損傷側三叉神経節に Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) を発現する Iba1 陽性マクロファージの浸潤を認めた。三叉神経節内へのマクロファージ除去薬の連続投与により、損傷側三叉神経節の浸潤 Iba1 陽性マクロファージ数が減少し、口髭部に生じる機械痛覚過敏が有意に抑制された。また、三叉神経節内への TNF- $\alpha$  阻害薬の連続投与により、下歯槽神経損傷後の口髭部機械痛覚過敏が有意に抑制された。以上のことから、下歯槽神経損傷後に損傷側三叉神経節に浸潤する Iba1 陽性マクロファージから放出される TNF- $\alpha$  が、口髭部投射三叉神経節ニューロンの興奮性を増強する結果、口髭部に機械痛覚過敏が生じることが示唆された。本シンポジウムでは、われわれの研究成果を中心に最新の研究データを交えて、異所性口腔顔面痛を調節する神経細胞と非神経細胞間クロストークについて議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Plastic changes in trigeminal neuronal and non-neuronal crosstalk contribute to ectopic orofacial pain

---

○Shinoda M, Iwata K

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

It is well known that mandibular nerve injury, inflammation and malignant tumor cause chronic orofacial pain that can spread to adjacent orofacial regions innervated by the uninjured trigeminal nerve branches. Recently, much attention has been given to the possibility that plastic changes in trigeminal neuronal and non-neuronal crosstalk contribute to ectopic orofacial pain. Here, we examined the involvement of macrophages which infiltrate into the trigeminal ganglion (TG) following inferior alveolar nerve transection (IANX) in ectopic orofacial pain. Mechanical allodynia was induced in the whisker pad skin and the number of Iba1 positive macrophages which express tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) was significantly increased in TG following IANX. Depletion of Iba1 positive macrophages and TNF- $\alpha$  antagonism in TG significantly depressed the mechanical allodynia in the whisker pad skin following IANX. These findings suggest that TNF- $\alpha$  which was induced from infiltrated macrophages in TG contributes to ectopic mechanical allodynia in whisker pad skin following IANX. Aim of this symposium is to discuss the involvement of trigeminal neuronal and non-neuronal crosstalk in ectopic orofacial pain.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US3-3 一次体性感覚野による慢性疼痛発生機構

---

○江藤 圭

生理学研 生体恒常性発達研究

慢性疼痛は末梢組織の炎症や末梢神経系の損傷がきっかけとなって生じ、その発生・維持過程に中枢神経系の異常が関与している。痛みの感覚情報処理を行う一次体性感覚野(S1)では、慢性疼痛において触刺激で誘発される脳活動が亢進することが機能的核磁気共鳴法を用いた研究から明らかにされている。このことから、S1は慢性疼痛で重要な役割を担うと考えられている。しかし、慢性疼痛時のS1を構成する神経細胞の単一細胞レベルでの活動とその機能的意義についてはほとんど明らかにされていなかった。そこで、本研究では、2光子顕微鏡を用いたin vivoカルシウムイメージングと行動実験、電気生理学的手法を組み合わせることでS1による慢性疼痛発生機構を検証した。S1神経細胞はカルシウム蛍光指示薬で染色し、神経活動を可視化した。慢性疼痛時にはS1では興奮性神経活動が亢進し、4層-2/3層間のシナプスに可塑的変化が生じていた。また、増加した活動を抑制することで疼痛行動が減弱した。次に、抑制性神経細胞活動について検討したところ、興奮性神経細胞と同様に亢進していた。GABA<sub>A</sub>受容体作動薬ムシモールのS1への投与により疼痛行動が減弱することから、抑制力が不足し興奮性細胞活動及び疼痛行動を抑制できていない可能性が示唆された。そこで、次に電気生理学的手法を用いて抑制性シナプス伝達を測定したが、正常群と疼痛群で差がなかった。一方、GABAの抑制力を制御するカリウム・クロライド共輸送体(KCC2)の機能が興奮性神経細胞において低下していた。このことから、S1興奮性神経細胞においてKCC2の機能低下により抑制力が減弱するため興奮・抑制バランスが崩れ痛みが増強されることが明らかになった。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### The mechanisms of chronic pain in the primary somatosensory cortex

---

○Eto K

Div Homeostatic Dev, Natl Inst Physiol Sci

Injury and inflammation of peripheral tissues induce abnormal plastic changes in the central nervous system, which in turn cause chronic pain. The primary somatosensory cortex (S1) has roles in processing nociceptive information and brain activities of the S1 increase in chronic pain condition. Thus, the S1 has been thought to have critical roles in chronic pain. However, little is known about how excitatory and inhibitory neurons in the S1 contribute to chronic pain. In the present study, using two-photon calcium imaging and electrophysiological method, we found that excitatory and inhibitory neuronal activities increased in the S1 in inflammatory chronic pain. Local application of a GABA<sub>A</sub> receptor agonist attenuated allodynia-like behavior. Frequency and amplitude of inhibitory synaptic currents did not change in chronic pain. On the other hand, decrease in K-Cl cotransporter expression in the S1 excitatory neurons resulted in inhibition being less efficacious. Thus, although there is net increase in inhibition within S1 cortical circuit, it is not enough to balance the enhanced excitatory neuronal activities and prevent chronic pain behavior.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US3-4 真菌感染随伴疼痛の生物学的意義とは？

---

○丸山 健太

阪大 免疫学フロンティア研究セ

未曾有の高齢化に附随した整形外科的手術件数の増大や免疫不全・抗癌剤投与の増加に伴って、これまで遭遇することが比較的稀であった皮膚粘膜の真菌感染や真菌性骨髄炎がにわかに顕在化してきた。臨床的に問題となる真菌の大半は *C. albicans* であり、低病原性の酵母型真菌が菌糸型に変化して皮膚粘膜表層から深部組織へ浸潤を開始すると、かゆみや痛みを伴った炎症が惹起される。たとえば、抗癌剤投与中の高齢者にみられる口腔/食道カンジダ症は著名な口腔粘膜痛や嚥下痛を伴い、患者 QOL を著しく低下させる原因となっている。また、女性の 25% が生涯のうち一度は罹患するとされるカンジダ膣炎はおりものを伴った痒みや性交痛をもたらし、手術や褥瘡感染などが原因で骨組織に浸潤迷入した *C. albicans* は著明な骨痛ならびに骨破壊を惹起する。ことほど左様に *C. albicans* は不快な感覚を我々にもたらし、骨破壊をひきおこしうる真菌であるにもかかわらず、これらの病態に分子生物学のメスが入った痕跡は殆どみあたらない。現在我々は、遺伝子改変マウスを駆使することで *C. albicans* 感染随伴疼痛を感知する分子メカニズムの理解と Nav1.8 陽性痛覚神経による真菌性骨髄炎制御機構の全貌解明をめざした取り組みをおこなっており、真菌感染における抹消痛覚神経の知られざる機能の同定に至りつつある。本口演では我々の最新のデータを紹介するとともに、マウスから得られた情報をもとにした先天性無痛症患者の良質な医療を実現するための方策についても考察を加えてみたいと考えている。

【利益相反】なし

---

## Sensocrine machinery of nociceptors boosts the resolution of fungal osteo-inflammation

---

○Maruyama K

Immunol Frontier Res Cent, Osaka Univ

*Candida albicans* can enter skeletal tissue through a skin wound in an immunocompromised host or by contamination during orthopedic surgery. Such *Candida* osteomyelitis is accompanied by severe pain and bone destruction. It is established that nociceptor innervation occurs in skin and bone, but the mechanisms of nociceptive modulation in fungal inflammation remain unclear. In this study, we show that *C. albicans* stimulates Nav1.8-positive nociceptors via the  $\beta$ -glucan receptor Dectin-1 to induce CGRP. This induction of CGRP is independent of Bcl-10 or Malt-1 but dependent on TRPV1/TRPA1 ion channels. Hind paw  $\beta$ -glucan injection after Nav1.8-positive nociceptor ablation or in TRPV1/TRPA1 deficiency showed dramatically increased osteo-inflammation accompanied by impaired CGRP production. Strikingly, CGRP suppressed  $\beta$ -glucan-induced inflammation and osteoclast multinucleation via direct suppression of NF- $\kappa$ B p65 by the transcriptional repressor Jdp2 and inhibition of actin polymerization, respectively. These findings clearly suggest the role of Dectin-1-mediated sensocrine pathways in the resolution of fungal osteo-inflammation.

**Conflict of Interest:** I declare no conflict of interests.

---

---

## US4 我が国の骨代謝研究の源流を探る

---

○久米川正好<sup>1</sup>, 小澤 英浩<sup>2</sup>, 須田 立雄<sup>3</sup>

<sup>1</sup>明海大

<sup>2</sup>新潟大, 松歯大

<sup>3</sup>埼玉大 ゲノム医学研究セ

---

我が国の骨代謝研究は世界レベルで見ても高く評価されており, その創生期を支えてきたのは紛れもなく歯学部関係者であった. 1970年代, 海外に留学していた歯学部関係の基礎研究者が相次いで帰国し, それぞれのラボを立ち上げた. 久米川正好(城西歯科大学), 小澤 英浩(新潟大学歯学部), 須田 立雄(昭和大学歯学部), 鈴木不二男(大阪大学歯学部)などである. 2000年以降, 整形外科出身の多くの研究者も自分のラボを立ち上げて優れた研究を発表しているが, それらの人たちの多くは大学院生時代を歯学部基礎系講座で研鑽を積んでいる. 米国骨代謝学会(ASBMR)の誕生は1979年, 日本骨代謝学会の誕生は1983年のことであり, 1970-1980年代は世界的に見ても骨代謝研究の揺籃期であった. 当時を振り返ってみると, 我が国も高齢社会の到来が叫ばれ始めた頃で, 骨粗鬆症患者の激増, Bisphosphonate 製剤投与による顎骨壊死(BRONJ)患者や乳がん患者の骨転移が注目されたことも基礎研究の重要性に拍車をかけた. 我が国の製薬企業との産学連携も大きかった. その結果, 活性型ビタミンD製剤, カルシトニン製剤, Bisphosphonate 製剤, PTH製剤, 抗RANKL抗体などが骨粗鬆症の治療薬として誕生した. その背景には内科, 整形外科, 老年病科, 産婦人科などの臨床医と歯学研究者の緊密な連携が大きかったように思う. 基礎研究でも, 日本人研究者は骨芽細胞分化の転写因子(CBFA1/RUNX2, Osterix)や破骨細胞分化因子(ODF/RANKL)の発見, 破骨細胞のカテプシンKや骨芽細胞の基質小胞(Matrix vesicle)の発見に大きな貢献をしている.

この度, 第59回歯科基礎医学会学術大会が松本歯科大学で開催されることになり, 中村 浩彰大会長, 宇田川信之準備委員長のお招きで, 『我が国の骨代謝研究の源流を探る』と題するシンポジウムを持つことになった. 大変有難いお話である. 本シンポジウムでは1970-2000年の我が国の骨代謝研究の揺籃期を振り返って, 当時の研究現場の雰囲気をお伝えしたい. 若い会員諸兄のなにかの参考になれば幸いである.

---

## Origin of the research on bone metabolism in Japan

---

○Kumegawa M<sup>1</sup>, Ozawa H<sup>2</sup>, Suda T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Meikai Univ

<sup>2</sup>Niigata Univ, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Saitama Med Univ

---

The early phase (1970-2000) of the research on bone metabolism in Japan was initiated by Japanese scientists related to dental schools, including Masayoshi Kumegawa (Josai Dental School), Hidehiro Ozawa (Niigata University Dental School), Tatsuo Suda (Showa University Dental School), and Fujio Suzuki (Osaka University Dental School). They established new research methods in bone morphology and biochemistry, which resulted in the discovery of matrix vesicles, CBFA-1/RUNX2, Osterix, Cathepsin K, ODF/RANKL and many other important factors and hormones. They also contributed to the training of young scientists in orthopedic surgery and internal medicine, who became the second generations of successful scientists in this field. Collaborations with medical doctors and basic dental scientists produced many medical drugs (Alfacalcidol, Elcatonin, Eldecacitol, and so on) for osteoporosis. In this symposium, we want to retrace the early phase of the research on bone metabolism in Japan and propose a plan for the future development.

---

---

## US5-1 核内蛋白質 HMGB1 について

---

○佐藤 哲二

鶴大 歯 解剖・組織細胞

生体に細菌やウイルスが侵入しようとした時に、様々な細胞がその排除に働いた結果が炎症性反応です。ヒトには存在しない細菌やウイルスの構成成分のことを PAMPs (pathogen-associated molecular patterns; 病原体関連分子パターン), また PAMPs を認識するセンサーのことを PRRs (pattern-recognition receptors; パターン認識受容体) と呼んでいます。最近になって、この PRRs がもともと私たちの身体の中にある成分にも反応することがわかってきました。通常は、細胞の中に留まっているある種の成分が、細胞が死んで細胞外に出ると、体内の PRRs が Danger Signal (危険信号) すなわち Alarmin (アラミン) として感知し、炎症反応を引き起こすことが明らかになってきました。このような炎症は、従来の感染性の「炎症」に対して非感染性の「自然炎症」と定義されます。炎症反応を引き起こす身体の中にある成分を DAMPs (damage-associated molecular patterns; 傷害関連分子パターン) と呼んでいます。アラミンの中で最もよく機能と疾患との関連が同定されているのが HMGB1 (high mobility group box-1 protein) です。HMGB1 は主に核内に存在する分子量 30 kD の DNA 結合タンパク質で、クロマチン構造の安定化や遺伝子の転写反応に関わることが報告されてきましたが、最新の研究から、一部が細胞質にも存在し、細胞外から取り込まれた核酸の認識やオートファジーにも関与していることが示されてきました。

本シンポジウムでは、感染性の炎症と非感染性の自然炎症において HMGB1 蛋白がどのように炎症を惹起するか、さらに生体防御・組織修復などの応答過程における役割についても活発な議論を行う予定です。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Endogenous HMGB1 in nucleus

---

○Sato T

Dept Anat Tissue and Cell Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

High-mobility group box1 (HMGB1) is a highly conserved nuclear protein that serves an important role in transcriptional regulation: HMGB1 acts as an architectural chromatin-binding factor that bends DNA and promotes protein assembly at specific DNA targets. In addition to its intranuclear role, HMGB1 also functions as an extracellular signaling molecule during inflammation, cell differentiation, cell migration, and tumor metastasis. HMGB1 functions as an inflammatory cytokine when passively released from necrotic cells or actively by stress-received cells such as macrophages, natural killer cells, and mature dendritic cells, where it mediates the response to infection, injury, and inflammation. Once released into the intravascular space, HMGB1 can potentially amplify local inflammatory responses by enhancing the release of cytokines and chemokines from stressed cells and interact with endothelial cells by up-regulating surface receptors and causing the secretion of soluble pro-inflammatory mediators. Extracellular HMGB1 functions as a damage-associated molecular patterns (DAMPs) and activates pro-inflammatory signaling pathways by enhancing pattern recognition receptors (PRPs) including toll-like receptor 4 (TLR4) or receptor for advanced glycan end-products (RAGE).

The purpose of this symposium is to characterize the post-translational pathway that regulates nuclear shuttling of HMGB1 into the cytoplasm and its subsequent extracellular release in the infectious and non-infectious inflammation.

**Conflict of interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US5-2 ヘムオキシゲナーゼ1の発現抑制はカスパーゼ3の活性化, HMGB1の細胞外遊離と破骨細胞分化に必要である

---

○坂井 詠子<sup>1</sup>, 岡元 邦彰<sup>2</sup>, 筑波 隆幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

---

破骨細胞は単球・マクローファージ系の前駆細胞が融合して形成された多核細胞で、骨の吸収を司る細胞である。破骨細胞分化は Receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL)や M-CSF など多くのサイトカインが関与している。クロマチンタンパクである High mobility group box 1 (HMGB1)も破骨細胞分化を誘導するサイトカインの一つとして同定されているが、破骨細胞分化過程におけるその役割はまだよくわかっていない。本シンポジウムで我々は、ヘムを分解する酵素であるヘムオキシゲナーゼ1 (HO-1)の発現が、RANKLによって減少することにより HMGB1の細胞外への遊離が促進することを報告する。対照的に、ヘミンやクルクミンによって HO-1の発現が誘導されると、破骨細胞分化が阻害され HMGB1の遊離も抑えられた。HMGB1は細胞死を起こした細胞から遊離すると言われているので、我々は RANKLによって細胞死が誘導されるのか調べた。破骨細胞分化過程において、RANKLはカスパーゼ3の活性化とアポトーシス促進タンパクである Bimの発現を促進した。HMGB1の細胞外への遊離におけるカスパーゼ3の役割を明らかにするため、スタウロスポリンによるカスパーゼ3の活性化が HMGB1遊離を促進するか調べた。アポトーシスを誘導するスタウロスポリンはカスパーゼ3を活性化し HMGB1遊離を促進した。RAW-D細胞において、HO-1の発現を siRNAによって抑制するとカスパーゼ3の活性化と HMGB1の遊離および破骨細胞分化が促進し、逆に、HO-1を過剰発現させるとカスパーゼ3の不活性化と HMGB1の遊離阻害、破骨細胞分化の抑制がみられた。これらの結果は HO-1の発現抑制が RANKL 依存的なカスパーゼ3の活性化、HMGB1の細胞外遊離と破骨細胞分化のために必要であることを示唆している。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Suppression of heme oxygenase-1 is required for caspase-3 activation, high mobility group box 1 release, and osteoclastogenesis

---

○Sakai E<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>2</sup>, Tsukuba T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, Dept Dent Pharmacol

<sup>2</sup>Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Dent Pharmacol

---

Osteoclasts are multinucleated cells that resorb bone. Osteoclast differentiation is regulated by several cytokines, such as receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL) and M-CSF. The chromatin protein high mobility group box 1 (HMGB1) also has been identified as OCL differentiation cytokines. However, its role in osteoclastogenesis has not been well elucidated. Here, we report that RANKL-induced suppression of heme oxygenase-1 (HO-1), a heme-degrading enzyme, promotes HMGB1 release. In contrast, induction of HO-1 with hemin or curcumin inhibited osteoclastogenesis and suppressed HMGB1 release. Since HMGB1 is released from dying cells, we investigated whether RANKL induces cell death. During osteoclastogenesis, RANKL promoted caspase-3 activation and upregulation of Bim, a pro-apoptotic protein. To determine the role of caspase-3 in HMGB1 release, we examined whether caspase-3 activation by staurosporine stimulates HMGB1 release.

Staurosporine, which induces apoptosis, promoted caspase-3 activation and HMGB1 release. In RAW-D cells, suppression of HO-1 by RNA interference promoted caspase-3 activation and HMGB1 release, whereas overexpression of HO-1 inhibited caspase-3 activation, HMGB1 release, and osteoclastogenesis. These results suggest that downregulation of HO-1 is required for the RANKL-induced caspase-3 activation, HMGB1 release, and osteoclastogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US5-3 歯周組織破壊における DAMPs の役割

---

○小林 宏明, 須藤 毅顕, Thatwee Kengwong, 鈴木 苗穂, 加納 千博, 和泉 雄一  
医科歯科大 院医歯 歯周病

---

日本歯周病学会の歯周病専門用語集によると、歯周炎の定義は「細菌などにより歯周組織に生じる炎症性破壊であり、炎症は、歯肉辺縁から歯周組織深部に波及する。外傷性因子によって病変の進行が早まることがあるが、進行速度は比較的緩慢であり、特殊なタイプでは短期間で急激な進行もみられる」と書かれている。また、1999年の米国歯周病学会によって定義された「慢性歯周炎」は「感染性疾患であり歯周組織の炎症やアタッチメントロスおよび歯槽骨吸収を伴う、そして歯周ポケットの形成、またもしくは歯肉退縮を引き起こす。単に歯周炎というときは慢性歯周炎をさすことが多い。成人でみられることが多いが、さまざまな年齢で発症する。一般的にはプラークと歯石の存在と関連する。慢性にゆっくりと進行するが、急速に進行する時期もある。細菌叢の変化と関連がある。」とされている。この炎症性の破壊によって歯槽骨が吸収されるには、破骨細胞の活性化が必要であるが、そこに至る経路は様々である。口腔内には多量の細菌が常在しており、プラークの蓄積によって歯周病が進行する個体もいれば、歯をみがかなくても歯周病が進行しない個体もある。そして、歯をきちんとみがいており、プラークコントロールが良好であるにも関わらず、大きな骨吸収を起こす個体も存在する。また、セメント質剥離や破折、根尖からの排膿路形成によっても、歯槽骨の吸収はみられる。本セクションでは、歯周組織破壊の臨床例を中心に、口腔内の組織破壊がどのように引き起こされていくのかを解説する。この組織破壊には、PAMPs と DAMPs が複雑にからんでおり、その中で DAMPs, 特に HMGB1 の役割に関して説明したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### The role of DAMPs in periodontal destruction

---

○Kobayashi H, Sudo T, Kengwong T, Suzuki N, Kano C, Izumi Y

Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

A Definition of Chronic Periodontitis by American Academy of Periodontology is “An infectious disease resulting in inflammation within the supporting tissues of the teeth, progressive attachment and bone loss and is characterized by pocket formation and/or gingival recession. It is recognized as the most frequently occurring form of periodontitis. It is prevalent in adults, but can occur at any age. The disease is usually associated with the presence of plaque and calculus. Progression of attachment loss usually occurs slowly, but periods of rapid progression can occur. Associated with a variable microbial pattern.” Periodontal bone loss is caused by activation of osteoclasts, but there are many ways to make it. One has periodontal disease with less plaque, another has healthy oral condition with much plaque. Besides accumulation plaque, cemental tear, fracture and sinus tract make bone loss in clinical cases. In this section, the role of DAMPs, especially HMGB-1, is explained.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US5-4 High mobility group box1 (HMGB1)が舌癌周囲筋線維に与える影響とその意義

---

○崎山 浩司<sup>1</sup>, 瀧澤 将太<sup>2</sup>, 小峰 雄介<sup>2</sup>, 小笠原悠大<sup>1</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 解剖

<sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科 II

---

舌は、ほとんどが骨格筋で構成されているため、舌癌となった部位の切除は、咀嚼障害、構音障害、嚥下障害を引き起こす原因となり、大きく多様な影響を与える。我々はこれまで、細胞内でDNAの立体構造維持に重要な役割をもつ high mobility group box 1 (HMGB1)に着目し、筋組織への癌浸潤や転移へのメカニズム、さらに組織修復におけるHMGB1の分布について検索を行った。また、骨格筋は様々な外的因子の影響により、性質を変えることから、舌筋が癌細胞の存在により、どのような影響を受けるのかについても解析した。

舌癌モデルマウスは、マウス舌筋に扁平上皮癌であるSCC7細胞を移植して作成した。舌癌の周囲および遠位の筋組織にどのような影響があるかHMGB1およびHMGB1の受容体であるreceptor for advanced glycation endproducts (RAGE)、そしてミオシン重鎖の分布について免疫組織化学的に検索した。その結果、舌癌発症部位よりも舌尖側では、筋束構造が破壊されて筋線維間隙が増大した癌周囲の筋線維で、HMGB1およびRAGEの発現を認めた。それに対し、修復過程にある舌筋部では、HMGB1の発現が認められたのに対し、RAGEの発現は認められなかった。

以上のことから、癌細胞から放出されたHMGB1によって、癌細胞の周囲に筋線維間隙が形成されたと考えられた。また、HMGB1によって壊死を起こした筋線維によって、さらに多量のHMGB1が放出されたため、癌組織部と隣接しない部位にも影響を与えた可能性を示唆したが、筋組織が再生した部位では、HMGB1が局在しているのに対しRAGEは局在しなかったことから、筋の再生においてもHMGB1が関与している可能性を示唆した。さらに、筋線維の性質においては、舌筋は元来速筋タイプであるが、発生時によくみられる遅筋タイプへ変化したことから、癌組織が周囲の筋組織を破壊したため、筋線維が再生を促すために変化したのではないかと示唆した。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## The effect of the form and characteristics of the tongue muscle adjacent to the tongue cancer by high mobility group box1 (HMGB1)

---

○Sakiyama K<sup>1</sup>, Takizawa S<sup>2</sup>, Komine Y<sup>2</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Meikai Univ of Dent

<sup>2</sup>Div Oral Surg II, Meikai Univ of Dent

---

In this study, we analyzed the mechanism of the cancer invasion, metastasis to the muscle tissue and the regeneration of the tongue muscle by the high mobility group box 1 (HMGB1) which is important in maintenance of three-dimensional structure of DNA in cells and its receptor a receptor for advanced glycation end products (RAGE). In addition, because the muscular properties are modified by extrinsic factors, we analyzed the change of the characteristics of tongue muscle when the cancer cells were present.

First, SCC7 cells were injected into the mouse tongue in order to produce the tongue cancer model. HMGB1 and RAGE were expressed in peri-cancerous myofibers with wide gaps by destroyed bundle structure in the portions within and outside the cancer. HMGB1 that released from cancer cells was suggested to form the muscle fibers gaps around the cancer. Further, HMGB1 was expressed in repaired myofibers. Therefore, HMGB1 could induce regeneration of muscles. Thus, HMGB1 was suggested to induce cancer invasion, metastasis and regeneration of the muscle tissue.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US5-5 矯正学的歯の移動と HMGB1

---

○菅崎 弘幸, 中村 芳樹

鶴大 歯 歯科矯正

HMGB1 は、転写因子の機能発現に重要な核内 DNA 結合タンパク質としての働きと活性化樹状細胞、マクロファージ、壊死細胞から細胞外に放出され分泌タンパク質としても働くことが知られている。矯正学的歯の移動は、歯根膜圧迫側では歯槽骨吸収が、伸展側では骨形成が惹起されることで生じる。臨床的に骨性癒着歯では歯の移動が見られないことから、矯正学的歯の移動過程において歯根膜線維芽細胞が部位選択的な骨代謝制御に重要な役割を果たしていることが推察されている。部位選択的な骨代謝に目を向けると、歯根膜圧迫側では無菌性の炎症反応が生じそれに伴い様々な転写因子発現が誘導され、過度に圧迫された部位では歯根膜細胞の壊死が生じ、この壊死性変性組織はマクロファージや異物巨細胞が除去することなどから、HMGB1 が矯正学的歯の移動に関与する可能性が示唆される。矯正学的歯の移動と HMGB1 の関連については、2013 年以降論文が報告されている。In vivo では矯正力負荷によって HMGB1 発現が上昇すること、過度の圧迫により生じた硝子様変性組織では HMGB1 発現が見られなくなることなどが報告されており、矯正学的歯の移動に伴う歯槽骨骨代謝と HMGB1 の関連が示唆されている。In vitro では、培養歯根膜細胞へメカニカルストレスを負荷することで HMGB1 発現が上昇すること、メカニカルストレスを負荷して培養した歯根膜細胞の培養上清中に HMGB1 が増加し、HMGB1 依存的にマクロファージ遊走を促進することが報告されており、マクロファージ遊走・破骨細胞分化・歯槽骨吸収ならびにマクロファージ遊走・壊死性変性組織除去の生体反応制御に HMGB1 が関わっていることも示唆されている。

以上のように矯正学的歯の移動と HMGB1 が密接に関連することが様々な研究で明らかにされつつあり、これらについて考察致します。

**【利益相反】** なし

---

## Orthodontic tooth movement and HMGB1

---

○Kanzaki H, Nakamura Y

Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

HMGB1 is known as the DNA binding protein which modulates transcription, and also the secretory protein from activated dendritic cells, macrophages, and necrotic cells. Alveolar bone resorption in the compression zone and bone formation on the tension zone of the periodontal ligament (PDL) make it possible to move the tooth during orthodontic treatment. Considering that ankylosed tooth and dental implant can not be moved, the PDL fibroblasts regulates the bone remodeling during orthodontic tooth movement (OTM). In the compression zone of the PDL, cell death and necrotic degenerative tissues induce an aseptic inflammatory reaction, which result in the resorption of the bone by osteoclasts and the removal of the tissues by macrophages and foreign body giant cells. These phenomena suggest the probability of involvement of HMGB1 in bone remodeling during OTM. The relationship between OTM and HMGB1 were reported since 2013. The HMGB1 was induced in the PDL of rats during OTM. Cell culture experiments using the PDL fibroblasts revealed the induction of HMGB1 expression by mechanical stress and the augmentation of HMGB1 in the culture supernatant, followed by the enhancement of the HMGB1-dependent macrophage migration.

The relationship between HMGB1 and PDL fibroblasts during OTM will be discussed.

**Conflict of Interest:** None

---

---

## US5-6 アポトーシス/オートファジーと HMGB1

---

○黒田 範行, 佐藤 哲二

鶴大 歯 解剖・組織細胞

核内タンパク High mobility group B1 (HMGB1)は転写関連因子であり, 正常時には核内に分布している。一方, HMGB1は炎症関連タンパクとしての性質も持っており, 炎症時には核外さらには細胞外へ移動し, パターン認識受容体 (PRRs) である RAGE や TLR-2, -4 に作用し, 生体防御反応を誘導する。本研究では, LPS/GalN 肝炎マウスを用いて HMGB1 の細胞・組織障害誘導のメカニズムを明らかにするとともに, 抑制機序について検討する。

【方法】 対照群 (生食投与群), LPS/GalN 処置群 (グリチルリチン GL の非投与群と投与群) において, 組織病変を HE 染色法と免疫組織化学染色法, 血清中の AST, ALT と HMGB1 レベルの測定, DNA マイクロアレイ法による網羅的解析によるアポトーシス関連遺伝子ならびにオートファジー関連遺伝子の探索, mRNA 発現量を Real-time PCR 法にて検討した。

【結果・考察】 LPS/GalN 投与後 6-10 時間では, 中心静脈周囲に組織病変が認められ, 核内蛋白 HMGB1 は時間経過とともに核外, さらには細胞外へ移動するのが観察された。同群では血清中の HMGB1 レベルと ALT・AST レベルは著しく上昇し, 両者は強い相関を示した。LPS/GalN 投与群では, 活性化したマクファージと樹状細胞の細胞質に HMGB1 の陽性反応が認められた。

LPS/GalN 肝炎マウスにおける HMGB1 の細胞外放出, 血清中の ALT・AST と HMGB1 レベルの上昇は, GL 投与によって抑制された。グリチルリチンは甘草 (*Glycyrrhiza spp*) から得られる生薬成分であり, 抗炎症作用を示し臨床的に肝炎に対して使用されているが, その作用機序に関してはまだ不明な点が多い。本研究では, HMGB1 によるアポトーシス/オートファジーの制御と肝障害との関連ならびにその抑制機構について考察する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Role of HMGB1 in regulation of apoptosis/autophagy

---

○Kuroda N, Sato T

Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

High mobility group box 1 (HMGB1) is a highly conserved nuclear protein that acts as a transcription relating factor. In addition to its intranuclear role, under the inflammation HMGB1 moves into the cytoplasm and then the extra-cellular space, and acts as an extracellular signaling molecule via pattern recognition receptors (PRRs).

In the present study, we analyzed an effect of HMGB1 in the regulation of apoptosis and/or autophagy occurred in the hepatocytes using LPS/GalN-injected model mice. Administration of LPS/GalN precipitated tissue injury associated with the increased serum levels of HMGB1 and ALT/AST. We confirmed extracellular HMGB1 expression exclusively in the pericentral foci 6-10 hours after an injection of LPS/GalN. The treatment with glycyrrhizin suppressed the nuclear-to-cytoplasmic shuttling of HMGB1 and its release into the extracellular milieu.

The purpose of this study is to evaluate the regulation of apoptosis/autophagy through the manipulation of HMGB1.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US6-1 病理学的観点から考える顎骨壊死の初期病態

---

○豊澤 悟

阪大 院歯 口腔病理

ビスフォスフォネート(BP)は、破骨細胞による骨吸収を抑制する薬剤として、骨粗鬆症や癌の骨転移の治療に使用されており、BP投与患者には、発生頻度は低いが、BP関連顎骨壊死(BRONJ)が発生する。また、新規治療薬として、BPとは異なる機序で破骨細胞による骨吸収を抑制するRANKL中和抗体(デノスマブ)が使用されているが、デノスマブ投与患者にもBRONJと同様の顎骨壊死がほぼ同頻度で発生するため、最近では、これらに薬剤関連顎骨壊死(MRONJ)という名称が使われている。

本病態は、骨壊死を伴った難治性骨髄炎であり、BPとデノスマブに共通する骨吸収抑制作用がMRONJ発生に関与すると考えられる。診断の根拠に値する有用な病理学的特徴は明らかではないが、BRONJの病理標本では、骨表面から遊離した破骨細胞がしばしば認められ、病変内の骨梁幅の増加とモザイク様の骨改造線が認められ、これらは骨吸収抑制現象を示唆する組織所見と考えられる。また、MRONJが顎骨にのみ発生する理由として、顎骨は口腔粘膜を隔てて口腔に面し、口腔細菌に極めて感染しやすい環境下にあると考えられる。実際、病理標本には、放線菌等の細菌集塊がよく認められ、臨床的にも感染予防によりMRONJ発生が減少するというデータが蓄積されつつある。このように、MRONJの病態理解は進んだものの、今後は、臨床病期の初期からの予防や治療が望まれるため、臨床病期ステージ0を正確に把握することは重要な課題である。しかし、ステージ0と診断された患者の約半数はMRONJに進展せず、過剰診断となっているのが現状である。本シンポジウムでは、MRONJの初期ステージを把握できる可能性を探るため、病理学的観点からMRONJの初期病態を考察したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Early pathogenesis of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ)

---

○Toyosawa S

Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) was initially believed to be associated with bisphosphonate (BP) use and called BRONJ. However, MRONJ has been implicated in recent reports in patients receiving denosumab, a drug that behaves differently to BPs. Therefore, anti-bone resorption effects common to BPs and denosumab are likely associated with development of MRONJ. MRONJ is characterized by osteonecrosis, inflammation, and infection. Although the comprehensive criteria for MRONJ diagnosis have not yet been established, some histological features have been described. In BRONJ lesions, osteoclasts detaching from bone surface are often observed, and trabecular bone exhibits mosaic-pattern remodeling lines with increased thickness. These features suggest MRONJ, in which osteoclastic bone resorption is inhibited by BP. In addition, the jawbone has a unique characteristic in that its environment is predisposed to bacterial infection, which may partly explain the specific occurrence of MRONJ. Taken together, reduced bone turnover and infection are thought to be central in the pathogenesis of MRONJ, yet management of MRONJ remains a significant clinical challenge, and effective suppression of the primary pathology in MRONJ is critical for its treatment. In this symposium, the early pathogenesis of MRONJ will be considered in the light of recent pathological findings.

**Conflict of Interest:** The author declares there is no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US6-2 薬剤関連顎骨壊死の基礎・臨床研究の現状とその予防・治療戦略

---

○黒嶋伸一郎<sup>1,2</sup>, 佐々木宗輝<sup>1</sup>, 中島 和慶<sup>1</sup>, 玉城 沙貴<sup>1</sup>, 早野 博紀<sup>1</sup>, 澤瀬 隆<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 口腔インプラント

<sup>2</sup>長大 病院 インプラントセ

---

ビスフォスフォネート (BP) 製剤関連顎骨壊死 (ONJ) の報告以来 14 年が経過したが, 疾患の希少性と ONJ 動物モデル作成の困難さに起因して, 病因は現在でも不明な点が多く, 確定的な予防方法や治療方法も未確立である. 近年では, 抗 RANKL 抗体製剤 (Denosumab) や臨床研究段階の抗 sclerostin 抗体製剤 (Romosozumab) を使用する患者の一部でも ONJ が惹起されることが報告され, 現場では混乱が続いていることから, 各種薬剤による病態の把握, 病因の解明, ならびに予防方法や治療方法の開発が急務である. 演者は 2010 年から骨吸収抑制薬と PTH 製剤に関する基礎研究, 顎骨壊死の基礎研究と臨床研究を行い, その中で, 予防法や治療法の探索が可能と思われる BP 製剤と抗 RANKL 抗体誘発性高頻度発現型 ONJ モデルやインプラント周囲骨 BP 製剤関連 ONJ モデルを開発してきた. そして, これら動物モデルの組織形態学的解析, 免疫組織化学的解析, 分子生物学的解析を行うことで, それぞれの ONJ における病態把握が可能となり, 病因に関連する可能性がある要因も見出すことができた. 一方, PTH 製剤の基礎研究では, PTH 製剤が顎骨創部における硬軟組織治癒を有意に促進することを見出したため, PTH 製剤が ONJ を治癒すると仮説を立て, 基礎研究と臨床研究を行った. その結果, PTH 製剤は動物モデルでも患者でも ONJ を予防・治癒させたため, PTH 製剤による ONJ の治療戦略は確立できた. しかしながら, PTH 製剤の使用制限に起因して ONJ 患者のすべてに PTH 製剤は適応できないことから我々は現在, 細胞移植を用いた ONJ の予防・治療方法の開発に取り組んでいる. 本シンポジウムでは, 一連の研究から得た知見から, MRONJ の予防・治療戦略について考察する.

**【利益相反】** 著者らは本発表に関して利益相反がないことを表明する.

---

### Osteonecrosis of the Jaw: pathoetiology, prevention and treatment

---

○Kuroshima S<sup>1,2</sup>, Sasaki M<sup>1</sup>, Nakajima K<sup>1</sup>, Tamaki S<sup>1</sup>, Hayano H<sup>1</sup>, Sawase T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Implantol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

<sup>2</sup>Oral & Maxillofac Implant Cent, Nagasaki Univ Hosp

---

Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ), albeit rare in patients taking bisphosphonates (BPs), anti-receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) antibody (Denosumab) and anti-sclerostin antibody (Romosozumab), produces severe symptoms and worsens oral-related quality of life. The pathoetiology of MRONJ remains unclear despite 14 years having passed since the first clinical report of BP-related ONJ in 2003. Moreover, definitive strategies to prevent and treat MRONJ have not been developed due to difficulty in establishing animal models with high incidence of ONJ. Recently, we have developed high-frequency models of BP- and anti-RANKL antibody-related ONJ-like lesions in rodents and have demonstrated potential pathoetiology of ONJ with histomorphological and immunohistochemical analyses, and molecular biological approaches using these ONJ animal models. Furthermore, we have developed preventive and therapeutic treatment methods for ONJ involving intermittent administration of parathyroid hormone and transplantation of several types of cells such as adipose-derived regenerative cells and endothelial progenitor cells of high quality in a large quantity. The aim of our presentation in this symposium U11 is to provide scientific evidence based on our research.

**Conflict of Interest:** We declare there is no conflict of interest.

---

---

### US6-3 非侵襲的な力学的刺激を用いたステージ 0 BRONJ 病態進展の予防

---

○日高 恒輝<sup>1</sup>, 竹内 良平<sup>1,2</sup>, 高垣 裕子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 口腔科学

<sup>2</sup>横須賀市立市民病院 関節外科

---

我が国における薬剤関連顎骨壊死 MRONJ の患者は、骨粗鬆症の原疾患に対するビスフォスフォネート (BP) 経口薬と、悪性腫瘍に対する注射薬による 2011-2013 年の症例数がほぼ同数である (日本口腔外科学会)。前者の発症率は低いが母集団が大きいため、結果的に全体の高齢女性患者数は男性の 3 倍に上る。初期ステージからの有効な予防・治療が望まれるものの、ステージ 0 は過剰診断の例も多く、経過観察となることが多い。また、演者らのグループは、単離した骨芽細胞の実験において、顎骨特異的に力学的刺激が存在しない環境下では骨リモデリングが抑えられ、アポトーシスも進行すると考えられることと、それらが低出力超音波パルス (LIPUS) の照射により正常化されることを見出した (Exp. Cell Res. 2011)。さらに動物実験では、BP を長期投与されている閉経後の女性で、リスクファクターとして有力視されている歯周病に罹患している場合を想定したモデルラットを作製し、アレンドロネート (ALN) 投与後に *Porphyromonas gingivalis* (Pg) を感染させて、抜歯窩骨欠損部に対する LIPUS 照射の影響を解析した。結果、ALN 投与と併せて Pg の感染がある場合のみ上皮の創傷治癒遅延を含むステージ 0 様の病態がみられたが、抜歯窩に LIPUS 照射を行うことでそれらは防止された。また LIPUS 照射の結果、歯槽骨骨密度の低下の防止、全身性に骨髄の血管系・リンパ系が新生、アポトーシス防止や骨リモデリングの回復を示す mRNA 発現レベルの上昇など、BP と Pg の存在下では低下する機能が予防的に改善されていた。以上から、1) BP による抜歯窩 (創傷) 治癒遅延のリスクファクター、2) 咬合力による力学的刺激の重要性、3) 液性因子の役割の観点から、レーザーや超音波などの力学的刺激による予防・治療について考察したい。

**【利益相反】** 発表に関して、開示すべき利益相反はありません。

---

### Prevention of stage 0 BRONJ (bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw) pathophysiology by non-invasive mechanical therapy with low intensity pulsed ultrasound (LIPUS)

---

○Hidaka K<sup>1</sup>, Takeuchi R<sup>1,2</sup>, Takagaki Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Joint Surg, Yokosuka City Hosp

---

The latest survey by Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons, examining data from 2011 through 2013, revealed the number of BRONJ patients who received oral nBPs (>90% for postmenopausal osteoporosis) was similar to that who received intravenous nBPs (>90% for cancer): [https://www.jsoms.or.jp/medical/wp-content/uploads/2016/06/bronj\\_jsoms\\_201512.pdf](https://www.jsoms.or.jp/medical/wp-content/uploads/2016/06/bronj_jsoms_201512.pdf). Our previous in vitro study showed that osteoblasts isolated from jaw bones are unique in that experimental mechanical stimulation by LIPUS was required for their protein expression in survival and maintenance of bone remodeling, namely, bone homeostasis (Exp Cell Res, 2011). Subsequently, we created a model rat system to mimic elderly osteoporotic female periodontitis patients who received long-term alendronate (ALN) administration and underwent tooth extraction. After repeated topical inoculation of *Porphyromonas gingivalis* (Pg), a maxillary molar tooth was removed and the effect of daily extrabuccal LIPUS exposure to the extraction site was analyzed. Delayed healing of the socket epithelium as well as other stage 0 pathophysiology were observed in rats treated with both ALN and Pg, while such rats exposed to daily LIPUS did not show these effects. We will discuss 1) risk factors, 2) role of the mechanical environment, and 3) humoral factors released from cells activated by mechanical stimulation such as ultrasound in treating BRONJ.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US6-4 骨粗鬆症患者における骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の現状と課題—臨床家の立場から—

---

○岩渕 博史

神歯大 院歯 顎顔面機能再建

---

近年、ビスフォスフォネート（BP）製剤など骨吸収抑制薬に起因すると思われた顎骨壊死（ONJ）は他の薬剤でも生じることが報告され、薬剤関連顎骨壊死と総称して注目されている。しかし、これら薬剤がONJを起こす原因、薬剤間における相違、発症のリスク因子、歯科治療との関連、休薬の是非、治療法等について未だ一定のコンセンサスは得られていない。また、医科歯科の連携が重要な疾病の一つであるにも拘らず医科歯科の相互理解は十分とは言えず、患者の医療環境に改善の余地がある。骨吸収抑制薬がONJの原因であること、薬剤によりONJ発生率に相違がみられる可能性があること、発症のリスク因子や歯科治療との関連については基礎研究や疫学調査により解明されつつあり、抜歯など観血処置やそれ以外の一般歯科診療後にも発症しうることが一般歯科医に十分認識されてきている。しかし、抜歯などの観血処置時の際の骨吸収抑制薬の休薬効果やONJ発症時の治療法については未だ様々な意見があるのが現状である。骨吸収抑制薬の休薬についてはポジションペーパーが推奨している一方で、日本有病者歯科医療学会が行ったアンケート調査において、外科処置前に骨吸収抑制薬を休薬した症例の約50%でONJが発症していたと報告されている。また、日本骨粗鬆症学会が行った調査では、発症には無関係な骨粗鬆症治療薬の休薬を歯科医師から求められることがしばしばあり、歯科医師から休薬依頼のあった薬剤の約30%がBP製剤やデノスマブなど以外の薬剤であった。その一方、医師の62%は骨吸収抑制薬開始前に口腔診査の依頼をしたことがなかった。また治療においては、stage IIにおける観血処置の正否や、国外で普及しつつある低レベルレーザー治療はわが国では試みられていないことなど、今後の基礎と臨床の共同研究や医科歯科の連携が必須であり、有効なシステムの構築を含めた検討が強く望まれる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Current environment of osteoporotic antiresorptive-drug-related-osteonecrosis-of-the-jaw patients in Japan and challenges to provide better medical services

---

○Iwabuchi H

Dept Dentmaxillofac Diag Treat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

---

Osteonecrosis of the jaw (ONJ) occurs as an adverse event from long-term use of bisphosphonates and other medications. The pathogenic mechanisms of each drug, bisphosphonates, anti-RANKL or anti-VEGF antibodies, however, are not completely distinguished yet. Neither risk factors such as periodontal infections and dental treatments, nor the effectiveness of drug holidays, current and prospective treatments are fully established. While coordination between dentistry and medicine is essential, there is insufficient communication between practitioners. Therefore, Society of Dentistry for Medically Compromised Patient and Osteoporosis Society conducted a survey on prevention and treatment of the disease. Although the knowledge of ONJ related to the antiresorptive drugs is generally prevalent, there are many issues not clarified such as drug holidays, for example; duration, timing and drugs concerned. Osteoporosis Society found out that only 62% of medical doctors practiced referral to dentists of their patients who will be administered bisphosphonates, or that some dentists requested to give drug holidays for the osteoporosis drugs not related to the antiresorptive agents. To enhance collaboration between physicians/surgeons and dentists, a systematic approach to sharing new medical/dental developments and patient information should have a favorable impact on the ONJ incidence.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US7-1 急性ストレス曝露による抗炎症作用には延髄 C1 ニューロンが関与する

---

○安部 力<sup>1,3</sup>, 井上 剛<sup>2</sup>, Mark D. Okusa<sup>2</sup>, Patrice G. Guyenet<sup>3</sup>

<sup>1</sup>岐阜大 院医 生理

<sup>2</sup>Dept Med, Div Nephrol, UVA

<sup>3</sup>Dept Pharmacol, UVA

---

交感神経や副交感神経の自律神経や糖質コルチコイドは、過度な炎症の亢進を抑えることで知られている。低血圧、低酸素や低血糖など様々なストレスに応答する延髄吻側腹外側野の C1 ニューロンは自律神経調節の一部を担い、生体の恒常性維持に貢献している。自律神経系の賦活化は免疫系のプライムな状態をつくることで抗炎症作用を呈することが知られており、我々は、障害を起こす前に延髄 C1 ニューロンを特異的光刺激（5 Hz, 10 分間）して自律神経を活性化することで腎虚血再灌流障害が軽減されることを発見した。この軽減作用は、迷走神経の切断およびコルチコステロン受容体ブロッカー（Mifepristone）を投与しても消失しないことから、延髄 C1 ニューロン光刺激による腎虚血再灌流障害の軽減効果は交感神経を介することが示唆された。次に、我々は、交感神経を活性化するような拘束ストレスでも同様に腎虚血再灌流障害の軽減作用を示し、それには延髄 C1 ニューロンが関与しているのではないかと考えた。腎虚血再灌流 24 時間後の血中クレアチニン濃度は、拘束ストレス（10 分間）によって有意に抑えられた。また、拘束ストレスに曝されたマウスの脾細胞移植やノルアドレナリンを与えた脾細胞の投与でも腎虚血再灌流障害の軽減効果がみられた。さらに、ウイルスベクターにて延髄 C1 ニューロンを特異的に除去すると、拘束ストレスによる腎虚血再灌流障害の軽減効果は完全に消失した。これらの結果から、腎虚血再灌流 24 時間前の拘束ストレスは延髄 C1 ニューロンの活性化を介して免疫細胞のプライムな状態を形成し、腎虚血再灌流障害の重症化を制御していることが示唆された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## C1 neurons mediate a stress-induced anti-inflammatory reflex

---

○Abe C<sup>1,3</sup>, Inoue T<sup>2</sup>, Okusa MD<sup>2</sup>, Guyenet PG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch Med

<sup>2</sup>Dept Med, Div Nephrol, UVA

<sup>3</sup>Dept Pharmacol, UVA

---

C1 neurons, located in the medulla oblongata, mediate adaptive autonomic responses to physical stressors (for example, hypotension, hemorrhage and presence of lipopolysaccharides). We describe here a powerful anti-inflammatory effect of restraint stress, mediated by C1 neurons: protection against renal ischemia-reperfusion injury. Restraint stress or optogenetic C1 neurons stimulation (10 min) protected mice from renal ischemia-reperfusion injury (RIRI). The protection was reproduced by injecting splenic T cells that had been preincubated with noradrenaline or splenocytes harvested from stressed mice. Stress-induced RIRI protection was reduced by destroying or transiently inhibiting C1 neurons. Although C1 neurons stimulation elevated plasma corticosterone and increased both vagal and sympathetic nerve activity, C1 neurons-mediated RIRI protection persisted after subdiaphragmatic vagotomy or corticosterone receptor blockade. Overall, acute restraint stress attenuated RIRI by activating anti-inflammatory pathway through predominantly sympathetic nervous system. C1 neurons were necessary and sufficient to mediate this effect.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US7-2 間葉系幹細胞の機能と組織再生

---

○秋山謙太郎

岡大 院医歯薬 インプラント再生補綴

骨髄由来間葉系幹細胞が初めて単離されてからおよそ半世紀が経過しようとしています。この自己複製能や多分化能を有した体性幹細胞は、胚性幹細胞と比較して、倫理的な敷居が低く、組織再生療法の新たなツールとして大きな期待とともに、数多くの研究がなされてきました。とりわけ、GvHD, SLE, Systemic Sclerosis などの全身性免疫疾患に対する間葉系幹細胞移植療法は、難治性疾患に対する劇的な治療効果を示し、従来の治療法にとって代わる新規治療法として注目されました。しかしながら、間葉系幹細胞を応用した組織再生療法が広く臨床で取り入れられるには至っておらず、いくつかの問題が存在するのが現状です。

移植幹細胞の単離・培養に関わる高いコストや、肺塞栓症などの標的外組織へのホーミングなどの問題点があげられる中で、移植幹細胞と宿主免疫応答の関係が注目されつつあります。これまでの我々の研究では、組織再生を目的に移植された幹細胞の多くは、移植局所での炎症性サイトカインのひとつである IFN $\gamma$  によって、移植後に細胞死が誘導され、期待通りの組織再生が行われないというメカニズムの存在が確認されています (Liu et al., Nature medicine 2010)。この組織再生を抑制する宿主免疫や炎症は、制御性 T 細胞をプレ移植することで、組織再生を促進させることも明らかになりました。

このように間葉系幹細胞の機能と宿主免疫の相互作用を理解することは、組織再生成功の鍵を握る重要な要因であると言えます。本シンポジウムでは、間葉系幹細胞の多様な機能とその発現に影響する因子について紹介するとともに、今後の展望について議論したいと考えています。

**【利益相反】** 本発表に関しまして、利益相反関係にある企業は有りません。

---

## Mesenchymal stem cell function and tissue regeneration

---

○Akiyama K

Dept Oral Rehabil Regen Med, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

MSCs have been isolated from bone marrow and various organs and tissues. Nowadays, a large number of tissue regeneration studies using MSCs have been reported because of their multiple differentiation ability. Furthermore, systemic MSCs transplantation has been gradually considered as a promising approach for intractable diseases such as autoimmune disease because of their immunomodulation properties. However, the regulation factor of these remarkable MSCs function is still not fully understood. In this Symposium, we would like to discuss about mesenchymal stem cell function and tissue regeneration. Especially, how immunomodulatory property of mesenchymal stem cell affect host immune cells at regeneration site.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflicts of interest associated with this presentation.

---

---

### US7-3 ヒト口腔粘膜間質由来幹細胞の再生医療への応用の可能性

---

○阿部 成宏<sup>1,2</sup>, 山口 聰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 顎顔面外科

<sup>2</sup>都立広尾病院 歯科口腔外科

---

われわれは、ヒト顎口腔領域の組織由来の幹細胞生物学的研究ならびに再生医学的研究を行っている。その中で、歯を抜去することなく簡便に採取できる口腔粘膜組織に注目した。口腔粘膜組織は臨床的に見ても非常に再生能力の高い組織である。われわれは、sphere 分離法という手法を用いて、神経堤幹細胞様集団を単離することに成功した。sphere 分離法は、フローサイトメトリーなどの高額機器や煩雑な分離操作を必要としない。したがって多くのステップによる細胞のダメージを最小限にとどめることができると考える。また、決定的な幹細胞マーカーが同定されていない現在、候補マーカーによる分離がどれだけの有用性があるかも不明である。本分離法は、現在までに癌幹細胞、皮膚幹細胞、骨髄幹細胞を単離する手法として確立されている。われわれは、ヒト口腔粘膜由来細胞に本手法を応用して得られた sphere 形成細胞集団が、幹細胞マーカーである nestin<sup>+</sup>の細胞を多く含み、slug や snail といった神経堤細胞マーカーの発現を認めた。この sphere 分離法においては、表面マーカーや遺伝子発現において単層培養とは発現パターンを異にするものが存在し、単純な細胞凝集という現象ではない事を見出した。さらに、*in vitro* 下で神経堤幹細胞系統（骨、脂肪、軟骨、平滑筋および神経細胞）への分化誘導が可能で、免疫不全マウスの皮下組織において骨再生能を明らかにした。

本発表では、われわれが単離した神経堤幹細胞様のヒト口腔粘膜間質細胞を用いた幹細胞生物学的ならびに再生医学的研究について関して報告させていただくとともに口腔粘膜由来幹細胞の有用性と可能性に関して本シンポジウムテーマに合わせて考察したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Therapeutic potential of human oral mucosa stromal stem cells

---

○Abe S<sup>1,2</sup>, Yamaguchi S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Maxillofac Surg, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Dent and Oral Surg, Tokyo Metropolitan Hiroo Hosp

---

The neurosphere culture technique is a convenient method for isolation of neural crest stem cells. However, isolation and characterization of human oral mucosa stromal cells using this system has yet to be understood. Therefore, we performed the isolation of neural crest stem cells from oral mucosa using this system. We show that human oral mucosa stromal cells form spheres that exhibit self-renewal capabilities and multipotency, and that they are enriched with neural crest-derived cells. In addition, we demonstrate *in vivo* that these oral mucosa sphere-forming cells can generate ectopic bone tissue even when transplanted into the subcutaneous region, which does not usually contain hard tissue. Therefore, our study shows that the neurosphere culture system can be applied, without the need for complex isolation techniques, to produce multipotent spheres with the properties of neural crest stem cells. Furthermore, we demonstrate a convenient strategy for the isolation and culture of human oral mucosa stromal cells that could have clinical applications. In this presentation I will report on the usefulness and therapeutic potential of oral mucosa derived stem cells according to the theme of this symposium.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **US8-1 WNT signaling and cathepsin K as therapeutic targets**

---

○Roland Baron

Harvard Sch Med and Dent Med

---

Skeletal homeostasis is ensured by balanced bone resorption and formation. Osteoclasts resorb bone and recruit osteoblasts (coupling). Osteoblasts form new bone and regulate osteoclast differentiation, through RANKL and OPG, also secreted by osteocytes.

Inhibition of osteoclast differentiation decreases bone remodeling. In contrast, inhibition of osteoclast function maintains bone formation and remodeling. Deletion of Cathepsin K, impairs resorption but increases bone formation through secretion of sphingosine 1-Phosphate (S1P). In turn, S1P induces RANKL production and increases osteoclasts. Cathepsin K is also expressed in osteocytes and contributes to osteocytic osteolysis. Deletion of cathepsin K in osteocytes prevents the increase in osteocyte lacunar size in response to calcium requirements and mechanical loading. Cathepsin K also regulates Wnt signaling. Wnt signaling regulates osteoblasts and the cross talk with osteoclasts. Inhibition of Sclerostin, secreted by osteocytes, increases bone formation and reduces resorption. Deletion of Sfrp4, another Wnt inhibitor linked to BMD in humans, increases Wnt signaling and trabecular bone, but leads to cortical thinning. Deletion of Wnt16, leads to cortical thinning and fractures but does not affect trabecular bone. Wnt16 is a negative regulator of osteoclast differentiation but not bone formation. These studies show the differential regulation of the cortical and trabecular compartments of bone.

---

---

## **US8-2 Roland gave me a seed of my research**

---

○Kazuhiro Aoki

Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

When I joined the Prof Baron's lab at October 1997, he gave me one project related to the viable motheaten mutant mice (*mev/mev*), which has a functional retardation in Src-homology 2-domain phosphatase (SHP)-1, a critical negative regulator of signal transduction in hematopoietic cells. But, we became to know the same project had been already started in the Jackson laboratory one year after I joined the lab. When I asked Roland a new project, he informed me "There is an interesting peptide antagonizing the action of tumor necrosis factor- $\alpha$  whose molecular weight was 1226.4."

In my research carrier, this peptide became a seed of my research since I started the in vivo studies related to the peptide after going back to Japan and have been continuously analyzing the characterization of the peptide until now. Furthermore, I have developed the carriers of peptide drugs for clinical applications as well as the modification of peptide drugs by collaborating with the researchers in the engineering field.

In this symposium, I will briefly summarize the recent developments of my peptide research, which would lead to the development of therapeutic drugs on the diseases of bones and cartilage.

***Conflict of Interest:*** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### **US8-3 The osteocyte as a therapeutic target in the treatment of osteoporosis**

---

○Yoshihito Ishihara<sup>1,2</sup>, Mary L. Bouxsein<sup>3,4,5</sup>, Roland Baron<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Harvard Sch Med and Dent Med

<sup>2</sup>Dept Orthodont, Okayama Univ Hosp

<sup>3</sup>Harvard Med Sch

<sup>4</sup>Endocr Unit, Mass Gen Hosp

<sup>5</sup>Cent for Adv Orthop Studies, Beth Israel Deaconess Med Cent

---

Osteoporosis is a common disease characterized by a decrease amount of bone mass and a compromised resistance of bone against mechanical loads, which has led us to hypothesize that skeletal mechanosensing is altered in osteoporosis. Osteocytes are responsible for skeletal mechanosensing and key regulators of bone remodeling and homeostasis. Recent studies have suggested an important role for osteocytes in remodeling processes termed osteocytic osteolysis – direct resorption of bone by osteocytes within their lacunae. We investigated whether osteocytic osteolysis was modulated by mechanical loading and/or unloading. Additionally, the role of sclerostin, an osteocyte-secreted negative regulator of bone formation, and cathepsin K in osteocytes were assessed by examining osteocytic osteolysis to evaluate a potential breakthrough in osteoporosis therapeutics that targeted osteocyte function.

Our results demonstrated that osteocytic osteolysis was occurring in cortical lacunae during mechanical unloading. This was attenuated by the administration of sclerostin-neutralizing antibody or osteocyte-specific deletion of cathepsin K. Osteocytic cathepsin K also played an essential role in mechanical loading-induced osteocyte lacunae remodeling. Taken together, these findings suggest the potential role of osteocyte-derived sclerostin and cathepsin K in regulating osteocytic osteolysis in response to mechanical loading and/or unloading.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

Dr. Baron, and Bouxsein is a consultant for Amgen and Merck.

This study received funding from: NASA (NNJ10GA25A, NNX10AE39G-S1); NSBRI (MA00002, BL01302); Amgen/UCB Pharma; Merck; and Bioserve.

---

---

## US8-4 Regulation of sclerostin expression by bone resorption

---

○Masanori Koide

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

Bone is continuously remodelled by bone resorption and formation. It is known that osteoprotegerin-deficient (*OPG-KO*) mice exhibit increased bone formation with increased bone resorption. Sclerostin, an antagonist of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, produced by osteocytes inhibits bone formation. We examined the relationship between expression of sclerostin and bone formation in 12-week-old *OPG-KO* mice. An immunohistochemical study showed that osteoblasts strongly expressed  $\beta$ -catenin in the tibiae of *OPG-KO* mice. Sclerostin-positive osteocytes were decreased in *OPG-KO* mice compared with control mice. A real-time RT-PCR analysis showed that the expression of *Sost* (encoding sclerostin) mRNA was significantly lower in *OPG-KO* mice. In contrast, the expression of *Axin2* mRNA, a target gene of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, and *Alpl* mRNA, a bone formation marker, was significantly higher in *OPG-KO* mice. These results suggest that bone resorption inhibits the expression of sclerostin, which in turn promotes bone formation in *OPG-KO* mice.

We next examined whether the inhibition of osteoclast formation by administration of an anti-RANKL antibody increases the expression of sclerostin. Administration of anti-RANKL antibody to *OPG-KO* mice suppressed bone resorption and increased both the number of sclerostin-positive osteocytes and the expression of *Sost* mRNA compare with vehicle-treated *OPG-KO* mice. In contrast, *OPG-KO* mice treated with anti-RANKL antibody exhibited the lower expression of *Axin2* and *Alpl* mRNA. A histomorphometric analysis demonstrated that administration of anti-RANKL antibody suppressed mineral apposition rate in femurs from *OPG-KO* mice. Thus, we propose that bone resorption inhibits the expression of sclerostin in osteocytes, which in turn promotes bone formation through the action of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **US8-5 Roles of Wnt signals in bone resorption**

---

○Yasuhiro Kobayashi<sup>1</sup>, Shunsuke Uehara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

---

Signaling molecule Wnt ligands activate  $\beta$ -catenin-dependent canonical and  $\beta$ -catenin-independent non-canonical signaling pathways. The activation of canonical Wnt signals in osteoblast-lineage cells induces the expression of osteoprotegerin, a decoy receptor of receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL), which, in turn, inhibits osteoclast formation. We have examined roles of non-canonical Wnt signals in osteoclastogenesis and found that Wnt5a, a typical non-canonical Wnt ligand binds to Ror2 receptors in osteoclast precursors and promotes RANKL-induced osteoclastogenesis. Mechanistically, Ror2 signals activated c-Jun N-terminal kinase and upregulated the expression of RANK in osteoclast precursors. We have also found that Wnt5a-Ror2 signals promote the bone-resorbing activity of osteoclasts. In this symposium, I would like to introduce recent topics regarding Wnt signals in bone resorption and discuss a mechanism by which Ror2 signals promote the bone resorbing activity of osteoclasts as well as osteoclast differentiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## US9-1 口唇機能評価の確立と新しい口唇トレーニングシステムの開発

---

○竹花 快恵<sup>1</sup>, 増田 裕次<sup>2</sup>, 影山 徹<sup>1</sup>, 山田 一尋<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯科矯正

<sup>2</sup>松歯大 総歯研 顎口腔機能制御

---

口唇は、口輪筋をはじめとする多くの表情筋が関わり複雑に動く。そして、捕食、咀嚼、嚥下、構音などの口腔機能のほか、歯列形態にも重要な役割を持つ。このような口唇機能を知るために、口唇をすぼめる運動をしている際の方向別口唇圧を測定するに先立ち、多方位口唇閉鎖力測定装置を開発した。本装置を用いて、方向別口唇閉鎖力の特徴を調べ、口唇をすぼめる運動には口輪筋の寄与が大きいこと、部分的な口唇の感覚異常が全方向の口唇閉鎖力を減少させること、下顎の偏位により左右方向の方向別口唇閉鎖力が非対称になり、その非対称が臼歯部歯軸に影響することを明らかにした。さらに、トレーニングにより口唇閉鎖力は増大し、トレーニングを終了すると増大した口唇閉鎖力は維持されないことを明らかにした。近年では、ビジュアルフィードバックを用いて口唇閉鎖力調節能力を計測するシステムを確立した。それにより随意的に調節を行う口唇閉鎖の能力は、方向特異性があることが分かった。多方位口唇閉鎖力を測定することで、口唇機能の評価に有用であるとともに、この特徴を活用して楽しく飽きずに継続できるトレーニングシステムの構築も可能にすると考えている。現在、このような口唇トレーニングが口唇機能の向上に有効であることを見出し、今後の臨床での応用につなげていきたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する

---

### Establishment of estimation of lip function and development of a new lip training system

---

○Takehana Y<sup>1</sup>, Masuda Y<sup>2</sup>, Kageyama T<sup>1</sup>, Yamada K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Biol, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

Lip movement is complex because it involves many facial muscles, including the orbicularis oris muscle. Also, lip function plays an important role in food intake, mastication, swallowing, articulation and morphology of dentition. To better understand lip function, we developed an apparatus for measuring multidirectional lip-closing force (LCF) prior to evaluating multidirectional LCF during lip pursing. Some of our studies revealed the properties of directional LCF, especially by the orbicularis oris muscle. Partial impairment of lip sensation decreased all directional LCF. Mandibular deviation caused asymmetrical LCF in the lateral direction, and this asymmetry influenced molar inclination. Furthermore, lip-training made the LCF larger, and after stopping the training, LCF was weakened. Recently, we established a system to measure control ability for LCF using visual feedback. The abilities were different depending on the direction. Measuring multidirectional LCF is valuable for estimation of lip function, and it allows for the development of a new training system. This shows that the new training can be effective to enhance lip function. In the future, these systems will be applied to the clinical stage.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US9-2 睡眠中の顎口腔機能異常の病態生理の解析基盤

---

○加藤 隆史

阪大 院歯 口腔生理

顎口腔器官は、咀嚼、嚥下、発音、呼吸など、生命維持や社会生活の維持に重要な機能を発揮する。意識が消失する睡眠中は、これらの顎口腔機能が大幅に減少するが消失しない。顎口腔機能は、睡眠中においても、睡眠や身体機能のホメオスタシスの維持に何らかの役割を果たす可能性が考えられるが、その詳細はよくわかっていない。一方、睡眠時ブラキシズムや閉塞性睡眠時無呼吸症候群のように、睡眠中の顎口腔機能に異常が生じると、睡眠障害や顎口腔器官の損傷・疼痛などの臨床的な問題が生じるが、顎口腔機能の異常の病態生理機構については不明な点が多い。ヒトにおいて睡眠中の顎口腔機能の生理学的特性を調べるには、睡眠の正常と異常を診断し、一定の包含基準に適合した被験群・患者群の睡眠検査データに含まれる、多数の生体信号情報の解析が必要となる。そして、被験群の睡眠中の顎口腔機能の生理学的特徴、例えば睡眠時ブラキシズムであれば、咀嚼筋活動の phenotype に関する生理学的情報を蓄積する必要がある。さらに、ヒトの生理学的・病態生理学的特性を踏まえた仮説に基づく基礎研究の実施と、ヒトと生理学的特性を共有する動物モデルの開発により、生体システムの各レベルを縦断する生理学的研究の基盤を開発することも重要と考えられる。また、臨床とのつながりや睡眠の多様性や個人差を考慮して、population-based の生理学的研究を可能とする研究手法や解析技術の開発も重要になると考えられる。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Multi-level research strategies for sleep related oromandibular functions and dysfunctions

---

○Kato T

Osaka Univ Grad Sch Dent, Dept Neurosci Oral Physiol

Oromandibular functions such as chewing, swallowing, speech and respiration are indispensable for a survival and for the maintenance of a quality of life in the society. These motor activities significantly decrease during sleep but do not disappear completely; during sleep, swallowing and chewing-like rhythmic jaw movements, occasionally occur while respiration is continuously modulated in healthy subjects. Patients with disordered oromandibular functions during sleep, such as sleep bruxism and obstructive sleep apnea, often face a variety of medical (e.g., sleep disturbance) and dental (e.g., orofacial pain) problems. Therefore, several types of studies at multi-levels are needed to clarify the physiological significance of oromandibular functions during sleep and pathophysiological mechanisms of sleep related oromandibular dysfunctions. The research strategies can include the identification of the physiological phenotypes related to motor activities during sleep in healthy and disordered humans and the increase of basic researches for challenging specific physiological hypothesis in animals. In addition, population-based data collection and analysis will be a useful research methodology for understanding the diversity of physiological and pathophysiological natures in oromandibular motor functions and disorders during sleep.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US9-3 咽頭・喉頭領域に発現する TRP チャンネルとその生理学的機能の解析

---

○Mohammad Zakir Hossain<sup>1</sup>, 海野 俊平<sup>1</sup>, 安藤 宏<sup>2</sup>, 増田 裕次<sup>3</sup>, 北川 純一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯 口腔生理

<sup>2</sup>松歯大 歯 生物

<sup>3</sup>松歯大 総歯研

---

「のどごし」のような飲食物を飲み込むときの感覚は、「美味しさ」を形成する重要な要素である。これまでの報告では、咽頭（舌咽神経咽頭枝）および喉頭（上喉頭神経）領域の感覚神経の応答性は、舌の味覚神経（鼓索神経や舌咽神経舌枝）とは異なっていることが知られている。4基本味の神経応答性について、舌咽神経咽頭枝と上喉頭神経は、鼓索神経と舌咽神経舌枝に比べあまり良くないが、水やアルコール刺激に対して高い興奮性を示す特性を持っている。このような咽頭・喉頭領域の味覚応答特性が、「美味しさ」の形成に関与している可能性が考えられる。また、咽頭および喉頭領域からの求心性情報は、生命維持に必要な嚥下反射を誘発する。したがって、咽頭および喉頭領域からの求心性情報を解析することは、健やかに生活を送るためにも大いに役立つかもしれない。近年、様々な機能を有することで TRP チャンネルファミリーが注目を集めている。機械刺激・熱刺激・pH の変化・浸透圧の変化で活性化される TRPV ファミリーに属する TRPV1 チャンネルは、唐辛子（カプサイシン）によって活性化することで知られている。また、TRPM ファミリーには、冷刺激やメントール刺激に反応するチャンネルが存在する。すなわち、飲食物を飲み込んだときに感じる「美味しさ」の要素である触圧感覚や温度感覚などを、TRP チャンネルが受容している可能性がある。また、咽頭・喉頭領域に発現分布している TRP チャンネルを介する刺激が、嚥下反射の亢進や抑制に関与していることも考えられる。咽頭・喉頭領域に発現する TRP チャンネルとその生理学的機能の解析することは、「美味しさ」という化学・温度・触圧感覚など多くの情報が統合された感覚の理解を深め、さらに摂食・嚥下障害の治療に役立つのではないかと思う。**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Sensory and motor functions in the larynx and associated laryngopharyngeal areas utilize TRP channels

---

○ Hossain MZ<sup>1</sup>, Unno S<sup>1</sup>, Ando H<sup>2</sup>, Masuda Y<sup>3</sup>, Kitagawa J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Biol, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

In order to understand food palatability and intake, it is necessary to study sensory and motor functions in the pharyngeal and laryngeal areas. Superior laryngeal nerve (SLN) that supply the larynx and associated laryngopharyngeal regions plays an important role in triggering swallowing reflex. SLN has unique responses to chemical stimulations that differ from the responses of the taste nerve innervating the tongue. However, the underlying mechanism has not yet fully elucidated. On the other hand, swallowing reflex plays an important role in ingestion of food and prevents food entrance into the lower respiratory tract. Delayed triggering of this reflex is a common disorder in aged population and following cerebral vascular accidents that increases the occurrence of pulmonary aspiration. We analyzed that SLN activity was modulated by application of the TRP channel agonists. The increase of SLN activity by agonist was blocked by antagonist. In addition, application of TRP channel agonists in SLN innervated areas triggered swallowing reflexes which was blocked by prior application of antagonist. Our findings suggest that TRP channels are involved in mediating SLN activity and triggering swallowing reflex. TRP channel agonists can be tested for management of dysphagia and prevention of pulmonary aspiration.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## US9-4 機械学習を用いた舌骨上筋群の表面筋電図解析による口腔機能の見える化

---

○佐々木 誠

岩大 院工 バイオロボ

---

舌骨上筋群（顎舌骨筋，顎二腹筋，茎突舌骨筋，オトガイ舌骨筋）は，捕食，咀嚼，嚥下時の舌運動や顎運動など，様々な口腔機能に関与する．そのため，舌骨上筋群の筋電図分析は，口腔機能の評価やバイオフィードバック訓練に広く用いられてきた経緯がある．一方，舌骨上筋群の筋活動が，舌と顎の様々な運動時に観測されることを逆手にとって考えると，その筋電図には，運動の種類や状態を識別するための情報が埋もれており，咀嚼のように協調運動を行う場合でも各運動を独立に評価できる可能性がある．また，舌の押し付け動作時に，舌骨上筋群が舌骨を支える役割を担うことに着目すると，口腔内に力センサを挿入しなくても，力の情報を抽出できる可能性もある．したがって，舌骨上筋群の筋電図に秘められたこれらの情報の見える化は，口腔機能の評価・訓練に対する新しい研究アプローチの一つとして期待できる．

そこで本研究グループでは，舌骨上筋群用に開発したフレキシブル多チャンネル表面筋電計と，ロボット工学における知的信号処理手法（機械学習）を用いて，下記の課題に挑戦してきた．

- (1) 舌骨上筋群の表面筋電図から，舌運動，顎運動を識別できるか？
- (2) 舌骨上筋群の表面筋電図から，舌尖の力ベクトルを推定できるか？
- (3) これらの情報を利用したバイオフィードバック訓練を実現できるか？

本発表では，これらの研究紹介を通して，機械学習がもたらすイノベーションについて議論したい．

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する．

---

## Visualization of oral function based on surface EMG analysis of suprahyoid muscles using machine learning

---

○Sasaki M

Div Biotech & Robo, Iwate Univ Grad Sch Eng

---

Suprahyoid muscles (digastric, stylohyoid, mylohyoid, and geniohyoid) contribute to the tongue and jaw movements. Therefore, EMG analyses of suprahyoid muscles are widely used for oral function evaluation and biofeedback training. Presumably, EMG signals of suprahyoid muscles include sufficient information for classifying the tongue and jaw movements because EMG activations are observed during almost all movements for oral function. Moreover, extracting force information such as tongue tip force from EMG signals of suprahyoid muscles is presumably possible because suprahyoid muscles control the hyoid position according to the tongue movement. Therefore, visualizing information from EMG signals of suprahyoid muscles is anticipated as a new approach for oral function evaluation and training.

Our research group has been developing an oral function visualization method that uses machine learning (artificial intelligence, AI) to accomplish the following.

- (i) Classifying the tongue and jaw movements based on surface EMG signals of suprahyoid muscles
- (ii) Estimating the tongue tip force vector based on surface EMG signals of suprahyoid muscles
- (iii) Developing a biofeedback training system using estimated movement and force.

This presentation, introducing our research, will demonstrate the usefulness and possibilities of machine learning in the research field of oral function.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US10-1 Osteocyte Biology オーバービュー

---

○網塚 憲生<sup>1</sup>, 長谷川智香<sup>1</sup>, 中島 友紀<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 硬組織発生

<sup>2</sup>医科歯科大 院医歯 分子情報伝達

---

骨細胞は細胞性ネットワークを形成しており, 骨基質ミネラルの維持, メカニカルストレスの感知, 骨代謝や血中リン濃度調節など様々な機能を細胞グループとして発揮することが明らかにされている. また, 骨細胞の三次元構造, 周囲のコラーゲン線維や石灰化結晶構造・配向性との関連性も微細構造学的に解明されており, 近年, 多くの新しい情報が得られてきている. 本シンポジウムでは, Osteocyte Biology として先駆的なご研究を推進している先生方にご講演頂きたい.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

### Osteocyte Biology—overview

---

○Amizuka N<sup>1</sup>, Hasegawa T<sup>1</sup>, Nakashima T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

<sup>2</sup>Div Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Osteocytes build up cellular network in bone, as a functional syncytium, playing important roles in maintenance of bone minerals, sensing mechanical stress, and regulation of bone metabolism and serum concentration of phosphate. Recently, more exciting evidences such as three dimensional ultrastructures on osteocytes and spatial relationship with collagen fibrils and bone mineral crystals have been elucidated. In this symposium, outstanding researchers would present updated findings on osteocyte biology.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US10-2 骨細胞による骨リモデリングの制御機構

---

○中島 友紀

医科歯科大 院医歯 分子情報伝達

---

生体の基軸である骨は、動的な恒常性を維持しながら統合的な運動機能を支えている。骨は破壊と形成のバランスにより常に新しく作り替えられており、この再構築は“骨リモデリング”と呼ばれ、強靱な骨組織の維持のみならず、生命維持に必須なミネラルの代謝器官である骨を巧妙に制御している。骨リモデリングは、骨を構成する細胞、破骨細胞、骨芽細胞、骨細胞の細胞間コミュニケーションによって厳密に制御されており、この破綻が様々な骨疾患に繋がる。破骨細胞と骨芽細胞が骨表面で機能する一方で、骨に埋没した骨細胞は、力学的刺激やホルモンなどを感じ、シグナル伝達を介し応答することで、骨リモデリングを制御していると考えられている。RANKLは、破骨細胞分化決定因子であり、その細胞分化メカニズムの解明と治療標的の同定という両方の意味で注目を集めている。しかし、骨組織において、どの様な細胞が破骨細胞の分化を支持しているかはこれまで不明であった。我々は骨に埋め込まれた骨細胞が強力にRANKLを発現し破骨細胞の分化を支持していることを明らかにした。さらに、RANKLシグナルを制御する新たな骨リモデリング制御因子 Semaphorin3Aも同定した。現在、RANKLは骨研究領域にとどまらず、リンパ節形成、乳癌の発生や骨転移、自己免疫疾患に至る様々な生命システムで重要な役割を担っていることが明らかになり、その多彩な機能が注目を集めている。また、骨構成細胞の大多数を占める骨細胞が様々な生体制御システムと連関していることが近年明らかになり、これまで運動器として捉えられてきた骨が、多臓器と連関する内分泌器官としても注目されている。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Regulation of bone remodeling by osteocyte

---

○Nakashima T

Dev Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Bone is constantly renewed by the balanced action of osteoblastic bone formation and osteoclastic bone resorption both of which mainly occur at the bone surface. This restructuring process called “bone remodeling” is important not only for normal bone mass and strength, but also for mineral homeostasis. Bone remodeling is stringently regulated by communication between bone component cells such as osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. An imbalance of this process is often linked to various bone diseases. During bone remodeling, resorption by osteoclasts precedes bone formation by osteoblasts. Based on the osteocyte location within the bone matrix and the cellular morphology, it is proposed that osteocytes potentially contribute to the regulation of bone remodeling in response to mechanical and endocrine stimuli. RANKL currently provides a paradigm that enables the molecular understanding of the linkage among bone metabolism, mammary gland development and tumorigenesis. Recently, we identified bone remodeling induced by osteocyte-derived RANKL and osteoblastic lineage cells-derived Semaphorin 3A exerts an osteoprotective effect by both suppressing bone resorption and increasing bone formation. Bone has been traditionally regarded as a part of the locomotor system, but recent studies suggest that osteocytes regulate systemic biological functions based on the inseparable link between bone and other systems.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US10-3 骨芽細胞から骨細胞へ：微細構造学的知見

---

○長谷川智香<sup>1</sup>, 永井 伯弥<sup>1,2</sup>, 本郷 裕美<sup>1</sup>, 網塚 憲生<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 硬組織発生

<sup>2</sup>北大 院歯 機能補綴

---

骨細胞は、骨芽細胞が自身の産生する骨基質へ埋め込まれることにより分化し、周囲の骨細胞や骨芽細胞と細胞性ネットワークを構成することが知られている。我々は、これら骨細胞および骨細胞ネットワークの微細構造に興味を持ち、透過型電子顕微鏡や、収束イオンビーム/走査型電子顕微鏡 (FIB-SEM)、超解像顕微鏡といった様々な解析機器による微細構造解析を進めてきた。一方、骨芽細胞から骨細胞への分化過程では、細胞の形態のみならず、極性および石灰化に関する酵素・膜輸送体の局在や活性がダイナミックに変化するが、その詳細は明らかとされていない。我々は、骨細胞分化の過程における様々な因子の局在・発現変化について組織学的な解析を進めており、骨基質に埋め込まれつつある骨細胞および骨芽細胞の細胞膜および細胞突起に podoplanin が発現することを明らかにしている。

本シンポジウムでは、骨細胞の微細形態および骨細胞の分化過程における各種因子の局在・発現変化について、現在、我々が得ている知見をご紹介します。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

#### The differentiation from osteoblast to osteocyte—Ultrastructural aspects—

---

○Hasegawa T<sup>1</sup>, Nagai T<sup>1,2</sup>, Hongo H<sup>1</sup>, Amizuka N<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

<sup>2</sup> Dept Oral Func Prosth, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

Osteocytes differentiate from osteoblasts, being embedded in bone matrix. Osteocytes can communicate neighboring osteocytes and osteoblasts through their fine cytoplasmic processes, forming the osteocytic network. We have attempted to demonstrate the ultrastructures of osteocytes and their network by using transmission electron microscope (TEM), focused ion beam-scanning electron microscope (FIB-SEM) and structured illumination microscopy (SIM). Furthermore, it is still veiled how and when osteoblasts are committed to differentiate into osteocytes: Osteoblasts that begin to differentiate into osteocytes dynamically change the cell polarity and the localization of enzymes and membrane transporters involved in mineralization. Interestingly, osteoblasts being embedded and osteocytes in the superficial layer of bone matrix revealed podoplanin on their cell membranes and cytoplasmic processes. In this symposium, we will introduce our recent histological findings of osteocyte morphology and differentiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## US10-4 骨細胞ネットワーク形成に与えるコラーゲン線維構築の関与

---

○上岡 寛<sup>1</sup>, 橋本 真奈<sup>2</sup>, 長岡 紀幸<sup>3</sup>, 大嶋 佑介<sup>4</sup>, 飯村 忠浩<sup>4</sup>, 原 徹<sup>5</sup>

<sup>1</sup>岡大 院 歯科矯正, <sup>2</sup>岡大病院 矯正歯科, <sup>3</sup>岡大 歯先端研セ

<sup>4</sup>愛媛大 プロテオサイエンスセ, <sup>5</sup>物質・材料研究機構

---

**【背景・目的】**骨細胞は自ら伸ばした細く長い細胞突起で細胞性ネットワークを形成し、メカニカルストレスを感知していると考えられている。しかしながら、この細胞性ネットワークがどのようにして形成されていくのかは不明であり、その形成を調整する因子はよくわかっていない。一方、近年開発された直交配置型 Focused Ion Beam (FIB)-Scanning Electron Microscope (SEM) は、数ナノレベルの解像度で、一辺数十マイクロの立方領域の観察が可能である。そこで、今回我々は直交配置型 FIB-SEM を用いて骨細胞ならびにコラーゲン線維の三次元構築を行い両者の位置的關係を解析し、骨細胞ネットワーク形成に与えるコラーゲン線維構築の影響を解析した。**【方法】**ニワトリ胚頭蓋骨を固定・電子染色後、直交配置型 FIB-SEM を用いて 1 辺 25  $\mu\text{m}$  の領域を 25 nm/pixel の解像度で約 1000 枚の連続画像を取得し、Amira ソフトウェアを使用して骨系細胞とコラーゲン細線維の位置關係を三次元的に解析した。さらにコラーゲン細線維形成に必要な架橋を阻害する  $\beta$ -Aminopropionitrile (BAPN) をニワトリ胚に投与し、共焦点レーザー顕微鏡システム (CLS) にて BAPN 投与群と対照群の骨細胞ネットワーク形成を解析、比較した。**【結果と考察】**直交配置型 FIB-SEM で観察された骨細胞の突起は、直径 2  $\mu\text{m}$  ~ 7  $\mu\text{m}$  程の円柱状に集束したコラーゲン線維を避けるように伸びていた。そこで、コラーゲン細線維形成を BAPN で阻害し、蛍光標識された骨細胞を CLS で観察すると、骨細胞ネットワークの形態は、コントロール群に比べ方向に極性の少ない幼若なネットワークを形成した。骨基質主導による骨細胞ネットワーク形成の可能性が示唆された。**【謝辞】**本研究の一部は、文部科学省委託事業ナノテクノロジープラットフォーム課題として物質・材料研究機構微細構造解析プラットフォームの支援を受けて実施された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## The osteocyte network formation is influenced by the collagen fibril alignment

---

○Kamioka H<sup>1</sup>, Hashimoto M<sup>2</sup>, Nagaoka N<sup>3</sup>, Oshima Y<sup>4</sup>, Iimura T<sup>4</sup>, Hara T<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Okayama Univ Hosp, <sup>3</sup>ARCOCS

<sup>4</sup>Ehime Univ Proteo Sci Cent, <sup>5</sup>NIMS

---

**AIM:** We analyzed the influence of the collagen fibril alignment on the osteocyte network formation.

**METHODS:** The embryonic chick calvaria were fixed and prepared for FIB-SEM observation with *en bloc* electrical staining. The samples were milled by FIB at 25 nm in thickness, and their images were captured by SEM. Approximately 1000 images were obtained and reconstructed into three-dimensional images using the Amira software program. To inhibit the collagen cross-linkage,  $\beta$ -Aminopropionitrile (BAPN) was administrated to the embryonic chick, and then calvaria were dissected after three days and were stained using fluorescent-labeled phalloidin to visualize the osteocyte network formation with a confocal laser microscope. **RESULTS:** Three-dimensionally reorganized images obtained using FIB-SEM revealed that osteocyte processes elongate into the bone matrix while avoiding the thick collagen fibers with a diameter exceeding several micrometers. In our BAPN experiments, we observed significant differences in the osteocyte network formation of the calvaria administered BAPN versus the control calvaria with respect to loss of regularity. **CONCLUSION:** Our findings suggested that the osteocyte network formation was influenced by the thick collagen fibers. We have considered the possibility of matrix-oriented osteocyte network formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US10-5 骨細胞と骨基質アパタイト配向性

---

○中野 貴由, 石本 卓也, 松垣あいら

阪大 院工 マテリアル生産科学 生体材料

骨細胞は, *in vivo* 応力を感じつつ, 骨細管と骨小腔 (ラクナ) を通じてスカラー量としての骨密度・骨量を機能適応に基づき調整することが期待されてきた. しかしながら, 骨細胞のメカノセンシング, さらにメカノトランスダクションに関する詳細なメカニズムについては不明な点が多い. 一方, 応力は3次元のテンソル量として骨に負荷されること, さらに, 骨基質は部位特有の3次元的優先骨基質配向性を有することから, *in vivo* 応力の負荷, 骨細胞によるメカノセンシング, 骨機能適応現象の関連は, スカラー量的観点にとどまらず, 異方性を軸として説明され得ると我々は推察している.

本研究ではコラーゲン/アパタイト結晶からなる3次元骨基質と応力感受細胞としての骨細胞との相関について解明して来た. ラクナの優先配向方向と形態は, 負荷する主応力と強く関連し, さらに, コラーゲン/アパタイトの優先配向性とも相関を示した. このことから, 骨細管は, 異方的な応力場に対して骨細管内の液体流動を効率的に発生させる, すなわち, 応力を効率的に感受しその情報を効率的に伝達できるように, 異方的な方位分布を持つことが明らかになった. 結果として, 骨細胞のメカノセンシングを通じて主応力方向に沿った骨基質配向性が形成され, 同方向へのヤング率が上昇することで, 最終的には骨細胞周囲では異方的ひずみ分布が等方化するよう, 機能適応現象が生じることが示唆された.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Relationship between osteocyte and apatite orientation in bone extracellular matrix

---

○Nakano T, Ishimoto T, Matsugaki A

Biomater & Struct Mater Design Area, Div Mater & Manufacturing Sci, Grad Sch Eng, Osaka Univ

Osteocyte (OCY) has been expected to regulate bone mineral density and bone mass as scalar quantity under *in vivo* stress condition based on functional adaptation through the mechanosensing ability. However, detailed mechanisms relating to mechanosensing and subsequent mechanotransduction are unclear. Since stress is loaded as a three-dimensional (3D) tensor quantity and bone shows unique 3D orientation distribution of collagen / apatite (extracellular matrix (ECM)) depending on the anatomical location, the relation between *in vivo* stress, osteocytic mechanosensing, and adaptive bone change would be explained under consideration of anisotropy.

In this study, we have clarified the correlation between 3D bone ECM and anisotropic morphology of OCYs. Aspect ratio and degree of alignment of elongated OCY seem to largely relate to principal stress, and further highly correlates with the ECM preferential orientation. This suggests the anisotropic OCY canalicular network is formed so that OCY efficiently sense the 3D stress distribution *in vivo*. As a result, bone functionally adapts through alteration of the preferential orientation of collagen / apatite matrix in response to the change in *in vivo* stress to make bone material properties anisotropic and subsequent ECM strain around OCY isotropic.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US11-1 細胞増殖と生存に対するコリントランスポーター CTLs/SLC44A の役割

---

○稲津 正人<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東京医大 医学総合研

<sup>2</sup>東京医大 分子予防医学

---

コリンは、細胞膜の主要なリン脂質のホスファチジルコリンおよびメチル基供与体である S-アデノシルメチオニンや神経伝達物質のアセチルコリンの合成に不可欠である。細胞内コリン含量の増大とコリンキナーゼ活性の上昇は、さまざまな癌で観察され、癌の特徴でもある。このように、コリントランスポーターを介してのコリンの細胞内輸送は、リン脂質代謝や癌細胞増殖の律速段階としての機能であると言える。これまでの先行研究により、ヒトの各種癌細胞においてコリンの取り込み作用やリン脂質代謝の異常が陽電子放射断層撮影と磁気共鳴分光法などの癌の画像診断にて明らかとなっている。このような癌細胞の異常なコリン代謝は、それらの悪性進行度と強く相関している。我々の研究により、新規のコリントランスポーターである Choline transporter-like proteins (CTLs/SLC44) がさまざまな癌細胞で高発現していることを明らかにしてきた。また、CTLs を介するコリン取り込みは細胞生存と強い相関を示しており、この CTLs 機能を抑制すると癌細胞にアポトーシスを誘導することができ、細胞死が引き起こされる。さらに、小細胞肺癌などでは、CTLs を介したコリン輸送系を有する非神経性コリン作動系の存在が認められ、産生されたアセチルコリンがオートクリン・パラクリンシステムにより細胞増殖と関係している。そして、それらの機能抑制はアポトーシスによる細胞死を誘導することも明らかとなっている。この新しい CTLs を介するコリン輸送システムは、癌治療における新しい標的分子である可能性が考えられる。本シンポジウムでは、癌細胞などの細胞の増殖異常における CTLs の役割について概説する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### The role of choline transporters CTLs/SLC44 family in cell proliferation and survival

---

○Inazu M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inst Med Sci, Tokyo Med Univ

<sup>2</sup>Dept Mol Prev Med, Tokyo Med Univ

---

Choline is essential for the synthesis of the major membrane phospholipid phosphatidylcholine, the methyl donor S-adenosylmethionine and the neurotransmitter acetylcholine. Elevated levels of choline and up-regulated choline kinase activity have been detected in various cancers. Thus, the intracellular accumulation of choline through choline transporters is the rate-limiting step in phospholipid metabolism and a prerequisite for cancer cell proliferation. Previous studies have demonstrated abnormalities in choline uptake and choline phospholipid metabolism in cancer cells using the imaging of cancer with positron emission tomography and magnetic resonance spectroscopy. The aberrant choline metabolism in cancer cells is strongly correlated with their malignant progression. Choline transporter-like proteins (CTLs/SLC44 family) are highly expressed in various cancer cell lines. Choline uptake through CTLs is associated with cell viability, and the functional inhibition of CTLs could promote apoptotic cell death. Furthermore, non-neuronal cholinergic systems that include CTLs-mediated choline transport are associated with cell proliferation and their inhibition promotes apoptotic cell death in cancer cells. The identification of this new CTLs-mediated choline transport system provides a potential new target for cancer therapy.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US11-2 モノアミントランスポーターの制御と鎮痛

---

○十川 千春<sup>1</sup>, 森田 克也<sup>2</sup>, 大山 和美<sup>3</sup>, 十川 紀夫<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>広島文化学園大 看護 薬理

<sup>3</sup>岡大 歯 RI

<sup>4</sup>松歯大 歯科薬理

---

現在、神経障害性疼痛に対する第一選択薬としては、プレガバリンと三環系抗うつ薬（TCA）のアミトリプチリンが挙げられる。これら薬物は、脊髄後角における痛みの伝達物質放出抑制作用や、下行性抑制系の増強作用により鎮痛効果を発揮しているとされ、下行性抑制系の賦活化には、ノルアドレナリンやセロトニンといったモノアミンの関与、また、脊髄後角における痛み伝達には GABA やグリシンといった抑制性アミノ酸が関与している。これら神経伝達物質濃度の調節には、神経伝達物質トランスポーターが関与しており、痛覚伝導路における神経伝達物質トランスポーターの役割は疼痛制御にとって重要であると考えられる。TCA による鎮痛は、ノルアドレナリントランスポーター（NET）およびセロトニントランスポーター（SERT）を阻害することによる下行性抑制系の賦活化によるとされている。これまでの研究において、多くの TCA には、GABA トランスポーター（GAT）に対しても阻害効果を有することを見出してきた。一方で、GAT サブタイプの中でもベタイン/GABA トランスポーター特異的阻害薬 NNC05-2090 に強い抗アロディニア効果を認めるとともに、NNC05-2090 には、BGT-1 阻害効果と同程度の NET 阻害効果および SERT 阻害効果があることを見出した。NNC05-2090 の鎮痛機序には、モノアミントランスポーター阻害効果が大きく関与している可能性があり、モノアミントランスポーター阻害効果と GAT 阻害効果との協調に着目して鎮痛効果を評価することが、安全で有効な神経障害性疼痛治療薬開発に繋がる可能性がある。本シンポジウムでは、GAT 阻害薬の鎮痛作用とモノアミントランスポーター阻害効果について紹介する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Regulation of monoamine transporters and pain

---

○ Sogawa C<sup>1</sup>, Morita K<sup>2</sup>, Ohyama K<sup>3</sup>, Sogawa N<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Dept Pharmacol, Fac Nursing, Hiroshima Bunka Gakuen Univ

<sup>3</sup>RI Res Cent, Okayama Univ Dent Sch

<sup>4</sup>Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

---

Neuropathic pain is defined with for a chronic or persistent pain to be generated by a pathophysiological alteration on the peripheral and/or central nervous system. Pregabalin and tetra cyclic antidepressants (TCA) are known therapeutically useful ligands for the treatment of neuropathic pain. However, they do not sometimes provide enough effects. TCA are known to be due mainly to the inhibition of transporters for serotonin and noradrenaline, at sites on inhibitory monoaminergic pathway in the spinal cord. In addition, TCA has been known to exert inhibitory effects on various targets involved in neuropathic pain including GABA transporters (GATs). NNC05-2090, one of GAT inhibitors that display moderate selectivity for betaine/GABA transporter (BGT-1), had an antiallodynic action on neuropathic pain model mice. Although the contribution of GAT-1 and adrenergic agonistic effects cannot be entirely ruled out, the antiallodynic action of NNC05-2090 was probably attributed to the inhibition of both BGT-1 and monoamine transporters.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

**US11-3 睡眠時ブラキシズム頻度とセロトニントランスポーター機能との関連**

○水口 一

岡大病院

睡眠時ブラキシズム (SB) は、歯質や修復物、歯周組織の破壊だけでなく顎関節疾患や咀嚼筋障害の有力なリスク因子の一つであることが示されている。現在、SB の発症メカニズムは未だ解明されていないため、その対処は対症療法の域を出ていない。そのため SB の発症メカニズムの解明は、より効果的な治療法を見出すためにも重要な課題と言える。

近年セロトニン (5-HT) 神経系への作動薬、拮抗薬の投与、特に 5-HT トランスポーター (SERT) の選択的再取り込み阻害剤の投与により SB 頻度が増加したとする報告より、SERT が SB 発症に何らかの関与をしていると考えられた。そこで、ヒト被検者のブラキシズム頻度と末梢血血小板上の SERT の取り込み能 (発現数、個々の取り込み能) との関連について検討した。

本学学生 6 年生全員に自宅で SB 測定を 3 夜連続して検査を行わせるとともに、被検者から SB 測定の翌日、午前 8 時から 9 時の間に前腕正中静脈より末梢血を採取した。末梢血を遠心分離後、血小板分画中の SERT 量、総蛋白質量および SERT による 5-HT 取り込み能 (取り込み量、取り込み速度 (Vmax)、親和性 (Km)) を計測し、それらと連続 3 日間の SB レベルとの関連について検討を行った。

最終被験者の 3 日間の SB レベルの総和と SERT による 5-HT 取り込み量との間には、有意な負の相関が認められた ( $p < 0.05$ ,  $\rho = -0.31$ , Spearman の順位相関係数)。一方、SB レベルの総和と血小板量、SERT 量、Vmax、Km との間には、有意な相関は認められなかった ( $p = 0.08, 0.15, 0.71, 0.68$ , Spearman の順位相関係数)。以上より、SB の頻度には SERT 量の多寡ではなく、SERT による 5-HT 輸送能の差異が関与している可能性が示された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

**Association between sleep bruxism frequency and serotonin transporter activities**

○ Minakuchi H

Okayama Univ Hosp

Sleep bruxism (SB) can negatively affect prognosis of dental prostheses and aggravate periodontal conditions. However, the etiological mechanisms of SB remain unclear. Recently, central nervous system modulation has been considered as a potential candidate for SB etiology since several case reports revealed alterations in SB frequency after the administration of reuptake inhibitor of serotonin (5-HT) transporters (SERT). Thus, we evaluated the correlations between SERT ability and SB frequency. SB frequency was determined as the summary of 3-consecutive night assessments using a self-contained SB electromyography detector/analyzer. Fasting peripheral venous blood was collected in the morning following the final SB assessment. Functional SERT characterization, 5-HT uptake, maximum velocity (Vmax), and affinity constant (Km) were assessed using a [ $^3\text{H}$ ] 5-HT uptake assay. The correlations among these variables and SB frequency were evaluated. A small but significant negative correlation between SB frequency and [ $^3\text{H}$ ] 5-HT uptake was observed (Spearman correlation  $R^2 = 0.063$ ,  $p = 0.04$ ). However, there were no significant correlations between SB frequency and total platelet amount, SERT, Vmax, and Km values ( $p = 0.08, 0.12, 0.71, \text{ and } 0.68$ , respectively). Platelet serotonin uptake is significantly associated with SB frequency; however, it only explains SB variability to a certain extent.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US12-1 歯原性腫瘍の遺伝子解析から腫瘍発生を考え診断に活かす

---

○岡田 康男

日歯大新潟 病理

歯原性腫瘍のうちエナメル上皮腫では *BRAF* 遺伝子や *SMO* 遺伝子の変異が、また、歯原性角化嚢胞 (2017 年 WHO) (2005 年 WHO: 角化嚢胞性歯原性腫瘍) では *PTCH* 遺伝子の変異が、さらに石灰化歯原性嚢胞 (2017 年 WHO) (2005 年 WHO: 石灰化嚢胞性歯原性腫瘍) では *β-catenin* 遺伝子変異が報告され始めている。標本組織からの DNA 抽出、解析手法の標準化などを目的として、日本臨床口腔病理学会は日本口腔検査学会と共同で「歯科における遺伝子検査のためのゲノム病理の確立」(日本歯科医学会プロジェクト研究)の研究を開始し、これにより口腔腫瘍におけるゲノム医療推進のための基盤となることが期待されている。ゲノム医療は、慢性骨髄性白血病の画期的な分子標的治療薬・グリベックの成功により注目されるようになった。最近では、肺癌、胃癌などでドライバー遺伝子が同定され、それに対するコンパニオン診断に基づく個別化医療が行われている。口腔癌においても EGFR 陽性で k-ras 遺伝子変異無しの場合にセツキシマブによる分子標的治療薬による効果が期待されている。今後は口腔癌患者のほぼすべてが有する普遍の変異 (ファウンダー変異)、環境要因による遺伝子変異 (プログレッサー変異)、変異の組み合わせパターン (シグネチャー) やドライバー遺伝子変異だけでなく、遺伝子変異に関わる分子経路の解明が必要となる。また、遺伝子変異と腫瘍の増殖や病理組織学的な形態との関連についても明らかにしていくことが望まれる。複数の遺伝子変異を同時に検出・解析するため次世代シーケンサーによる研究が加速しているが、研究目的のシーケンスから、治療法選択を目的としたクリニカルシーケンスへの応用が期待されている。一方、口腔癌に比べ歯原性腫瘍における分子病理学的解析の研究は始まったばかりで診断への応用についての報告は少ない。そこで、本シンポジウムにおいて、私から分子病理学的解析の現状と将来的な治療への応用についての展望を述べ、行森 茜先生、三上俊成先生、落合隆永先生、中野敬介先生に歯原性腫瘍の病態、発生機序、遺伝子変異など最新の研究内容をご講演いただく。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Investigation into pathogenesis of odontogenic tumor through genetic analysis: Application to pathological diagnosis

---

○Okada Y

Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata

Mutation of the *BRAF* and the *SMO* gene in ameloblastoma, the *PTCH* gene in odontogenic keratocyst, and the *β-catenin* gene in calcifying odontogenic cyst have been reported recently. The Japanese Society of Oral Phytopathology started “a study of the establishment of the genome pathology for genetic tests in dentistry” (project study of Japanese Association for Dental Science) in cooperation with Japanese Society for Evidence and the Dental Professional, for the purpose of the DNA extraction from the pathological specimens and the standardization of the analytical technique. The studies using the next-generation high-speed sequencer to detect and analyze plural gene mutation are expected. The studies of the molecular pathological analysis in the odontogenic tumor have just begun. It is necessary to investigate whether gene mutation affects tumor proliferation and histopathological form in odontogenic tumor. Molecular pathological analysis and immunohistochemical study of odontogenic tumor are highly important. Further study on a large number of cases is required to verify this association.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US12-2 歯原性腫瘍の臨床的動態と分子病理学的知見の矛盾

---

○三上 俊成<sup>1</sup>, 武田 泰典<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 病理

<sup>2</sup>岩医大 歯 臨病理

---

腫瘍は「細胞の無目的で自律的な過剰増殖」と定義され、特に悪性腫瘍ではその傾向が顕著である。一方良性腫瘍では、組織奇形である過誤腫や発育異常による一時的な増殖を含む場合もあるが、真の腫瘍か否か明らかにされていない場合が多い。

歯原性腫瘍は歯の形成に関与する組織に由来する腫瘍の総称で、すなわち歯胚を構成する細胞 *oyobisorerano* 型を起源とする。WHO 歯原性腫瘍分類 (2017 年) で歯原性良性腫瘍は、良性上皮性歯原性腫瘍、良性上皮間葉混合性歯原性腫瘍、良性間葉性歯原性腫瘍に分類されている。どの歯原性腫瘍が発生するかは、歯胚が歯へ成長するどの分化段階で、どの遺伝子に変異が生じたかによって決まると考えられる。

最近、発症機序解明を目的として種々の歯原性腫瘍で次世代シーケンスによる網羅的遺伝子解析を行った。その結果、本来腺腫様歯原性腫瘍は臨床的に腫瘍発育が限定的で悪性化もみられないことから過誤腫の可能性が示唆されていたが、遺伝子解析では癌遺伝子の *KRAS* に高頻度で変異が同定された。また、*primordial odontogenic tumor* は臨床的には明らかな腫瘍性増殖を示すが、癌関連 151 遺伝子に明らかな変異が認められず、他の解析結果も考慮すると歯の発生異常に起因している可能性が示唆された。このように、歯原性腫瘍には臨床的動態と分子病理学的知見に矛盾がみられる場合があった。

そこで本講演では、我々がこれまでに行った遺伝子解析の結果をもとに種々の歯原性腫瘍の発症機序について分子病理学的に考察し、歯原性腫瘍の新たな理解と遺伝子診断への応用について議論する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Contradiction between clinical dynamics of odontogenic tumors and molecular pathologic findings

---

○Mikami T<sup>1</sup>, Takeda Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pathol, Iwate Med Univ

<sup>2</sup>Div Clin Pathol, Iwate Med Univ Sch Dent

---

Odontogenic tumors derived from tissues of tooth germ. In WHO odontogenic tumor classification (2017), benign odontogenic tumors are divided into benign epithelial odontogenic tumors, benign mixed epithelial and mesenchymal odontogenic tumors, and benign mesenchymal odontogenic tumors.

It is thought that which odontogenic tumor occurs is determined by which gene causes mutation at which differentiation stage the tooth germ develops into the tooth. Recently, comprehensive gene analysis by next-generation sequencing with various odontogenic tumors was performed for the purpose of elucidating pathogenesis of odontogenic tumors.

As the results, in adenomatoid odontogenic tumor (AOT), gene mutation was identified at high frequency in the *KRAS*, though AOT clinically has limited tumor growth and no malignant transformation. Whereas, in primordial odontogenic tumor (POT), no clear mutation was found in cancer related 151 genes, though POT showed clinically tumorous proliferation. Taking other analysis results into consideration, it was suggested that tooth development abnormality is associated with the pathogenesis of POT. As described above, contradictions were found between clinical dynamics and molecular pathologic findings in odontogenic tumors in some tumors.

In this presentation, new understanding of odontogenic tumor and its application to genetic diagnosis are discussed.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US12-3 CTNNB1 変異は石灰化歯原性嚢胞における主要な遺伝子変異である

---

○行森 茜

医科歯科大 歯病院 検査

---

近年のゲノム解析技術の革新によって、腫瘍のゲノム変異を網羅的に同定することが可能になった。ゲノム変異の同定によってより詳細な分子病態の解析や分類がなされ、効果的な治療戦略の確立に寄与することが期待される。

石灰化歯原性嚢胞 (Calcifying odontogenic cyst, COC) は 2017 年 WHO 分類では発育性嚢胞として分類されているが、2005 年 WHO 分類では石灰化嚢胞性歯原性腫瘍 (Calcifying cystic odontogenic tumor, CCOT) と呼ばれ良性歯原性腫瘍に位置付けられていた。COC は比較的稀な嚢胞状の病変であり、ときに埋伏歯や歯牙腫に伴って認められる。組織学的には幻影細胞と呼ばれる、核が消失した好酸性の腫大した細胞の出現が特徴である。

我々は COC における 50 の癌関連遺伝子を網羅的に解析した。その結果、COC では 11 例中 10 例に、CTNNB1 (ベータカテニンをコードする遺伝子) のリン酸化部位にミスセンス変異を認めた。一方でその他の遺伝子には有意な変異を認めなかった。組織学的には全例でベータカテニンの核への集積と幻影細胞の出現を認めた。

COC に特徴的な CTNNB1 変異は、幻影細胞様の腫瘍細胞が出現する毛母腫 (皮膚腫瘍) やエナメル上皮腫型頭蓋咽頭腫 (下垂体腫瘍) に特徴的な変異と同様の変異であった。CTNNB1 変異によってベータカテニンの分解が抑制されシグナルが恒常的に活性化されることから、CTNNB1 変異は COC の腫瘍性発育と幻影細胞の形成に関与することが示唆された。COC・毛母腫・エナメル上皮腫型頭蓋咽頭腫は発生母地が異なるが、同一の遺伝的基盤により発生する腫瘍であることが考えられた。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## CTNNB1 mutations are the major gene mutations in calcifying odontogenic cysts

---

○Yukimori A

Div Clin Lab, Tokyo Med Dent Univ Dent Hosp

---

Calcifying odontogenic cysts (COC) are benign cystic lesions that form abnormally keratinized ghost cells. Although COC were classified as developmental cysts in the 2017 WHO classification, COC were called calcifying cystic odontogenic tumors (CCOT), and described as tumors in the 2005 WHO classification.

Mutational hot spots in 50 cancer genes were examined by targeted next-generation sequencing in samples of COC. Mutations in CTNNB1 that encoding beta-catenin, but not in other genes, were found in 10 of 11 cases. These mutations were missense mutations located in the phosphorylation sites. In the histological findings, nuclear accumulation of beta-catenin and ghost cells were observed in all cases of COC.

CTNNB1 mutations in COC are similar to those reported in pilomatrixoma and adamantinomatous craniopharyngioma. These mutations would inhibit beta-catenin degradation, constitutively activate beta-catenin signaling. The data suggest that CTNNB1 mutations involve in tumor growth and formation of ghost cells in COC, and that COC is the genetic analogue of pilomatrixoma and adamantinomatous craniopharyngioma in odontogenic tissue.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US12-4 歯原性腫瘍における形質変化の制御因子

---

○落合 隆永

松歯大 口腔病理

歯原性腫瘍は歯の発生に関与する組織が由来となる腫瘍であり、良性腫瘍は上皮性歯原性腫瘍と上皮間葉混合性歯原性腫瘍および間葉性歯原性腫瘍に大別され病理組織学的にも多彩な組織像を呈する疾患である。これら歯原性腫瘍内には様々な形態学的な変化や分化を示す細胞がしばしば観察される。これらの変化を分子生物学的に解析することで腫瘍の発生や分化方向を同定し、歯原性腫瘍の分類や病理診断および治療への応用が期待される。

エナメル上皮腫は代表的な良性上皮性歯原性腫瘍である。エナメル上皮腫に CD56 が発現することは既に報告されているが、エナメル上皮腫を構成する細胞が神経内分泌細胞へ分化する報告は僅かである。そこで、エナメル上皮腫の腫瘍細胞が神経内分泌細胞へ分化する可能性を検討した。エナメル上皮腫での CD56, Synaptophysin (SYP) および Chromogranin A (CHGA) を検索した。免疫組織学的に CD56 は 64.0% で前エナメル芽細胞様細胞に部分的に陽性を示した。SYP は 8.0% で一部の前エナメル芽細胞に陽性だった。CHGA は全例陰性だった。SYP 陽性例は CD56 陽性細胞とほぼ局在が一致した。分子生物学的には CD56 と SYP の mRNA 発現を確認した。SYP 陽性症例において NOTCH4 遺伝子の高発現が確認された。さらに CD56 は単嚢胞性エナメル上皮腫において高い陽性率を認めた。

歯の発生時に CD56 が発現し、神経堤由来の細胞がエナメル器に迷入すると報告されている。エナメル上皮腫の CD56 発現は、歯胚発生過程での CD56 陽性細胞の残存や神経堤由来の細胞に由来する可能性が考えられる。CD56 と SYP を共発現する例では局在の一致と遺伝子発現がみられたことから、CD56 陽性細胞が神経内分泌細胞の特徴を有する細胞へ分化した可能性が示唆された。そして、神経内分泌細胞への分化を誘導する因子として NOCH4 が関与する可能性が考えられる。また、単嚢胞エナメル上皮腫における CD56 の検索は病理組織診断において有用なマーカーとなる可能性も示唆された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Regulation factors of morphological changes in odontogenic tumor

---

○Ochiai T

Dept Oral Pathol, Matsumoto Dent Univ

Odontogenic tumor sometimes appear various morphologic changes and some kinds of differentiations. Analysis of these changes may expect to pathological diagnosis and clinical treatments.

Although some investigators reported CD56 expression in ameloblastomas, neuroendocrine differentiation is still unknown. Therefore, we aimed to determine localization of neuroendocrine cell markers in ameloblastomas. CD56, Synaptophysin and chromogranin A were analyzed an immunohistochemistry, followed by gene expression analysis by RT-PCR on formalin-fixed paraffin embedded samples. Sixteen cases showed that CD56 expressed in columnar cells. Two cases demonstrated Synaptophysin in small part of the nest. Chromogranin A was not found in all cases. Interestingly, we found two case that co-expressed CD56 and synaptophysin in some parts of columnar cells. Furthermore, the mRNA expressed both CD56 and synaptophysin in ameloblastoma. CD56 and synaptophysin positive ameloblastoma was high expression of NOTCH4. Significant high expression of CD56 was observed in unicystic ameloblastoma. Some investigators reported CD56 expression in tooth germ development and ameloblastoma. It has also been reported that neural crest-derived cells emigrated to enamel organ. Our result might suggest that CD56-positive cells partially differentiated into synaptophysin-positive cells in ameloblastomas. Notch4 may control to neuroendocrine differentiation in ameloblastoma. Furthermore, CD56 is useful for diagnosis of unicystic ameloblastoma.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US12-5 歯原性腫瘍の生物学的性格と Notch シグナル

---

○中野 敬介

岡大 院医歯薬 口腔病理

---

組織発生において形態形成や細胞の分化を支配する遺伝子発現は、口腔腫瘍においてもみられ、腫瘍の生物学的な特徴や臨床的な態度に関与すると考えられる。Notch シグナルは形態形成や細胞分化を司る代表的なシグナルであり、歯胚をはじめとする組織発生や歯原性腫瘍の細胞分化にも重要な役割を担っていることが明らかになってきた。これまで我々はエナメル上皮腫、エナメル上皮癌、石灰化上皮性歯原性腫瘍、扁平歯原性腫瘍、エナメル上皮線維腫、歯原性粘液腫および2017年WHO分類で腫瘍から嚢胞に分類された歯原性石灰化嚢胞について、Notchシグナル関連因子の発現と局在を免疫組織化学的に比較検討してきた。エナメル上皮腫ではエナメル器様胞巣や濾胞型腫瘍胞巣辺縁の円柱状腫瘍細胞が強い陽性反応を示した。間質に著明な線維化を伴うエナメル上皮腫では腫瘍胞巣に強いNotchの発現を認めた。エナメル上皮癌では、増殖する異型の強い腫瘍細胞の核内を主体に陽性反応を認めた。石灰化上皮性歯原性腫瘍では胞巣全域とアミロイド様物質に陽性反応を示した。扁平歯原性腫瘍では角化を伴う腫瘍胞巣全体に陽性反応を示した。これらの上皮性腫瘍の間質成分では、上皮に比べてNotchの局在は弱く、ばらつきがあった。エナメル上皮線維腫と歯原性石灰化嚢胞では、病変部の上皮性・非上皮性成分共に強い陽性反応が存在した。歯原性粘液種では増殖する腫瘍細胞に陽性反応はみられなかった。これらの検索結果は、Notchシグナルが歯原性腫瘍細胞の分化と細胞性格の獲得、腫瘍の増殖や悪性化、腫瘍組織における上皮と間葉成分の相互作用、腫瘍間質の性状に密接に関与している事を示唆するものであろう。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Notch signaling in biological features of odontogenic tumors

---

○Nakano K

Dept Oral Pathol and Med, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Notch signaling is responsible for cytological regulation of cell fate, morphogenesis and/or development. We have examined Notch signaling in cases of ameloblastoma (AB), ameloblastic carcinoma (AC), calcifying epithelial odontogenic tumor (CEOT), squamous odontogenic tumor (SOT), ameloblastic fibroma (AF), odontogenic myxoma (OM) and calcifying odontogenic cyst (COC). In epithelial tumors, Notch-positive staining products were frequently detected in epithelial tumor nest, especially in differentiating cells. In mixed epithelial and mesenchymal tumors, Notch-positive products were present both in the epithelial and ectomesenchymal components. In mesenchymal tumors, Notch-positive products were not detected. In cases of odontogenic carcinoma, strong Notch-positive products were detected in most neoplastic cells. Positive reactions tended to be strong in the area of high proliferating activity. These examination results suggest that Notch signaling plays some role in cytological differentiation, epithelial-mesenchymal interaction, formation of tumor stroma and acquisition of tissue specific characteristics in neoplastic cells of tooth enamel organ-derived neoplasms, including benign and malignant neoplasms.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US13-1 多様な化学シグナルを感知する味覚受容体味物質認識領域の構造と機能

---

○山下 敦子

岡大 院医歯薬 構造生物

---

味覚受容体は、口腔内などに存在し、食物に含まれる味を呈する化学物質を感知する膜タンパク質である。基本五味である甘味・うま味・塩味・酸味・苦味それぞれに受容体が存在し、このうち甘味とうま味は、T1r タンパク質からなるヘテロ二量体 T1r2/T1r3 と T1r1/T1r3 によってそれぞれ感知される。ホルモンや神経伝達物質などの特定の内在性シグナル伝達分子を感知する受容体とは異なり、味覚受容体は、外界に存在する多様な化学物質を限られた種類の受容体で認識する。一方、味覚受容体の立体構造が未解明だったため、どのような仕組みで多様な化学シグナル認識が達成されているのかは、これまで不明であった。

味覚受容体の構造研究は、解析のための試料調製が困難なことがボトルネックとなっていた。演者らは、味覚受容体が脊椎動物間で保存されていることと、構造や機能を保存した上での分子進化の多様性を利用し、様々な動物種の T1r 味覚受容体について発現スクリーニングを行った。その結果、メダカ由来味覚受容体 T1r2a/T1r3 ヘテロ二量体の細胞外味物質認識領域が適切に発現することを見出し、同領域の立体構造を、味物質が結合した状態で、X線結晶構造解析によって決定することに成功した。そして一連の構造機能解析から、メダカ T1r2a/T1r3 が、多様なアミノ酸を感知する受容体であること、味物質の認識に関わると考えられる T1r2a の味物質結合ポケットが、多様なアミノ酸の結合を許す大きさと表面荷電を備えており、アミノ酸ごとに構造が異なる置換基部分を水和した状態のまま認識していることを明らかにした。本シンポジウムでは、演者自身が経験した多様な研究経歴から、味覚受容体研究を志した経緯や、構造研究のボトルネック突破に重要となった研究経歴も含め紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Structure and function of the taste-substance recognition region of taste receptor - perception of diverse chemical stimuli

---

○Yamashita A

Struct Biol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Taste receptors in the oral cavity are membrane proteins responsible for the perception of taste-inducing chemical substances in foods. Among them, sweet- and umami-taste substances are recognized by heterodimeric T1r taste receptors, T1r2/T1r3 and T1r1/T1r3, respectively. In contrast to the receptors specifically recognizing endogenous signaling molecules, taste receptors can percept a wide array of environmental chemicals by a limited variety of receptors. However, the molecular mechanisms underlying the various chemical recognition by taste receptors has been remained elusive, due to the lack of their structure information, mainly caused by difficulty in sample preparation. By taking advantage of conservation of taste receptors in vertebrates and their diverse molecular evolution, we performed expression screening of T1r taste receptors from various animal sources. We found that the extracellular taste-substance recognition regions of T1r2a/T1r3 heterodimer from medaka fish is amenable for proper expression, and solved their X-ray crystal structures in complex with various taste substances. The structural and functional analyses revealed that the receptor perceps various amino acids, and the taste-substance recognition pocket in T1r2a provide a large space and heterogeneously charged surface, accommodating the various amino acids in a hydrated state.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US13-2 口腔粘膜における温度感受性 TRP チャネルのダイバーシティ

---

○城戸 瑞穂<sup>1</sup>, 吉本 怜子<sup>2</sup>, 合島怜央奈<sup>1</sup>, 曹 愛琳<sup>1,2</sup>, 張 旌旗<sup>3</sup>, 大崎 康吉<sup>3</sup>

<sup>1</sup>佐賀大 医 組織・神経解剖

<sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理

<sup>3</sup>九大 院歯 分子口腔解剖

---

口腔は多様な刺激にさらされており、粘膜はそれらを適切に感受し適応している。私たちは細胞内外の環境センサーである非選択的陽イオンチャネル TRP (transient receptor potential) チャネルが口腔粘膜において温度を感受し、粘膜の防御などに関わっていることを明らかにしてきた。

教科書的に粘膜は、咀嚼粘膜、被覆粘膜、特殊粘膜と分類されているが、粘膜上皮は多様な姿をみせ、イオンチャネルやGタンパク共役型の受容体などの発現も部位により違いを見せるがその意義は未だ明らかではない。ヒトやラット、マウスで観察してきた結果を供覧しながら、刺激にさらされる現場である末梢組織の形態とイオンチャネルとの関係について考察する。研究対象への考察を通して多様な考え方を反映する研究現場の実現についても考える機会となれば幸いである。

**【利益相反】** なし。

---

## Diversity in the oral mucosal thermoTRP channels

---

○Kido M<sup>1</sup>, Yoshimoto R<sup>2</sup>, Aijima R<sup>1</sup>, Cao AL<sup>1,2</sup>, Zhang JQ<sup>3</sup>, Ohsaki Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Histo Neuroanat, Saga Univ

<sup>2</sup>Oral Path, Grad Sch Dent, Kyushu Univ

<sup>3</sup>Mol Cell Biol Oral Anat Grad Sch Dent, Kyushu Univ

---

Oral mucosal membrane is continuously exposed by various stimuli and then it adapts oral environmental changes via proper receptors. We have demonstrated that non-selective cation channel TRP (transient receptor potential) channels are functionally expressed in the oral epithelia. We found that oral epithelia has thermosensitive properties and play a part in the oral mucosal protection via TRP channels.

Oral mucosa is categorized as masticatory, lining and special mucosa in the textbook, otherwise it has diverse appearance and has topographical variation such as ion channels or G-protein coupled receptors. To elucidate the properties of oral mucosa we would like to show our data from rodents to human from the aspect of morphological and ion channels. Through considering the perspectives and proper understanding of oral mucosa, I would like to discuss or share the ideas about how to realize diversity in research.

**Conflict of Interest:** NO

---

---

### US13-3 抑制性神経伝達物質の新たな機能

---

○照沼 美穂

新潟大 院医歯 口腔生化

---

$\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) は、脳や脊髄において抑制性の神経伝達物質として知られているが、多くの食物に含まれており、ストレスの緩和やコレステロール値の改善効果があるとされる。最近、GABA が作用する GABA 受容体は、中枢神経のみならず様々な末梢組織にも発現していることが明らかとなった。GABA は血液脳関門を通過できないため、摂取した GABA は、これらの末梢組織で主に作用していると考えられる。

G タンパク質共役型の GABA<sub>B</sub> 受容体は、遅延型の神経伝達を担い、その活性の強弱が学習や認知機能に重要な影響をもたらす。我々は神経細胞以外の GABA<sub>B</sub> 受容体の役割を明らかにするために、様々な細胞で研究を行っている。その中で、脳細胞の大多数を占めるアストロサイトにおける GABA<sub>B</sub> 受容体が、興奮性神経伝達物質であり、神経毒性もあるグルタミン酸の代謝に関与していることを突き止めた。アストロサイトはグルタミン酸を細胞内に取り込み、グルタミンに変換して細胞毒性を中和している。この反応を担うのが、グルタミン合成酵素 (GS) で、GABA<sub>B</sub> 受容体は GS と結合して GS の分解を阻止している。加えてアストロサイトの GABA<sub>B</sub> 受容体の生理的機能を検討するため、アストロサイト特異的な GABA<sub>B</sub> 受容体のノックアウトマウスを作製したところ、マウスはてんかん様発作を発症した。このことは、ノックアウトマウスの脳ではグルタミン酸による神経細胞の過度の興奮が起きていることを示している。

GS も GABA<sub>B</sub> 受容体も脳以外の組織にも発現していることから、今後アストロサイトで見出された GABA<sub>B</sub> 受容体の機能が、他の組織においても保存されているかを検討していく予定である。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Unexpected role of inhibitory neurotransmitters

---

○Terunuma M

Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Gamma aminobutyric acid (GABA) has been identified as an inhibitory neurotransmitter in the central nervous system. It is known that various foods contain GABA, and expected to calm the mind as well as lowers blood cholesterol. The expression of GABA receptors has been reported not only in the brain but also in many organs, therefore it is highly possible that these peripheral receptors are the main target for GABA contained in the food.

The G protein-coupled GABA<sub>B</sub> receptors have been shown to involve in slow inhibitory neurotransmission and their functional deficits induces dementia and epilepsy. To examine the role of GABA<sub>B</sub> receptors in non-neuronal cells, we focused on astrocytes which regulates the glutamate metabolism in the brain. We found that GABA<sub>B</sub> receptors stabilizes the enzyme called glutamine synthetase (GS) which catalyzes the conversion of glutamate to glutamine. Conditional knock-out mice which cannot express GABA<sub>B</sub> receptors specifically in astrocytes developed epileptiform activity and cell death.

Since GS and GABA<sub>B</sub> receptors are both expressed in various tissues, it is possible that the similar mechanism is preserved in other organs.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US13-4 口腔内の脂肪センシングメカニズムと今後の医療への期待

---

○安松-中野 啓子

九大 味覚・嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理

脂肪は基本味に比べ明確な味を惹起しないにもかかわらず、食品に含まれているか否かで食欲への刺激効果はまったく異なっている。近年、脂肪酸受容体 GPR40, GPR120 やトランスポーター CD36 がげっ歯類の味蕾細胞に存在し、脂肪酸を受容している可能性が報告され、食物中の脂肪を検出するために味覚器が重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。しかし脂肪の味を伝える神経が脂肪酸を特異的に伝えるものか他の味を伝える神経かなどの詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、GPR120-KO マウスとその野生型である C57BL/6J マウスを用い、脂肪酸による刺激を舌に与え、鼓索神経単一線維における応答を記録した。

その結果、記録した野生型マウスにおける鼓索神経のうち 14.3% が脂肪酸に最もよく応答を示した (F-type)。また sucrose, MPG, CaCl<sub>2</sub> に最も高いインパルス頻度を示す神経群 (S-, M-, Ca-type) の半数以上において脂肪酸に対する有意な応答が検出された。GPR120-KO マウスでは、F-type 神経は 2.0% で、S-, M-, Ca-type 神経群における脂肪酸応答が野生型マウスに比べ有意に小さかった。これらの結果から、脂肪酸を特異的に伝える神経は GPR120 を発現した味細胞を支配し、脂肪酸の非特異的情報を伝える神経は GPR120 および、甘味、うま味、カルシウムの受容体いずれかを発現する味細胞を支配する可能性が示唆された。脂肪酸の受容機構に関して機能と役割を解析することは過食を引き起こすメカニズムの解明につながり、今後メタボリックシンドロームなどの疾患の予防や治療を加速すると期待している。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Study of fat sensing mechanism in the oral cavity as a path to future medicine and treatment

---

○Yasumatsu-Nakano K

Div Sensory Physiol, R&D Cent Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ

To investigate whether or not specific coding pathway for fatty acids to the brain would be present, we examined single fiber responses of the chorda tympani nerve to various taste stimuli including fatty acids in C57BL/6J mice. Among all single fibers tested, 14.3% of fibers showed maximal response to oleic acid or linoleic acid (F-type). Significant responses to fatty acids were also detected in a subset of fibers best responded to sucrose, MPG or CaCl<sub>2</sub>. In GPR120-KO mice, F-type fiber was 2.0% in all fiber recorded, and the responses to fatty acids in S-, M- and Ca-type fibers significantly smaller than those in WT mice. These results suggest that the specific neural information for fatty acids is carried by F-type fibers which innervate GPR120 expressing cells, and the nonspecific neural information of fatty acid is carried by subsets of S-, M- and Ca-type fibers which innervate GPR120 and sweet, umami or calcium receptors expressing cells. Understanding of the functions of fatty acid receptors will provide insights for mechanisms of overeating, a cause of metabolic syndrome, and facilitate studies for drug development in the treatment of nutrition-related disorders.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US14-1 Understanding oral biofilms

---

○David Spratt

Microbial Ecol and Educ, UCL Eastman Dent Inst, London, UK

---

The dental plaque that is the biofilm covering our teeth consists of a large number of microorganisms living within an extracellular polysaccharide matrix of its own making. The richness of this community is very high and each individual will have several hundred species in their oral cavity. This community forms complex and diverse biofilms in the various environments in the mouth.

A number of oral diseases are mediated by changes in the community structure and the proportions of different taxa in these communities. Dental caries, gingivitis, chronic periodontitis and peri-implantitis are just some examples of these. These diseases are difficult to study *in vivo* and we have developed a range of *in vitro* techniques to help us understand what causes population shifts and indeed what these shifts are. I will present data on developing a gingivitis model that utilises environmental changes to shift health associated microbial populations to disease associated populations. This allows us to study what changes occur in species richness, and metabolic end products. I will also show how we have developed a 3 phase system to characterise health, peri-mucositis and peri-implantitis. Finally, I will discuss a functional food project where we selected a range of foods (shiitake mushroom, red chicory and raspberry) for their possible oral health benefits, tested and refined these (and fractions of these) in a large range of *in vitro* and *in vivo* assays to determine active constituents.

In summary, the presentation focuses on studying how complex microbial populations shift to cause disease, how we characterise these shifts and whether there are any ways to control these shifts.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US14-2 A novel mechanism linking periodontitis and rheumatoid arthritis

---

○Keisuke Sato<sup>1,2</sup>, Naoki Takahashi<sup>1,3</sup>, Yumi Matsuda<sup>1,2</sup>, Miki Yamada<sup>1,2</sup>, Mai Yokoji<sup>1,2</sup>, Koichi Tabeta<sup>1</sup>, Takako Nakajima<sup>4</sup>, Kazuhisa Yamazaki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Oral Sci for Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Res Cent for Adv Oral Sci (CAOS), Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Div Dent Educ Res Dev, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

**Objectives:** Periodontitis has been implicated as a risk factor for various systemic diseases including rheumatoid arthritis (RA). *Porphyromonas gingivalis*, a representative periodontopathic bacterium, has drawn much attention because of expressing a bacterial peptidyl arginine deiminase which generates citrullinated proteins, major antigens in RA. However, clinical studies demonstrated inconsistent results and therefore, underlying mechanisms linking periodontal disease and RA remain elusive. Recently, an association between gut microbiota and RA is becoming evident. Our previous study showed that swallowed oral bacteria change gut microbiota and elicit endotoxemia in mice models. We reported these findings as a novel mechanism by which periodontitis induces systemic diseases. Therefore, the aim of this study is to evaluate whether the association of periodontal disease with RA could be due to the effect of swallowed *P. gingivalis* on gut microbiota and the gut immune system.

**Methods:** DBA1/J mice were orally administered with *P. gingivalis* W83 or *P. intermedia* ATCC 25611 and then collagen-induced arthritis was developed. Arthritis severity was evaluated by visual scoring of paw swelling, micro-CT, and histological analysis. The composition of gut microbiota was analyzed by pyrosequencing the 16S ribosomal RNA genes. IL-17 production of lymphocytes of mesenteric lymph nodes, peyer's patch, inguinal lymph nodes, and spleen were analyzed by flow cytometry and ELISA. Serum levels of IL-17, anti-collagen II antibody, and anti-cyclic citrullinated proteins (CCP) antibody were measured by ELISA.

**Results:** *P. gingivalis* but not *P. intermedia* oral administration increased the incidence and severity of collagen-induced arthritis and significantly altered gut microbiota. The proportions of Th17 cells were significantly elevated in mesenteric lymph nodes and Peyer's patches, but not in the inguinal lymph nodes or spleen of *P. gingivalis*-administered mice. Although IL-17 levels in the serum was significantly higher in *P. gingivalis*-administered mice, anti-collagen II antibody, anti-CCP antibody levels remain unchanged.

**Conclusion:** These results may provide novel mechanisms for the link between periodontitis and RA where *P. gingivalis* affect gut immune system shifting towards Th17 response by modulating gut microbiota composition.

(Supported by JSPS grant #15H02578, #16H05554)

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US14-3 Determination of the antibacterial substances produced by probiotic lactobacilli against a periodontal pathogen

---

○Tomomi Kawai<sup>1</sup>, Tomoko Ohshima<sup>1</sup>, Ryoichi Shin<sup>2</sup>, Satoshi Ikawa<sup>3</sup>, Atsushi Tani<sup>4</sup>, Naoya Inazumi<sup>5</sup>, Nobuko Maeda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

<sup>2</sup>Central Inst, Health Sci, A.L.A. Corporation

<sup>3</sup>Technol Res Inst, Osaka Pref

<sup>4</sup>Dept Human Environ Sci, Fac Human Dev, Kobe Univ

<sup>5</sup>Tech Support Div, Grad Sch Sci, Osaka Univ

---

**Objectives:** Probiotics are living bacteria which can improve the balance of microbiota. There are many recent studies on the effects of probiotics, including oral health promotion and the prevention of oral diseases. However, the mechanisms that underlie the activity of probiotic bacteria against periodontal pathogens have not been clearly elucidated. In order to clarify the antibacterial mechanisms of probiotics against periodontal pathogens, we have performed to identify antibacterial substances produced by *Lactobacillus fermentum* ALAL020 with the highest antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* among the screened 50 strains of lactobacilli.

**Methods:** The culture supernatant in MRS broth was neutralized and purified by gel filtration column chromatography and reverse-phase HPLC. The molecular weight and structure of purified substances were analyzed with LC-MS and NMR.

**Results:** The major antibacterial substance in culture supernatant produced by *L. fermentum* ALAL020 was purified as a single peak fraction and the molecular weight (m/z) was 226.131. An LC-MS analysis of this low molecular weight compound revealed that the composition formula was C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>. The results of structural analysis by NMR showed as a cyclic di-peptide, hexahydro-7-hydroxy-3-(2-methylproryl) pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione.

**Conclusion:** We purified and determined an antibacterial substance produced by *L. fermentum* ALAL020 which was main active constituent against *P. gingivalis*. This substance was suggested as a novel substance produced by a probiotic bacterium, and might have a possibility for prevention of periodontal disease.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US14-4 Carbohydrate metabolism of a novel caries-associated bacterium *Scardovia wiggsiae*—A possible role of acetic acid bacteria in the dental caries etiology

---

○Mai Kameda<sup>1</sup>, Yuki Abiko<sup>2</sup>, Junpei Washio<sup>2</sup>, Nobuhiro Takahashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tohoku Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

In recent studies, *Scardovia wiggsiae* has been detected from early childhood caries and *white spot* lesions during adolescence and has been noted as a caries-associated microorganism. Genus *Scardovia* is known to metabolize carbohydrate *via* the fructose-6-phosphate pathway (F6PPK shunt), which is not shared by most of caries-associated bacteria including *Streptococcus mutans*. This unique metabolic pathway might give *S. wiggsiae* a metabolic characteristic different from those of other caries-associated microorganisms in the aspects of acid producing activity, acidic end-products and sensitivity to fluoride. Thus, in this study, we attempted to elucidate characteristics of carbohydrate metabolism of *S. wiggsiae* and their relevance to dental caries under conditions similar to the oral cavity.

*S. wiggsiae* C1A-55 and *S. mutans* NCTC 10449 were used throughout this study. All experiments were conducted under anaerobic conditions. These bacteria were grown, harvested, washed and suspended. The acid production from glucose by the bacterial suspension was measured at pH 7.0 and 5.5 by a pH-stat system. Moreover, 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of fluoride was obtained by adding a serial concentration of potassium fluoride (KF) to the reaction mixture, so that sensitivity to fluoride was calculated. Acidic end-products from glucose were analyzed with high performance liquid chromatography (HPLC).

The amount of acid produced from glucose for 10 min by *S. wiggsiae* was lower than that of *S. mutans*, while *S. wiggsiae*, as well as *S. mutans*, continued to produce acid even in the acidic environment of pH 5.5. Although the acid production of both bacteria decreased as the concentration of KF was increased, *S. wiggsiae* was 3.4 times more tolerant to fluoride at pH 7.0 and 5 times at pH 5.5 than *S. mutans* based on IC<sub>50</sub> of fluoride. *S. wiggsiae* produced acetic acid, formic acid and lactic acid from glucose at the ratio of 8: 2: 0, where acetic acid was the main acidic end-products. In contrast, *S. mutans* produced lactic acid mainly with the ratio of 1: 1.5: 7.5.

Our study clearly indicates that *S. wiggsiae* mainly produces acetic acid from glucose under anaerobic conditions but does not produce lactic acid. These results suggest that *S. wiggsiae* operates the F6PPK shunt as the main metabolic pathway for carbohydrate and thus this bacterium is more tolerant to fluoride than *S. mutans* which utilizes the glycolytic pathway including a fluoride-sensitive metabolic step catalyzed by enolase. As there is a report that acetic acid permeates dental enamel more easily than lactic acid does in the acidic environment and the rate of demineralization is higher than lactic acid, it is expected that *S. wiggsiae* induces and promotes dental caries in a mechanism different from that of *lactic acid bacteria* such as *S. mutans* and *Lactobacillus* species. In future, it might be necessary to develop a method preventing and controlling dental caries which targets acetic acid bacteria.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US15-1 口内炎疼痛に対する半夏瀉心湯の鎮痛メカニズムの解明

---

○人見 涼露, 伊藤 美紗, 野代 知孝, 氏原 泉, 小野堅太郎

九齒大 生理

---

がん治療患者には、口腔内から咽頭部にかけて広範囲の潰瘍性口内炎が発症する。このような口内炎は激痛を生じるため、会話や食事が困難となりQOLが大きく低下し、がん治療自体の継続が難しくなる。現在このような口内炎に対して薬物を用いた様々な対応がなされているが、その一つに、漢方薬の半夏瀉心湯がある。含嗽での使用により口内炎が改善すると既に報告されているものの、その鎮痛機序は不明な点が多く、使用は漢方薬に理解のある一部の機関に限られている。これまで我々は、覚醒下での口腔内疼痛評価法を開発し、口内炎モデルラットを用いて、口内炎疼痛発症機構を解明してきた。そこで、これらの実験手法を用いて、半夏瀉心湯がどのように口内炎疼痛を抑制するのかについて検討した。

半夏瀉心湯をラットの口内炎部に局所塗布すると、口内炎により生じた接触痛や自発痛は長時間にわたり抑制された。次に、半夏瀉心湯のどの構成成分がこの鎮痛作用に関与しているかを調べるために、各生薬に含まれる主要な化合物 21 種について、電位依存性ナトリウムチャンネルに対する抑制効果を調べた。その結果、乾姜生薬に含まれる[6]-gingerol および[6]-shogaol が強い抑制を示した。両化合物は、感覚神経からの神経ペプチドの放出を抑制した。さらに、ラットの口内炎部に両化合物を局所塗布したところ、単独では接触痛や自発痛を抑制しなかったが、薬物浸透性を高めるサポニン成分を含有する人参生薬と併用することで、鎮痛効果が得られた。以上より、半夏瀉心湯による口内炎疼痛の抑制には、含有化合物の[6]-shogaol および[6]-gingerol のナトリウムチャンネル抑制作用が関与しており、その薬効を発揮するにはサポニン成分が必要であることが示唆された。半夏瀉心湯は、異なる作用を持つ成分の複合作用により口内炎疼痛を抑制していると考えられる。これらの結果が、半夏瀉心湯の普及につながり、より多くのがん患者に対する口内炎疼痛緩和に役立つことを期待したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Analgesic mechanism of hangeshashinto on oral ulcer-induced pain in rats

---

○Hitomi S, Ito M, Nodai T, Ujihara I, Ono K

Div Physiol, Kyushu Dent Univ

---

The traditional Japanese herbal medicine hangeshashinto (HST) has beneficial effects for the treatment of oral ulcerative mucositis (OUM) in cancer patients. However, the ingredient-based mechanism that underlies its pain-relieving activity remains unknown. In the present study, to clarify the analgesic mechanism of HST on OUM-induced pain, we investigated putative HST ingredients showing antagonistic effects on Na<sup>+</sup> channels in vitro and in vivo. A screen of 21 major ingredients using automated patch-clamp recordings in channel-expressing cells showed that [6]-gingerol and [6]-shogaol, two components of a Processed Ginger extract, considerably inhibited voltage-activated Na<sup>+</sup> currents. These two ingredients inhibited the stimulant-induced release of substance P in cultured rat sensory neurons. In a rat OUM model, OUM-induced mechanical or spontaneous pain were alleviated after the swab application of HST in the OUM area. Mixture of [6]-gingerol and [6]-shogaol was also induced sufficient analgesia of OUM-induced pain when co-applied with a Ginseng extract, which is containing abundant saponin and demonstrated an acceleration of substance permeability into the oral ulcer tissue. These findings suggest that Na<sup>+</sup> channel blockage by gingerol/shogaol plays an essential role in HST-associated analgesia of OUM-induced pain. This pharmacological mechanism provides scientific evidence supporting the use of this herbal medicine in cancer patients.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US15-2 舌乾燥症による舌痛覚過敏の末梢神経機構

---

○陳 睿妍, 篠田 雅路, 岩田 幸一

日大 歯 生理

ドライマウスは臨床において多くみられる疾患であり, 舌をはじめとする口腔内の様々な部位に異常な痛みが発症することが知られているが, そのメカニズムは不明である. TRPV4 は TRP ファミリーの一つで, 末梢における機械刺激, 温度の変化, 低浸透圧により活性化される. TRPV4 は神経障害性疼痛や炎症性の慢性疼痛などの難治性疼痛にも関与していると報告されていることから, 舌乾燥後に引き起こされる機械痛覚過敏に対して重要な働きを有する可能性がある. しかし, ドライマウスにおける舌痛に対して, TRPV4 がいかなるメカニズムで関与するかについては不明である.

そこで, 本研究では舌乾燥モデルラットを作製し, 舌ひっこめ反射閾値 (TWRT) 測定および三叉神経節 (TG) 細胞の TRPV4 と pp38 免疫染色を行い, それぞれの抗体に対し陽性 (IR) を示す神経節細胞について解析を行った.

その結果, 舌の機械刺激に対する TWRT は sham ラットに比べ舌乾燥ラットの方が有意に低い値を示した. また, TRPV4-IR あるいは pp38-IR を示す TG 細胞数は, 舌乾燥ラットの方が sham ラットに比べ有意に大きな値を示した. さらに, p38 リン酸化阻害薬を TG に注入すると, 舌乾燥ラットで観察された TRPV4-IR 細胞数の増加および舌の機械刺激に対する TWRT の低下が有意に抑制された.

以上から, 舌乾燥により発症する舌の機械痛覚過敏には三叉神経節細胞における p38 のリン酸化促進, それに引き続く TRPV4 の活性化亢進が関与する可能性が示された. おそらく, ヒトのドライマウスで観察される舌痛も上記のメカニズムによって引き起こされる可能性が考えられる.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Peripheral mechanisms underlying tongue hypersensitivity associated with dry tongue

---

○Chen JY, Shinoda M, Iwata K

Nihon Univ Sch Dent, Dept Physiol

Dry mouth syndrome is a common disease in dentistry. Although it is well known to cause persistent oral pain that usually starts at the tongue, underlying mechanisms of the dry mouth pain are not entirely understood. Transient receptor potential (TRP) channels are  $Ca^{2+}$ -permeable cation channels that play important roles in sensory function. TRPV4 is a member of the vanilloid subfamily of TRP channels and activated by osmotic changes, mechanical and thermal stimuli.

To evaluate if TRPV4 participates in mechanical hyperalgesia of dry tongue, we developed a rat model of the dry tongue, and immunohistochemistry of the trigeminal ganglion was conducted using TRPV4 and pp38 antibodies.

Head-withdrawal threshold to mechanical stimulation of the tongue was significantly lower in dry-tongue rats compared with sham rats. A significant increase in the number of TRPV4- and pp38-immunoreactive (IR) cells was observed in the TG in dry-tongue rats compared with sham rats. Local injection of p38 phosphorylation inhibitor or TRPV4 blocker suppressed tongue mechanical hypersensitivity in dry-tongue rats. Intraganglionic injection of p38 phosphorylation inhibitor also suppressed TRPV4 expression in TG neurons.

The present findings suggest that activation of TRPV4 via p38 phosphorylation in TG neurons is involved in tongue mechanical hypersensitivity associated with dry tongue, and these peripheral mechanisms are involved in persistent oral pain in dry mouth patients.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US15-3 マウス咀嚼筋適応機構の解明

---

○梅木 大輔<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 伊藤 愛子<sup>1</sup>, 八木澤由佳<sup>1</sup>, 成山明具美<sup>3</sup>, 川村 直矢<sup>4</sup>,  
吹田 憲治<sup>2</sup>, 中村 芳樹<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正

<sup>2</sup>鶴大 歯 生理

<sup>3</sup>鶴大 歯 小児歯

<sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病

骨格筋は可塑性を有し、その表現型（筋線維サイズ、筋線維タイプ）や生理機能は様々な環境の変化に適応することが知られている。しかしながら、その適応機構の詳細は未だ不明な点が多い。咀嚼筋も四肢の骨格筋と同様に可塑性を有し、その表現型や生理機能は様々な咬合の状態に適応することが報告されている。歯科矯正治療（咬合の改善）により口腔機能を改善する際、咀嚼筋の適応は必要不可欠であることから、咀嚼筋の適応現象およびその誘発機構を分子レベルで詳細に解明することは非常に重要である。これまで我々は実験動物にラットを用いて咀嚼筋（特に咬筋）の適応現象を解析してきた。強制的開口による咬合高径の増大が咬筋の肥大と筋活動の亢進を誘発することに加え、Akt/mTOR 経路および Calcineurin 経路を介したシグナル伝達経路がこの咬筋肥大の誘発機序に関与することを観察した。また、咬筋の肥大は、咬合高径の増大による負荷だけでなく、 $\beta_2$ アドレナリン受容体 ( $\beta_2$ -AR) 作動薬であるクレブテロール (CB) の慢性投与でも誘発されることを観察した。さらに、咬筋のステロイドミオパチー（ステロイド薬治療の副作用である筋の萎縮と機能障害）の発症機序を詳細に解析し、CB が咀嚼筋のステロイドミオパチーに対して抑制効果を持つことを明らかにした。その一方、咬筋や前脛骨筋などの速筋優位な筋と比べ、ヒラメ筋などの遅筋優位な筋では CB による筋肥大効果が小さく、その分子機序も不明である。本研究では、ラットよりも遺伝子情報が豊富なマウスを用いて、マウス咬筋の可塑性について詳細に解析し、これまで得られた結果と今後の展望について新たな所見も合わせてご紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Masticatory muscle plasticity in mouse

---

○Umeki D<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Ito A<sup>1</sup>, Yagisawa Y<sup>1</sup>, Nariyama M<sup>3</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Nakamura Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Masticatory muscles have the potential to adapt their mass and fiber types to a wide range of functional demands, as observed in limb muscles. However, these molecular mechanisms are poorly understood. To gain more insight into the mechanisms of masticatory muscle adaptation, we analyzed the effects of bite-opening treatment (BO) on muscle phenotypes of rat masseter muscle. The BO induced hypertrophy and increased daily activity in the masseter muscles. The BO-induced hypertrophy was mediated by activation of both Akt/mTOR and calcineurin pathways. In addition to the BO, masseter muscle hypertrophy was induced by chronic treatment with clenbuterol (CB), a  $\beta_2$ -adrenergic agonist. Furthermore, the CB treatment suppressed a glucocorticoid-induced myopathy in masseter muscle. We also report new findings on masseter plasticity the obtained from mouse models.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US15-4 ラット三叉神経運動核の背側網様体に存在する Phox2b 陽性ニューロンの電気生理学および形態学的特性は Phox2b 陰性ニューロンと異なる

○那小屋公太<sup>1,2</sup>, 中村 史朗<sup>2</sup>, 中山希世美<sup>2</sup>, 望月 文子<sup>2</sup>, 佐藤 文彦<sup>3</sup>, 吉田 篤<sup>3</sup>, 井上 誠<sup>1</sup>, 井上 富雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生理, <sup>3</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2

Phox2b は転写因子の一種であり、自律機能の発現に重要な役割を果たしている。ラット脳幹において Phox2b を持つニューロン (Phox2b<sup>+</sup>ニューロン) は、自律機能を司る部位に広く分布するだけでなく、三叉神経運動核背側網様体 (RdV) にも存在することが報告されているが、そのニューロンの特性や顎運動との関連性は不明である。本研究の目的は RdV に存在する Phox2b<sup>+</sup>ニューロンの生理学および形態学的性質を明らかにすることである。Phox2b-EYFP ラットを用い、*In situ* hybridization, ホールセルパッチクランプ法により生理学的及び形態学的解析を行った。RdV に分布する Phox2b<sup>+</sup>ニューロンの大部分はグルタミン酸性であり、Phox2b を持たないニューロン (Phox2b<sup>-</sup>ニューロン) の多くは GABA 性とグリシン性であった。発火頻度解析では、Phox2b<sup>+</sup>ニューロンは低頻度発火型ニューロンの割合が高く (86%)、Phox2b<sup>-</sup>ニューロンは高頻度発火型ニューロンの割合が高かった (83%)。また、Phox2b<sup>+</sup>ニューロンはほとんど自発発火を認めなかった (2%) のに対し、Phox2b<sup>-</sup>ニューロンの多くは自発発火を認めた (74%)。さらに、三叉神経中脳路核、三叉神経脊髄路、三叉神経主感覚核のいずれかより入力を受ける Phox2b<sup>+</sup>ニューロンの割合 (24%) は Phox2b<sup>-</sup>ニューロンの割合 (53%) と比較し低かった。軸索の走行を形態学的に解析したところ、軸索が三叉神経運動核 (MoV) 内に終止するものは Phox2b<sup>+</sup>ニューロンで 42%、Phox2b<sup>-</sup>ニューロンで 50% であった。以上の結果より、RdV に分布する Phox2b<sup>+</sup>ニューロン、Phox2b<sup>-</sup>ニューロンは生理学的に異なる性質を有しているが、多くは MoV へ出力を送るプレモーターニューロンであることが示され、Phox2b<sup>+</sup>ニューロンと Phox2b<sup>-</sup>ニューロンが協調して吸啜や咀嚼を含む摂食関連行動を調節している可能性が考えられた。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

## Phox2b<sup>+</sup> and Phox2b<sup>-</sup> neurons in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus have different electrophysiological and morphological properties

○Nagoya K<sup>1,2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Nakayama K<sup>2</sup>, Mochizuki A<sup>2</sup>, Sato F<sup>3</sup>, Yoshida A<sup>3</sup>, Inoue M<sup>1</sup>, Inoue T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent <sup>3</sup>Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Phox2b is a member of transcription factors and essential for the development of the autonomic nervous systems. Although Phox2b<sup>+</sup> neurons are distributed in the reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus (RdV), properties of Phox2b<sup>+</sup> neurons and contribution to the jaw-movement have been unknown. In this study, we investigated physiological and morphological properties of Phox2b<sup>+</sup> RdV neurons in Phox2b-EYFP knock-in rats using *in situ* hybridization, whole-cell recording. Most Phox2b<sup>+</sup> neurons consisted of glutamatergic, whereas many Phox2b<sup>-</sup> neurons consisted of GABAergic or glycinergic neurons. The majority of Phox2b<sup>+</sup> neurons (86%) showed low-frequency firing, while most of Phox2b<sup>-</sup> neurons (83%) exhibited high-frequency firing. Few Phox2b<sup>+</sup> neurons fired spontaneously (2%), whereas many Phox2b<sup>-</sup> neurons were spontaneously active (74%). Twenty-four percent of Phox2b<sup>+</sup> neurons and fifty-three percent of Phox2b<sup>-</sup> neurons received synaptic inputs from the trigeminal mesencephalic nucleus, spinal trigeminal tract or principal sensory trigeminal nucleus. Morphological analysis revealed that about half of the Phox2b<sup>+</sup> (42%) and Phox2b<sup>-</sup> neurons (50%) sent their axons to the trigeminal motor nucleus. These results suggest that Phox2b<sup>+</sup> and Phox2b<sup>-</sup> neurons have different physiological properties, but many Phox2b<sup>+</sup> and Phox2b<sup>-</sup> neurons may be trigeminal premotor neurons. Such distinctive features may contribute to feeding-related functions including suckling and mastication.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US16-1 骨基質石灰化における局所リン酸供与と FGF23/klotho シグナル

---

○長谷川智香, 本郷 裕美, 網塚 憲生

北大 院歯 硬組織発生

骨基質石灰化では、全身性および局所性のリン代謝調節が重要な役割を果たす。全身性のリン代謝調節因子である FGF23/klotho は、腎臓においてリン濃度調節を担うことが知られている。一方、骨組織における局所性のリン酸イオン調節因子には、骨芽細胞の細胞膜に局在する組織非特異型アルカリフォスファターゼ (ALP)/ENPP1 に加えて、骨芽細胞が産生する基質小胞の単位膜からリン酸供給を行う PHOSPHO1 が存在する。従って、正常な骨基質石灰化部位では、ALP/ENPP1 および PHOSPHO1 が協調して作用することで、基質小胞内部および周囲の石灰化球におけるリン酸イオン濃度が維持されると考えられる。一方、我々のこれまでの検索から、*klotho* 遺伝子変異マウスでは、骨芽細胞における ALP, PHOSPHO1 の発現低下と ENPP1 の発現上昇が認められたことから、FGF23/klotho シグナルが破綻し、全身性のリン代謝異常が生じると、骨組織における ALP/ENPP1, PHOSPHO1 といった局所性のリン酸イオン調節因子の発現も変化する可能性が推測された。

本シンポジウムでは、*klotho* 遺伝子変異マウスにおける ALP/ENPP1, PHOSPHO1 の局在変化を中心に、我々の組織学的な知見をご紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## The local regulation on the phosphate supply and FGF23/klotho signaling during bone mineralization

---

○Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N

Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Systemic and local regulation on the phosphate supply is essential for normal bone mineralization. FGF23/klotho signaling is well-known to regulate the serum concentration of phosphate in kidney. In addition, two kinds of enzymes appear to regulate the local concentration of phosphate ions in bone: One is tissue-nonspecific alkaline phosphatase (ALP)/ENPP1 localized on the membrane of osteoblasts, and the other is PHOSPHO1 which provides phosphate ions from the membrane-associated phosphate residues of matrix vesicles. In a normal state, ALP/ENPP1 and PHOSPHO1 seem to coordinately maintain the phosphate concentration inside matrix vesicles and around mineralized nodules during bone mineralization. However, *klotho* deficient mice showed the decreased immunoreactivities of ALP and PHOSPHO1, while increased ENPP1 immunopositivity in bone. It seems likely that the defective FGF23/klotho signaling, *i.e.*, the disturbed systemic regulation of serum phosphate, causes the altered activities of ALP/ENPP1 and PHOSPHO1 in bone. In this presentation, we will address a talk on our histological findings on the altered activity of ALP/ENPP1 and PHOSPHO1 in *klotho* deficient mice.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

---

## US16-2 骨・カルシウム恒常性と 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>作用

---

○増山 律子

長大 院医歯薬

生体内で歯や骨などの硬組織が発生するしくみは、全身性のミネラル代謝と連動した複雑な生命現象である。硬組織主要成分のカルシウムは生命情報システムの基盤を成す様々な細胞内反応を仲介するため、血中濃度が不足しないように常に狭い濃度域に調整されており、必要に応じて豊富に貯蔵する骨から動員して恒常性が維持される。我々は、カルシウム栄養の不足時には、骨を壊して骨から血中にカルシウムを動員する作用が高まるだけでなく、カルシウムの骨への沈着が抑制される作用が加わることで血中カルシウム濃度の正常化が優先される現象を見出し、このしくみは骨組織での活性型ビタミン D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)作用に応じて発揮されることを明らかにした。

また、多彩なビタミン D 作用のうち、“古典的作用”とされる小腸カルシウム吸収促進作用は生体のカルシウム恒常性維持において最も重要な標的であるが、妊娠や授乳期には他の因子によりカルシウム吸収が促進されることや、ビタミン D が作用しない動物モデルでは、食事成分の変化によってカルシウム吸収が正常化することからも、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>作用に依存しないカルシウム吸収調節機構の存在が示唆されている。そこで、我々は新たな経細胞カルシウム輸送機構を仮定し、その具体的な分子機構の解明と生理的な意義について検討を重ねている。

本シンポジウムでは、骨組織発達における 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>作用の重要性とカルシウム恒常性維持のしくみ、生体局所での生理的なカルシウム輸送調節機構について議論したい。

**【利益相反】** 利益相反は有りません。

---

## The role of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on bone and calcium homeostasis

---

○Masuyama R

Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Vitamin D endocrine system is required for normal calcium and bone homeostasis. Trans-epithelial calcium absorption is initiated with calcium entry into intestinal epithelial cells from luminal fluid through calcium permeable channels, and those expressions are strongly supported by the biologically active form of vitamin D [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] action. During a negative calcium balance, the effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on bone become dominant. Thus, the role of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in maintaining normocalcemia appears to have priority over skeletal integrity in these situations. On the other hands, dietary treatment such as mineral supplementation or restriction successfully improves intestinal calcium absorption in mice lacking 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dependent active (calcium and/or phosphate) absorption pathway. These dietary rescues of intestinal calcium absorption provided a positive calcium balance, and suggested that the major role of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> function on calcium homeostasis was considered to be intestinal active absorption. To elucidate the entire process of intestinal calcium absorption, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dependent and independent calcium transport system should be characterized into either trans-cellular or para-cellular process.

**Conflict of Interest:** There are no conflicts of interest.

---

---

### US16-3 基質小胞の新展開：microRNA キャリアとしての役割

---

○南崎 朋子, 吉子 裕二

広大院医歯薬保 硬組織代謝生物

基質小胞 (MV) は骨の石灰化に関与する一方, エクソソームと共通した側面を持つ。分泌小胞であるエクソソームは細胞間の情報伝達の担い手として, RNA などの機能分子を内包し標的細胞へと輸送する。我々は microRNA (miRNA) に注目し, マウス由来 MVs を網羅的に解析したところ, 172 種の miRNA を同定した。miRNA は 22 塩基前後の non-coding RNA であり, 一般に標的遺伝子の 3'UTR に配列相補的に結合し, 遺伝子発現を抑制する。我々は, MVs のみならず骨基質に豊富に内包される miR-125b について解析を進めた。In vitro スクリーニング, データベース検索の結果, miR-125b の標的細胞は破骨細胞前駆細胞と特定した。RAW 細胞を用いて検証すると, miR-125b は転写抑制因子 Prdm1 の 3'UTR に選択的に結合し, Prdm1 遺伝子の発現を抑制した。これと一致して, PRDM1 の標的である破骨細胞分化抑制因子の発現が増加した。そこで, ヒトオステオカルシンプロモーター制御下で miR-125b を発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製したところ, Tg マウスは野生型 (WT) と比較し, 著しい骨量の増加, 破骨細胞数の減少を認めたが, 骨芽細胞への影響は確認されなかった。以上の結果は, MVs 由来の miR-125b の骨代謝における重要性を示している。Tg マウスでは卵巣摘除による骨量減少が軽減されることから, これらの知見は骨量減少のための新しい治療標的を提供するものと期待している。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### New insight into matrix vesicles as microRNA carriers

---

○Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

Matrix vesicles (MVs) play a key role in bone mineralization, while they share common features with exosomes. Exosomes, extracellular nano-vesicles, deliver biological materials including RNAs to target cells to mediate cell-cell communication. We focused on microRNAs (miRNAs), and our global analysis identified 172 miRNAs in mouse MVs. miRNAs, small non-coding RNAs including about 22 nucleotides, bind to the 3'UTR of a specific gene, resulting in a reduction of gene expression. Of miRNAs identified in this study, miR-125b was highly abundant not only in MVs but also in bone matrix. In vitro screening and databases searches revealed that miR-125b targeted to osteoclast precursors. miR-125b selectively bound to the 3' UTR of Prdm1, a transcriptional repressor, and downregulated Prdm1 gene expression with increased expression of anti-osteoclastogenic genes. We then generated transgenic (Tg) mice overexpressing miR-125b under the control of the human osteocalcin promoter. Tg mice exhibit high bone mass with a decreased number of osteoclasts. Thus, our results provide new insight into the role of MV-mediated miR-125b in bone metabolism. Together with the result that overexpression of miR-125b improves ovariectomy-induced bone loss in Tg mice, these findings may provide a potential therapeutic target for bone loss.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US16-4 骨髄間葉系幹細胞の骨代謝調節機構

---

○溝口 利英

松歯大 総歯研

骨髄間葉系幹細胞 (BM-MSCs) は自己複製能を有し、生涯にわたり骨芽細胞の供給源として機能する。以前我々は、BM-MSCs をレプチン受容体 (LepR) 陽性細胞として同定した (*Dev Cell* 29:340, 2014)。しかしながら、LepR 陽性細胞の生体内における骨芽細胞への分化機構については未だ十分な理解が得られていない。

近年我々は、転写因子 Runx2 の GFP レポーターマウスを用いて LepR 陽性細胞の骨芽細胞分化過程を解析した。その結果、骨髄中の LepR 陽性細胞の約 60% が低レベルの Runx2-GFP (Runx2-GFP<sup>low</sup>) を発現していることが示された。興味深いことに、LepR 陽性細胞画分中の Runx2-GFP<sup>low</sup> 細胞は Runx2-GFP 陰性細胞よりも高い幹細胞能を有することが CFU-F (colony-forming unit fibroblasts) およびスフェロイドアッセイにより明らかになった。また、LepR<sup>+</sup>Runx2<sup>low</sup> 細胞は *in vitro* 培養系で多分化能を示した。さらに LepR<sup>+</sup>Runx2<sup>low</sup> 細胞は、骨形成誘導薬である副甲状腺ホルモン (PTH) (1-34) の投与に伴い Osterix とタイプ I コラーゲンの発現が上昇し、成熟骨芽細胞に分化することが *in vivo* で証明された。

以上より、LepR 細胞画分はヘテロな細胞集団であり、その Runx2-GFP<sup>low</sup> 亜集団に BM-MSCs が含まれることが示された。同時にこの結果は、骨芽細胞分化のマスター遺伝子である Runx2 が未分化状態で低発現していることを意味する。さらに、PTH の骨アナボリック効果の一部は LepR<sup>+</sup>Runx2<sup>low</sup> 細胞の骨芽細胞分化誘導作用に起因することが明らかになった。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Regulation of bone metabolism by bone marrow mesenchymal stem cells

---

○Mizoguchi T

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

Bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs) have self-renewal potential, and provide osteoblasts throughout the lifetime. Previously, we revealed that leptin receptor (LepR) is a useful marker for BM-MSCs *in vivo* (*Dev Cell* 29:340, 2014). However, the mechanistic details of *in vivo* osteoblastogenesis from LepR<sup>+</sup> cells are still not clear.

In this study, we attempted to dissect the process of osteoblastogenesis from LepR<sup>+</sup> cells using Runx2-GFP reporter mice. Flow cytometry analysis revealed that approximately 60% of LepR<sup>+</sup> cells were positive for Runx2-GFP at low levels (Runx2-GFP<sup>low</sup>). Interestingly, the stem cell potential, assessed by CFU-F and spheroid formation assay, was the highest in the LepR<sup>+</sup>Runx2-GFP<sup>low</sup> subpopulation of all LepR<sup>+</sup> cells. Moreover, the LepR<sup>+</sup>Runx2-GFP<sup>low</sup> subpopulation exerted tri-lineage differentiation potential *in vitro*. Furthermore, in response to parathyroid hormone (PTH), a bone anabolic hormone, LepR<sup>+</sup>Runx2-GFP<sup>low</sup> cells expressed Osterix and Type I collagen  $\alpha$  sequentially, resulting in generation of mature osteoblasts *in vivo*.

These results indicate that the LepR<sup>+</sup> cells are composed of heterogeneous subpopulations, and that the stem cell potential is enriched in the LepR<sup>+</sup>Runx2-GFP<sup>low</sup> subpopulation. At the same time, these results also suggest that Runx2 is expressed in the LepR<sup>+</sup> population without osteoblastic commitment. Our data provide evidence that part of the PTH-induced bone anabolic effects are exerted by induction of osteoblastogenesis from LepR<sup>+</sup>Runx2-GFP<sup>low</sup> cells.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US16-5 生体イメージングで解く骨代謝調節機構

---

○菊田 順一

阪大 院医 免疫細胞生物

骨は、常に新しく生まれ変わるダイナミックな臓器である。古い骨を壊す“破骨細胞”と新しい骨を造る“骨芽細胞”が互いに協調して働くことによって、骨の新陳代謝は緻密に制御されている。この両者の関係は“骨カップリング”と呼ばれ、これまでに数多くの制御因子が同定されてきたが、その実体については未だに不明な点が多い。

石灰質に囲まれた骨組織は、生体で最も硬い組織であるため、従来生きてきたままでの観察が極めて困難であると考えられていた。実際にこれまでの基礎研究では、固定して摘出した骨を切片にして観察していたため、骨組織内の細胞の“形態”や免疫染色による“分子発現”を解析することはできたが、骨髓腔内を流れる豊富な循環血流を保ったまま、そこで流出入する細胞の“動き”や細胞同士の“相互作用”を捉えることはできなかった。

本演者らは、組織深部の観察が可能な二光子励起顕微鏡を駆使して、個体を生かしたまま生体骨組織内の細胞動態を観察するライブイメージング系を確立した。本技術を用いて、骨表面上での生きた破骨細胞の“動き”や“機能”、骨芽細胞との“相互作用”を可視化することに成功し、その制御機構を明らかにした。

骨の蛍光生体イメージング技術は、生体骨組織内の様々な細胞の時空間的な挙動や機能をリアルタイムで解析することができるため、骨粗鬆症や関節リウマチなどの病態解明や新規治療薬の開発において強力な手段となることが強く期待される。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## The regulatory mechanism in bone metabolism analyzed by intravital imaging

---

○Kikuta J

Dept Immunol Cell Biol, Grad Sch Med, Osaka Univ

Bone is continually remodeled by bone-resorbing osteoclasts and bone-forming osteoblasts. Although it has long been believed that bone homeostasis is tightly regulated by communication between osteoclasts and osteoblasts, the fundamental process and dynamics have remained elusive.

Because bone is the hardest tissue in the body, it is technically difficult to visualize cellular interactions in the bone marrow cavities of living animals. In the fields of bone and mineral research, the morphology and structure of bone tissues can be analyzed using various conventional methods, including micro-computed tomography, histomorphological analyses, and flow cytometry. These methods yield information on cell shape and gene expression patterns, but not on dynamic cell movements in living bone marrow. The recent introduction of fluorescence microscopy has enabled imaging of the cellular dynamics of organs and tissues *in vivo*. Therefore, we established an advanced imaging system to visualize living bone tissues using intravital multiphoton microscopy. By means of this system, we revealed the *in vivo* behavior of bone-resorbing osteoclasts and bone-forming osteoblasts in bone tissues.

This approach facilitates investigation of cellular dynamics in the pathogenesis of bone-destructive disorders, such as osteoporosis and rheumatoid arthritis *in vivo*, and would thus be useful for evaluating the efficacy of novel anti-bone-resorptive drugs.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US17-1 下顎頭軟骨の構造上の特徴と組織発生

---

○柴田 俊一

医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖

---

下顎頭軟骨は顎関節の一員として関節軟骨として機能する一方、顎顔面の1つの成長中心として、成長軟骨としても働いている。形成された下顎頭軟骨は1) 再表層に骨膜/軟骨膜に連続する「線維層」がある。2) 軟骨細胞の配列が不規則で「軟骨柱」を形成しない。3) Type I コラーゲンを比較的豊富に含む(線維軟骨の性質を持つ)4) 軟骨内骨化の際、死滅せず生存する肥大軟骨細胞が多い、などの構造上の特徴を有しておりそれらは下顎頭軟骨の機能と関連している。下顎頭軟骨は発生学的には代表的な「二次軟骨」に分類されている。二次軟骨は正式な解剖学用語としては認められていないが、この軟骨の特徴をよく表しており、解剖学のみならず臨床でも広く用いられている。二次軟骨の正確な定義は確立していないが、四肢の長骨や椎骨の原基、Meckel 軟骨などの「一次軟骨」以外はすべて二次軟骨ということが出来る。もう少し詳しく説明すると1) 時期的に一次軟骨より、遅れて発生する。2) 二次軟骨の軟骨細胞は未分化間葉細胞から直接分化するのではなく、既存骨の骨膜に由来することが定義として示されている。しかしながら下顎頭軟骨の由来に関しては、下顎骨の骨膜(様組織)から形成されるという考え(骨膜説)と、下顎頭軟骨特有の原基があり軟骨形成後二次的に下顎骨と癒合するという考え(原基説)が提唱され、議論されてきた。マウス、ラットおよびヒトを対象とした研究から、少なくともこれらの種では骨膜説が正しいことを報告する。また二次軟骨の特徴の1つとして、前駆細胞が軟骨細胞に分化するや否や直ちに肥大軟骨細胞に分化する、という現象がある。この現象は下顎頭骨形成時に著しい間質成長が起こることを示しており、「下顎骨の成長を補佐する」という二次軟骨としての下顎頭軟骨の機能を良く反映している。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Structural features of developing mandibular condylar cartilage

---

○Shibata S

Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Mandibular condylar cartilage is regarded not only as an articular cartilage but also as a growth cartilage. The mandibular condylar cartilage has following structural features: 1) The fibrous layer covers cartilage layers. 2) Chondrocytes are randomly arranged. 3) Having fibrocartilaginous characteristics. 4) Surviving hypertrophic chondrocytes are frequently observed. These features reflect functions of this cartilage. The mandibular condylar cartilage is classified as “secondary cartilage” in embryology. The official definition of secondary cartilage is not established, but can be regarded as the cartilage other than primary cartilages including limb bud, vertebral and Meckel’s cartilage. In detail, secondary cartilage appears later in the embryonic development. Another most narrow definition is that it arises from the periosteum of membrane bone. Whether the initial chondrogenesis of mandibular condylar cartilage starts from the periosteum (termed the “periosteum theory”) or from a separate, programmed blastema (termed the “blastema theory”), however, has long been debated. The periosteum theory is reasonable at least in mice, rats and humans. Another structural feature of secondary cartilage is that progenitor cells rapidly differentiated into hypertrophic chondrocytes. This indicates rapid interstitial growth occurs when the condylar cartilage forms, supporting the function of this cartilage that can help growth of mandibular bone.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US17-2 軟口蓋発生を特徴づける細胞外マトリックス発現

---

○岡 暁子<sup>1</sup>, 栗原 調<sup>1</sup>, 緒方佳代子<sup>1</sup>, 尾崎 正雄<sup>1</sup>, Chai Yang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 小児歯

<sup>2</sup>USC, CCMB

口蓋発生の最初の重要なイベントは、口蓋突起の成長と口蓋癒合上皮の消失である。従って、口蓋裂がなぜ発症するのか、という疑問を解決するには、この2つのイベントにおける分子メカニズムの解明が求められる。一方で、口蓋裂治療という側面で考えると、正常な咬合や鼻咽腔閉鎖・構音機能の獲得が重要であり、口蓋組織再生を含む視点からの口蓋組織形成メカニズムの探索が必要と考える。

口蓋裂を発症するヒト遺伝子の解析や遺伝子改変マウスを用いた多くの研究から、TGF- $\beta$  シグナルが口蓋突起の成長と口蓋癒合上皮消失の中心的役割を担っていることが知られている。しかし、このTGF- $\beta$  シグナルが、癒合後の口蓋組織形成に果たす役割は不明である。我々は、TGF- $\beta$  シグナルの重要な働きの一つである細胞外マトリックス発現調節に着目し、口蓋の前後軸で特徴的な発現パターンを示す細胞外マトリックスのうち、Periostin と Tenascin C に着目した。

口蓋発生初期の間葉は、神経堤由来の細胞群であり、Periostin や Tenascin C はこの神経堤由来細胞に発現している。これまでの解析から、Periostin は、TGF- $\beta$  シグナルの制御を受けて Collagen と共発現し、口蓋腱膜形成を担っていること、Tenascin C は、軟口蓋突起の先端に強い発現を示し、それは口蓋上皮からのTGF- $\beta$  シグナルによるパラクライン調節によるものであることなどがわかってきた。本シンポジウムでは、軟口蓋領域に発現する細胞外マトリックス蛋白の役割について、TGF- $\beta$  シグナルに関する遺伝子改変マウスを用いた発現解析から考察したい。

**【利益相反】** 著者らは、開示すべき利益相反がないことを宣言します。

---

## Extracellular matrix expression that characterizes soft palate development

---

○Oka K<sup>1</sup>, Kurihara S<sup>1</sup>, Ogata K<sup>1</sup>, Ozaki M<sup>1</sup>, Chai Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr, Dent, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>CCMB, USC

In early stage of palatogenesis, it has been cleared that TGF- $\beta$  signaling is major player for 'palatal shelf growth' and 'disappearance of medial edge epithelium'. Besides, in terms of surgical treatments to form functional palatal organ for cleft palate patients, it needs to elucidate the mechanism of maxillary bone and palatine muscle development after palatal fusion. However, it has been little known about the role of TGF- $\beta$  signaling in late stage of palatal development after palatal fusion.

We have focused on the extracellular matrix expression, periostin and tenascin C via TGF- $\beta$  signaling which showed characteristic expression in anterior-posterior axis of palatal development. In palatal mesenchyme, neural crest cells strongly expressed periostin and tenascin C in the posterior region. In our analysis, it was shown that expression of periostin and collagen via TGF- $\beta$  signaling were observed in palatine aponeurosis which was important component to organize palatal muscles. Furthermore, it was also shown that tenascin C expression was paracrine regulated by TGF- $\beta$  signaling in palatal epithelium. In this symposium, we hope to discuss about roles of extracellular matrix expression in soft palate development.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US17-3 “顎関節の筋・腱・骨：機能的複合体” 発生過程における Sox9<sup>+</sup>前駆細胞の担う役割

---

○山本 将仁

東歯大 解剖

---

Sox9<sup>+</sup>前駆細胞は、腱と軟骨の結合部の発生に関与していることが知られている。我々はこれまで、起源の異なる筋組織、腱組織、骨組織が、筋の付着部においてどのような相互関係があって構造を獲得していくのかについて報告をしてきた。今回はマウス外側翼突筋停止部を観察対象とし、『顎関節の筋・腱・骨 複合体』という1つの機能的な単位の形成過程における Sox9 の役割について考察を試みた。

試料は ICR 系マウス（胎生 11.5～16.5 日）を用いた。各日齢でマウスを屠殺後、顎関節部を一塊として試料を摘出した。通法に従いパラフィン包埋後、連続薄切切片を作製し、各種染色を施した。筋組織の発育を観察するための抗 Desmin 抗体、筋付着部の発生過程を検索する為の抗 Sox9 抗体を用いた免疫組織化学的染色法を行った。さらには Alkaline phosphatase (ALP) を用いた酵素組織化学的染色を行った。

胎生 11.5 日において、Sox9 はメッケル軟骨原基に発現していたが、下顎骨原基には認められなかった。この時期において将来の下顎頭原基は未だ出現していなかった。胎生 12.5 日になると Sox9<sup>+</sup>前駆細胞が外側翼突筋の後方(将来の筋付着部)に認められ、この細胞集団の後方部は下顎頭原基の前方と一致していた。胎生 13.5～14.5 日においては、ALP 活性のある将来の下顎頭原基がはっきりと認められ、Sox9<sup>+</sup>前駆細胞は胎生 12.5 日と同様の位置に認められた。胎生 15.5～16.5 日になると ALP 活性のある膜性骨と線維層が下顎頭軟骨と筋腱接合部の間に介在するようになった。しかしながら、Sox9<sup>+</sup>前駆細胞は筋付着部にほとんど認められなかった。今回の結果より、Sox9<sup>+</sup>前駆細胞は発生初期における外側翼突筋の付着部形成に不可欠であると考えられた。また、離れた位置に発生する外側翼突筋と下顎頭軟骨の原基は、Sox9<sup>+</sup>前駆細胞群により誘導され近接していくことが示唆された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Sox9<sup>+</sup> progenitors contribute to the establishment of ‘muscle-tendon-bone complex of temporomandibular joint’

---

○Yamamoto M

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

---

Sox9 contributes to establishment of the junction between cartilage and tendon. The aim of the present study was to investigate the involvement of Sox9<sup>+</sup> progenitor cells in the process of attachment between the lateral pterygoid muscle (LPM) and the condylar head (CH) during embryonic development in mice. At embryonic day (ED) 11.5, Sox9 was clearly observed in Meckel's anlage but not in the mandibular anlage. The future CH was not yet apparent. At ED 12.5, Sox9 was expressed posteriorly to the LPM. At ED 13.5 and 14.5, alkaline phosphatase (ALP) activity was identified in the future condylar head. Sox9<sup>+</sup> positive cells were located between the LPM and the CH, and a few were evident in the CH. At ED15.5 and 16.5, a bone-like structure expressing ALP activity sandwiched the condylar cartilage, which extended more cranially. Sox9 was clearly expressed in the condylar cartilage, but not in the area between the CC and the LPM. Therefore, Sox9<sup>+</sup> progenitors were essential for development of the attachment site in early stage. However, the superior extension of the condylar cartilage and bone-like structure expressing ALP activity sandwiching the condylar cartilage seemed to cause disappearance of Sox9 at the attachment site.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US18-1 細胞外マトリックスによる歯周組織の恒常性維持と破綻の分子メカニズム

○山田 聡

東北大 院歯 歯内歯周治療

歯周組織の中でも、歯根膜は、歯周組織の恒常性維持に重要なだけでなく歯周病によって破壊された歯周組織の修復・再生に必須の役割を果たしている。歯根膜の持つ細胞分化、組織修復や再生機能を分子・遺伝子レベルで理解することは、歯周病の発症メカニズムや次世代の歯周治療を創出する上で重要な知見を与えるものと考えられる。我々はこれまでに、歯根膜のオミックス解析を進めることで、歯根膜の組織恒常性維持や歯周組織再生に重要な役割を果たしている分子群を多数同定してきた。新規の歯根膜特異的分子 PLAP-1 は、BMP-2 や TGF- $\beta$  のアンタゴニストとして歯根膜細胞の石灰化を抑制することで歯周組織の恒常性を維持していること、Periostin の歯根膜特異的アイソフォームが歯根膜細胞分化を促進し歯周組織の再生を亢進すること、Cathepsin K がコラーゲン線維の代謝を担うことで歯根膜の組織恒常性を維持していること、Fe イオン貯蔵タンパク Ferritin が歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化を促進することなどを見出している。さらに、メカニカルストレスを与えた細胞モデルから DNA チップ解析により見出されたグルタミン酸関連分子群が、歯根膜細胞の分化を促進することで歯周組織再生を誘導することを明らかにしている。このように歯根膜の機能に密接に関連している分子として我々がこれまでに同定・解析してきたものの多くは、分泌型の細胞外マトリックス (ECM) および ECM 関連分子であり、歯根膜においては様々な ECM によって組織恒常性や再生機能が制御されていることが明らかとなってきた。また、PLAP-1 の N 末端に存在するアスパラギン酸の連続配列が個人によって異なるという PLAP-1 遺伝子多型と変形性関節症 (OA) との関連性が報告されている。本シンポジウムでは、PLAP-1 の遺伝子多型が歯根膜機能へ及ぼす影響に関して、最新の研究結果を報告するとともに、その歯周病感受性への関与についても考えてみたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Molecular mechanisms maintaining periodontal tissue homeostasis and destruction by extracellular matrix

○Yamada S

Dept Periodontol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Periodontal ligament (PDL) plays central roles in maintaining the homeostasis of periodontal tissues. In attempt to understand the molecular basis of PDL functions, we have been investigating the expression profile of active genes in human periodontal ligament utilizing transcriptome approaches, such as DNA microarray and random sequencing analyses of cDNA libraries. We found several factors such as glutamate and glutamate-related molecules, periodontal ligament specific isoform of periostin (PDL-POSTN), and ferritin, positive regulators for periodontal ligament cytodifferentiation. And, also we further identified a novel protein, which is a new member of class I of small leucine-rich repeat proteoglycan family and designated it periodontal ligament associated protein-1 (PLAP-1). PLAP-1 plays an important role in periodontal ligament as a negative regulator of cytodifferentiation and mineralization, by inhibiting BMP-2 activity, resulting in preventing the periodontal ligament from non-physiological mineralization, such as ankylosis. A series of these transcriptome analyses has clearly demonstrated that positive and negative regulators of cytodifferentiation and mineralization are uniquely expressed and function in an orchestrated manner to maintain periodontal tissue homeostasis.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

## US18-2 Del-1 分子による歯周炎制御メカニズム解析とサルへの応用研究

---

○前川 知樹

新潟大 院医歯 高度口腔機能教育研究セ

歯周炎は細菌に対する過度な免疫応答による好中球の浸潤や組織の重度な破壊、破骨細胞の分化と活性化による骨吸収を引き起こす。これまでに、好中球の遊走を阻止する Del1 に焦点をあて、歯周炎の病態解析をおこなってきた。Del1 は、血管壁を構成する血管内皮細胞が主に産生し、細胞外マトリックス中に遊離し好中球の遊走を阻止している。しかしながらこれまでの研究成果である好中球抑制機構だけでは、歯周炎による骨吸収抑制機能を説明しきれなかった。そこで Del-1 の骨吸収に対する影響を検索したところ、Del1 による炎症性骨吸収制御メカニズムが新規に明らかとなった。Del1 がヒトおよびマウスの破骨細胞で発現しており、破骨細胞の分化と骨吸収機能の両者を制御していることが示された。骨吸収制御メカニズムとして、Del1 の構成ドメイン依存的な構造的要素も明らかになった。

次に、Del1 が歯周炎組織において産生が抑制されていることに着目した。すると、歯周炎組織において多量に産生されている IL-17 が、転写因子 C/EBP $\beta$  を介して Del1 の産生を制御していることを見出した。さらに、抗炎症性代謝産物であるレゾルビンに投与したところ、Del1 の産生経路を解放し炎症抑制効果を発揮すること、すなわち、レゾルビンの炎症部位への投与が Del1 を介した歯周炎の炎症の寛解に効果的であることが明らかになった。

Del1 の炎症と骨吸収の両者の抑制機能を裏付けるために、トランスレーショナルリサーチとして、サルを使用した研究をおこなった。サルを用いた研究は、実験的に惹起した歯周炎モデルではなく、ヒト歯周炎と同様の自然発症型歯周炎をもつサルを実験対象とし、フィリピンにある大規模サル自然繁殖施設にて研究をおこなった。ヒト壮年期にあたるサル自然発症型の歯周炎は、ヒト歯周炎と同様の細菌叢をもち、ヒトに近い結果が得られる利点がある。本シンポジウムでは細胞外マトリックスに遊離する Del1 による歯周病治療法の可能性についても紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Del-1 restrains osteoclastogenesis and inhibits inflammatory bone loss in periodontitis

---

○Maekawa T

Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

The proper function of homeostatic mechanisms is essential for protection against unwarranted inflammatory tissue damage. In this regard, Del1, an endothelial cell-secreted protein, acts homeostatically to suppress inflammation in various organs and tissues. We identified a novel regulatory mechanism of Del1 in osteoclast biology. Specifically, we showed Del1 is expressed by human and mouse osteoclasts and regulates their differentiation and resorptive function. Mechanistically, Del1 inhibited the expression of NFATc1 in a Mac1 integrin-dependent manner. *In vivo* mechanistic analysis has dissociated the anti-inflammatory from the anti-bone-resorptive action of Del1 and identified structural components thereof mediating these distinct functions. Locally administered human Del1 blocked inflammatory bone loss in nonhuman primates. However, essentially very little is currently known about the regulation of Del1 expression. Since the resolution of inflammation entails termination of unwarranted neutrophil recruitment, we hypothesized that pro-resolving lipid mediators, such as resolvins, can restore the expression of Del1. Indeed, resolvins were able to reverse the inhibitory effect of IL-17 on Del1 expression by acting in PI3K/Akt dependent manner. The biological relevance of these regulatory interactions was confirmed *in vivo*, thereby providing novel potential therapeutic targets to treat inflammatory disorders associated with diminished Del1 expression.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

### US18-3 プロテオーム解析と歯肉幹細胞エクソソームを応用した歯周病治療の開発に向けて

---

○福田 隆男

九大 院歯 口腔機能修復 歯周病

---

近年、エナメル基質タンパク (EMD) を応用した歯周組織再生治療が行われるようになり一定の成果を上げている。一方、次世代の幹細胞を中心とした細胞移植による再生治療は、必要設備・コストなどの面から、歯科臨床現場への普及には多くのハードルが課せられているのが現状である。現在、我々は新規アメリロジェニン会合分子 Grp78 および歯肉幹細胞由来エクソソームを標的とした新規歯周病治療の開発に向けた基礎研究を行っている。EMD の主成分であるアメリロジェニンは、細胞外マトリックス蛋白 (ECM) の 1 種であり、歯周組織再生の中心的な分子である。我々はその分子基盤を解明するためにプロテオーム解析を行い、新規アメリロジェニン会合分子 Grp78 を同定し、その会合が骨芽細胞の増殖および歯根膜幹細胞の遊走に関与することを報告した。Grp78 は熱ショック蛋白の一種であり、熱ショック蛋白誘導剤とアメリロジェニンとの併用により相乗的歯周組織再生効果の可能性を検討している。一方、間葉系幹細胞 (MSC) は、多分化能のみならず、抗炎症作用、免疫制御機能なども有することから細胞治療における優れたソースとして注目を集めている。最近では MSC による治療効果について、多分化能のみならず分泌能に注目が集まっている。その中心的役割を担う細胞分泌物として、エクソソームが注目されている。現在、我々は歯肉幹細胞由来エクソソームの歯周病治療応用にむけた基礎研究を並行して行っている。我々は炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  刺激した歯肉幹細胞由来エクソソームが、有意に修復型 (M2) マクロファージを誘導することを確認しており、安全性の高い次世代の幹細胞治療への応用の可能性を検証している。これらの知見に関しての研究結果を踏まえて、歯周組織再生の分子生物学的メカニズムの構築に関して考察したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### New therapeutic strategies for periodontal disease based on the proteomic approach and exosome from GMSCs

---

○Fukuda T

Dept Periodontol, Div Oral Rehabil, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

---

To date, a variety of periodontal regenerative therapies has been developed, and the administration of ECM is one of the ideal therapeutic strategy. Amelogenin, the major component of enamel matrix proteins, belongs to ECM protein family, and considered as a bioactive molecule for periodontal regeneration. However, the precise downstream targets have not been well defined as yet. Recently, we performed proteomics analysis to elucidate amelogenin-interaction networks, and we identified Grp78 as a new amelogenin binding protein. We further demonstrated that the biological interaction of amelogenin with this Grp78 not only enhanced cell proliferation in osteoblastic cells, but also enhanced cell migration of periodontal ligament stem/progenitor cells (PDLSCs), which play critical role in successful periodontal regeneration. On the other hand, clinical utility of stem cells for periodontal regeneration have also been investigated. Besides its multipotency, mesenchymal stem cells (MSCs) are also known to possess anti-inflammatory function. Macrophages plays central role in resolution of inflammation, and its phenotype can be characterized as pro-inflammatory (M1) or immunomodulatory and tissue remodeling (M2). We found that exosome from TNF- $\alpha$  stimulated MSCs from human gingiva (GMSCs) significantly elicited macrophage function toward the M2 phenotype. These results suggest new supportive background for MSC-based periodontal therapy.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## US18-4 ADAMTS superfamily を介した Marfan 症候群の組織破壊機構の解析

---

折本 愛, 石河 真幸, 半田 慶介, ○齋藤 正寛

東北大 院歯 歯科保存

---

Marfan 症候群 (MFS) は, fibrillin-1 (FBN-1) のミスセンス変異によるハプロ不全を原因に微細線維崩壊症を引き起こし, 解離性大動脈瘤を含む様々な結合組織疾患を引き起こす. これまで MFS の分子病態は, 微細線維崩壊に伴う TGF- $\beta$  シグナルと matrix metalloproteinase (MMP) の病的活性化により発症することが示されてきた. 今回我々は MMP が関わる MFS の新規分子病態機構として, a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) superfamily に属する ADAMTSL6 $\beta$  と ADAMTS4 が関与することを報告する. ADAMTSL6 $\beta$  transgenic mice と MFS モデルマウスを交配したところ, 大動脈中膜変性の悪化に伴う弾性線維崩壊に伴い versican の分解が促進していた. この結果より, versican を分解する ADAMTS4 が ADAMTSL6 $\beta$  陽性の fibrillin-1 微細線維に取り込まれ, 大動脈内での versican の分解促進することが推察された. そこで ADAMTSL6 $\beta$ , ADAMTS4 と fibrillin-1 の pull down assay を行ったところ, ADAMTS4 は ADAMTSL6 $\beta$  との物理的結合を介して fibrillin-1 に取り込まれ, これらの結合により versican の分解活性を促進することが確認された. MFS 患者の解離性大動脈瘤切片においても ADAMTSL6 $\beta$ , ADAMTS4 および VG1F が観察された. これらの結果より, MFS における解離性大動脈瘤の分子病態には, ADAMTSL6 $\beta$ /ADAMTS4/fibrillin-1 の 3 量複合体の形成による versican の分解促進による大動脈の弾性システムの崩壊が関与することが示された.

**【利益相反】** 著者は利益相反状態にあります.

---

## ADAMTS superfamily involved in pathogenesis of Marfan syndrome

---

Orimoto A, Ishikawa M, Handa K, ○Saito M

Dept Restor Dent Div Oper Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Marfan syndrome (MFS) is a connective tissue disorder caused by insufficient fibrillin-1 microfibril formation and patients with MFS are at risk of aortic aneurysm and dissection. Here we showed the novel mechanisms of ADAMTSL (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-like) 6 $\beta$  on the accelerating ADAMTS4 activity to progress aortic aneurysm and dissection in MFS. We found that accelerating aortic aneurysm and dissection in association with exacerbated aortic deterioration and versican degradation in the mice crossed with ADAMTSL6 $\beta$  transgenic mice and MFS model mice. In this legion, ADAMTS4 is incorporated into fibrillin-1 microfibril through binding to ADAMTSL6 $\beta$ , and these interactions increased deposition of versican G1 domain-containing fragments (VGIF) in the aortic media. Furthermore, localization of ADAMTSL6 $\beta$ , ADAMTS4 and VG1F can be observed in the legion of aortic aneurysm and dissection obtained from MFS patient. Thus, our results suggest that ternary complex of ADAMTS4/ADAMTSL6 $\beta$  fibrillin-1 may provide a new insight for pathogenesis of aortic aneurysm and dissection in MFS.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## O1-D1 インフルエンザウイルス感染による Snail1 の発現誘導は化膿レンサ球菌の上皮バリア突破を亢進させる

---

○住友 倫子, 中田 匡宣, 山口 雅也, 川端 重忠

阪大 院歯 口腔細菌

---

化膿レンサ球菌は咽頭炎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。A型インフルエンザウイルス (IAV) の先行感染は、本感染症の重症化の一因であることが疫学調査で明らかになっている。これまでに、小胞体局在シャペロンである GP96 が IAV 感染に伴い肺胞上皮細胞表層に誘導され、二次的に感染する化膿レンサ球菌の宿主細胞への付着を亢進させることを見出した。本研究では、ウイルス感染による上皮バリアの機能障害に着目し、化膿レンサ球菌の上皮バリア突破との関連を検討した。

ヒト肺胞上皮細胞株 (A549) に IAV A/FM/1/47 株 (H1N1) を感染させ、感染 36 時間後に細胞間接着に関連する分子群の発現を定量 RT-PCR 法で解析した。IAV 感染細胞では、非感染細胞と比較して、細胞間接着分子群のリプレッサーである Snail1 の発現上昇と細胞間接着分子群の発現低下を認めた。そこで、IAV 感染細胞に劇症型レンサ球菌感染症患者由来の化膿レンサ球菌 NIH35 株 (M28 型) を感染させ、感染細胞における細胞間接着分子の分解と菌体の侵入を免疫蛍光抗体法により検討した。IAV 感染細胞では、E-カドヘリンの染色性の低下および細胞間接着部位からの菌体の上皮バリア通過が認められた。また、IAV 感染細胞における Snail1 の発現、細胞間接着分子の分解、および菌体の上皮バリア通過は、TGF- $\beta$  阻害剤の添加により抑制された。

以上の結果から、ウイルス感染による Snail1 の発現誘導は宿主上皮のバリア機能を障害し、細胞間隙部位からの化膿レンサ球菌の上皮バリア突破を亢進させることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Influenza A virus infection-induced Snail1 expression contributes to secondary bacterial translocation across epithelial barrier

---

○Sumitomo T, Nakata M, Yamaguchi M, Kawabata S

Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Secondary infection of *Streptococcus pyogenes* following Influenza A virus (IAV) infection has been reported to be associated with considerable morbidity and mortality worldwide. Although it is generally accepted that a preceding IAV infection leads to increased susceptibility to secondary bacterial infection, details of the pathogenic mechanism during the early stage of superinfection remain elusive. Recently, we focused on the interaction of IAV-infected cells and bacteria, which revealed that human epithelial cells infected with IAV exhibit cell surface display of GP96, an endoplasmic reticulum (ER) chaperon. Of note, the extracellular GP96 imparted efficient adherence to secondary infected *S. pyogenes*. Here, we report that IAV infection induces expression of host transcriptional factor Snail1, a global repressor of genes encoding junctional proteins, resulting in increased translocation of *S. pyogenes* across epithelial barrier. Indeed, confocal imaging of the co-infected cells revealed decreased fluorescent intensity for junctional proteins in areas around the bacterial penetration site. Furthermore, bacterial translocation and destabilization of the junctions were partially inhibited by a pharmacological TGF- $\beta$  inhibitor.

Taken together, our findings provide evidence that IAV-infection induces a Snail1-dependent dysfunction of epithelial barrier, providing a route for secondary bacterial translocation into deeper tissues via the paracellular junctions.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D2 *Porphyromonas gingivalis* による Ca9-22 細胞への侵入における galectin-1 の効果

---

○玉井利代子, 小林美智代, 清浦 有祐

奥羽大 歯 口腔病態解析制御

---

**【目的】** 本研究では, C型レクチン受容体である galectin による *Porphyromonas gingivalis* のヒト歯肉上皮癌細胞 Ca9-22 への付着および侵入増加作用について検討した.

**【方法】** *P. gingivalis* 381 は, ヘミン・メナジオン(HM)添加 BHI 培地で 37°C 嫌気培養した. 同菌とリコンビナント galectin の結合は, ELISA 法で検討した. 付着または侵入実験では, 24 穴平底マイクロプレートに 1 穴あたり Ca9-22 細胞を  $2 \times 10^5$  播種した. そして, *P. gingivalis* とリコンビナント galectin は, 37°C, 1 時間嫌気培養で結合させた. 5% CO<sub>2</sub>, 37°C で 24 時間培養後, *P. gingivalis* (MOI100) を含む培地で 90 分間共培養した. 次に, 侵入実験では抗菌薬含有培地で 2 時間培養後, 蒸留水で Ca9-22 細胞を溶解, その溶解液を HM 添加血液寒天培地に播種し嫌気培養した. 6 日後, 得られた黒色コロニー数を計測した.

**【結果と考察】** 1. *P. gingivalis* は, リコンビナント galectin-1 または galectin-3 とほぼ同程度で結合した. 2. Galectin-1 で前処理した *P. gingivalis* の Ca9-22 への付着は, 未処理の同菌と比較して有意に増加した. しかしながら, galectin-3 結合 *P. gingivalis* の同細胞への付着は増加しなかった. 3. Galectin-1 結合 *P. gingivalis* の Ca9-22 細胞への侵入は, 未処理の *P. gingivalis* と比較して有意に増加した. しかしながら, galectin-3 結合 *P. gingivalis* の同細胞への侵入は未処理 *P. gingivalis* の侵入と同等だった. 以上の結果から, ヒト血清中に存在する galectin-1 は, *P. gingivalis* の宿主細胞への侵入を増加させることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### The effect of galectin-1 on invasion of Ca9-22 cells by *Porphyromonas gingivalis*

---

○Tamai R, Kobayashi M, Kiyoura Y

Dept Oral Sci, Ohu Univ Sch Dent

---

**【Purpose】** In this study, we investigated the effect of galectins, C-type lectin receptors, on adhesion to and invasion of human gingival epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*.

**【Materials and Methods】** *P. gingivalis* 381 was anaerobically cultured at 37°C in BHI medium supplemented with hemin (5 µg/ml) and menadione (1 µg/ml). The binding of *P. gingivalis* and recombinant galectin was examined by ELISA. In adhesion or invasion assays, Ca9-22 cells ( $2 \times 10^5$ /well) were seeded in 24-well flat bottomed microplates. *P. gingivalis* was incubated for 1 h at 37°C with recombinant galectin. Ca9-22 cells were then incubated with galectin-bound *P. gingivalis* (MOI 100) at 37°C for 90 min. Monolayers were incubated for 2 h in medium containing gentamicin (300 µg/ml) and metronidazole (200 µg/ml) in invasion assays. Monolayers were lysed with distilled water for 20 min. Dilutions of cell lysates were added to 5% horse blood BHI plates and cultured under anaerobic conditions. Intracellular bacteria were quantified after 6 days.

**【Results and Discussion】** Recombinant galectin-1, but not galectin-3, up-regulated *P. gingivalis* adhesion and invasion, although both galectins bound similarly to *P. gingivalis*. These results suggest that galectin-1 in human serum increases the invasion of host cells by *P. gingivalis*.

**【Conflict of Interest】** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D3 プロポリスのジンジバリス菌に対する殺菌機構

---

○中尾 龍馬, 平山 悟, 泉福 英信

感染研 細菌 1

【目的】プロポリスは、ミツバチが樹皮や花粉に唾液を混ぜて作る樹枝状の物質であり、抗菌作用を示すことがすでに報告されている。しかしながら、プロポリスの抗菌活性物質や抗菌作用機序の詳細は明らかでない。本研究では、プロポリスの *Porphyromonas gingivalis* (Pg) に対する抗菌作用について包括的な検討を行い、活性物質の同定と抗菌作用機序の解明を目指した。【方法】プロポリスエタノール抽出物を起点に分画したサンプルを Pg の増殖抑制試験に供試して、増殖阻害活性を有する化合物を同定した。各化合物による Pg の形態変化を高速 AFM 等を用いてリアルタイムでイメージングした。殺菌様式は 30 または 120 分の殺菌試験と CFU の計測により調べた。化合物による細胞膜への作用を膜不透過性色素や膜電位感受性色素を用いたフローサイトメトリーにより調べた。【結果と考察】プロポリスのエタノール抽出物の脂溶性画分から 3 つの化合物 X, Y, Z を同定した。化合物 X と Y は Pg に静菌的に作用し、細胞表層での小胞形成を誘導した。一方、化合物 Z は Pg に殺菌的に作用し、細胞は融解した。特に、化合物 Z は膜の透過性亢進と膜の脱分極を強く誘導した。以上より、本研究では、プロポリスに由来する膜作用型の 3 種の抗菌化合物が同定され、今後これらの化合物が歯周病などの感染症の予防や治療に応用できる可能性が示唆された。【会員外共同研究者】池田剛(崇城大学), 八木明・酒井信明(オリンパス), 森永康・古川壮一(日大)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Mechanistic insight into bactericidal action of propolis against *Porphyromonas gingivalis*

---

○Nakao R, Hirayama S, Senpuku H

Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis

Propolis, a resinous substance produced by honey bees, shows an antimicrobial action, though its mode of the action and active compounds remain obscure. We comprehensively investigated its antibacterial mechanism against *Porphyromonas gingivalis*, a major periodontopathic bacterium. Propolis was found to permeabilize and disrupt the bacterial cell membrane accompanied by aberrant membrane blebbing within minutes. In addition, 3 major anti-bacterial compounds, artepillin C, baccharin, and ursolic acid, were isolated from propolis. Artepillin C and baccharin showed bacteriostatic activities with membrane blebbing, while ursolic acid showed bactericidal activity with membrane rupture. Notably, ursolic acid was found to strongly induce depolarization and permeabilization of bacterial cellular membranes. The present results provide important information in regard to its membrane-targeting compounds along with mechanistic insight into the antibacterial activity of propolis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D4 化膿レンサ球菌における温度感受性の線毛発現機構

---

○中田 匡宣, 住友 倫子, 川端 重忠

阪大 院菌 口腔細菌

化膿レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) は主に咽頭と皮膚に化膿性病変を惹き起こす。二次性疾患として急性リウマチ熱や急性糸球体腎炎を発症させるだけでなく、侵襲性の劇症型レンサ球菌感染症を起こす場合がある。病態発症過程において、化膿レンサ球菌は様々な環境因子と宿主因子を感知し、分泌タンパク質の産生を調節する。本研究では、菌体外環境温度の変化が本菌の線毛産生に及ぼす影響について検討した。臨床分離頻度が高い血清型の臨床分離株を用いて、通常の培養温度である 37°C と体表温度を反映する 25°C における菌体表層での線毛発現をフローサイトメトリー解析とウェスタンブロット解析により検討した結果、37°C では発現が認められず、25°C においてのみ線毛発現が誘導される菌株を認めた。培養温度の低下に伴う線毛発現の増加は線毛遺伝子転写量の変化に起因した。この現象は線毛染色体領域の遺伝子型に依存したことから、温度依存性の線毛発現を担う制御因子を探索した。その結果、線毛遺伝子領域にコードされる *Nra* 転写因子が線毛遺伝子群に対する正の制御因子であることが明らかになった。培養温度の遷移による *nra* mRNA 量の変化は認められなかったが、*Nra* タンパク質の検出量は培養温度の低下により増加した。したがって、*nra* 転写後の mRNA からの翻訳過程に環境温度は影響することが示唆された。線毛関連遺伝子群と *nra* をシャトルベクターにより乳酸球菌に発現させたところ、同様の培養温度による線毛発現制御が認められた。さらに、*in vitro* 転写・翻訳システムを用いた解析において、*nra* mRNA からの翻訳は培養温度の低下により亢進した。したがって、菌体周囲の環境温度は *nra* 転写後の翻訳効率を変化させるとともに、付着因子である線毛の発現量に影響を与えることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Temperature-dependent expression of group A streptococcal pili

---

○Nakata M, Sumitomo T, Kawabata S

Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

The human pathogen group A *Streptococcus pyogenes* causes a variety of diseases, ranging from superficial purulent infections to autoimmune diseases and invasive infections. During the pathological process, the bacterium senses a great variety of environmental factors and modulates its expression of secretory proteins. Here, we examined whether temperature shift has effects on *S. pyogenes* pilus expression. Experiments using clinically relevant serotypes performed at 37°C and 25°C showed that a group of strains produced detectable pilus proteins only at the lower temperature, which was attributed to an increase in transcriptional activity. Since temperature-dependent pilus expression was observed in strains possessing distinct genotypes of the chromosomal region encompassing pilus genes, we sought to explore the responsible regulator. Mutagenesis finding identified *Nra* as a positive regulator of pilus genes. Although *nra* mRNA levels were comparable between the tested temperatures, *Nra* protein increased as culture temperature decreased. In addition, *Lactococcus lactis*, expressing *nra* and pilus genes, also exhibited temperature-dependent pilus expression. Moreover, *in vitro* transcription/translation assay results revealed efficient translation of *nra* mRNA under the lower temperature. Our findings indicate that environmental temperature has a post-transcriptional influence on *Nra* protein level, leading to modulation of pilus expression.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D5 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のナイシン耐性株の解析

---

○松尾 美樹, 小松澤 均

鹿大 院医歯 口腔微生物

【目的】 乳酸菌が産生する抗菌ペプチドであるナイシンによるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA のナイシン耐性化検証ならびに耐性機構を解明することが本研究の目的である。【方法】 黄色ブドウ球菌 (Sa) の MRSA である実験株 MW2 を用いて, その  $10^5$  cell に, 乳酸菌が産生するバクテリオシンであるナイシンを高濃度 24 時間作用させる工程を計 4 回行い, 生存株を分離した。分離株の最小発育濃度 (MIC) は, 微量液体培地希釈法にて検証した。遺伝子発現は acid phenol 法により RNA 抽出後作製した cDNA を用いて, ナイシン添加の際に二成分制御系因子 BceRS を介して発現誘導の起こるナイシン耐性遺伝子 *vraDE* の発現性について定量性 PCR 法により検証した。また, ウェスタンブロッディング法によるタンパク質 VraD の発現を検証した。さらに, 変異部位を特定する目的で関連領域のシーケンス解析を行った。【結果】 MW2 の MIC が  $16 \mu\text{g/ml}$  であったのに対し, 分離した 14 株のナイシン耐性株は, 1 つが  $128 \mu\text{g/ml}$ , 他 13 株は  $64 \mu\text{g/ml}$  を示した。遺伝子解析の結果, 一部の株で *vraDE* の発現が, ナイシン非作用時においても恒常的に高発現していることが明らかになった。また, 二成分制御系因子領域に遺伝子変異が認められた。同遺伝子の欠損株を作製し検証したところ, ナイシン耐性野生株と比較し, 欠損株では MIC 値の低下ならびに遺伝子発現及びタンパク発現の消失を示した。また, 相補株においてはナイシン耐性野生株と同様の結果を得た。【考察】 MW2 株は, バクテリオシンであるナイシンに暴露されることで耐性化することが明らかになった。また一部の株では, 二成分制御系 *bceRS* 領域の遺伝子変異により耐性化することが明らかになった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Evaluation of nisin-resistant-type MRSA

---

○Kawada-Matsuo M, Komatsuzawa H

Dept Oral Bacteriol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

The objective of this study is to evaluate the resistance mechanism of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) against nisin, an antibacterial peptide produced by lactic acid bacteria. We isolated 14 nisin-resistant mutants from the wild type, MW2 strain, by exposing sub-MIC of nisin. These mutant strains (designated as SAN) showed MIC values of 4 to 8 fold higher than that of MW2 wild type strain. We investigated the expression of the nisin resistance gene *vraDE* which is originally induced by nisin via two component regulatory system (BceRS) by quantitative PCR. In SAN8 strains, *vraDE* was constitutively highly expressed even when nisin was not added, while its constitutive expression was not found in other strains. We constructed *bceRS* deficient strain in SAN8 which showed constitutive expression of *vraDE* and found the decrease in MIC value and loss of the gene expression compared to SAN8 wild type strain in the deficient strain. We determined the DNA sequence of *bceRS* and *vraDE* in SAN strain and found the mutation of *bceRS* region. These results indicate that the mutation of *bceRS* contribute to constitutive expression of *vraDE*, contributing to obtain high resistance against nisin.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D6 未同定 *Veillonella* 株の遺伝学的多様性

---

○Theodorea Citra<sup>1</sup>, 眞島いづみ<sup>1,2,3</sup>, 中澤 太<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 微生物

<sup>2</sup>学振 特別研究員 PD

<sup>3</sup>ニューヨーク州立大 バッファロー校 口腔生物

---

## The phylogenetic diversity of unclassified *Veillonella* isolates

---

○Theodorea C<sup>1</sup>, Mashima I<sup>1,2,3</sup>, Nakazawa F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

<sup>2</sup>Postdoc. JSPS

<sup>3</sup>Dept Oral Biol, Univ NY Buffalo, Sch Dent

---

**Background:** At present time, 13 species are established in the genus *Veillonella*. Of these species, only *V. atypica*, *V. denticariosi*, *V. dispar*, *V. parvula*, *V. rogosae*, and *V. tobetsuensis* are isolated from human oral cavities as oral *Veillonella* species. Recently, the oral microbiota of saliva from 107 children were analyzed in our study. In that study, 1609 bacterial isolates identified by PCR with genus-specific primer set as member of genus *Veillonella*. However, 167 isolates could not be assigned to any of the six oral *Veillonella* species, through PCR with the species-specific primers. **Aims:** The aim of the present study was to evaluate the phylogenetic characterization of the unclassified *Veillonella* isolates. **Materials and Methods:** As the representative of the unclassified *Veillonella* isolates, 23 isolates were chosen in this study. The PCR-based amplification and sequence analyses of 16S rRNA, *rpoB* and *dnaK* were performed using previously described primers. The sequences determined with an ABI PRISM 310 Genetic Analyzer were aligned each other and connected by using SEQMAN II of the LASERGENE program (DNASTAR). The program MEGALIGN including CLUSTAL W were used to compare sequences and to reconstruct an evolutionary tree by the neighbor-joining method. The 16S rDNA, *rpoB* and *dnaK* sequences of these 23 isolates were aligned against the sequences of the representative strains retrieved from GenBank. **Results and Discussion:** According to phylogenetic analysis of *rpoB*, *dnaK* and 16S rRNA sequence, the 23 unclassified *Veillonella* isolates were not assigned to any established 13 *Veillonella* species. In phylogenetic tree based on *rpoB* within the genus *Veillonella*, the 23 isolates formed distinct cluster with robust bootstrap values. Although the most closely related species was *V. dispar*, the cluster was configured with 3 taxa in different locations. In the case of *dnaK* tree, the 23 isolates were also divided into distinct 3 taxa. 2 of the 3 taxa were closely related with *V. parvula*. Another taxon was closely related with *V. dispar* and *V. atypica*. Also, the 23 isolates formed cluster as distinct from the established *Veillonella* species based on 16S rRNA tree. The most closely related species was *V. dispar* and *V. tobetsuensis*. Pairwise similarity values obtained by phylogenetic analysis supported the results of these 3 phylogenetic trees. **Conclusion:** Based on the results, this study demonstrated that the unclassified *Veillonella* isolates were rich in phylogenetical diversity, and the possibility of some novel *Veillonella* species. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D7 オメガ3脂肪酸は歯周病細菌が誘導するインフラマソーム活性を抑制する

---

○沖永 敏則, 有吉 渉, 西原 達次

九歯大 感染分子生物

---

【目的】不飽和脂肪酸 ( $\omega$ -3系脂肪酸) であるドコサヘキサエン酸 (DHA) やエイコサペンタエン酸 (EPA) は、炎症応答を制御することが報告されている。我々は、歯周病細菌侵入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、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、DHA が、歯周病細菌誘導マクロファージにおいて誘導されるインフラマソーム活性やピロトーシスに及ぼす影響について検証した。【方法】歯周病細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 株を用い、ヒトマクロファージ THP-1 細胞に侵入実験を行った。 $\omega$ 3 脂肪酸として DHA および EPA を用いた。遺伝子発現は Real-Time RT-PCR 解析、タンパク発現はウェスタンブロッティング解析および ELISA を行った。ノックダウン細胞は siRNA 導入により構築した。【結果】THP-1 細胞において、*A. actinomycetemcomitans* 侵入は、インフラマソーム活性およびピロトーシスと共に、炎症性サイトカインの細胞外分泌に関与する gasdermin D の発現が誘導された。THP-1 細胞を DHA で前刺激したところ、*A. actinomycetemcomitans* 侵入が誘導するインフラマソーム関連因子 ASC および gasdermin D の発現は抑制された。また、インフラマソーム関連因子 NLRP3 や caspase-1 p10, さらに炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の細胞外産生も抑制された。siRNA による ASC や gasdermin D のノックダウン細胞では、*A. actinomycetemcomitans* 侵入において、IL-1 $\beta$  の細胞外分泌は抑制された。【考察】以上の結果から、DHA は、インフラマソーム関連因子の発現を抑制することで、歯周病細菌侵入マクロファージにおいて誘導されるインフラマソーム活性を抑制することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### DHA downregulated inflammasome activity in *A. actinomycetemcomitans*-invaded macrophages through the regulation of ASC expression

---

○Okinaga T, Ariyoshi W, Nishihara T

Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

---

Omega-3 fatty acids, such as docosahexaenoic acid (DHA) and Eicosapentaenoic acid (EPA), suppress inflammatory response and play a crucial role in inflammatory diseases. Periodontitis is known to be an infectious disease caused by bacterial infection, followed by inflammation. We reported that periodontopathic bacteria invasion induced pyroptosis in macrophages. In the present study, we clarified the effect of omega-3 fatty acids on inflammasome activity induced by periodontopathic bacterial invasion in macrophages. Periodontopathic bacterium, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 was used in this study. Human macrophage cell line THP-1 was invaded with *A. actinomycetemcomitans* Y4. *A. actinomycetemcomitans* invasion induced inflammasome activity and gasdermin D in THP-1 cells, concurrently with cell death. DHA and EPA downregulated inflammasome activity and pyroptosis in *A. actinomycetemcomitans*-invaded THP-1 cells. Especially, DHA downregulated the expression of inflammasome-related protein, ASC, and gasdermin D induced by *A. actinomycetemcomitans* invasion in THP-1 cells. Depletion of ASC and Gasdermin D downregulated the secretion of IL-1 $\beta$  in *A. actinomycetemcomitans*-invaded THP-1 cells. These results indicate that omega-3 fatty acid, particularly DHA, downregulated the inflammasome activity in THP-1 cells induced by *A. actinomycetemcomitans* through the downregulation of ASC and gasdermin D

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-D8 インフラマソーム活性化物質としてのマイコプラズマ由来リポタンパク質

○佐伯 歩<sup>1</sup>, 長谷部 晃<sup>1</sup>, 鈴木 敏彦<sup>2</sup>, 柴田健一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 口腔分子微生物

<sup>2</sup>医科歯科大 院医歯 細菌感染

炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  は歯周炎の病態形成において重要な役割を果たしている。我々はこれまで *M. salivarium* (Ms) ならびに *M. pneumoniae* (Mp) の菌体が樹状細胞ならびにマクロファージに対して NLRP3 inflammasome (IF) を活性化して IL-1 $\beta$  を産生することを明らかにした。本研究では、これらのマイコプラズマの活性化物質の一つがリポタンパク質 (LP)・リポペプチドであることを明らかにしたので報告する。Ms ならびに Mp 菌体は C57BL/6 (B6) マウスの骨髄細胞由来マクロファージ (BMM) に IL-1 $\beta$  の産生を誘導したが、本活性は TLR2<sup>-/-</sup> BMM で有意に減弱した。そこで、活性化物質が LP ではないかと考え、Ms ならびに Mp から LP (MsLP と MpLP) を調製した。MsLP, MpLP あるいは Ms 由来リポペプチド FSL-1 は B6BMM に IL-1 $\beta$  の産生を誘導し、活性部位は N 末端のリポペプチド部分にあることが示唆された。これらの活性は caspase-1<sup>-/-</sup>, ASC<sup>-/-</sup> あるいは NLRP3<sup>-/-</sup> BMM ではほぼ完全に消失するだけでなく、TLR2<sup>-/-</sup> BMM でも有意に減弱した。以上より、LP は NLRP3IF を活性化し、また、TLR2 シグナルのみで NLRP3IF を活性化する経路の存在が示唆された。マクロファージに取り込まれた FSL-1 はファゴリソームだけでなく、細胞質に局在していた。B6BMM の細胞質に LP を人為的に導入したところ、活性は約 8 倍上昇した。以上より、マウス BMM に対する Ms ならびに Mp の NLRP3IF を活性化する物質の一つは LP であり、その活性発現には N 末端のリポペプチド部分が重要な役割を果たし、また、これらの LP は貪食された後に、その一部 (リポペプチド?) が細胞質に局在することが重要であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### The inflammasome active substance derived from mycoplasmas

○Saeki A<sup>1</sup>, Hasebe A<sup>1</sup>, Suzuki T<sup>2</sup>, Shibata K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

<sup>2</sup>Div Bacter Pathogenesis, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

IL-1 $\beta$  is known to play etiological roles in periodontitis. Recently, we showed *M. salivarium* (Ms) and *M. pneumoniae* (Mp) cells activates the NLRP3 inflammasome to produce IL-1 $\beta$  in murine dendritic cells and macrophages. This study demonstrated that one of active entities of these mycoplasma to induce IL-1 $\beta$  production is lipoproteins/lipopeptides. Live cells of Ms and Mp induced IL-1 $\beta$  secretion by bone marrow-derived macrophage (BMM) from C57BL/6 (B6) mice, but the activity toward TLR2<sup>-/-</sup> BMM was significantly attenuated. Therefore, we speculated that lipoproteins are involved in the activity. Lipoproteins of Ms and Mp (MsLP and MpLP) and the Ms-derived lipopeptide FSL-1 were found to have the activity. Their active sites were the N-terminal lipopeptide moiety. Their activities toward TLR2<sup>-/-</sup> as well as NLRP3<sup>-/-</sup>, ASC<sup>-/-</sup> and caspase-1<sup>-/-</sup> BMMs were significantly attenuated, compared with B6BMM. FSL-1 was localized in cytoplasm as well as phagolysosomes in Raw 264.7 cells 2 h after incubation. Artificial transfection of these lipoproteins into cytoplasm of B6BMM enhanced the activity drastically. Thus, this study suggests that mycoplasma lipoproteins have the activity to stimulate the NLRP3 inflammasome, the expression of which requires the localization of lipoproteins or their degradates, possibly lipopeptides, in cytoplasm.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

**O1-D9 *Porphyromonas gingivalis* による低酸素条件下でのインフラマソーム活性化**

○岡野 徳壽, 鈴木 敏彦

医科歯科大 院医歯 細菌感染

現在, わが国の成人歯周炎の罹患率は約 80%にも達している. 歯周炎は歯周組織の炎症に始まり, 末期には歯牙を支持する歯槽骨の破壊と吸収を経て歯牙の脱落をきたす慢性疾患であり, その原因として特定の歯周病原細菌群が指摘されている. それらはリスク別に分類されており, 特に red complex と呼ばれている細菌のひとつが *Porphyromonas gingivalis* (P. g.) である. 歯周炎の病態を形成する重要な宿主因子として, 病原体からの刺激に対して歯肉組織より産生される炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  が知られている. 特に歯周炎において IL-1 $\beta$  は, 炎症反応を拡大させ, 破骨細胞の活性化に次ぐ歯槽骨の吸収を進行させるなどの病態形成に関わっている. 近年の研究の成果により, IL-1 $\beta$  の産生にはインフラマソームと呼ばれるタンパク質複合体によるカスパーゼ-1 活性化が重要であることがわかってきた. IL-1 $\beta$  は細胞で発現しても活性がなく, カスパーゼ-1 により限定分解を受けて初めて生物学的な活性をもつ. カスパーゼ-1 もまた通常不活化状態で細胞内に存在するが, 外部からの刺激を Nod 様受容体群が受け, 受容体群とともにインフラマソームを形成するとカスパーゼ-1 活性化が誘導される. 実際に, P. g. がマクロファージ等に感染するとインフラマソームが活性化することは報告されているが, 活性化のメカニズムや生理的な役割については未だ解明されていない. 本研究において我々は, P. g. を低酸素環境下 (<0.1%) でマクロファージに感染させたところ, カスパーゼ-1 の活性化亢進とともに, IL-1 $\beta$  産生量が顕著に増加することを見出した. したがって, P. g. 感染によるインフラマソームの活性化は低酸素条件下で亢進することが示された. この成果は, P. g. の生存場所である歯周ポケット内だけでなく, 生体内での様々な低酸素環境 (血管内や腸管など) におけるインフラマソーム活性化メカニズムの解明に貢献できることが期待される.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

**Inflammasome activation at hypoxic condition by *Porphyromonas gingivalis***

○Okano T, Suzuki T

Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

Nowadays, 80% people in Japan have periodontitis. Periodontitis is caused by specific periodontitis-associated oral bacteria. Especially, *Porphyromonas gingivalis* (P. g.) is one of the periodontitis-associated oral bacteria called as Red complex. IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  are known as important pathogenesis factors of periodontitis. In periodontitis, IL-1 $\beta$  expands inflammatory response, and is related with pathogenesis which progresses absorbance of alveolar bone by activating osteoclasts. In recent study, we know caspase-1 activation by inflammasome complex is important for IL-1 $\beta$  production. IL-1 $\beta$  can't exhibit physiological function unless caspase-1 cleaves it. In resting stage, caspase-1 exists as inactivated form. However, when Nod like receptors (NLRs) receive stimulation from external environment, NLRs induce caspase-1 activation and following IL-1 $\beta$  cleavage. Indeed, inflammasome activation infected with P. g. has already been reported, but the activation mechanisms and physiological roles are unclear. In our research, we demonstrated that level of IL-1 $\beta$  production is elevated prominently when macrophage is infected with P. g. at hypoxic condition (0.1%) with accompanying the enhancement of caspase-1 activation. Therefore, we showed inflammasome is highly activated with P. g. infection at hypoxic condition. This result gives anticipation to elucidate mechanisms of inflammasome activation at not only periodontal pocket but also various hypoxia environments; vascular lumen, intestine and things like that.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

## O1-D10 *Porphyromonas gingivalis* ジンジパインによる COX-2 発現と PGE2 産生の分子機序

○中山 真彰<sup>1,2</sup>, 橋 理人<sup>1,2</sup>, 内藤真理子<sup>3</sup>, 中山 浩次<sup>3</sup>, 大原 直也<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔微生物

<sup>2</sup>岡大 歯 先端研セ

<sup>3</sup>長大 院医歯薬 微生物

歯周病原細菌の慢性感染によって起こる歯周病は、サイトカインやプロスタグランジン (PG) などの炎症性物質の産生が認められる。我々はこれまでに、*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の病原因子である“ジンジパイン”の役割について宿主細胞との感染現象を調べ、歯周病発症メカニズムの分子解析を行ってきた。本研究では、ジンジパインの役割を調べるため、PGE2 産生とその産生に関わるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) の発現を調べた。*Pg* ATCC33277 株 (wtPg), アルギニン特異的ジンジパイン欠損株 (RmtPg), リジン特異的ジンジパイン欠損株 (KmtPg), ジンジパイン完全欠損株 (RKmtPg) および線毛 FimA 欠損株 (FmtPg) を用いて、ヒト単球系細胞 THP-1 細胞へ感染実験を行ない、PGE2 産生に関わるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) 発現と PGE2 産生を調べた。解析方法は、COX-2 発現はウェスタンブロッティング法にて、PGE2 産生は ELISA にて評価した。RKmtPg 以外の wtPg, RmtPg, KmtPg, FmtPg の感染では COX-2 発現と PGE2 産生が認められた。またジンジパイン阻害剤 (KYT-1, KYT-36) を用いた実験から、wtPg の感染における COX-2 発現と PGE2 産生が抑制された。従って、COX-2 発現と PGE2 産生にはジンジパインの酵素活性が重要であると考えられた。今後はジンジパインによる COX-2 発現/PGE2 産生の分子機序を詳細に解析していく。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### *Porphyromonas gingivalis* gingipains induce PGE2 production via COX-2 expression

○Nakayama M<sup>1,2</sup>, Tachibana M<sup>1,2</sup>, Naito M<sup>3</sup>, Nakayama K<sup>3</sup>, Ohara N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch

<sup>3</sup>Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Periodontal diseases are closely associated with the mixed infection of oral bacteria with chronic inflammation in periodontal tissues. Among them, *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) is commonly known as one of major pathogens. The inflammation on the diseases has prostaglandin E2 (PGE2) production, however, there is little understanding the relationship between gingipains from *Pg* and PGE2 production. We measured PGE2 production associated with gingipains in *Pg* infection. Human monocytic THP-1 cells were infected with *Pg* ATCC33277 (wtPg) and its mutant strains, which have a deficiency of arginine-, lysine-, and arginine/lysine-specific gingipain (RmtPg, KmtPg, and RKmtPg, respectively), and FimA (FmtPg) at a MOI of 100 for 12 h. The inhibitors for arginine and lysine-specific gingipain, which are KYT-1 and KYT-36, respectively, were also utilized in the condition described above. Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression was examined by Western blotting using with anti-COX-2 antibody, and PGE2 production was assessed by ELISA. Infection of wtPg, RmtPg, KmtPg, and FmtPg, but not RKmtPg, could induce COX-2 expression and PGE2 production. The use of KYT-1/KYT-36 inhibited COX-2 expression and PGE2 production in wtPg-infected THP-1 cells. These results indicated that gingipains and their proteolytic activity strongly contribute to COX-2 expression and PGE2 production.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-D11 歯周病細菌の産生する短鎖脂肪酸はヒト歯肉上皮細胞の細胞死を誘導し関節リウマチ関連因子を放出する

---

○津田 啓方, 室伏 貴久, 鈴木 直人

日大 歯 生化

成熟プラーク中の嫌気性細菌は酪酸等の短鎖脂肪酸を産生する。また、蓄積した成熟プラークと接する歯肉上皮細胞は大量のプラーク細菌との栄養素の競合に曝されていると考えられる。すなわち、成熟プラークが接している上皮においては、短鎖脂肪酸と低栄養の両者に曝されているといえる。我々は、低栄養条件下において、短鎖脂肪酸の1つである酪酸がヒト歯肉上皮 Ca9-22 細胞の autophagy-dependent な細胞死とアポトーシスを誘導し、それに伴い HMGB1 などの damage associated molecular patterns (DAMPs) が放出される事を報告した。様々な歯周病細菌の培養上清を歯肉上皮細胞に作用させると、*Porphyromonas gingivalis* および *Fusobacterium nucleatum* の培養上清は Ca9-22 細胞の細胞死を引き起こした。この細菌培養上清中の各短鎖脂肪酸の量を測定してみると、高濃度の様々な短鎖脂肪酸が含まれていた。そこで、歯周病細菌の培養上清中に含まれる短鎖脂肪酸をそれぞれ Ca9-22 細胞に作用させてみると、酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸においては短鎖脂肪酸濃度および時間依存的に細胞死が引き起こされた。また、これらの短鎖脂肪酸によって誘導された細胞死に伴い、DAMPs に加えて、関節リウマチ発症における自己抗体産生に関与すると考えられている peptidyl-arginine deiminase 4 (PAD4 もしくは PADI4) やシトルリン化タンパク質が放出される事が解った。これらのことから、歯肉溝に蓄積したプラーク細菌の産生する短鎖脂肪酸が歯肉上皮細胞に作用することにより、関節リウマチ発症における自己抗体が産生される可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Short-chain fatty acids produced by periodontopathic bacteria induce gingival epithelial cell death and release of rheumatoid arthritis-inducing molecules

---

○Tsuda H, Murofushi T, Suzuki N

Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent

Periodontopathic bacteria in mature dental plaque produce short-chain fatty acids (SCFAs), such as butyrate. In addition, gingival epithelial cells contacting mature dental plaque compete their nutrients against bacteria in the dental plaque which are fiercely consuming nutrients. Therefore, epithelium in close proximity to mature dental plaques is at risk of both SCFA-exposure and low-nutrient condition. We previously reported that treatment of gingival epithelial Ca9-22 cells with butyrate induced autophagy-dependent cell death and release of damage-associated molecular patterns (DAMPs), such as HMGB1. In this study, we cultured several periodontopathic bacteria and treated Ca9-22 cells with supernatant of the culture. Inductions of the cell death were observed when the culture supernatants of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* were applied to Ca9-22 cells. These culture supernatants contained high-dose of several kinds of SCFAs. Among them, butyrate, propionate, isobutyrate, and isovalerate time and dose-dependently induced cell death and release of not only DAMPs but citrullinated proteins and peptidyl-arginine deiminase 4 (PAD4), which citrullinates proteins. These results suggest that SCFAs produced by mature dental plaque bacteria induces cell death accompanying release of DAMPs and citrullinated proteins which are thought to produce autoantibody for rheumatoid arthritis pathogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D12 霊長類レッサースローロリス (*Nycticebus pygmaeus*) に特異的な歯周病関連菌の探索

---

○矢野 航, 渡邊 竜太, 佐藤 和彦, 藺村 貴弘, 江尻 貞一

朝日大 歯 口腔解剖

---

歯周病は口腔内に存在する偏性嫌気性歯周病原菌による感染症である。ヒトでは *Porphyromonas gingivalis* が最も代表的な種として知られるが、イヌ等からは近縁別種である *P. gulae* が検出されており、哺乳類の間で保有菌種に変異が存在する (Fournier et al., 2001)。近年、日本モンキーセンター (JMC) 飼育のレッサースローロリス (*Nycticebus pygmaeus*) に重度の歯周病所見が認められた (寺尾ら, 2016)。しかし、歯周病を引き起こしたのがヒトと同じ種 *P. gingivalis* なのか不明である。霊長類間で同じ歯周病菌を共有しているのか、別の歯周病菌が共進化したのかを知ることは、ヒトにおける *P. gingivalis* の起源の解明につながる重要なデータとなる。そこで JMC 内の歯周病罹患個体 6 頭の口腔、皮膚の湿性試料を採取し、メタバーコーディング解析で細菌叢全体を網羅的に検出した。口腔内【歯垢(上下顎 8 箇所)、唾液、舌苔】、口腔外【上腕部の腺液、耳垢】の湿性試料から細菌叢 DNA を抽出・精製した。ユニバーサルプライマーで 16S rRNA の部分領域を PCR で増幅後、シーケンシングライブラリを作成し、次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina) を用いて細菌種構成を同定した。レッサースローロリスの口腔内からは *P. gingivalis* に近いが異なった菌株が検出された。個体内の部位間細菌叢比較から、レッサーロリスの口腔細菌叢の空間的分布と相互関係が明らかとなった。1 頭におけるプラーク除去処置前後データ比較から細菌種構成の経時的変化が観察された。霊長類系統進化に照らし合わせて *P. gingivalis* の進化過程と適応の可能性を検討した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## New microbial strain relating for periodontal disease in lesser slow loris (*Nycticebus pygmaeus*) using next generation sequencer

---

○Yano W, Watanabe R, Satoh K, Sonomura T, Ejiri S

Dept Oral Anat, Asahi Univ Sch Dent

---

The report of Periodontal disease in primates is also increasing which suggests they also have the pathogenic oral bacterial species similar to those in human oral flora such as *Porphyromonas gingivalis*. We aim to explore the oral flora of lesser slow loris (*Nycticebus pygmaeus*) which have sever periodontal diseases (Terao et al., 2016). We sampled a total of 7 species of loris from oral area and outer skin of body. After exemplified with PCR, amplicons were projected into next generation sequencer (Miseq, illumine) to identify oral microbiome flora. The result showed there is possibly newly found strain than *Porphyromonas gingivalis*. Thus, the transmission from human to this loris monkey is found not to be plausible. We further discuss the possible co-evolution of microbiota among phylogenetic diversity of primates.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D13 成長板軟骨細胞の増殖における NF- $\kappa$ B 非古典的経路の役割

---

○中富 千尋<sup>1</sup>, 松原 琢磨<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>2</sup>, 古株彰一郎<sup>1</sup>, 自見英治郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化学

<sup>2</sup>九歯大 解剖

<sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

---

【目的】内軟骨性骨形成では多くの転写因子がその複雑な形成過程を厳密に制御している。本研究では、NF- $\kappa$ B 非古典的経路が恒常的に活性化している NF- $\kappa$ B2p100 変異型マウス ( $\Delta$ p100 マウス)が低身長症を呈する事に着目し、NF- $\kappa$ B 非古典的経路の新たな生理機能として内軟骨性骨形成における役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】野生型および  $\Delta$ p100 マウスの脛骨成長板軟骨の形態を組織学的に解析し、軟骨細胞分化マーカーの発現局在を *in situ* hybridization 法により解析した。また、各週齢マウスに BrdU を投与し、軟骨細胞の増殖を評価するとともに細胞増殖関連遺伝子群の発現をリアルタイム PCR 法により解析した。さらに非古典的経路が不活性化している RelB<sup>-/-</sup>マウスと  $\Delta$ p100 マウスを交配させ double knockout (dKO)マウスを作成し、成長板軟骨を組織学的に解析した。

【結果】 $\Delta$ p100 マウス成長板軟骨では、軟骨細胞のカラム構造の乱れおよび肥大軟骨細胞層の狭小化が認められ、*Acan*, *Collagen type II/X*, *Mmp13* の mRNA 発現が減少していた。BrdU 標識実験の結果、 $\Delta$ p100 マウスでは BrdU 陽性増殖軟骨細胞数が優位に減少しており、さらに細胞増殖を制御する遺伝子である *Ccnb1/d1/d2*, *Cdkn1c* の発現が低下していた。このことから  $\Delta$ p100 マウスでは軟骨細胞の増殖制御に何らかの異常が生じている可能性が示唆された。RelB<sup>-/-</sup>との交配で得られた dKO マウスは  $\Delta$ p100 マウスと同様に低身長を呈したが、成長板軟骨には顕著な異常は認められず、*Acan*, *Collagen type II/X*, *Mmp13* の発現も回復していた。以上より、軟骨細胞の増殖過程で非古典的経路のシグナルが過剰に入りすぎることによって成長板軟骨に異常が生じる可能性が示唆された。

【結論】NF- $\kappa$ B 非古典的経路は成長板軟骨における軟骨細胞増殖に関与し、生後の骨伸長を調節している可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The role of NF- $\kappa$ B alternative pathway in chondrocyte proliferation

---

○Nakatomi C<sup>1</sup>, Matsubara T<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Kokabu S<sup>1</sup>, Jimi E<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>OBT Lab, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

The endochondral ossification is regulated spatiotemporally by many transcription factors and the defect of these factors leads the bone malformation such as dwarfism. Mice lacking the C-terminal region of NF- $\kappa$ B2 p100 ( $\Delta$ p100 mice), in which NF- $\kappa$ B alternative pathway is constitutively activated, exhibit retarded growth and shortened long bones, suggesting that NF- $\kappa$ B alternative pathway is involved in endochondral bone formation. We observed narrower hypertrophic zone and reduced expression of *Acan*, *Collagen type II/X*, *Mmp13* in the growth plate of  $\Delta$ p100 mice. In addition, the number of BrdU positive cells was reduced in  $\Delta$ p100 mice. To examine whether these defects are due to constitutively activated NF- $\kappa$ B alternative pathway in  $\Delta$ p100 mice, we generated RelB<sup>-/-</sup>;  $\Delta$ p100 double knockout (dKO) mice. The defect of growth plate of  $\Delta$ p100 mice was rescued in dKO mice. These data suggest that NF- $\kappa$ B alternative pathway is involved in the regulation of proliferation of chondrocytes during postnatal growth and controls the elongation of long bones.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D14 マウス下顎頭軟骨発生過程における MMPs および TIMPs の遺伝子発現に関する研究

---

○高橋 将人, 日下 翔太, 柴田 俊一

医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖

---

【目的】MMPは活性中心に亜鉛を保持するタンパク質分解酵素であり、細胞外基質の分解に重要な役割を担っている。また、活性化MMPやpro-MMPの働きを抑制的に制御する因子として4種類のTIMPが同定されており、これらの因子は骨・軟骨形成にも深く関わっているとされている。そこで今回は、マウス下顎頭軟骨発生過程におけるMMPsおよびTIMPsの遺伝子発現について検討した。【方法】胎生14.0-16.0日齢(E14.0-16.0)のICRマウス下顎頭軟骨の冠状断完全連続切片を作製し、MMP-1, 2, 9, 13, 14およびTIMP-1, 2, 3, 4のmRNA発現について35S-UTP標識プローブを用いたin situ hybridizationを行なった。【結果および考察】E14.0の下顎頭軟骨原基は間葉凝集で構成されており、MMP-2 mRNAは原基の周辺で強く発現し、MMP-14 mRNAはその中心部に反応が認められた。また、TIMP-1 mRNAが原基の中心部で、その外側にTIMP-2 mRNAが発現していた。E15.0では、原基内に新たに軟骨が形成され、その外側にMMP-2 mRNAが、軟骨内にMMP-14 mRNAがそれぞれ発現していた。また、embryonic zoneを含む軟骨内にTIMP-1 mRNA発現が、軟骨膜の外側にTIMP-2 mRNA発現がそれぞれ認められた。E16.0では、下顎頭軟骨の肥大層の著しい伸長がおき、その層区分が明瞭になった。MMP-2 mRNAは軟骨膜および遠心の増殖層に強い発現が認められ、MMP-14 mRNAがその内側に発現していた。TIMP-1 mRNAは軟骨膜およびその内側に、TIMP-2 mRNAはそれのさらに外側に発現が認められた。E14.0からE16.0において、MMP-9 mRNAはerosion zoneや骨膜、bone collar、骨髓腔内にてドット状に発現していた。また、MMP-1, 13, TIMP-3および4のmRNA発現は認められなかった。以上のことより、MMPsとTIMPsはマウス下顎頭軟骨形成前の軟骨原基からその後の軟骨形成においてそれぞれ違った発現パターンを示し、下顎頭軟骨形成に関与していることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Expression of MMPs and TIMPs in the developing condylar cartilage of fetal mouse mandible

---

○Takahashi M, Kusaka S, Shibata S

Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

This time, we investigated that the expression of MMPs and TIMPs mRNA in the developing condylar cartilage of fetal mouse mandible. ICR mice at E14.0-16.0 were used in the present study. Perfect serial sections of condylar cartilage were made, and expression of MMPs and TIMPs mRNA were investigated by in situ hybridization with 35S-UTP labeled probes. At E14.0, MMP-2 and TIMP-2 mRNA were expressed in the area of condylar anlage, and MMP-14 and TIMP-1 mRNA were detected in the center of condylar anlage. At E15.0, MMP-2 and TIMP-2 mRNA were expressed in the outer region of the perichondrium, and MMP-14 and TIMP-1 mRNA were detected at the embryonic zone in the upper part of the newly formed cartilage. At E16.0, the condylar cartilage had increased in length, especially the hypertrophic cell zone. MMP-2 and TIMP-2 mRNA were detected in the perichondrium and proliferating zone, and MMP-14 and TIMP-1 mRNA were expressed in the inside. MMP-9 mRNA was expressed in erosion zone, periosteum, bone collar and bone marrow cavity at E14.0-E16.0. These results suggest that MMP-2, 9, 14 and TIMP-1, 2 mRNA showed different expression pattern, and may be involved in the formation of the mandibular condylar cartilage.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D15 22q11.2 欠失症候群モデルを用いた Dgcr2 遺伝子による頭蓋底軟骨の制御メカニズムの解析

---

○梶原 景正

東海大 医 分子生命科学

---

我々は、22q11.2 欠失症候群のゲノム欠失領域にコードされている DGCR2 遺伝子について、GFP 遺伝子をノックインさせた Dgcr2 遺伝子ノックアウトマウス（ホモ型 Dgcr2-KO）を用いて検討したところ、内在性 Dgcr2 プロモーターで発現するノックイン GFP が軟骨細胞で顕著に認められ、また離乳後に頭蓋底軟骨結合の成長障害による顔面骨格異常が観察できた。さらに Dgcr2-KO 初代線維芽細胞（MEF）では TGF-beta シグナルの亢進が認められた。今回、Tbx1 遺伝子を含む 18 遺伝子を欠失させた Df1 マウスを用い、ヘテロ型 Dgcr2-KO・ヘテロ型 Df1 マウス（ダブルヘテロ型マウス）を産出させ、22q11.2 欠失症候群モデルとし、本疾患における Dgcr2 の役割について検討した。ヘテロ型 Dgcr2-KO またはヘテロ型 Df1 マウスでは頭蓋底軟骨結合の形成不全が、ダブルヘテロ型マウスで確認できた。次に、初代軟骨細胞を用いて TGF-beta シグナルの影響を検討した。いままでに Dgcr2 は膜タンパク質として TGF-beta シグナルを制御する分子機能について報告しているが、Dgcr2-KO 軟骨細胞でも TGF-beta 投与によりノックイン GFP 発現が誘導され、過剰の TGF-beta シグナルにより軟骨細胞が脱分化を引き起こす。ダブルヘテロ型軟骨細胞は、TGF-beta 導入で Dgcr2-KO と同様な GFP 誘導と形態異常を引き起こした。このような TGF-beta による軟骨細胞の脱分化は、低血清などの増殖を抑制することにより顕著に認められた。以上の知見から 22q11.2 ゲノム欠失領域には、Dgcr2 遺伝子機能を活性化、または Dgcr2 を補償する遺伝子が存在し、これら遺伝子群の複合的機能により過剰な TGF-beta シグナルを制御する役割を果たしていることが認められた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The Dgcr2 gene contributes to maintenance of chondrocytes in mouse skull base

---

○Kajiwara K

Dept Mol Life Sci, Sch Med, Tokai Univ

---

Previously we generated Dgcr2 knockout/GFP-knockin mice (Dgcr2-KO mice), and we examined their facial skeletal phenotypes and GFP expression controlled by endogenous Dgcr2 promoter. Dgcr2-KO mice showed hypoplasia of basilar cartilage causing facial abnormalities. Primary cultured Dgcr2-KO chondrocytes up-regulated GFP levels by treated TGF-beta and led to dedifferentiated conditions. Here we use another mutant mice, termed Df1, with large genome deletion corresponding to human 22q11.2 region. We generated a heterozygous mutant for both Dgcr2 and Df1 (double hetero mice) as a mouse model for 22q11.2 deletion syndrome, and we examined their phenotypes and GFP expression, compared to those in Dgcr2-KO mice and their chondrocytes. Similar results were obtained in the double hetero mice and their chondrocytes. Their facial abnormalities and knock-in GFP levels in the TGF-beta applied chondrocytes were corresponding to those in homozygous Dgcr2-KO, suggesting Dgcr2 together with molecule(s) expressed within 22q11.2 modifies and normalizes the TGF-beta signal in chondrocyte.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## O1-D16 新規メカニカルストレス応答性因子 KLHDC8A の骨組織内局在

---

○池亀 美華<sup>1,2</sup>, 内部 健太<sup>1</sup>, 岡村 裕彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔形態

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯先端研セ

---

メカニカルストレスによって骨形成が促進されるメカニズムを解明するために、マウス縫合部に伸展刺激を加えて骨芽細胞の増殖ならびに分化を促進させ、その過程で変化する遺伝子を、マイクロアレイによって網羅的に検索した。その結果、細胞増殖が盛んになる伸展刺激後3時間で、Kelch domain containing 8a (Klhd8a)の遺伝子発現が、伸展刺激群の骨縫合部において著しく促進されることがわかった。この遺伝子は癌細胞において発現促進されていること、また、正常組織では神経幹細胞や、卵巣などで発現されていることが知られている。しかしながら、骨組織における局在や機能については全く知られていない。【目的】KLHDC8A タンパク質の骨縫合部組織における発現局在を明らかにする。【方法】生後4日齢マウス頭頂骨矢状縫合部にバネ装置で伸展刺激を加え、あるいは加えない状態で培養し、3, 6時間後に固定、凍結切片を作製し、抗KLHDC8A抗体を用いて免疫組織化学を行った。【結果と考察】KLHDC8Aの反応は、前骨芽細胞や骨芽細胞、ならびに骨縫合部中央や頭頂骨の骨形成端周辺に局在する線維芽細胞様細胞に認められた。伸展刺激を加えることにより、特に、骨縫合部中央付近の線維芽細胞様細胞で、さらに強いKLHDC8Aの反応が検出される傾向が認められた。一方、骨細胞には反応はほとんど認められなかった。以上より、KLHDC8Aが骨芽細胞系細胞に発現していることがはじめて示された。さらに、伸展刺激によって細胞増殖が刺激される時期に、未分化間葉系細胞と考えられる細胞での発現が促進されたことから、伸展刺激による骨芽細胞の増殖促進に関与する新規因子である可能性が考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Localization of new mechanical-stress responsive factor KLHDC8A in bone tissue

---

○Ikegame M<sup>1,2</sup>, Uchibe K<sup>1</sup>, Okamura H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

To elucidate the mechanism by which bone formation is promoted by mechanical stress, we comprehensively analyzed the upregulated genes in the process of stimulated proliferation and differentiation of osteoblasts in the mouse cranial suture under tensile stress. As a result, the expression of Kelch domain containing 8a (Klhd8a) gene was markedly promoted in the stressed group after 3 hours, when cell proliferation became active. This gene has been reported to be promoted in cancer, and is expressed in neuronal stem cells and ovary. However, its localization and function in bone tissue are unknown. Therefore, we examined the localization of KLHDC8A protein by immunohistochemistry in the 4-day-old mice cranial sutures cultured with or without tension. It was expressed in preosteoblasts, osteoblasts, and fibroblast-like cells in the central portion of the cranial suture and around the osteogenic front. Furthermore, in the tensile stressed suture, KLHDC8A expression tended to increase in those fibroblast-like cells. It was not obvious in osteocytes. From these, KLHDC8A expression in osteoblast lineage cells was shown for the first time, and we suggest that KLHDC8A is a novel factor that is involved in promoting the growth of osteoblasts by mechanical stress.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**O1-D17 Detection of the bone structure change and periodic osteocytes' expression of sclerostin during orthodontic tooth movement**

---

○Wang Ziyi<sup>1</sup>, 石原 嘉人<sup>2</sup>, 小田垣直弥<sup>1</sup>, 上岡 寛<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 矯正

<sup>2</sup>岡大病院 矯正

---

**Detection of the bone structure change and periodic osteocytes' expression of sclerostin during orthodontic tooth movement**

---

○Wang Z<sup>1</sup>, Ishihara Y<sup>2</sup>, Odagaki N<sup>1</sup>, Kamioka H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Orthodont, Okayama Univ Hosp

---

<**Purpose**> To detect the functional periodicity of osteocytes and the morphological change of bone structure during orthodontic tooth movement.

<**Materials & Methods**> Expression of sclerostin were investigated by immunofluorescence staining in mouse tooth movement model. A region of interesting from the boundary of periodontal ligament were measured in both compression and tension side. Averaged curve of spatial distribution of fluorescence intensity (CSD) along the orthodontic force direction were produced from each side at each time point. Converted all CSD to power spectrum density graph by fast Fourier transform. Subtracted all peak power frequency of DAPI from original sclerostin CSD to reduce bone structure influence. Then the morphological change of bone structure (DAPI CSD), spatial distribution of sclerostin in bone matrix (original sclerostin CSD) and biorhythm of sclerostin expression (filtered sclerostin CSD) were statistically tested.

<**Results & Conclusion**> During orthodontic tooth movement: frequency of DAPI signal was increased on compression side, while decreased on tension side; original and filtered sclerostin CSD was changed in a certain pattern; and this pattern could be independent of sclerostin expression level. The percentage of sclerostin positive cells had association with frequency of original sclerostin CSD; the 95<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> percentile of fluorescence intensity of sclerostin had positive association with frequency of DAPI and negative association with filtered sclerostin CSD respectively. Our results indicated that orthodontic force can induce the morphological change of bone structure (extend and compress), and maybe osteocytes' biorhythm induced the periodic change of sclerostin expression level.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D18 歯科インプラント埋入後に新生されたオステオンの構造特性

---

○是澤 和人<sup>1</sup>, 松永 智<sup>1</sup>, 小高 研人<sup>1</sup>, 森田 純晴<sup>1</sup>, 廣内 英智<sup>1</sup>, 飯村 忠浩<sup>2</sup>,  
阿部 伸一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 解剖

<sup>2</sup>愛媛大 プロテオサイエンスセ

---

【目的】 歯科インプラントは顎骨と結合するため、咬合力をはじめとする機能圧を直接骨内部に伝達する。そのため、インプラント体近傍における顎骨構造は埋入前後で大きく変化し、本来の海綿骨領域にオステオンが多く出現する。オステオンは緻密骨のリモデリングの骨単位であることから、荷重環境の変化に伴い異所的に生じると考えられるが不明な点が多く残されている。そこで本研究は、ヒトインプラント周囲顎骨の構造特性を質的に評価し、力学環境との関連性を明らかにすることを目的とした。【方法】 長期間使用された歯科インプラントを有するヒト遺体の上・下顎骨から、インプラント体を含む試料体を採取した。マイクロCT撮像後、100  $\mu$ m厚の研磨標本を製作し、オステオンの分布を確認した。さらに微小領域エックス線回折法を用いて生体アパタイト (BAp) 結晶の配向性を解析するとともに、SHG イメージングによるコラーゲン線維走行方向の異方性解析を行った。【結果】 インプラント体周囲において、本来の海綿骨領域に多数のオステオンが出現し、その走行はインプラント体近傍に行くに従ってインプラント体と平行の走行に変化した。BApの配向は、下顎体下縁部において近遠心方向への一軸優先配向が認められたが、インプラント体周囲ではオステオンの走行方向への優先配向を確認した。一方、インプラント周囲顎骨におけるコラーゲン線維の走行は、同心円状に走行する通常の緻密骨と大きく異なり、加えて直交する線維が全周に渡って認められた。【考察】 インプラント周囲に新生された骨組織は皮質骨様構造を呈するものの、有歯顎骨・無歯顎骨とは異なる構造特性を有しており、インプラントを介して加わる負担を緩衝するために生体力学的に最適化されている可能性が示唆された。【東京歯科大学倫理審査委員会 承認番号 783】

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Structural characteristics of osteon grown newly in dental implant

---

○Koresawa K<sup>1</sup>, Matsunaga S<sup>1</sup>, Odaka K<sup>1</sup>, Morita S<sup>1</sup>, Hirouchi H<sup>1</sup>, Iimura T<sup>2</sup>, Abe S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Ehime Univ Proteo-Sci Center

---

The purpose of the present study was to clarify the relationship between the biomechanical environment and implants in humans, by qualitatively evaluating the anisotropy and structural properties of peri-implant jaw bone. To conduct this study, we used human cadavers with long-term dental implants, and collected specimens that included the implant body. After obtaining micro-CT images, ground specimens with a thickness of 100  $\mu$ m were prepared. The osteon distribution was confirmed, after which the orientation of biological apatite (BAp) crystals was quantitatively evaluated using the micro-area x-ray diffraction method. Anisotropy was then evaluated in the direction of collagen fibers orientation, using SHG imaging. Numerous osteons were seen in areas around implant body, and anisotropy was seen in the direction of travel of the osteons. In BAp crystals, a preferred orientation was observed in the osteon alignment. In peri-implant jaw bone, conversely, the direction of orientation of collagen fibers differed significantly from that of ordinary compact bone. These results suggest that, as biomechanical stress is applied to the implant, peri-implant jaw bone acquires structural properties similar to cortical bone from the cancellous bone. Conflict of Interest: The authors declare no competing interests.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D19 生体高分子の化学リン酸化によるチタン結合性の獲得

---

○久保木芳徳<sup>1</sup>, 八上 公利<sup>2</sup>, 古澤 利武<sup>3</sup>, 戸倉 清一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院地球環境科学 環境適応科学

<sup>2</sup>松歯大 院歯 インプラント

<sup>3</sup>山形大 院工

---

1950年代に「チタンが活きた骨と強く結合する」という発見以来、チタンは人工歯根・人工関節に必須の素材になっている。しかし、なぜチタンが活きた骨に結合するか？という生化学的メカニズムの証明がなかった。私たちはチタン・クロマトグラフィーを開発して、カゼイン、フォスビチ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)。さらにウシ骨マトリックスの可溶性分の約2割がチタンに結合することを発見し、この骨のチタン結合蛋白(TiBP)分画を、チタン細線維不織布 Titanium Web (TW, 商品名ツェレッツ, 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週後の新骨形成量が、非コート TW の100倍以上高くなった(BioMed Mat Eng, 24: 1539-1548, 2014)。ウシ骨のTiBPには、いわゆる SIBLING 蛋白質ファミリーが存在し、何れも多数のセリンリン酸を含む他、1個の細胞接着配列 RGD を含むので、骨形成と石灰化に重要な役割をされるとされてきた。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という長年の謎に解答を与えると考えられる。今回、この生化学的メカニズムに基づいて、骨のリン蛋白質の代替物質として、リン酸化チキンを調製したところ、リン酸化キチンがチタンに結合する事をみいだした。リン酸化キチンに RGD を含むペプチドを縮合する実験を進行中、リン酸化キチンとチタンの複合体そのものに、骨増生能が観察された。この結果から、リン酸化キチンをチタン・インプラントにコートすることにより、インプラント定着の迅速化が期待できる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Acquisition of titanium-binding ability by chemical phosphorylation of bio-molecules

---

○Kuboki Y<sup>1</sup>, Yagami K<sup>2</sup>, Furusawa T<sup>3</sup>, Tokura S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Environ Adaptation, Hokkaido Univ Grad Sch Earth Environ Sci

<sup>2</sup>Dept Implantl, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Grad Sch Sci Eng, Yamagata Univ

---

Question why titanium alone can bind with living bone has been a mystery in this field for almost 60 years. We have recently found that the phosphoproteins such as casein, phosvitin and many of bone matrix proteins (SIBLING family proteins) bind with titanium, by using titanium beads chromatography. Moreover, when we implanted titanium devices (TW) which were coated with the extracted bone phosphoproteins, remarkable increase in the amount of bone formation was observed comparing with the uncoated titanium devices at one week after implantation. This discovery clearly explained the above-mentioned mystery as follows. When the titanium device is implanted into the living bone, abundant phosphoproteins in this tissue bind with the surface of titanium. Since these proteins are known to contain each a RGD sequence and numerous phosphorylated-serine residues, it is reasonable to assume that precursors of osteoblasts will gather together on the titanium surface and start bone formation rapidly. And now, we will show the same thing happened when we coated the titanium with "phosphorylated chitin (P-chitin)", instead of SIBLING proteins. We will report the development of the P-chitin and demonstrate that it is a highly useful coating material for titanium implants to accelerate the fixation in bone

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D20 ポリオールとフッ化物イオン共存下におけるフッ化アパタイトの溶解性に関する研究

---

○筒井 生, 鈴木 治

東北大 院歯 機能創建

---

フッ化物は歯の萌出後の成熟において歯質に取り込まれ、齲蝕予防に寄与することが知られている。一般的に、フッ化物の齲蝕予防効果は、配合濃度依存的であるといわれているが、フッ化物の安全性や、薬機法などの観点から、汎用歯磨剤に配合可能なフッ化物濃度は限定的である。我々は先に歯磨剤の汎用原料であるポリオールとフッ化物の共存下におけるハイドロキシアパタイト(HA)ペレットへのF付着について報告した(第69回日本歯科理工学会学術講演会)。本研究ではモデル粉体を用いてそのメカニズムについて検討を行った。市販のHA粉体およびフッ化アパタイト(FA)粉体(Commercially available FA: Co-FA)と、合成により得たFA粉体(Laboratory synthesized FA: LS-FA)を用いた。このLS-FAはリン酸八カルシウム(OCP)が形成される条件下でF存在下にて合成されたFAで若干の溶解性を有する材料である(Shiwaku Y et al. Acta Biomater 2012)。各粉体に乳酸水溶液(pH4.5に調整)を添加し、室温で振とうした後、遠心分離を行い、上清カルシウム濃度およびリン酸濃度を比色法により測定した。また、同様の乳酸水溶液に種々の濃度のFイオンを加えた系について検討を行った。一方、乳酸水溶液の代わりにポリオール水溶液を用いて同様の検討を行い、溶解および析出挙動について検討した。その結果、ポリオールはHA溶解性を調節し、HAの溶解によりカルシウムイオン濃度が増加することで、フッ化カルシウムの沈着が促進される可能性が示唆された。本発表は会員外共同研究者、東北大学大学院歯学研究科穴田貴久、塩飽由香利、土屋香織との共同研究である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Dissolution of fluoridated apatite in polyol and fluoride-containing solutions

---

○Tsutsui S, Suzuki O

Tohoku Univ

---

Fluoride treatment is very effective for caries prevention in enamel. We previously reported that polyols may be involved in fluoride absorption on HA crystals. In this study, we investigated how polyols affect the fluoride absorption on HA. As a model of tooth enamel which has a higher solubility than commercial pure HA or FA, LS-FA has been prepared under a condition which is supersaturated with respect to OCP and HA. In our study, LS-FA still preserved the characteristics of OCP regarding the dissolution behavior. These apatitic crystals were immersed in various concentrations of fluoride-containing solutions (from 1 to 200 ppm) with lactic acid or sugar alcohol. The concentration of calcium and phosphate of the supernatants was colorimetrically analyzed. It was apparent that calcium concentration decreased while phosphate concentration remained relatively constant even in the presence of fluoride. It is probable that polyol could enhance apatite surface dissolution, resulting in the possible deposition of calcium fluoride on the HA.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D21 生後マウス Meckel 軟骨後方部位と gonial bone との位置関係について

---

○柴田 俊一<sup>1</sup>, 高橋 将人<sup>1</sup>, 日下 翔太<sup>1</sup>, 藤川 芳織<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖

<sup>2</sup>昭大 歯 口腔解剖

---

〔目的〕 Meckel 軟骨の最後方部位は軟骨内骨化によってつち骨（頭）になる事，また後方部位でもつち骨相当部位より前方部分に変性し，前つち骨靭帯および蝶下顎靭帯に変化すると言われている．一方，gonial bone は Meckel 軟骨近傍の間葉から膜内骨化で生じ，つち骨と癒合して前突起を構成すると言われている．本研究では生後マウスを用いて変性する Meckel 軟骨と形成される gonial bone との位置関係について検索を行った．〔方法〕生後 0-9 日齢（P0-P9）の ICR マウス頭部を通報に従って，透明骨格標本ならびにパラフィン包埋切片を作成し観察を行った．また骨膜のマーカーとして Tenascin-C の免疫染色を行った．〔結果〕 Meckel 軟骨は P1 において，つち骨相当部分はすでに骨化が開始し，それより前方部分では軟骨組織の変性が認められ始め，P3 では残存する軟骨とつち骨とは明瞭に隔てられていた．P3 における gonial bone はすでにつち骨と癒合して前方に伸長していた．このとき残存している Meckel 軟骨と gonial bone は骨膜を介して接触し，Meckel 軟骨変性部分が径を減少させ，そのまま骨膜に移行していく状況が観察された．Tenascin-C の免疫染色では，Meckel 軟骨変性部分に接する場所での陽性反応が減少し，骨膜の分解を示唆する所見が得られた．P6 では Meckel 軟骨の変性はさらに前方に進み，残存する軟骨と gonial bone との間に間隙が生じている状態も認められた．〔考察〕以上の結果から，生後マウスでは P6 くらいまで，Meckel 軟骨後方部分の変性と gonial bone の伸張は接触を保ちながら同期的に進行し，gonial bone の骨膜に取り込まれる事で Meckel 軟骨が消失して行く可能性が示唆された．

【利益相反】利益相反状態にはありません．

---

## Spacial relationship between posterior part of Meckel's cartilage and gonial bone in postnatal mice

---

○Shibata S<sup>1</sup>, Takahashi M<sup>1</sup>, Kusaka S<sup>1</sup>, Fujikawa K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent

---

The most posterior part of Meckel's cartilage becomes malleus via endochondral ossification. A part of Meckel's cartilage anterior to the malleus is transform into anterior malleolar ligament and shenomandibular ligament. Meanwhile, gonial bone becomes the anterior process of malleus. In the present study, we investigated positional relationship between disintegrating Meckel's cartilage and the gonial bone in postnatal mice. ICR mice at P0-P9 were used in the preset study. Skeletal staining samples and serial sections of head were analyzed, and immunostaining for tenascin-C (marker for periosteum) was also executed. At P1, the malleolar part and anterior part to this region in Meckel's cartilage started ossification and disintegration, respectively. At P3, remaining Meckel's cartilage was apart from the malleus, and the gonial bone has already fused to the malleus and attached to remaining Meckel's cartilage through periosteum. Disintegrating Meckel's cartilage reduced its width and was incorporated into the periosteum of gonial bone. Tenascin-C immunostaining indicated degradation of periosteum attached to disintegrating Meckel's cartilage. These phenomena continued to be seen until P6, and indicate that disintegration of Meckel's cartilage and extension of gonial bone synchronously advance, and the gonial bone seems to be involved in disappearing of Meckel's cartilage.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D22 現生トガリネズミ科の臼歯の発生は中生代化石哺乳類の臼歯の進化を再現する

---

○山中 淳之, 岩井 治樹, 倉本恵梨子, Dhar Ashis, 後藤 哲哉

鹿大 院医歯 機能形態

---

【目的】 現生哺乳類の多様な臼歯の形態は、中生代白亜紀前期（約1億4000万年前）に登場したトリボスフェニック型臼歯から進化してきたものである。爬虫類型の単咬頭歯から、トリボスフェニック型の多咬頭歯が完成するまでに、1億年以上の長い地質学的時間が費やされている。一方で、哺乳類の臼歯の形態形成はシグナリングセンターエナメル結節によって制御されている。胎生期の数日の間に、2次エナメル結節が次々に出現し、咬頭の位置が決定されていく。本研究では、トリボスフェニック型臼歯からの派生が少ないトガリネズミ科の臼歯を使って、歯冠の形態形成過程を調べ、中生代哺乳類の臼歯の進化過程との比較を行った。

【方法】 トガリネズミ科の実験動物スunksの上下顎第一大臼歯の歯胚上皮、歯乳頭の3次元再構築を行った。エナメル結節のマーカー遺伝子である *Shh* と *Fgf4* の *in situ* hybridization を行い、遺伝子発現ドメインを3次元像に重ね合わせた。

【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  $M^1$  の paracone と  $M_1$  の protoconid に相当した。これは進化的に最も古い咬頭と一致する。歯胚サイズの増大とともに、一定の間隔をあけて新たな2次エナメル結節が次々に出現した。 $M^1$  では paracone, metacone, protocone の順番で、 $M_1$  では protoconid, metaconid, hypoconid の順番で2次エナメル結節が出現した。上皮と間葉の境界の3次元形状を、中生代哺乳類の臼歯の化石記録と比較したところ、トガリネズミの大臼歯の形態形成過程は、トリボスフェニック型臼歯の形態進化の過程を極めて良く再現していることが分かった。本研究の結果は、歯の形態進化の方向性は、形態形成のメカニズムにより予測可能であることを示唆する。さらに、トリボスフェニック型臼歯の進化は、歯の形態形成における異時性（形態形成のタイミングの変化）が大きな役割を果たしたことを示唆する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Developmental process of the modern shrew's molar replays evolution of the tribosphenic molar in Mesozoic mammals

---

○Yamanaka A, Iwai H, Kuramoto E, Dhar A, Goto T

Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

The sites of main cusps on the mammalian molar are developmentally associated with the signaling centers, the enamel knots, which are tentatively and sequentially formed in the enamel organ and regulate the morphogenesis of tooth crown. The house shrew, *Suncus murinus* (Eulipotyphla: Soricidae) has dilambdodont molars. This type of molar is morphologically little modified from the tribosphenic molar in extinct Mesozoic eutherian and metatherian species. The present study examined the sequential formation of enamel knots of the house shrew's molar, and elucidated the sequence of cusp formation of this primitive type of molar. In the cap-staged enamel organ, the primary enamel knot was formed, and the paracone and protoconid were developed later at this site of the upper and lower molars, respectively. In the bell-staged enamel organ, several secondary enamel knots were formed sequentially. The developmental process of the modern shrew's molar replayed quite well the evolutionary transition of the tribosphenic molar in Mesozoic mammals. The present results suggest that the trends of evolutionary transitions are predictable by developmental mechanisms regulating morphogenesis. They also suggest that heterochrony during tooth development played an important role in the evolution of molar in Mesozoic mammals.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D23 マウス歯胚の局所照射法の確立と歯根形成時の照射歯胚の形態学的観察

---

○井出 吉昭<sup>1</sup>, 深田 哲也<sup>2</sup>, 那須 優則<sup>2</sup>, 中原 貴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 発生・再生

<sup>2</sup>日歯大 生命歯 研究セ

---

【目的】小児期の歯根形成期に放射線治療を受けると歯根形成に障害が生じることが知られているが、我々は過去に歯根形成期のマウスの頭部にエックス線照射を行い、ヘルトヴィッヒ上皮鞘とその周囲間葉の細胞動態に異常が生じて歯根形成障害が引き起こされることを明らかにした。しかしながら、頭部照射は照射野に歯胚発生に関わる内分泌器等が含まれるため、歯胚に対する直接的ダメージが歯根形成に与える影響を観察しているとはいえない。本研究では歯胚のみに照射できる局所照射法を開発し、歯胚の形態学的変化を観察した。【方法】マウスの下顎第1臼歯(M1)に局所照射を行うため、厚さ11mmの鉛ガラス(鉛当量2.5mm)にそれぞれΦ3.6mm, 3.0mm, 2.4mmの円柱状の孔を開けてコリメータを製作した。生後5日齢のマウスに対し、コリメータを使用して歯胚へ20Gy局所照射を行った(局所照射群)。比較対象として、頭部照射群、非照射群を設定した。採取したマウスの下顎のM1に対し、マイクロCT解析、HE染色による組織観察を行った。【結果と考察】M1遠心根のマイクロCT解析において、局所照射群の歯根長は非照射マウスと比べ有意に短く、頭部照射マウスと同程度であった。M1遠心根のHE染色による組織観察において、局所照射群の根尖部石灰化組織は外側に反転するような形成障害がみられ頭部照射群と同様であった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Establishment of local irradiation method for the mouse tooth germ, and the morphological observation of the irradiated tooth germ during root formation

---

○Ide Y<sup>1</sup>, Fukada T<sup>2</sup>, Nasu M<sup>2</sup>, Nakahara T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dev Regen Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

---

**Purpose:** In our previous study, we elucidated that abnormality of cell dynamics in Hertwig's epithelial root sheath and surrounding mesenchyme was found in mice irradiated to the head. However, the field of head irradiation includes endocrine organs. Therefore, it is not sure whether the direct damage of irradiation on the tooth germ is involved in failure of tooth formation in head irradiated mice. In the present study, we established the local irradiation method that irradiates only the molar tooth germ. We then observed morphological changes in the tooth germs. **Methods:** Irradiation experiment with focusing lower first molar (M1) was performed on 5-day-old mice. In order to locally irradiate the M1, a lead glass 11 mm thick with a hole was used as a collimator. Irradiation of 20Gy to the M1 for this study was provided by an X-ray generator. The data of Local-irradiation was compared with the data of Head-irradiation and Non-irradiation. Micro-CT and HE staining were performed. **Results and Discussion:** The length of roots on Local-irradiation was significantly shorter than the Non-irradiation, and similar to the Head-irradiation. Irregular calcification along the outside of the root apices was noticed in Local-irradiation. These results of Local-irradiation were similar to Head-irradiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D24 鶏胚における脈管新生の形態学的解析

---

○原 矢委子<sup>1</sup>, 井上 孝二<sup>2</sup>, 佐藤 哲二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 解剖・組織

<sup>2</sup>鶴大 歯 電子顕微鏡研究セ

---

【目的】成体における血管形成は、血管芽細胞 angioblast が増殖・遊走することで起こる血管発生 angiogenesis と血球血管芽細胞 hemangioblast に由来する血管内皮前駆細胞 endothelial progenitor cell (EPC)が血管内皮に分化する血管新生 vasculogenesis の両者によって起こることが報告されている。卵黄囊血島由来の血球血管芽細胞は造血系細胞と血管内皮細胞の両細胞系に分化するとされているが、詳細な形態学的解析はこれまででなされておらず不明な点も多い。我々は、鶏胚を用いて血球血管芽細胞が心内膜内皮細胞に分化する過程を光顕・電顕レベルで解析し報告してきた (Hara et al., 2016)。本研究では、血球血管芽細胞の血管内皮細胞への分化過程の詳細な形態学的解析を行ったので報告する。【材料と方法】HH stage 23-24 (胎生 3~4 日)の鶏胚をザンボニンおよび PLP 固定液にて固定後、パラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を施した。さらに、抗 CD31, 抗 FLK-1 抗体による免疫組織学的解析を行った。電顕用試料は Karnovsky's 液で固定後、エポキシ樹脂包埋し、薄切切片をトルイジンブルー染色ならびに超薄切切片を電子顕微鏡にて観察した。【結果と考察】鶏胚の血管内には、円盤状や正円形をした様々な分化段階の血球血管芽細胞様細胞の集塊が観察された。これらの細胞の一部では、細胞質内に大小様々な大きさの空胞が形成されており、バルーン状やドーム状の構造を呈しながら血管壁の内面を覆うように分布していた。このような細胞の形態変化の過程は心内膜内皮細胞の形成過程と類似していた。さらに、細胞膜上には抗 CD31, 抗 FLK-1 抗体の陽性反応が観察されたことから、これらの細胞は血球血管芽細胞から分化しつつある細胞と想定された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Morphological analysis of vasculogenesis in the chick embryo

---

○Hara Y<sup>1</sup>, Inoue K<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Inst Electron Microscopy, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

**Purpose:** It has been generally accepted that blood vessels are formed de novo (vasculogenesis) and from the sprouting of capillaries from preexisting vessels (angiogenesis). Recent studies have revealed that hemangioblasts derived from blood islands in the yolk sac play an important role in vasculogenesis. We have so far reported the morphological differentiation from hemangioblasts to endocardial cells during cardiogenesis in the chick embryo (Hara et al., 2016). The endocardium of the heart is contiguous with the endothelial lining cells of the vasculature. Thus, in this study, we analyzed the differentiated process of hemangioblasts into endothelial cells. **Materials and Methods:** Chick embryos, 3-4 days (HH stages 23-24) were used for this study. Samples were fixed with Zamboni's/PLP's or Karnovsky's fixative solution for a light microscopic or for electron microscopic analysis, respectively. Furthermore, we performed the immunohistochemistry using anti-CD31 or anti-FLK-1 antibodies. **Results and Conclusion:** Various differentiated steps from vascular endothelial progenitors into endothelial cells were observed at electron-microscopic levels. These cells appeared to be balloon- or dome-shaped, adhering on the luminal surface of blood vessels. Some cells were labeled with anti-CD31 or FLK-1. The present results suggest that some hemangioblasts might be differentiated into both hematopoietic and vascular endothelial cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-D25 血管内皮細胞の伸張機能に着目した、血管形成の新たな指標の探索

---

○田村-辻 潔美, 田村 正人

北大 院歯 口腔分子生化

【背景・目的】血管は、血管内皮細胞が出芽・伸張後、ネットワーク・管腔構築を経て形成される。これらの過程には、細胞形態の変化に加え、細胞増殖も複雑かつ同時多発的に関与するため、十分に理解することができていない。アクチン関連タンパク質 SM22 は、平滑筋分化に特異的なマーカーとして知られている一方、間葉系細胞が球形から伸展形に変化する際に発現することが報告されている。そこで我々は、血管内皮細胞の伸張における SM22 の発現を解析し、血管伸張の指標としての可能性を検討した。【方法】SM22 プロモーターの制御により蛍光タンパク質を発現するマウス ES 細胞を作製した。この ES 細胞から分化した血管内皮細胞のライブイメージングまたはフローサイトメトリーを行い、蛍光タンパク質をマーカーとして SM22 の転写活性を検討した。【結果】敷石状・非伸張型の血管内皮細胞では蛍光タンパク質の発現は見られない。我々は、高濃度の血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) または、PI3K/Akt, mTORC1 シグナルの阻害によって血管内皮細胞の伸張を誘導できることを報告している。そこで、これらの刺激による蛍光タンパク質の発現を解析したところ、いずれの刺激でも細胞伸張に伴う SM22 プロモーター活性の増加が観察された。【考察】SM22 プロモーターの活性化が、複数の異なる刺激による血管内皮細胞の伸張に伴って見られたことから、SM22 の転写活性は、ある種のシグナル応答ではなく、細胞伸張そのものに伴う現象であると考えられる。また胎生期マウスの免疫染色によって、生体での血管内皮細胞においても SM22 が発現することを明らかにしている。よって、SM22 は血管内皮細胞の伸張に伴い発現する分子であり、血管形態の変化を示す特異的な指標となりえる可能性が示唆された。【会員外共同研究者】小川 峰太郎 (熊本大)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## SM22 is a possible indicator of morphological change in vascular endothelial cells

---

○Tsuji-Tamura K, Tamura M

Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

**Objective:** During blood vessel formation, morphological change is an essential action of vascular endothelial cells (ECs). This process involves cell shape change and proliferation. Therefore, a novel indicator that can specifically reflect the morphological change is required. An actin-associated protein SM22 is a canonical marker of smooth muscle, whereas, also connected in spreading of mesenchyme. In this research, we demonstrate the possibility of SM22 as a novel indicator for EC elongation. **Methods:** We constructed mouse ES cells, which express fluorescent protein (DsRed. T4) under the SM22 promoter. ECs derived from ES cells were analyzed by live-imaging or flow cytometry. **Results:** In normal culture, ECs have a cobblestone-like shape, and does not express DsRed. T4. Our previous reports showed that EC-elongation was induced by VEGF, PI3K-Akt inhibitors or mTORC1 inhibitors. These treatments caused the promoter activation of SM22 in ECs undergoing elongation. **Conclusion:** The activation of SM22 promoter in ECs occurred in the presence of several different stimuli, suggesting that the activation of SM22 gene is a phenomenon associated with elongated morphological change, rather than a response to a signaling. Here we propose that SM22 may serve as a useful indicator to understand the elongated morphology in ECs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E1 唾液分泌促進因子としての D 体セリン

○吉川 正信<sup>1</sup>, 大久保みぎわ<sup>2</sup>, 川口 充<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東海大 医 臨床薬理

<sup>2</sup>東歯大 薬理

【背景】生体を構成するアミノ酸はすべて L 体であり、鏡像異性体の D 体は細菌ペプチドグリカンの構成成分など極めて限られた生体成分である、と長年考えられてきた。しかし、哺乳類を含む高等動物において種々の遊離 D 体アミノ酸(D-アミノ酸)が存在し、多様な生理機能を有することが明らかとなってきた。D-セリンは哺乳類脳内に多量に存在し、興奮性神経伝達物質グルタミン酸の受容体である N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)受容体の内在性リガンド(コアゴニスト)として L-グルタミン酸による NMDA 受容体の活性化を増強することが知られている。D-セリンの中枢における機能については数多くの報告があるが、末梢臓器に対する作用についての報告はほとんどない。【結果】HPLC アミノ酸一斉分析により 7 週齢 Wistar 系雄性ラット耳下腺、顎下腺、舌下腺に D-セリンをはじめとする複数の D-アミノ酸が存在することを明らかにした。D-セリンは L-セリンをラセミ化するセリン異性化酵素(Serine racemase: Srr)により生成され、D-アミノ酸酸化酵素(D-amino acid oxidase; DAO)によりヒドロキシピルビン酸に代謝される。ラット唾液腺において Srr と DAO の遺伝子がそれぞれ大脳皮質と小脳と同程度に発現していること、NMDA 受容体サブユニット遺伝子が発現していること、などを RT-qPCR により明らかにした。D-セリンを L-グルタミン酸とともにラット顎下腺に灌流すると副交感神経刺激下の唾液分泌量が D-セリン用量依存的に増加した。一方、高用量 L-グルタミン酸単独では副交感神経刺激下の唾液分泌を著しく抑制した。DAO 欠損マウスは野生型マウスに比べて副交感神経刺激時の唾液分泌レベルが約 2.5 倍高いこと、野生型マウスに経口投与した D-セリンは副交感神経刺激下の唾液分泌量を増加すること、などを明らかにした。【結語】唾液腺内で生成される内因性 D-セリンが唾液腺に直接作用し、唾液分泌を促進することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### D-serine as a promoter for salivation

○Yoshikawa M<sup>1</sup>, Okubo M<sup>2</sup>, Kawaguchi M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Pharmacol, Tokai Univ Sch Med

<sup>2</sup>Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

【Background and Objectives】D-Serine acts as an endogenous co-agonist for the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor glycine site. In contrast to many reports regarding the central actions of D-serine, little is known about the peripheral ones. We evaluated the effects of D-serine on salivary gland function.

【Methods】Concentrations of D- and L-amino acids in rat salivary glands were analyzed by HPLC. The mRNA expressions were estimated by RT-qPCR. The submandibular gland arteries of rats were cannulated in situ, and perfused with Hank's balanced salt solution together with L-glutamate with/without D-serine. After commencing carbachol (CCh) stimulation, the secreted saliva was collected from a cannulated duct of submandibular gland. 【Results】D-Amino acids including D-serine were detected in rat parotid, submandibular and sublingual glands. The rat parotid, submandibular and sublingual glands expressed a substantial amount for serine racemase, D-amino acid oxidase (DAO), and NMDA receptor subunits genes. Perfusion of D-serine together with L-glutamate dose-dependently increased CCh-induced salivary secretion. DAO deficient mice showed approximately 2.5 times more salivary secretion than wild-type mice. The oral administration of D-serine, but not L-serine, into wild-type mice increased pilocarpine-induced salivary secretion. 【Conclusion】These results suggest that intrinsic D-serine regulates salivary gland function through the direct interaction with the salivary gland.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E2 ドライアイ誘発性眼痛に対するジクアホソルナトリウム点眼の効果

---

○菅原 詩織<sup>1,2</sup>, 美久月瑠宇<sup>1,2</sup>, 齊藤 弘人<sup>2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 歯科心身

<sup>2</sup>日大 歯 生理

---

外分泌腺の機能低下により発症するドライシンドロームには、ドライアイ、ドライマウス、ドライノーズ、ドライスキンなどが挙げられ、その症状の部位特異性から三叉神経領域の感覚入力と深く関与していることが推察される。特に、三叉神経第I枝に支配される角膜は人体の中で最もC線維の密度が高い部位であり、角膜の乾燥は不快感だけでなく痛みを誘発する。近年、P2Y2受容体のアゴニストであるジクアホソルナトリウム (Diquas<sup>®</sup>) 点眼液がドライアイ治療に用いられている。ジクアホソルナトリウムは結膜上皮および杯細胞膜上のP2Y2受容体に作用し、細胞内カルシウム濃度を上昇させることで、水分およびムチンの分泌を促進する。しかし、末梢でのジクアホソルナトリウムによる水分およびムチンの増加がドライアイに起因する眼痛を抑制するか否かは不明である。そこで今回、涙腺摘出モデル雄性ラットを用い、ジクアホソルナトリウムの中枢感作抑制効果を行動薬理学的、および免疫組織学的に解析した。涙腺摘出当日から3%ジクアホソルナトリウムを4週間(10 $\mu$ l 6回/日)点眼した群と涙腺摘出2週間後からジクアホソルナトリウムの4週間点眼を開始した群では、コントロール群と比較して涙液分泌量は有意に上昇し、眼への高張食塩水(5.0 M)刺激による瞬目回数は有意に減少した。さらに三叉神経脊髄路核における extracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化は後者の群でコントロール群と比較して有意に抑制された。上記の結果より、ジクアホソルナトリウム点眼により水分およびムチンが増加し、結果的に三叉神経脊髄路ニューロンの興奮性を抑制する可能性が示された。(共同研究: 慶應大学医学部眼科学教室 坪田 一男教授, 東京医科歯科大学大学院歯科心身医学分野 豊福 明教授, 謝辞: 参天製薬株式会社)

**【利益相反】** 利益相反状態にあります。

---

## Effect of diquafosal sodium ophthalmic administration on ophthalmalgia under dry eye condition

---

○Sugawara S<sup>1,2</sup>, Mikuzuki L<sup>1,2</sup>, Saito H<sup>2</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

Dry syndrome including dry eye (DE), dry mouse, dry nose and dry skin is caused by exocrine glands dysfunction. The cornea is innervated by the first branch of trigeminal nerve and the density of C-fibers innervating cornea is the highest in the human body. DE is known to cause ophthalmalgia as well as unpleasantness in the eye. Recently, P2Y2 agonist diquafosal sodium (Diquas<sup>®</sup>) is selected for the treatment of DE. Diquafosal accelerates moisture and mucin secretion from conjunctival epithelium and goblet cells. However, it's still unknown whether the tear secretion by diquafosal prevent ophthalmalgia. Three percent diquafosal (10  $\mu$ l 6times/day) was applied for 4 weeks on the exorbital gland-removed rats (DE rats). In diquafosal treated-DE rats, reduced tear volume was significantly recovered and the number of eye blinks elicited by hypertonic saline (5.0 M) application was suppressed compared with control group. The number of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase-immunoreactive cells in trigeminal subnucleus caudalis was significantly smaller in the diquafosal-treated group compared with control group. These data suggest that diquafosal application to the DE is a possible treatment to prevent ophthalmalgia via acceleration of tear secretion in DE patients. (Acknowledgements: Keio Univ. Sch. Med Prof. Kazuo Tsubota and SANTEN Co.)

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

## O1-E3 三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄における視床または橋投射ニューロンの分布様式

○齋藤 弘人<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 補綴 1

<sup>2</sup>日大 歯 生理

口腔顔面領域からの侵害情報上行路は、三叉神経脊髄路尾側亜核 (Vc) および上部頸髄 (C1) の侵害受容ニューロンを経由し、視床後内側腹側核 (VPM)、視床内側核群 (MTN) または橋結合腕傍核 (PBN) へ投射し、続いて VPM は大脳皮質に、MTN と PBN は辺縁系に情報を送る。しかし、侵害情報を伝える投射ニューロンにおける投射先の違いによる Vc および C1 での分布様式については不明な部分が多い。そこで、本研究では侵害刺激によってリン酸化する phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) を神経興奮のマーカーとし、さらに、主に C 線維末端から放出される substance P の受容体である neurokinin 1 receptor (NK1) の投射ニューロンにおける発現様式を検討した。雄性ラットの右側 VPM, MTN または PBN に 3% Fluorogold (FG) を注入した。FG 注入から 7 日後、左側上唇にカプサイシンを注射 (300  $\mu$ M, 10  $\mu$ l) することにより C 線維を刺激し、5 分後に灌流固定した。Vc~C1 における pERK-NK1 共陽性 FG 標識投射ニューロンの分布様式を解析した。pERK および NK1 陽性細胞は Vc から C1 の I-II 層に限局していた。FG 標識投射ニューロンに対する pERK-NK1 共陽性 FG 標識投射ニューロンの割合は、Vc から VPM へ 8.6%、尾側 Vc-C1 から MTN へ 25.0%、Vc から PBN へ 15.3%、尾側 Vc-C1 から PBN へ 21.1% と吻尾的な分布の相違が認められた。このような pERK-NK1 共陽性 FG 標識ニューロンにおける投射先の相違による吻尾的な発現分布の違いは、口腔顔面領域から視床または橋への痛覚伝導に関する侵害情報処理に対する機能的な違いを反映している可能性があるかと推察された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Distribution differences of thalamic and parabrachial projection neurons in the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord

○Saito H<sup>1</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Second-order neurons in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) and upper cervical spinal cord (C1) are critical for craniofacial pain processing and ascend their axons to the ventral posteromedial thalamic nucleus (VPM), medial thalamic nuclei (MTN) and parabrachial nuclei (PBN). The contribution of each region to trigeminal nociception was assessed by the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase-immunoreactive (pERK-IR) and neurokinin 1 receptor (NK1), which is the receptor for substance P, -IR neurons expressed with fluorogold (FG)-labeled projection neurons in Vc-C1. FG (3%) was injected into the right VPM, MTN or PBN in male rats. On day 7 after FG injection, rats were stimulated by capsaicin (300  $\mu$ M, 10  $\mu$ l) in the left upper lip and perfused within 5 minutes. The lower brain stems were cut, and sections were processed for pERK and NK1 immunohistochemistries. The percentage of pERK-NK1-IR FG-labeled neurons was following: middle-Vc to VPM: 8.6%; caudal-Vc-C1 to MTN: 25.0%; middle-Vc to PBN: 15.3% and caudal-Vc-C1 to PBN: 21.1%. The rostrocaudal distribution differences of pERK-NK1-IR FG-labeled neurons in Vc-C1 may reflect functional differences among these projection areas regarding orofacial nociception. Acknowledgment: JSPS KAKENHI No. 17K11855

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E4 アセチルコリンによるラット顎下腺の唾液分泌における細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の閾値の算定

---

○根津 顕弘<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>, 谷村 明彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理

<sup>2</sup>日歯大新潟 生化

---

【目的】唾液腺の水分分泌は腺房細胞の受容体の活性化を介した  $\text{Ca}^{2+}$ 応答により調節されていると考えられている。これは主に単離細胞を用いて調べられてきたが、実際の唾液分泌と  $\text{Ca}^{2+}$ 応答の関係を明らかにするには生きた動物での解析が必要である。今回我々は、顎下腺の  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と唾液分泌の同時測定により、薬物刺激による  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と分泌の時間関係と、分泌開始時の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を解析した。【方法】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、腺房細胞に蛍光  $\text{Ca}^{2+}$ センサーを導入した。麻酔したラットの顎下腺を露出し、薬物の持続投与による  $\text{Ca}^{2+}$ 応答をマクロズーム蛍光顕微鏡により測定した。唾液分泌は、顎下腺開口部に留置したカテーテル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) を投与すると、用量 (10–720 nmol/min) に依存した顎下腺の  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と唾液分泌が観察された。  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と唾液分泌の同時測定により、分泌は常に  $\text{Ca}^{2+}$ 応答より遅れて観察され、最大の分泌を起こす用量 (360 nmol/min) では  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と分泌の間に 19 秒の時間差が認められた。分泌開始時の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を算出したところ、安静時の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は 37 nM で、ACh (30–360 nmol/min) による分泌開始時の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は 45–57 nM であった。【まとめ】ACh による唾液分泌は常に  $\text{Ca}^{2+}$ 応答に遅れて発生し、この時間差は水分分泌に関わる分子の活性化に必要な  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  に達する時間であると考えられる。分泌開始時の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は ACh の用量に関わらず大きな違いが無いことから、これは水分分泌を起こす  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の閾値であると考えられた。現在、この手法を用いて代償性肥大を起こした顎下腺の機能解析を行っており、その結果についても紹介する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The threshold of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ for salivary secretion induced by acetylcholine in rat submandibular gland *in vivo*

---

○Nezu A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

---

We monitored changes in intracellular calcium concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) and salivary secretion in rat submandibular gland (SMG), using an intravital  $\text{Ca}^{2+}$  imaging and an optic-fiber pressure sensor, simultaneously. The intravenous infusion of acetylcholine (ACh, 10–720 nmol/min) increased  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  and salivary secretion in a dose-dependent manner. Our intravital experimental systems revealed a clear time lag between the onset of rise in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  and that of secretion. This time lag was shortened with the increase in a dose of ACh, and it was 19 sec with the highest dose for maximum salivary secretion (360 nmol/min). The time lag was thought to be the period of time for increasing  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  to the level required to activate various molecules for fluid secretion, and thus we analyzed  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  at the onset of salivary secretion. In our estimation, the resting  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in SMG was 37 nM, and  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  at the onset of salivary secretions were 45–57 nM, irrespective of ACh dose. These results indicate that this small  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  is sufficient to trigger fluid secretion in rat SMG *in vivo*. Recently, we have been investigating functional analysis in compensatory hypertrophy of SMG, and will show some results using our experimental systems.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E5 ヒト顎下腺細胞株 NS-SV-AC における miR-1290 の機能解析

---

○水澤 典子, 岩田 武男, 吉本 勝彦

徳大 院医歯薬 分子薬理

マイクロ RNA (miRNA) はタンパクに翻訳されない短い RNA で、遺伝子発現を抑制する機構として近年研究が進んでいる。miRNA は細胞内で発現し、標的 mRNA の発現抑制を介して細胞内機能のネットワークを調節するほか、唾液や血液等あらゆる体液中に分解されることなく存在するため、細胞外への情報伝達の役割も注目されている。我々は、マイクロアレイ解析による唾液 miRNA のプロファイリングを行い、唾液に高レベルで存在する miR-1290 に着目した。コンピュータ検索サイト TargetScan および miRDB を利用し、miR-1290 の標的となる候補遺伝子を予測した。ヒト顎下腺細胞株 NS-SV-AC を用い、miR-1290mimic 導入時に各候補遺伝子の発現が抑制されるか qRT-PCR を用いて検証を行った。その結果、miR-1290 の有力な候補として、ERRFI1 (ERBB receptor feedback inhibitor 1, 別名 Mig6, gene 33, RALT) が得られた。ERRFI1 は、細胞内において EGF 刺激時に EGF 受容体下流のシグナル伝達を抑える (負のフィードバック) 機能が知られている。NS-SV-AC を用いた ERRFI1-3'UTR に対するレポーターアッセイでは、miR-1290mimic の導入によるレポーター活性の低下が認められ、miR-1290 の結合が予測される配列の削除では低下しなかったことから ERRFI1-3'UTR への配列特異的な相互作用が示された。NS-SV-AC では miR-1290mimic 導入時に細胞増殖が亢進することから、miR-1290 が ERRFI1 を標的とすることで細胞増殖シグナルの抑制が解除される機構に関与していることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### miR-1290 promotes cell growth via targeting ERRFI1 expression in NS-SV-AC, a human submandibular gland cell line

---

○Mizusawa N, Iwata T, Yoshimoto K

Dept Med Pharmacol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

MicroRNAs (miRNAs) are short noncoding RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression by binding to complementary sequences on 3'UTR of target mRNAs. Although miRNAs have been found in all known biological fluids, their functions are not clear. To identify the specific miRNAs in saliva, microarrays and real-time PCR (qPCR) were used, and we found that miR-1290 was one of major miRNA in human saliva. We attempted to identify the potential target genes of miR-1290 using computer-aided algorithms, TargetScan and miRDB. We found ERRFI1 (ERBB receptor feedback inhibitor 1, also named as Mig6, gene 33, and RALT) as a target gene of miR-1290, which is known as an endogenous inhibitor of epithelial growth factor receptor signaling. Overexpression of miR-1290 in NS-SV-AC, a cell line established from human submandibular gland, reduced mRNA levels of ERRFI1, and significantly enhanced the cell growth, suggesting that miR-1290 targets ERRFI1 mRNA and functions in NS-SV-AC cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E6 管状臓器の管腔維持, 形成における Cdc42 の役割

---

○設楽 彰子

朝日大 歯 薬理

管状臓器が機能するためには管腔構造のホメオスタシスの維持が重要であるが, その仕組みには未だ不明な点が多い. 今回我々はマウスの顎下腺をモデルシステムとして用い, 管腔上皮の維持機構を調べた. Small Rho GTPase ファミリーに属する Cdc42 は細胞間接着や細胞極性を制御することが知られている. Cre/loxP-based マウスモデルを用いて Cdc42 の遺伝子をノックアウト (KO) したところ, 顎下腺腺房細胞の管腔である Intercellular canaliculi (IC) の著明な形態変化が認められた. 免疫組織化学的解析より Cdc42 KO 腺房細胞は細胞極性を維持しているが, 腺腔側膜と基底側膜の境界の位置が変化していることが示された. さらに極性複合体として知られる Par 複合体の構成分子であり, Cdc42 の effector である Par6 が形態変化した腺腔側膜から失われたことから, Cdc42 は Par 複合体を介して管腔構造を維持することが示唆された. さらに Correlated light and electron microscopy (CLEM) を用いて, Cdc42 KO 腺房細胞の微細構造を観察したところ, 形態変化した IC 周辺に小胞様構造が観察された. また一部の小胞は内部に断片化した小胞体様構造を有する, オートファゴソーム様構造をしていたことから, Cdc42 は細胞内の小胞輸送を制御することにより, 管腔構造のホメオスタシスの維持を制御することが示唆された. さらに我々は Cdc42<sup>fllox/fllox</sup> マウスを AQP5-Cre マウスと掛け合わせることにより, 顎下腺腺房細胞の腺腔側膜の形成過程における Cdc42 の役割を調べた. その結果, Cdc42 KO により IC の形成が阻害された. 興味深いことに同様の表現系は他の極性上皮組織である肝臓でも認められた. このことから Cdc42 は Par 複合体を介して細胞内輸送を制御することにより, 管腔上皮の維持・形成を制御するという普遍的な役割をもつ可能性が示唆された. 本研究から管状臓器のホメオスタシスの維持における重要な分子メカニズムが示された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Cdc42 is required for the maintenance and formation of the apical lumen in tubular organs

---

○Shitara A

Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol

Maintaining proper lumen homeostasis in tubular organs is fundamental for their function, and little is known about the mechanisms regulating this process. Here, we used the submandibular salivary glands (SMG) in live mice as a model system, and examined the mechanisms implicated in maintenance of the epithelial lumen. The small Rho GTPase Cdc42 is a well-known regulator of cell junctions and polarity. We depleted Cdc42 in vivo by using a Cre/loxP-based mouse model, and found that the loss of this protein induces the expansion of the apical plasma membrane in the acinar cells of the SMG. Immunofluorescence analysis revealed that although apical-basolateral cell polarity was preserved, the polarity protein Par6 was lost from the expanded apical domain in Cdc42-depleted cells. We also found that despite the pronounced effects on the morphology of the apical lumen, both tight junctional proteins and paracellular permeability were not affected. In addition, we crossed cdc42<sup>fllox/fllox</sup> mice with a strain expressing the cre-recombinase in the salivary gland acinar cells and determined that Cdc42 plays a role in the post-natal development of the apical plasma membrane in acinar cells. Our data also shows that Cdc42 regulates lumen formation through activation of polarity proteins.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## O1-E7 ヘルパー T 細胞に発現する新規免疫シグナル分子の同定とその機能解析

---

○池崎晶二郎<sup>1,2</sup>, 永尾 潤一<sup>1</sup>, 橋本麻利江<sup>1</sup>, 田崎 園子<sup>1</sup>, 安松香奈江<sup>1</sup>, 成田 由香<sup>1</sup>,  
有田 (森岡) 健一<sup>1</sup>, 長 環<sup>1</sup>, 池邊 哲郎<sup>1</sup>, 田中 芳彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能構造 感染生物

<sup>2</sup>福歯大 口外

---

口腔アレルギーの発症にはヘルパー T 細胞による免疫応答が深く関与している。なかでも Th2 細胞はアレルギー性炎症反応において重要な役割を果たしている。我々はこれまでに T 細胞受容体の下流で働く低分子量 G タンパク質の活性化を担うグアニンヌクレオチド交換因子として SLAT を単離しており、SLAT は  $Ca^{2+}$ /NFAT シグナル伝達をコントロールすることにより  $CD4^+$ T 細胞の免疫応答を制御することを明らかにしている。T 細胞の分化過程における SLAT の発現パターンを解析する中で、分化させた T 細胞サブセットの T 細胞受容体を再刺激した時に、Th2 細胞だけに特異的に発現する抗 SLAT 抗体で検出される新しい分子を見出した。本研究では、新しく見出した SLAT 関連分子の同定とその機能解析を目的とした。Th2 細胞から遺伝子を単離した結果、SLAT を構成するエクソン 2 からエクソン 7 が alternative splicing により欠如した遺伝子であることが判明し、SLAT2 と命名した。次に SLAT2 の機能解析を行った結果、SLAT2 は SLAT と同様に NFAT の活性化上昇と、サイトカイン IL-4 の産生に関与することが示された。一方、SLAT がもつ ICAM-1 に対する細胞接着能の増強効果は SLAT2 では損なわれていた。細胞骨格に及ぼす影響を解析した結果、SLAT は細胞膜に局在し filopodia 形成に関与するのに対して、SLAT2 は細胞質に局在し、短い filopodia の形成に関与することが明らかとなった。以上のことから、Th2 細胞から新たに見出した SLAT2 の発現は、サイトカイン産生や細胞骨格形成などの T 細胞エフェクター機能に影響を与えることが明らかとなった。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Identification and characterization of a novel splicing form of signaling molecule of T cell

---

○Ikezaki S<sup>1,2</sup>, Nagao J<sup>1</sup>, Hashimoto M<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Yasumatsu K<sup>1</sup>, Narita Y<sup>1</sup>,  
Arita-Morioka K<sup>1</sup>, Cho T<sup>1</sup>, Ikebe T<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sec Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Sec Oral and Maxillofac Surg, Fukuoka Dent Coll

---

Activation of naive  $CD4^+$  T cells results in the development of several distinct subsets of effector T cells. Th2 cells play a pivotal role in allergic inflammation. SWAP-70-like adapter of T cells (SLAT) is a guanine nucleotide exchange factor for small GTPases, which regulates  $CD4^+$  T cell inflammatory responses by controlling  $Ca^{2+}$ /NFAT signaling. In this study, we have identified a novel alternatively spliced isoform of SLAT, named SLAT2, which lacks the region encoded by exons 2-7 of the SLAT gene. SLAT2 was selectively expressed in differentiated Th2 cells after the second round of in vitro stimulation, but not in differentiated Th1, Th17, or regulatory T (Treg) cells. Functional assays revealed that SLAT2 shared with SLAT the ability to enhance T cell receptor-mediated activation of NFAT and production of IL-4 but was unable to enhance TCR-induced adhesion to ICAM-1. Ectopic expression of SLAT2 or SLAT in Jurkat T cells resulted in the expression of distinct forms of filopodia, namely, short versus long ones, respectively. These results demonstrate that modulating either SLAT2 or SLAT protein expression could play critical roles in cytokine production and actin reorganization during inflammatory immune responses.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E8 治療耐性がん細胞における酸化ストレス応答機構の解析

---

○富田 和男<sup>1</sup>, 高 裕子<sup>2</sup>, 塚原 飛央<sup>1</sup>, 古川みなみ<sup>3</sup>, 西谷 佳浩<sup>2</sup>, 佐藤 友昭<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 応用薬理

<sup>2</sup>鹿大 院医歯 歯科保存

<sup>3</sup>鹿大 院医歯 矯正

---

放射線治療は悪性腫瘍治療の柱のひとつであるが、放射線耐性細胞の存在はその治療の障害として大きな問題となっている。そのため、放射線耐性のメカニズムを明らかにできれば、治療効果が高まり、がん克服への大きな一歩を踏み出すことができると考えられる。本研究において、2Gy/dayの照射を繰り返すことで得られた臨床的治療耐性がん細胞(CRR細胞)を用い、その性質と耐性メカニズムを検討した。まず、これらの細胞に対する酸化ストレス耐性を調べたところ、CRR細胞は、過酸化水素にも耐性を示す事が分かった。次に、過酸化水素を分解する内在性のカタラーゼ遺伝子発現を調べたところ、CRR細胞においてはカタラーゼ遺伝子発現が上昇していた。しかしながら、カタラーゼの酵素活性を検討したところ、HepG2細胞を除き、CRR細胞において有意な上昇は見られなかった。また、老化やストレスにより減少が認められるミトコンドリアDNAのコピー数を調べたところ、CRR細胞においてコピー数の減少傾向が認められた。さらに、細胞内のATP量を調べたところ、CRR細胞においてATP量は減少していることが明らかとなった。膜に存在し、ATP依存的に細胞内外のイオン濃度勾配形成に預かるATPaseの発現についても検討したところ、これらの遺伝子発現はおおむね活性化していた。これらの結果より、CRR細胞においては、カタラーゼ遺伝子発現の亢進が見られるものの、活性は上がっておらず、内在性カタラーゼによる酸化ストレスの低減効果よりも、ATP量が減少し、細胞膜上のタンパク質機能が低下し、さらには、ストレスに対する細胞の反応が低下することにより、耐性を獲得している可能性があることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of oxidative stress response in clinically relevant radioresistant cells

---

○Tomita K<sup>1</sup>, Takashi Y<sup>2</sup>, Tsukahara T<sup>1</sup>, Furukawa M<sup>3</sup>, Nishitani Y<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Radiation therapy is one of the choices to treat malignant tumors. In radiation therapy, existence of radiation resistant cell is a major problem to overcome. To reveal radioresistant mechanism, we investigated using clinically relevant radioresistant (CRR) cells that had been obtained by exposing to 2 Gy/day X-rays for more than 30 days. First, we investigated the resistance of CRR cells against hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). As a result, these cells showed resistant to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Next, we examined gene expression and enzyme activity of catalase that is H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catabolic enzyme. Catalase expression was up regulated in CRR cells. However, catalase enzyme activity was not up regulated except for HepG2 CRR cells. We also investigated mitochondrial DNA (mtDNA) copy number. It was shown that the mtDNA copy number was decreased in CRR cells. The amount of ATP was decreased, and ATPase gene expressions were up regulated in CRR cells. These results suggest that the decrease of cell response through plasma membrane component is the main factor rather than internal oxidative stress scavenging enzyme activity to obtain resistance against oxidative stress in CRR cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E9 水素水はヒト唾液・尿の抗酸化力を向上し、紫外線 A 及び過酸化水素によるヒト歯肉線維芽細胞の酸化ストレス障害およびコラーゲン合成低下を防御する

---

○肖 黎<sup>1</sup>, 三羽信比古<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 薬理

<sup>2</sup>県立広島大

---

【目的】本研究は、水素水経口摂取によるヒト唾液・尿抗酸化力の変化および紫外線 A (UVA) 照射によるヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) の酸化ストレス障害に対する水素水の防御効果を調べることを目的とする。【方法】臨床試験では、40-60 代の志願者 5 名に水素水を毎日 6-8 回、3 週間連続経口投与し、その前後唾液・尿の抗酸化力を ORAC 法および 8-OHdG ELISA 法で測定した。In vitro における実験では、HGF 細胞を用いて、水素水で調整した培地 (水素水培地) を UVA 照射前 2 時間処理し、UVA 照射 24 時間後、細胞生存率と増殖率を LIVE/DEAD 染色法および PrestoBlue 法により検定した。細胞内活性酸素の検定は CellROX Reagents (Thermo Fisher Scientific) を用いて行われた。細胞内コラーゲン I と IV の発現は免疫蛍光染色法で検出された。【結果と考察】水素水の摂取により 5 名の志願者全員唾液・尿の抗酸化力の有意な向上が ORAC 法で確認された。尿中酸化ストレスマーカー 8-OHdG の量は有意に減少したことが ELISA 法で明らかになった。細胞実験では、UVA 照射により HGF 細胞の生存率が線量依存的に低下し、コラーゲン I と IV の発現が大幅に減少した。HGF 細胞を水素水培地にて 2 時間前処理すると、UVA 照射による HGF 細胞の生存率及びコラーゲン合成の低下は有意に抑制された。さらに、水素水培地の前処理により、酸化発生剤である過酸化水素による HGF 細胞における活性酸素の発生は有意に抑制された。これらの結果によると、水素水はヒト唾液・尿の抗酸化力を向上し、酸化ストレスから口腔細胞と組織を防御する能力があることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Hydrogen-rich water improves antioxidative activity in human saliva and urine and protects human gingival fibroblasts from UVA-induced injuries

---

○Xiao L<sup>1</sup>, Miwa N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Pref Univ Hiroshima

---

In this study, we investigated the effects of hydrogen-rich water (HW) on antioxidative activity of human saliva and urine. We also assessed the prevention of HW on UVA-induced cell death, intracellular reactive oxygen species (ROS) generation and collagen degradation in human gingival fibroblasts (HGF). Five volunteers (aged 40-60 years old) received hydrogen-rich water oral administration 6-8 times per day for 3 weeks. Their saliva and urine were collected before and after the administration. The antioxidative activity of human saliva and urine was measured with both ORAC assay and 8-OHdG ELISA kit. Our data showed that oral administration of hydrogen-rich water markedly increased the antioxidative activity and decreased oxidative DNA damage in both human saliva and urine. Our cellular experiments showed that pre-administrated HGF cells with medium prepared with HW could prevent UVA-induced harmful injuries. LIVE/DEAD staining and Presto blue assay showed that HW was able to reduce UVA-induced cell death and proliferative cessation. Immunofluorescence staining showed that HW could significantly prevent UVA-caused degradation of both collagens I and IV in HGF cells. Additionally, HW also significantly reduced hydrogen peroxide-induced intracellular reactive oxygen species (ROS) generation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E10 褐色脂肪細胞におけるアドレナリン刺激による PRIP を介するエネルギー代謝メカニズム

---

○大植 香菜<sup>1,2</sup>, 山脇 洋輔<sup>2</sup>, 浅野 智志<sup>2</sup>, 兼松 隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 広大病院 麻酔

<sup>2</sup> 広大院医歯薬保 細胞分子薬理

---

【背景】 Phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP)は、Ins(1, 4, 5)P3 結合性分子として見出された。我々は、PRIP 遺伝子欠損 (*Prip*-KO) マウスを作製し、PRIP の生理機能解明研究を行ってきた。これまでに、*Prip*-KO マウスは、野生型と比較して白色脂肪組織で脂肪分解亢進が起こっていた。褐色脂肪組織では、熱産生関連タンパク質である uncoupling protein1 (UCP1) の発現が亢し高いエネルギー消費により耐肥満性を示した。そこで、*Prip*-KO マウスの褐色脂肪組織から初代培養褐色脂肪細胞を調整し、褐色脂肪細胞での PRIP によるエネルギー制御メカニズムを明らかにすることを目的に実験を行った。【方法】 マウスより褐色脂肪組織を摘出し、脂肪前駆細胞を分離培養して分化誘導をかけ褐色脂肪細胞へと成熟させた。そしてアドレナリン刺激反応を解析した。【結果と考察】 野生型と比較して *Prip*-KO マウスの初代培養褐色脂肪細胞でアドレナリン  $\beta$  受容体刺激により UCP1 や熱産生関連遺伝子の発現が有意に増加した。また、脂肪分解に必要な hormone-sensitive lipase (HSL) やペリリピンなどのアドレナリン刺激によるリン酸化は、野生型と比較して *Prip*-KO マウスの初代培養褐色脂肪細胞で上昇しており、細胞内の脂肪滴分解の亢進が起きていた。以上より、*Prip*-KO マウスの褐色脂肪細胞では、アドレナリン刺激により UCP1 の発現増加と細胞内脂肪滴の分解亢進に伴う UCP1 の活性化が起こり、非ふるえ熱産生によるエネルギー消費の亢進が起きていることが明らかとなった。本実験から、PRIP は脂肪組織における脂質代謝やエネルギー消費を制御する重要な役割を担っている分子であることが分かった。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### The mechanism of phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP)-mediated energy metabolism by $\beta$ -adrenergic stimulation in brown adipocytes

---

○Oue K<sup>1,2</sup>, Yamawaki Y<sup>2</sup>, Asano S<sup>2</sup>, Kanematsu T<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Hiroshima Univ Hosp

<sup>2</sup> Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

---

We identified the roles of phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) in cellular signaling by producing *Prip*-knockout (*Prip*-KO) mice. We previously demonstrated that *Prip*-KO mice have a small white adipose tissue (WAT) and show higher energy consumption than that in wild-type mice. *Prip*-KO mice showed high lipolytic activity in WAT, increased expression of a thermogenic protein (uncoupling protein 1, UCP1) in brown adipose tissue (BAT), and high non-shivering thermogenesis. This led to resistance against high-fat diet-induced obesity. Here, we investigate the mechanism of PRIP-mediated energy consumption by analyzing primary culture of mouse brown adipocytes. In response to  $\beta$ -adrenaline stimulation, the expression of UCP1 mRNA and protein was increased in *Prip*-KO brown adipocytes compared with those in wild-type cells. The phosphorylation of hormone-sensitive lipase (HSL) and perilipin was significantly higher in *Prip*-KO brown adipocytes than in wild-type adipocytes. Consistently, lipolysis in the lipid droplets of *Prip*-KO brown adipocytes was increased compared with that in wild-type cells. These results elucidated that PRIP deficiency increases UCP1 expression and enhances lipolysis in brown adipocytes; therefore, activated UCP1 promotes thermogenesis, resulting in the promotion of systemic energy expenditure. Collectively, PRIP is a new modulator for regulating the systemic energy expenditure. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E11 脂肪細胞特異的 GPRC6A 欠損が全身代謝に与える影響

---

○溝上 顕子<sup>1,2</sup>, 竹内 弘<sup>3</sup>, 自見英治郎<sup>1,2</sup>, 平田 雅人<sup>4</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

<sup>2</sup>九大 院歯 口腔細胞工

<sup>3</sup>九歯大 口腔応用薬理

<sup>4</sup>福歯大

Gタンパク質共役型受容体の1つである GPRC6A は膵β細胞をはじめ、精巣、消化管、脂肪組織、脳など全身に広く分布する。その欠損マウスの解析から、エネルギー代謝や骨代謝、雄の生殖機能など様々な生体機能の恒常性維持に関与していることが明らかにされており、アミノ酸、細胞外カルシウムのほか、テストステロンや骨基質タンパク質であるオステオカルシンなど、多様な分子をリガンドとして認識する。低(非)カルボキシル化オステオカルシン(GluOC)は、インクレチンやインスリン分泌促進作用をはじめ、糖・脂質代謝に重要な役割を果たすことが報告されている。我々は、GluOCの長期にわたる経口投与により空腹時血糖の低下、β細胞の増殖とそれに伴うインスリン分泌の増加、顕著な脂肪細胞の小型化を観察した。また、前駆脂肪細胞株3T3-L1を脂肪細胞に分化させ、GluOCを添加すると脂肪細胞への分化に中心的な役割を果たす転写因子PPAR $\gamma$ の発現が亢進し、インスリン感受性増強作用をもつアディポネクチン分泌が促進されることと、そこに至る GPRC6A を介したシグナル伝達経路を明らかにした。今回我々は、GluOCによる糖・脂質代謝改善における最も重要なターゲットは脂肪組織であると位置づけ、脂肪組織特異的 GPRC6A ノックアウトマウス(GPRC6A cKO)を作製して解析した。GPRC6A cKOを普通食で飼育しても対照群と相違は見られなかったが、高脂肪高ショ糖食で飼育すると、対照群と比較して著しい脂肪細胞の肥大とそれに伴う脂肪組織重量の増加、肝臓への脂肪の蓄積、インスリン抵抗性、耐糖能の悪化が認められた。以上の結果から、脂肪組織における GPRC6A を介したシグナリングは全身性代謝調節に重要な役割を担うことが示唆される。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Obesity in adipocyte-specific GPRC6A knockout mice

---

○Mizokami A<sup>1,2</sup>, Takeuchi H<sup>3</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>, Hirata M<sup>4</sup>

<sup>1</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ

<sup>4</sup>Fukuoka Dent Coll

G-protein coupled receptor GPRC6A is broadly expressed in many tissues including pancreas, liver, skeletal muscle, small intestine, brain, and white adipose tissue, where it mediates many physiological processes by interacting with extracellular basic amino acids, divalent cations, testosterone, and uncarboxylated form of osteocalcin (GluOC). GluOC is a bone-derived hormone that regulates energy metabolism by stimulating incretin and insulin secretion, and pancreatic  $\beta$ -cell proliferation through GPRC6A. We previously reported that long-term oral administration of GluOC reduced the fasting blood glucose level, improved glucose tolerance, and marked reduction in adipocyte size in female mice. Moreover, GluOC stimulation of 3T3-L1 adipocytes activates ERK through GPRC6A, leading to the expression of PPAR $\gamma$  that plays a crucial role in adipocyte differentiation and glucose metabolism. In this study, we generated adipocyte-specific GPRC6A knockout mice to further explore its role in adipocytes. These animals exhibited displayed glucose intolerance, insulin resistance, and increased adipose tissue weight accompanied by adipocyte hypertrophy when fed a high-fat high-sucrose diet. These results illustrate the essential role of adipose GPRC6A signaling in energy regulation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E12 AMPK/mTOR 経路は脂肪組織での D-dopachrome tautomerase 遺伝子の転写を調節する

---

○岩田 武男, 吉本 勝彦

徳大 院医歯薬 分子薬理

---

【背景・目的】 インスリン抵抗性改善作用を有するアディポカイン D-dopachrome tautomerase (DDT) は前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化過程で発現が上昇する。DDT 遺伝子の転写に影響を与える薬物のスクリーニングを行ったところ、AMP-activated protein kinase (AMPK) の DDT 転写調節への関与が示唆された。そこで脂肪組織での DDT 転写調節に関わる AMPK シグナルについて検討した。

【方法】 約 1,600 種の化合物からなる薬物ライブラリーを、DDT プロモータ領域のレポーターベクターを安定発現する HEK293 に作用させて DDT 転写活性を測定した。ヒト前駆脂肪細胞株 SGBS 細胞及び HEK293 細胞を用いて、AMPK の下流シグナル分子を活性化あるいは阻害した際の DDT 転写活性や mRNA 発現量について検討した。

【結果】 AMPK 活性化作用を有する AICAR 誘導体が DDT 転写を促進する化合物として同定された。また AMPK 阻害剤は DDT mRNA 発現を低下させた。FOXO1 常時活性型の強発現は HEK293 細胞では DDT mRNA 量を上昇させたが、SGBS 細胞とその分化脂肪細胞では mRNA 量を低下させた。FOXO1 阻害剤を用いた検討においても、SGBS 細胞と HEK293 細胞で相反する結果が得られた。mTOR 阻害剤の Rapamycin は SGBS 分化脂肪細胞での DDT mRNA 発現を上昇させ、AMPK 阻害剤存在下での DDT mRNA 発現低下を回復させた。

【結論】 DDT 転写調節は細胞によって異なることが示唆された。前駆脂肪細胞および分化脂肪細胞においては AMPK/mTOR 経路が DDT の転写調節を促進すると考えられた。一方、AMPK/SIRT1/FOXO1 経路は脂肪組織では DDT 転写を負に調節している可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## AMPK/mTOR pathway is involved in D-dopachrome tautomerase gene transcription in adipose tissue

---

○Iwata T, Yoshimoto K

Dept Med Pharmacol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

D-dopachrome tautomerase (DDT), an adipokine which improves insulin resistance caused by obesity, is mainly expressed in adipocytes rather than preadipocytes. However, its transcriptional regulation is largely unknown. In order to explore molecules affecting DDT transcription, screening of a chemical library composed of approximately 1,600 chemical compounds using HEK293 cells stably expressing a DDT promoter-reporter construct was performed. Several derivatives of AICAR, an AMP-activated protein kinase (AMPK) activator, were identified as transcriptional activators of the DDT transcription. DDT mRNA levels were reduced in SGBS adipocytes treated with an AMPK inhibitor. Overexpression of the FOXO1 constitutive active form increased transcriptional activity of the DDT gene in HEK293 cells, but decreased it in SGBS cells. Cell-type specific effects were also observed in the DDT mRNA expression of cells treated with a FOXO1 inhibitor. Rapamycin, an inhibitor of mTOR, increased DDT mRNA levels and attenuated the inhibitory effects of an AMPK inhibitor on DDT mRNA levels in SGBS adipocytes. In conclusion, DDT transcription may be regulated in a cell-dependent manner, and were enhanced by AMPK activation in SGBS adipocytes through inhibiting the mTOR signaling rather than activating the SIRT1/FOXO1 signaling.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E13 MMP20 過剰発現はエナメル芽細胞の細胞極性障害によりエナメル質形成不全を呈する

○進 正史<sup>1</sup>, 岡本富士雄<sup>1</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>1</sup>, 緒方佳代子<sup>1,2</sup>, 岡部 幸司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 細胞生理

<sup>2</sup>福歯大 小児歯

【目的】Matrix Metalloproteinase-20 (MMP20: enamelysin)は分泌期のエナメル芽細胞に高発現する。我々はMMP20がエナメル基質タンパク質や細胞間接着分子であるcadherinを分解することを報告した。さらにMmp20過剰発現マウス(Mmp20Tg)を作製・解析した結果、エナメル質形成不全を呈することが明らかとなった。今回、この表現型とエナメル芽細胞の細胞極性機能との関係を調べた。【方法】1)マウス臼歯のエナメル質とエナメル芽細胞の組織学的解析を行い、Mmp20Tgマウスのエナメル質形成不全が細胞特異的な病理学的変化があるか検討した。2)臼歯の形態解析と抗ケラチン14抗体、抗アメロジェニン抗体、抗MMP20抗体による免疫染色を行った。3)コフィリンとリン酸化コフィリンのウエスタンブロット解析を行った。【結果】Mmp20Tgマウスの臼歯はエナメル器の中に異所性の石灰化沈着がみられ、そのエナメル芽細胞は正常な円柱状の細胞形態を保持していなかった。野生型マウスの臼歯は境界明瞭なケラチン、アメロジェニン、MMP20陽性の領域が観察された。一方、Mmp20Tgの臼歯では、これらの分子発現はび慢性のパターンを示すと共に、エナメル芽細胞の周囲組織に侵入していた。次に、細胞極性に関与するアクチン結合タンパクであるコフィリンに注目し、そのリン酸化による不活性化を検討した。その結果、Mmp20Tgマウスのエナメル質ではコフィリンのリン酸化の亢進が認められた。【結論】MMP20の過剰発現は細胞間接着を障害し、エナメル芽細胞の細胞極性を破綻させることで異常な石灰化沈着が起こることが示唆された。MMP20がコフィリンの不活性化を誘引する機序は未だ不明だが、Mmp20Tgマウスにおいてはエナメル芽細胞の細胞極性の破綻がエナメル質形成障害を誘導すると考えられる。共同研究者 オハイオ州立大学 John Bartlett  
【利益相反】利益相反状態にはありません。

### MMP20 overexpression disrupts ameloblast cell polarity

○Shin M<sup>1</sup>, Okamoto F<sup>1</sup>, Kajiya H<sup>1</sup>, Ogata K<sup>1,2</sup>, Okabe K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Pediatr Dent, Fukuoka Dent Coll

**Purpose:** MMP20 is a matrix metalloproteinase expressed by ameloblasts present within the enamel organ. We demonstrated before that MMP20 cleaves both enamel matrix proteins and cadherins, which are responsible for cell-cell adhesion. Previously, we engineered transgenic mice that overexpress active MMP20. Enamel from these mice was softer than normal. **Materials & Methods:** Tissues sections were assessed for molar morphology and for keratin-14, amelogenin and MMP20 expression. Immunoblots were performed to detect both phosphorylated and non-phosphorylated COFILIN. **Results:** Molars from MMP20 overexpressing mice sometimes had ectopic mineral deposits within their enamel organs and the ameloblasts did not maintain their columnar morphology. Molars from wild-type mice had well defined areas of keratin 14, amelogenin and MMP20 expression whereas molars from the overexpressing mice had a more diffuse pattern of expression. COFILIN maintains cell polarity, but its inhibited phosphorylated form does not. Increased levels of phosphorylated COFILIN were present within enamel organs from overexpressing mice. **Conclusion:** MMP20 overexpression disrupts cell-cell contacts, which allows ameloblasts to depolarize resulting in abnormal mineral deposits and ameloblast gene expression in these areas. We conclude that the pathologically depolarized ameloblasts likely contribute to the abnormally soft enamel present in MMP20 overexpressing mice.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **O1-E14 象牙芽細胞及びエナメル芽細胞を蛍光標識出来るマウスを用いた象牙芽細胞, エナメル芽細胞の同定と単離の試み**

---

○磯野 加奈, 山崎 英俊

三重大 院医 幹細胞発生

---

歯の発生は上皮細胞と間葉細胞との相互作用により進む。歯の上皮細胞はアメロゲンを発現するエナメル芽細胞に、一方で歯の間葉細胞、特に神経堤細胞は Dentin sialophosphoprotein (Dspp) を発現する象牙芽細胞に分化する事が知られている。これまで、エナメル芽細胞に発現する Amelogenin (Amelx)、象牙芽細胞に発現する Dspp の遺伝子を欠損したマウスでエナメル質形成や象牙質形成異常を含む歯の形態異常が誘導されるという報告はあるが、これらの特異的遺伝子を蛍光標識し、エナメル芽細胞や象牙芽細胞を蛍光を指標に検出・単離し、歯の発生・分化を検討したという報告は殆どない。今回我々は、エナメル芽細胞や象牙芽細胞を蛍光を指標に同定し、最終的に単離する目的でエナメル芽細胞特異的遺伝子として知られる Amelx、象牙芽細胞特異的遺伝子として知られる Dspp の各遺伝子座に赤色或は緑色蛍光タンパク遺伝子を挿入した胚性幹細胞株及び遺伝子組換えマウスを作製し、赤色或は緑色蛍光タンパクの発現によりエナメル芽細胞或は象牙芽細胞を同定・検出する試みを行なったので、本研究の途中経過ではあるが報告したい。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **An attempt to identify and isolate ameloblasts and odontoblasts using transgenic mice that label these cells as fluorescent protein expressing cells**

---

○Isono K, Yamazaki H

Dept Stem Cell and Dev Biol, Mie Univ Grad Sch Med

---

A tooth development proceeds through the reciprocal interaction of an epithelium and a mesenchyme. Dental epithelial cells differentiate into enamel-producing ameloblasts that express amelogenin (Amelx), whereas dental mesenchymal cells, especially neural crest cells differentiate into dentin-producing odontoblasts, that express dentin sialophosphoprotein (Dspp). It was reported that Dspp or Amelx knock out mice showed abnormality of tooth development including dentin and enamel formation. However, there is little report that tooth development is examined using transgenic mice that enable us to identify and isolate odontoblasts or ameloblasts as fluorescent protein expressing cells. In this study, to establish the system that identify and isolate enamel-producing cells and dentin-secreting cells as fluorescent cells, we have established novel embryonic stem cell lines and transgenic mice lines to enable us to label NC-derived odontoblasts and ameloblasts as GFP-expressing cells and TdTomato-expressing cells, respectively. We would like to report the progress of this research.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E15 エナメル質形成不全モデルにおけるアメロジェネシス関連遺伝子発現プロファイル

---

○Arinawati Dian Yosi<sup>1</sup>, 三好 圭子<sup>2</sup>, 谷村 綾子<sup>2</sup>, 堀口 大吾<sup>2</sup>, 野間 隆文<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 院 口腔科学教育

<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 医化

---

### Expression profile of amelogenesis-related genes in an *in vitro* amelogenesis imperfecta model

---

○Arinawati DY<sup>1</sup>, Miyoshi K<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>2</sup>, Horiguchi T<sup>2</sup>, Noma T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grad Sch Oral Sci, Tokushima Univ

<sup>2</sup>Dept Mol Biol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

**[Purpose]** Amelogenesis is the process of tooth enamel formation and mineralization started from interaction between dental epithelial and mesenchymal cells. The alteration during it caused enamel defect called amelogenesis imperfecta (AI). In our laboratory, we have established ARE-B30 derived from dental epithelial cells of rat AI model, which has the unique mutation in *Specificity protein 6 (Sp6/epiprofin)*. Sp6 is a transcription factor and plays the critical roles during ameloblast differentiation. However, the function of Sp6 during amelogenesis is unclear. To understand the molecular mechanism of Sp6 in amelogenesis, we compared the amelogenesis-related gene expression between ARE-B30 and its wild type control, G5.

**[Material and methods]** To analyze the expression of amelogenesis-related genes in G5 and ARE-B30, *in vitro* 3D culture systems were set up; cultured on collagen membrane (CM-6) or co-cultured with RPC-C2A (rat pulp cells) on CM-6 in separated and mixed medium, as well as conventional plastic culture for 1 to 14 days. Gene expression was determined by semi-quantitative RT-PCR. The effect of cell density on gene expression in G5 was analyzed by plastic culture. To examine the involvement of Sp6, G5 was treated with a GC-box specific DNA binding inhibitor (mithramycin A) for 1 to 3 days. **[Results]** The expression of *bone morphogenetic protein 2* and *follistatin* were observed reciprocally in G5 by 3D co-culture system, but not the same expression pattern in ARE-B30. Furthermore, the expressions of *amelotin (Amtn)*, *kallikrein-related peptidase 4 (Klk4)* and *p75 nerve growth factor receptor* were only detected in G5. *Matrix metalloproteinase 20* were not detected in both G5 and ARE-B30. *Amtn* expression was enhanced in density- and time-dependent manner, but not for *Klk4*. Mithramycin A treatment reduced *Amtn* and *Klk4* expressions by dose-dependently. **[Conclusions]** We found perturbed responsiveness of AI-derived dental epithelial cells with *Sp6* mutation to the *in vivo* mimicking culture condition, compared to wild type control. Comparative analysis suggests that Sp6 may involve in amelogenesis-related gene regulation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E16 組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによるモルモット臼歯 apical bud の観察

---

○清野 雄多<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>2</sup>, 依田 浩子<sup>1</sup>, 大島 勇人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態

<sup>2</sup>九歯大 解剖

---

**【目的】** モルモットの切歯と臼歯は常生歯であり, その形成端に apical bud と呼ばれる幹細胞を含む上皮細胞塊を有する (Hashimoto et al.: Arch Histol Cytol 71: 317-332, 2008). 今回我々は, モルモット臼歯 apical bud を組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによって観察した.

**【方法】** 生後 1 日~4 週齢モルモットに BrdU を腹腔内投与し, 5~20 日後に深麻酔下で 4% パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定後, EDTA 脱灰後, 通法に従い上下顎臼歯の矢状断・水平断・前頭断パラフィン切片を作製し, 抗 BrdU 抗体による免疫染色を施した.

さらに, 水平断組織標本において, apical bud 境界を Adobe Photoshop<sup>®</sup> 上でトレースし, ImageJ<sup>®</sup> にて重ね合わせ, 3D 構築を行い, KOH 消化法 (Ushiki and Murakumo: Arch Histol Cytol 54: 427-436, 1991) によりコラーゲン線維を含む細胞外基質を除去後, タンニン酸・オスミウム処理, 脱水, 臨界点乾燥, スパッタ蒸着を施した走査電顕像と比較した.

**【結果および考察】** 水平断切片では, 下顎臼歯は頰側にエナメル質, 舌側にエナメル質とセメント質をもつ S 字状の咬合面形態を示した. 組織連続切片三次元構築において, 切歯と同様, 臼歯 apical bud は人が頭をもたげた様な丸みのある特徴的な形態を示した. 1 つの apical bud が単純な形態の切歯を形成する一方, モルモット臼歯形成端には, BrdU label-retaining cells を含む上皮細胞塊である apical bud が複数存在し, モルモット臼歯の持続的成長と複雑な歯冠形態との関係が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Apical buds in guinea pig cheek teeth demonstrated by three-dimensional reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling

---

○Seino Y<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Ida-Yonemochi H<sup>1</sup>, Ohshima H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

---

**Purpose:** Guinea pigs have continuously growing cheek teeth, which have a special epithelial structure referred to as an "apical bud" containing adult stem cells. This study aimed to clarify the relationship between the cusp pattern and stem cell compartments in guinea pig cheek teeth by three-dimensional (3D) reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling.

**Materials and Methods:** One-day- to 4-week-old guinea pigs with BrdU injections before 5-20 days before fixation were transcardially perfused with 4% paraformaldehyde under deep anesthesia. The maxillae and mandibles including cheek teeth were dissected, decalcified in a 10% EDTA solution, and embedded in paraffin. Serial horizontal sections were stained with hematoxylin and eosin, in addition to BrdU immunohistochemistry. The marginal border of apical buds in serial horizontal sections was traced with Adobe Photoshop<sup>®</sup> and these image sequences were stacked in ImageJ<sup>®</sup> to build 3D image.

**Results and Discussion:** The apical bud in guinea-pig cheek teeth showed a human head-like structure like that in rodent incisors and contained BrdU label-retaining cells. Thus, the present study suggested that plural apical buds produce the crown mold in a zigzag fashion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E17 CRISPR/Cas システムを用いた *in vivo* におけるマウス Msx1 機能ドメインの解析

---

○泰江 章博, 三井なおみ, 荒井 大志, 田中 栄二

徳大 院医歯薬 矯正

【目的】MSX1 遺伝子はヒト多数歯欠損症の原因遺伝子として古くより同定されており, ホメオドメインを破壊した従来の Msx1 ノックアウトマウスでは, 歯の発生停止ならびに口蓋裂を発症し, 生後まもなく致死となる. 一方, MSX1 には Msx homology (MH) ドメインとして知られる 7 つの高度に保存された領域があるが, それらの頭蓋顎顔面の発生過程における役割の解析は不十分なままである. 【方法】MH ドメインの *in vivo* における機能解析を目的とし, マウス受精卵において CRISPR/Cas システムを適用することで機能領域を破壊した. まず, ホメオドメインである MH4 より下流の MH5 ならびに MH6 ドメインを標的とする gRNA を設計し, *in vitro* 合成した sgRNA と Cas9 mRNA をマウス受精卵に微量共注入後, 偽妊娠マウス卵管に移植した. 得られた F0 モザイクマウスのアレルをシーケンスにて確認したのち, 野生型マウスと交配することでヘテロ接合体を獲得後, ホモ接合体を得た. 得られた 16.5 日胚ならびに 4 週齢の頭蓋顎顔面領域の形態を micro-CT にて観察した. 【結果】MH5 ドメインホモ接合体は, 4 週齢において上下顎第 3 臼歯の欠損を認めた. 一方, MH6 ドメインホモ接合体では, 上顎第 3 臼歯, 下顎第 2・第 3 臼歯ならびに下顎切歯欠損を呈するものと, 上顎第 3 臼歯は存在するものの矮小歯であるものが認められた. MH5 と MH6 両ドメインのホモ接合体では, MH6 ホモ接合体と歯牙欠損部位は同じであったが, 上顎第 2 臼歯は矮小であった. さらに, 16.5 日胚では MH6 ホモ接合体ならびに MH5/6 ホモ接合体の約半数において口蓋裂の発症が認められた. 【考察】*In vivo* における DNA deletion アッセイを行った結果, MSX1 の MH5 ならびに MH6 ドメインは頭蓋顎顔面領域の発生に重要であることが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## *In vivo* functional analysis of MSX1 conserved domains in mice using CRISPR/Cas system

---

○Yasue A, Mitsui SN, Arai D, Tanaka E

Div Orthod Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch

【Purpose】MSX1 is the causative gene for human oligodontia and its deficient mice disrupted homeodomain exhibit the developmental failure of tooth and palatal fusion. MSX1 is consist of highly 7 conserved domains known as Msx homology (MH) domain, however, those *in vivo* functions are still unclear. To clarify the function of conserved domains of MSX1 in craniofacial development *in vivo*, CRISPR/Cas system was applied for targeting them in mice. 【Materials & Methods】sgRNA targeting MH5 or MH6 domain located downstream of homeodomain (MH4) and Cas9 mRNA were coinjected into the fertilized eggs. The embryos were, then, transferred into the oviducts of pseudopregnant females. The obtained mosaic founders were mated with wild-types to generate heterozygous and the following homozygous mutants. micro-CT were analyzed to study the craniofacial phenotypes. 【Results & Conclusion】MH5 deficient mice showed the absence of upper and lower third molars at 4 weeks. The lower incisor agenesis, absence of upper third molars, lower second and third molars were observed in MH6 homozygous mutants. Mice disrupted both MH5 and MH6 exhibited the almost the same phenotypes observed in MH6 homozygous mutants. *In vivo* functional analysis confirmed the importance of MH5 and MH6 domains in MSX1 for craniofacial development.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E18 口唇裂発症モデルマウスにおける遺伝-環境相互作用の解析

---

○中富 満城, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司  
九歯大 解剖

【背景】口唇裂は頭蓋顎顔面領域で最も発症頻度の高い先天異常の1つであるが、その発症の分子機構については不明な点が多い。先天異常の成因として遺伝-環境多因子閾値モデルが提唱されているものの、従来の研究の多くは遺伝要因単独または環境要因単独の実験系を用いて行われており、両者を複合した研究モデルは充分得られていない。そこで本研究においては遺伝要因としてヒトの口唇裂の原因遺伝子として知られている *Msx1* 変異マウスを用い、環境要因として種々の先天異常を惹起する事が知られている低酸素負荷を組み合わせる事により、遺伝-環境相互作用研究モデルを構築して解析を行った。【方法】*Msx1*<sup>+/-</sup>マウスの雌雄を交配し、胎齢10日目および11日目の妊娠母獣に抗てんかん治療薬のフェニトイン (PHT) を腹腔内投与後、胎仔を摘出して組織学的に解析した。フェニトインは不整脈を誘発し母体と胎仔に低酸素状態を惹起する事が知られている。【結果】PHT非投与群の *Msx1*<sup>-/-</sup>胎仔の内側鼻突起において *Bmp4* 発現の低下および *Bmp* シグナルを構成する pSmad1/5 発現の有意な低下が観察され、走査電顕による解析で内側鼻突起の伸長方向の変異が認められた。PHT投与群では野生型と比較して *Msx1*<sup>-/-</sup>胎仔において有意に高確率に口唇裂を発症した。【考察】*Msx1* 変異という遺伝要因により内側鼻突起の形態変化が生じ、低酸素負荷という環境要因を加える事で口唇裂が誘導された事から、ヒトにおいても同様の多因子相加効果により口唇裂が発症する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Gene-environmental interaction in cleft lip model mice

---

○Nakatomi M, Kataoka S, Toyono T, Seta Y  
Div Anat, Kyushu Dent Univ

Cleft lip is among most common congenital anomalies during craniofacial development in humans. Although gene-environmental multifactorial threshold theory has been proposed to explain the etiology of birth defects, its experimental models have not been sufficiently established. Thus we combined *Msx1* mutant mice as a genetic factor with hypoxic stress as an environmental factor to elucidate gene-environmental interaction during facial development. Pregnant *Msx1* mutant mice were intraperitoneally injected with phenytoin, an anti-epileptic drug and a known arrhythmia inducer, at embryonic day 10 and 11 and then dissected for sampling for histological analyses. In phenytoin non-treated *Msx1*<sup>-/-</sup> embryos, *Bmp4* as well as its down-stream signal component pSmad1/5 was down-regulated in the mesial nasal process. SEM analysis revealed morphological change of the mesial nasal process of *Msx1*<sup>-/-</sup>. With phenytoin injection, the incidence of cleft lip was significantly higher in *Msx1*<sup>-/-</sup> than wild-type. Our results suggest that *Msx1* mutation induces deformation of the mesial nasal process and hypoxic stress disturbs proper lip formation, leading to cleft lip in *Msx1*<sup>-/-</sup>.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E19 ストア作動性カルシウム流入による歯原性上皮細胞のマイグレーションと遺伝子発現の制御

○村田 佳織<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>3</sup>, 高橋亜友美<sup>2</sup>, 齊藤 正人<sup>2</sup>, 谷村 明彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理

<sup>2</sup>北医療大 歯 小児歯

<sup>3</sup>日歯大新潟 生化

【目的】カルシウムイオンは、細胞の増殖・分化、細胞移動などの様々な細胞の機能調節に関与する重要なセカンドメッセンジャーである。非興奮性細胞の主要なカルシウム流入機構であるストア作動性カルシウム流入 (SOCE) の制御分子である Stim1 や Orai1 の遺伝子異常がエナメル質形成不全を起こすことから、SOCE が重要な役割を担っている可能性がある。本研究は歯原性上皮細胞の分化におけるカルシウム応答の役割を明らかにするために、長時間ライブセルイメージング解析を行った。【材料と方法】ウイルスベクターを使って、カルシウムセンサータンパク質を歯原性上皮細胞 (SF2 細胞) および歯髄幹細胞 (DPSC) に導入し、センサータンパク質安定発現細胞を得た。それらの細胞を使って、共焦点レーザー顕微鏡あるいは全反射顕微鏡を用いたライブセルイメージング観察を行った。また次世代シーケンサーを用いて、SOCE で発現が制御される遺伝子の網羅的解析を行った。【結果と考察】SF2 細胞は培養条件下で自発的に間欠的な細胞内カルシウム濃度の上昇をおこした。全反射照明装置を用いた解析で、SOCE を阻害する  $\text{LaCl}_3$  が、細胞内カルシウム濃度の低下と共に、マイグレーションを強く抑制することが明らかになった。SF2 細胞の自発的カルシウム応答と細胞の運動性は、DPSC との共培養によって増加する傾向が認められた。網羅的遺伝子解析の結果、SF2 と DPSC の共培養によって TGF- $\beta$  関連遺伝子などの発現が増加することや、SOCE が細胞の運動性に関連する遺伝子の発現に関与する可能性が示唆された。今後、定量 PCR 等を用いて網羅的遺伝子解析の結果を確認すると共に、SOCE による遺伝子発現調節のメカニズムを解析する予定である。【結論】SOCE は細胞のマイグレーションを制御することによって歯胚の形成過程において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Regulation of cell migration and gene expression by the store-operated calcium entry in dental epithelial cells

○Murata K<sup>1</sup>, Morita T<sup>3</sup>, Takahashi A<sup>2</sup>, Saitoh M<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

<sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

<sup>3</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

Change in intracellular calcium concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) is a key signal for regulation of a wide range of biological processes, including cell differentiation and migration. Recent studies have shown that amelogenesis imperfecta is caused by the deficiency of store-operated calcium entry (SOCE), the main calcium influx mechanisms in non-excitable cells. These findings suggest important roles of SOCE on amelogenesis. To examine the roles of SOCE, we visualized calcium responses in dental epithelial cell and pulp stem cell using genetically encoded calcium indicators.

Rat dental epithelial cells (SF2) showed intermittent rises in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in the long time live-cell-imaging in a cell culture condition. SOCE inhibitor ( $\text{LaCl}_3$ ) reduced the intermittent rises in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  and inhibited the cell migration. The frequency of the calcium responses was increased by co-culture of SF2 cells with pulp stem cells. Comprehensive gene expression analyses suggest the enhanced expression of TGF- $\beta$  related genes with the co-culture, and the reduced expression of cell migration-related genes by  $\text{LaCl}_3$ . These results suggest that SOCE regulates the tooth development through the effect on the cell migrations. We are trying to clarify mechanisms for the co-culture- and SOCE-mediated gene expression.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E20 3D 培養細胞における分泌タンパク質の生物発光イメージング：周期性インスリン分泌の可視化

---

○鈴木 崇弘<sup>1</sup>, 金森 孝雄<sup>1</sup>, 井上 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 生化

<sup>2</sup>JNC(株) 横浜研

---

我々は「分泌タンパク質のビデオレート生物発光イメージング法」を開発してきた。本手法は、生細胞の全細胞表面における開口分泌の解析が可能であり、画像上の発光強度を分泌量として定量化できる。これまでに、インスリンと分泌型ガウシアルシフェラーゼ (GLase) の融合タンパク質 (Insulin-GLase) をレポーターとして、開口分泌により生ずる GLase からの発光を水冷 EM-CCD カメラで検出することにより、単一生細胞における周期性インスリン分泌動態を可視化した。今回、単離ラット膵島およびラット膵β細胞株 (INS-1E 細胞) から新規に樹立した Insulin-GLase 定常発現株 (iGL 細胞) を用いて、多細胞間で同調するインスリン分泌の解析を行った。ラット膵島をマトリゲルでコートしたガラスボトムディッシュで培養し、Insulin-GLase 発現用アデノウイルスを1日間感染させ、生物発光イメージングを行った。その結果、高グルコース刺激から数分以内に、膵島表層全体が一斉に同調しながら周期変動するインスリン分泌が観察された。一方、iGL 細胞は非接着性の培養ディッシュで1-2日間培養することで、容易に膵島様の細胞塊 (スフェロイド) を形成した。ガラスボトムディッシュに iGL 細胞塊を1-2日間培養して接着させ、分泌タンパク質の生物発光イメージングを行った。その結果、iGL 細胞塊においても単離ラット膵島と同様に、グルコース刺激で細胞集団全体が同調する周期性インスリン分泌が可視化され、完全に同調した周期性分泌は1時間以上持続して観察された。

生物発光イメージングにより、3D 培養条件におけるタンパク質分泌動態の可視化に成功し、インスリン分泌における周期性の制御と分泌部位の局在化に細胞間接着が重要であることを示唆した。本イメージング法は、3D 培養細胞のタンパク質分泌研究に広く応用できると考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Bioluminescence imaging of proteins secreted from 3D-cultured cells: Visualization of oscillatory insulin secretion

---

○Suzuki T<sup>1</sup>, Kanamori T<sup>1</sup>, Inouye S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Sch Dent, Aichi-Gakuin Univ

<sup>2</sup>JNC Yokohama Res Center

---

We have been developing the method of video-rate bioluminescence imaging to visualize proteins secreted from living cells. By detecting luminescence signals of secreted luciferase, this method allows us to quantitatively visualize protein secretion on a whole cell. We previously reported that oscillatory insulin secretion from a single cell was visualized by using the fusion protein of insulin and *Gaussia* luciferase (Insulin-GLase) with a water-cooled EM-CCD camera. We here report the visualization of synchronized insulin secretion from 3D-cultured cells by bioluminescence imaging.

An isolated rat pancreatic islet transiently expressing Insulin-GLase from an adenovirus vector was stimulated by high glucose. As a result, oscillatory insulin secretion from a single islet was clearly visualized. We also established a subclonal rat INS-1E cell line stably expressing Insulin-GLase, named iGL cells. An islet-like spheroid of iGL cells showed oscillatory insulin secretion that was synchronized by stimulation with high glucose. The complete synchronization of insulin secretion in the spheroidal iGL cells was observed over 1 h.

Our imaging method could be generally used for investigating protein secretion in 3D cell culture systems. In addition, iGL cells would be valuable for the study on oscillatory insulin secretion, which is disordered in diabetes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E21 FRET イメージングを利用した炎症反応の時刻依存性解析

---

○西出 真也

北大 院医 細胞生理

唾液やホルモン分泌など多くの生理機能には 24 時間周期のリズムが観察され、細胞の炎症反応にも時刻依存性がある。夜型の生活習慣など生活リズムの乱れが炎症に及ぼす影響を検討することを将来的な目標とし、炎症時に上昇する細胞内 c-Jun N-terminal kinase (JNK) 活性を Förster resonance energy transfer (FRET) を利用した蛍光バイオセンサーにて定量した。FRET とは 2 種の蛍光タンパク質が近接した際に起こる分子間のエネルギー移動現象である。JNK が活性化すると立体構造が変化し FRET が起こるように設計されたバイオセンサーを野生型および時計遺伝子 Bmal1 欠失 NIH-3T3 細胞に遺伝子導入、細胞を蛍光顕微鏡にて生きたまま観察し FRET を評価した。デキサメタゾン処理によりディッシュ内の細胞のリズムを同期させ、処理 16 時間後から 40 時間後まで 4 時間おきに蛍光観察した。観察中にアニソマイシンあるいはリポ多糖を投与し、投与前後の画像を解析し FRET の変化を評価した。JNK はいずれの薬剤の投与によっても約 10 分後に活性が上昇した。野生型細胞の活性上昇量は 32 時間後をピークとする時刻依存性を示したが、Bmal1 欠失細胞は時刻依存性を示さなかった。本研究結果より JNK は時刻依存的に反応性が変化し、時計遺伝子リズムが反応性リズムに影響することが示唆された。NIH-3T3 細胞は歯髄組織中に多く存在する線維芽細胞由来であり、今後歯髄の炎症反応に時刻依存性があるか検討したい。本研究は北海道大学医学研究院の大場雄介教授および細胞生理学教室の教室員の皆様と共同で実施された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Profiling of time-dependency of inflammation by FRET imaging

---

○Nishide S

Dept Cell Physiol, Fac Med, Hokkaido Univ

Circadian rhythms are crucial factors in the regulation of a wide range of physiological processes including inflammation. Inflammatory responses to bacterial infection are higher during daytime in some organs in nocturnal rodents (nighttime in human), and such daily variations seem to be controlled by clock genes. However, the molecular link between clock genes and rhythms in inflammation remains to be elucidated. We analyzed intracellular activity of c-Jun N-terminal kinase (JNK), which is activated by a variety of inflammatory stimuli, using fluorescence microscopy with biosensors based on the principle of Förster resonance energy transfer (FRET). FRET is an energy transfer phenomenon between two different fluorescent proteins. We used a biosensor harboring JNK substrate, in which conformational change induced by phosphorylation leads to an increase in FRET efficiency. Activation of JNK by the treatment with anisomycin or lipopolysaccharide displayed time dependency. Cells lacking Bmal1, a core clock gene, also responded to the drugs, but the response was not in a time independent manner. We hereby unveiled the clock gene-mediated circadian rhythms in JNK activity, which might control the daily variation in inflammation. This research has been conducted with Prof. Yusuke Ohba and members of Dept. Cell Physiol., Fac. Med., Hokkaido Univ.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## O1-E22 歯科所見と DNA 鑑定による身元特定

---

○山田 良広

神歯大 院歯 災害医 法医歯

災害時の歯科医療として、歯科医師に歯科治療以外で求められるのが、口腔内所見などによる身元確認作業である。【目的】身元不明死体の身元特定は災害時歯科医療の一つとして考え、歯科医師の行える社会貢献の一つであり、東日本大震災以来その重要性が再認識されている。【方法】遺体の口腔内所見と生前の歯科医院における歯科記録（歯科診療録・X線フィルム・スタディモデルなど）との比較照合により行うが、生前の歯科記録が存在しない場合はDNA鑑定を行う。歯科所見による方法は死後の口腔内所見と生前の口腔内所見を記録したデンタルチャートの比較で行う。一方DNA鑑定は遺体から歯などのDNA抽出源を採取し、本人のDNAあるいは血縁者のDNAと比較照合する。【結果および考察】デンタルチャート作成にはX線画像が多く情報があるため、極めて有効な方法である。X線フィルムは口内法の標準型フィルムと口外法のパノラマ型のフィルムが主に用いられている。標準型は歯および周辺組織を精密に読み取れ、パノラマ型は臨在歯との位置関係や顎骨など広く口腔領域の情報が読み取れる特徴がある。我々は仰臥位で撮影可能なパノラマ装置を用いて死後のパノラマ撮影も行っている。歯の所見では本人の情報が残っていることが身元特定の条件となるがDNAは血縁者からでも本人が特定できる利点がある。歯の所見とDNA鑑定を事例によって使い分けることが迅速で確実な身元特定を可能にする。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Dental information and DNA analysis plays a conclusive role in dental identification

---

○Yamada Y

Dept Disaster Relief Med/Dent Div Forensic Dent Grad Sch Kanagawa Dent Univ

Most of dental identification is that postmortem (after death) dental remains can be compared with antemortem (before death) dental records, including written notes, study casts, radiographs, etc., to confirm identify. The kinds of radiographs used in dentistry are periapical and panoramic. The periapical is classified as intra-oral because the film is held within the mouth during exposure. Since it can be assumed that we were taking the portable x-ray machines to the site of the postmortem dental examination. These close-up findings give added weight to the personal identification. The panoramic film, classified as extra-oral, is external to the mouth during exposure. The advantage of this radiographic method over other radiographic techniques is that the majority of the structures of jaws and related areas can be visualized on a single radiograph. We developed the device that taking the orthopantomograph of victim in a lie across posture are possible and is possible transfer in the morgue and be using it. Although in case of the police could not get the antemortem dental records of the victim. We then carried out DNA analysis from the tooth as a supplemental procedure for personal identification.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

**O1-E23 Porphyromonas gingivalis 由来 LPS が心筋、骨格筋に及ぼす影響**

○川村 直矢<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 梅木 大輔<sup>1</sup>, 梅木 大輔<sup>3</sup>, 氏家 優子<sup>1</sup>,  
伊藤 愛子<sup>1</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病

<sup>2</sup>鶴大 歯 生理

<sup>3</sup>鶴大 歯 矯正

【目的】歯周病と全身疾患の関連性については近年注目されているが、そのメカニズムの解明は不十分である。本研究では、歯周病が全身の筋肉に及ぼす影響について検討した。【方法】雄マウス (C57BL6/J, 8 週齢) を用いて PBS 投与群 (Control) と Porphyromonas gingivalis 由来の lipopolysaccharide 投与群 (PG-LPS; 4 mg/kg/day : 腹腔内投与) を作成した。4 週後, 心筋 (CA), 咬筋 (MA), 前脛骨筋 (TA), ヒラメ筋 (SOL) を摘出し, 筋重量/前脛骨長比 (tibia; mg/mm) ならびに筋線維断面積 (CSA;  $\mu\text{m}^2$ ), 線維化面積 (%), アポトーシス (%), を測定した。【結果】PG-LPS 群では Control 群に比較して MA/tibia ( $7.7 \pm 0.29$  (Control) vs  $6.3 \pm 0.3$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.01$ ) ならびに TA/tibia ( $3.5 \pm 0.08$  (Control) vs  $3.2 \pm 0.09$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.05$ ) は有意に減少したが, CA/tibia ( $6.7 \pm 0.35$  (Control) vs  $8.7 \pm 0.49$  (PG-LPS),  $n=3-6$ ,  $P<0.05$ ) は有意に増加した。なお SOL/tibia は両群間に有意差はなかった。なお, CSA 測定結果でも同様の傾向を示し, MA ( $1693 \pm 65$  (Control) vs  $1470 \pm 59$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.01$ ) ならびに TA ( $1711 \pm 42$  (Control) vs  $1536 \pm 47$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.05$ ) の PG-LPS 群では減少傾向を示したが, SOL では両群間に有意差はなかった。CA ( $1.8 \pm 0.18\%$  (Control) vs  $5.1 \pm 0.38\%$  (PG-LPS)  $n=6$   $P<0.01$ ), MA ( $2.5 \pm 0.2\%$  (Control) vs  $4.3 \pm 0.31\%$  (PG-LPS)  $n=6$   $P<0.01$ ) で有意に線維化領域の増加を認め, また CA ( $0.45 \pm 0.27\%$  (control) vs  $4.6 \pm 0.77\%$  (PG-LPS)  $n=6$   $P<0.01$ ), MA ( $0.87 \pm 0.57\%$  (Control) vs  $7.3 \pm 0.77\%$  (PG-LPS)  $n=6$   $P<0.01$ ) でアポトーシス陽性細胞の割合が有意に増加していた。【結論】PG-LPS の慢性投与は, マウスの心肥大と骨格筋 (咬筋, 前脛骨筋) の委縮を誘導した。以上の結果は, 歯周疾患が心疾患, 咀嚼機能, 下肢筋力に影響を及ぼしている可能性が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

**Effects of LPS generated from Porphyromonas gingivalis on muscle mass in the whole body**

○Kawamura N<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Umeki D<sup>1</sup>, Umeki D<sup>3</sup>, Ujiie Y<sup>1</sup>, Ito A<sup>1</sup>, Gomi K<sup>1</sup>,  
Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Periodontal disease might play an important role for the development of systemic disease but the mechanisms remains poorly understood. We thus examined the effect of periodontal disease on the muscle mass within the whole body. Male mice (C57BL6/J, 8-week-old) were treated with Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide (PG-LPS) ( $20 \mu\text{g}/\text{mouse}/\text{day}$  ip) for 4 weeks. Control mice received an identical volume of saline only. After 4 weeks, we examined muscle mass to tibial length ratio (mg/mm) and muscle fiber cross sectional area (CSA;  $\mu\text{m}^2$ ) of masseter (MA), tibialis anterior (TA), soleus (SOL) and cardiac muscle (CA). MA/tibia and TA/tibia were significantly decreased by the treatment of PG-LPS from baseline (MA/tibia:  $7.7 \pm 0.29$  (Control) vs  $6.3 \pm 0.3$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.01$ ; TA/tibia ( $3.5 \pm 0.08$  (Control) vs  $3.2 \pm 0.09$  (PG-LPS),  $n=5$ ,  $P<0.05$ ). Conversely, CA/tibia was significantly increased from baseline ( $6.7 \pm 0.35$  (Control) vs  $8.7 \pm 0.49$  (PG-LPS),  $n=3-6$ ,  $P<0.05$ ) However, SOL/tibia was not altered by the treatment of PG-LPS. We also confirmed the above data by the measurement of CSA. These data indicate that PG-LPS treatment might exert atrophic effects on MA and TA but it might exert hypertrophic effect on CA, suggesting that it might contribute to the favorable effects on health expectancy in elderly persons.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O1-E24 筋再生過程における Tcf4 の役割：再生筋および筋線維周囲組織における Tcf4 の局在に関する免疫組織化学的検索

---

○小川 雄大, 永倉遼太郎, 奈良 倫之, 山本 将仁, 阿部 伸一  
東歯大 解剖

---

【目的】筋線維が損傷すると筋衛星細胞が活性化し、筋芽細胞、筋管、筋線維へと分化することが知られている。筋再生過程において、筋膜の線維芽細胞に存在する Tcf4 は不可欠であり、ノックアウトマウスでは筋に損傷を与えると筋線維の再生が不完全に終了することが報告されている。しかしながら、損傷後の筋再生過程の各ステージにおいて Tcf4 がどのような役割を担っているかは明らかではない。そこで、筋再生過程である筋芽細胞、筋管細胞、筋線維の各ステージにおける Tcf4 の局在について検索を行った。【方法】成獣の C57BL/6J マウスを用い、咬筋および前脛骨筋にドライアイスにて損傷を与えた。損傷後 1 日、3 日、7 日、14 日の咬筋、前脛骨筋を採取し、通法に従い凍結連続切片を作製した。筋再生の過程を形態学的に観察し、Tcf4, Pax7, MyoD, Myf5, Myogenin, MyHCemb の免疫組織学的染色を施した。【結果および考察】筋損傷後 1 日に炎症性細胞が浸潤し損傷した筋線維が貪食され、免疫組織化学的染色より Pax7, Tcf4 および MyoD/Myf5 の発現が認められた。損傷後 3 日に Myogenin および MyHCemb の発現が認められ、Tcf4 は範囲を広げて発現した。損傷後 7 日に再生筋を示す中心核を有する筋線維が認められ、Tcf4 はこの時最も広範囲に発現した。損傷後 14 日に筋線維の再生はほぼ完了し、Tcf4 の発現は非損傷時と同様な発現を示した。したがって、損傷後 1 日より筋衛星細胞の活性と筋芽細胞が認められ、損傷後 3 日より筋芽細胞が分化し筋管細胞と幼弱筋線維の発現が認められた。また、損傷後 7 日から 14 日より筋線維の成熟が認められた。以上より、Tcf4 は筋再生過程において損傷後初期の段階における筋芽細胞、筋管細胞の成長因子または足場として働き、主に筋線維の成熟期に成長因子としての役割を持つ可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The role of Tcf4 in muscle regeneration: an immunohistological study to localize Tcf4 in regenerated muscle and tissue surrounding muscle fibers

---

○Ogawa Y, Nagakura R, Nara M, Yamamoto M, Abe S

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

---

Myosatellite cells are known to be activated and then differentiate into myoblasts, myotube cells, and muscle fibers once damage is incurred by muscle fibers. Tcf4, which is present in fibroblasts in fascia, is essential to this muscle regeneration process, and incomplete termination of the muscle fiber regeneration process has been reported in Tcf4-knockout mice. However, the exact role played by Tcf4 at each stage of the regeneration process following injury has yet to be fully clarified. We therefore investigated the localization of Tcf4 in myoblasts, myotube cells, and muscle fibers, as stages in the muscle regeneration process. Myosatellite cell activation and myoblasts were thus found from 1 day after injury, and myoblasts differentiated, with the appearance of myotube cells and immature muscle fibers, from 3 days after injury. Maturity of muscle fibers was also found from 7 to 14 days following injury. These findings suggest that in the muscle regeneration process, Tcf4 plays a role as a growth factor or scaffold for myoblasts and myotube cells in the initial stage following injury, and has a main role as a growth factor during muscle fiber maturation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O1-E25 咬筋における $\beta$ アドレナリン受容体シグナルのサブタイプ特異的な役割

---

○伊藤 愛子<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 梅木 大輔<sup>1</sup>, 石川美佐緒<sup>3</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 川村 直矢<sup>4</sup>,  
八木澤由佳<sup>1</sup>, 中村 芳樹<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正

<sup>2</sup>鶴大 歯 生理

<sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 1

<sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病

【目的】 $\beta$ アドレナリン受容体 ( $\beta$ -AR) シグナルのサブタイプ特異的な病態生理学的役割に関する研究は、主に心筋を用いて行われてきたが、骨格筋、咬筋を用いた研究は少ない。本研究では、マウスを用いて $\beta_1$ -AR 特異的作動薬ドブタミン (DOB) ならびに $\beta_2$ -AR 特異的作動薬クレブテロール (CB) の慢性投与 (i. p.) を行い、咬筋肥大における $\beta$ -AR シグナルのサブタイプ特異的な役割を調べた。【方法】雄性マウス (C57BL/6, 12 週齢) を、DOB 投与群 (2 mg/kg/day), CB 投与群 (2 mg/kg/day), Control 群の 3 群に分け、1 週後に咬筋と心筋を摘出し、筋重量/脛骨長比 (mg/mm) ならびに筋線維断面積 ( $\mu\text{m}^2$ ), 線維化の割合, アポトーシスの割合を計測した。【結果】咬筋重量は Control 群に比較して、DOB 投与群 ( $\beta_1$ 刺激) では増加はみられなかったが、CB 投与群 ( $\beta_2$ 刺激) では有意に増加した。一方、心筋重量は Control 群に比較して、DOB 投与群ならびに CB 投与群のいずれも有意に増加した。また、筋線維断面積の測定結果も、筋重量測定結果と同様の傾向を示した。線維化の割合、アポトーシスの割合は、咬筋、心筋共に DOB 投与群で増加した。(Control vs. DOB :  $2.58 \pm 1.05$  vs.  $5.18 \pm 1.23$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 5-6$  Control vs. DOB:  $2.14 \pm 0.87$  vs.  $5.62 \pm 2.29$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 5-6$ ) アポトーシスの割合も線維化と同様の傾向を示した。【結論】 $\beta_1$ 刺激では心筋でのみ肥大が誘導されたが、 $\beta_2$ 刺激では咬筋と心筋で肥大が誘導された。 $\beta_1$ 刺激で心筋において誘導される線維化やアポトーシスが、咬筋においても認められた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Role of $\beta$ -adrenergic receptor subtype-specific signaling on masseter muscle

---

○Ito A<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Umeki D<sup>1</sup>, Ishiwaka M<sup>3</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>, Yagisawa Y<sup>1</sup>,  
Nakamura Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Pathophysiological role of  $\beta$ -adrenergic receptor ( $\beta$ -AR) signaling in cardiac muscle has been examined in detail. However, the role in skeletal muscle remains unclear. We thus examined the role of  $\beta$ -AR subtype-specific role on masseter muscle hypertrophy in male mice (C57BL/6) by the chronic intraperitoneal infusion of dobutamine (DOB; 2 mg/kg/day), a  $\beta_1$ -AR-specific agonist or clenbuterol (CB; 2 mg/kg/day), a  $\beta_2$ -AR-specific agonist. After the infusion for 1 week, we examined weight / tibial length (mg/mm) ratio and measured the cross-sectional area ( $\mu\text{m}^2$ ) of masseter muscle fibers, the rate of fibrosis (%), and the rate of apoptosis (%). Masseter mass was significantly increased in CB-treated group, compared to the Control, but not in DOB-treated group. Conversely, cardiac mass was significantly increased in both DOB-treated and CB-treated groups. The results were confirmed by the measurement of cross-sectional area. The rate of fibrosis and the rate of apoptosis increased in the masseter muscle and cardiac muscle in the DOB-treated group. Fibrosis and apoptosis induced in cardiac muscle with  $\beta_1$  stimulation were also observed in the masseter muscle.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D1 カモノハシやオポッサムのカルシトニンは非哺乳類と同様に強力な生物活性を持つ

---

○山下 照仁<sup>1</sup>, 宇田川信之<sup>2</sup>, 上原 俊介<sup>2</sup>, 小林 泰浩<sup>1</sup>, 高橋 直之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 総歯研 硬組織

<sup>2</sup>松歯大 口腔生化

---

【背景】カルシトニンは32個のアミノ酸からなるペプチドホルモンである。破骨細胞のカルシトニン受容体に結合し、cAMPシグナルの活性化を介してアクチンリングを破壊することで骨吸収を抑制する。魚類や鳥類のカルシトニンの骨吸収抑制作用は、哺乳類と比較して10~100倍強い。しかしながら、原始的な哺乳類であるカモノハシ（単孔類）とオポッサム（有袋類）のカルシトニンは、ヒトよりもサケに相同性が高く、強い生物活性が予想された。我々は、カモノハシおよびオポッサムのカルシトニンの生物活性を測定し、そのペプチドの立体構造や分子進化の観点から、ヒトおよびサケと比較した。【方法】各カルシトニンはペプチド研究所で合成した。マウス破骨細胞は骨髄細胞と骨芽細胞を1,25D<sub>3</sub>およびPGE<sub>2</sub>存在下で共培養し調製した。cAMP産生はELISA法で、アクチンリング破壊活性はローダミン-ファロイジン染色で、それぞれ測定した。ペプチドの $\alpha$ ヘリックスの割合は円二色性分散計(CD)により算出した。また、アミノ酸配列のアラインメントと分子系統樹解析を行った。【結果】マウス破骨細胞のアクチンリング破壊に関して、カモノハシおよびオポッサムのカルシトニンは、サケと同様に非常に強い活性を示した。この傾向は、cAMP産生促進に一致した。 $\alpha$ ヘリックスの割合も、サケと同様に高い値だった。生物進化において、単孔類は最初に分岐した哺乳類で、続いて有袋類、有胎盤類となる。分子系統樹分析により、単孔類や有袋類のカルシトニンは哺乳類よりもむしろ魚類や鳥類と同じグループに属していた。【結論】カモノハシやオポッサムのカルシトニンは、その生物学的活性も分子構造も非哺乳類に類似していた。有胎盤類の発達に伴いカルシトニンの活性や生理機能の変化が示唆される。

共同研究者：山内広世博士（公益財団法人骨粗鬆症財団）、鈴木信雄博士（金沢大学環日本海域環境研究センター）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Platypus and opossum calcitonin has strong bioactivities similar to that of non-mammalian calcitonin

---

○Yamashita T<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>2</sup>, Uehara S<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

---

Calcitonin of non-mammalian species exhibits stronger activity than those of mammals. Platypus and opossum, which diverged early from other mammals, possess calcitonin that is more similar in amino acid sequence to those of non-mammals than mammals. We determined whether platypus and opossum calcitonin exhibits similar biological activities to those of non-mammalian calcitonin using an assay of actin ring formation in mouse osteoclasts. We also compared the dose-dependent effects of each calcitonin on cAMP production in osteoclasts. Platypus and opossum calcitonin disrupted actin rings with similar efficacies to that of salmon calcitonin. Human calcitonin exhibited the weakest inhibitory potency and required a 100-fold higher concentration than that of salmon calcitonin. Platypus and opossum calcitonin also induced cAMP production in osteoclast cultures with the same efficacies as that of salmon calcitonin. Thus, platypus and opossum calcitonin exhibited strong biological activities, similar to those of the salmon. In addition, phylogenetic analysis revealed that platypus and opossum calcitonin clustered with the salmon-type group but not human- or porcine-type group. These results suggest that platypus and opossum calcitonin is classified into the salmon-type group, in terms of the biological activities and amino acid sequences.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**O2-D2 ラミニン-332 は骨芽細胞で発現し、破骨細胞形成を負に制御する**○上原 範久<sup>1</sup>, 久本由香里<sup>1</sup>, 久木田明子<sup>2</sup>, 山座 孝義<sup>1</sup>, 久木田敏夫<sup>1</sup><sup>1</sup>九大 院歯 分子口腔解剖<sup>2</sup>佐賀大 医 微生物

ラミニン 332 (Lm-332) は細胞外マトリックス成分の一種であり、ヒト骨髄間質細胞における発現や幹細胞ニッチ形成への関与が報告されているが、破骨細胞分化における機能は知られていない。そこで本研究では、Lm-332 の骨組織における発現と破骨細胞分化への役割について検討を行った。マウス大腿骨組織片を用いて Lm-332 の発現を蛍光免疫染色法により検討したところ、骨表面に存在する骨芽細胞様の細胞に明瞭なシグナルが認められた。新生仔マウス頭蓋冠由来初代骨芽細胞を用いた RT-PCR の結果、骨芽細胞における Lm-332 遺伝子発現が確認された。興味深いことに、胎児頭蓋骨由来初代骨芽細胞を RANKL の発現を誘導する PTH および  $1\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> で処理したところ、Lm-332 の発現は顕著に抑制された。次にマウス骨髄細胞を用いた RANKL 依存性破骨細胞分化系における Lm-332 の影響を検討したところ、Lm-332 は濃度依存的に破骨細胞形成を抑制した。この破骨細胞形成抑制において、TRAP, cathepsin K, DC-STAMP 等の破骨細胞分化関連遺伝子の顕著な発現低下および転写因子 NFATc1, c-Fos, c-Jun のタンパクレベルの低下と核内移行の障害が確認された。また、RANKL 刺激による破骨細胞形成に伴い、RANKL 受容体である RANK の発現誘導とマクロファージ系細胞マーカーである NSE (non specific esterase) 陽性細胞の顕著な減少が認められたが、Lm-332 存在下では RANKL 刺激による RANK の発現誘導は阻害され、NSE 陽性細胞数の維持が認められた。以上の結果より、骨芽細胞が産生する Lm-332 が骨組織における新規破骨細胞分化抑制因子として機能する可能性が示唆された。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

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。**Osteoblast-derived Laminin-332 is a novel negative regulator of osteoclastogenesis**○Uehara N<sup>1</sup>, Kyumoto Y<sup>1</sup>, Kukita A<sup>2</sup>, Yamaza T<sup>1</sup>, Kukita T<sup>1</sup><sup>1</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent<sup>2</sup>Dept Microbiol, Fac Med, Saga Univ

Laminin-332 (Lm-332), a major basement membrane protein, has been shown to provide a niche for some stem cells. In the present study, we found that Lm-332 was expressed in osteoblasts, and is implicated in the regulation of osteoclast differentiation. Immunofluorescence analysis of laminin- $\beta$ 3, a unique component of Lm-332, indicated specific expression of laminin- $\beta$ 3 in osteoblast-like cells localized on bone surface. RT-PCR analysis confirmed that  $\alpha$ 3,  $\beta$ 3, and  $\gamma$ 2 chains of Lm-332 were all expressed in primary osteoblasts prepared from mouse calvaria. Lm-332 markedly inhibited osteoclastogenesis induced by receptor activator of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) ligand (RANKL) when bone marrow-derived macrophages (BMMs) were cultured on Lm-332-coated plates. Lm-332 also blocked RANKL-induced activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) (ERK, JNK, and p38) and expression of NFATc1, c-Fos, and c-Jun. Lm-332 suppressed osteoclast differentiation while retaining macrophage phenotypes, including nonspecific esterase activity and gene expression of lysozyme and EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1 (Emr1). Furthermore, the treatment of primary osteoblasts with osteoclastogenic factors dramatically suppressed expression of Lm-332. These findings suggest that Lm-332 produced by osteoblasts in bone tissues has a pivotal role in controlling normal bone remodeling through suppressing osteoclastogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O2-D3 骨破壊性腫瘍におけるカテプシン K 阻害剤の骨形成誘導作用

---

○寺町 順平

徳大 院医歯薬 口腔組織

【背景・目的】多発性骨髄腫などの骨破壊性腫瘍は、骨吸収の著明な亢進と骨形成の低下が相まって広範な骨破壊性病変を呈する。骨病変部に骨を効率よく再生させるためには腫瘍進展の抑制とともに骨吸収を抑制しつつ骨形成を惹起させる治療法の開発が必要である。カテプシン K (CTK) 阻害剤は他の骨吸収抑制薬と異なり、破骨細胞への細胞障害活性は示さず、骨吸収機能のみを阻害する薬剤である。今回我々は、CTK 阻害剤の骨髄腫骨代謝への影響を検討した。【方法・結果】CTK 阻害剤は破骨細胞の骨吸収活性を強力に抑制するものの、破骨細胞の生存は抑制せず、むしろ、破骨細胞形成を促進した。一方、CTK 阻害剤は MC3T3-E1 細胞を用いた骨芽細胞分化には影響しなかったが、マウス全骨髄培養系においては破骨細胞形成を促進し、さらに ALP 陽性細胞が増加したことから、破骨細胞を介して骨形成誘導が促進することが示唆された。CTK 阻害剤は単独および抗腫瘍薬併用でも腫瘍細胞の増殖は抑制しなかった。最近、骨細胞に骨形成抑制因子スクレロスチンとともに CTK が発現していることが注目されている。骨細胞株 MLO-Y4 はスクレロスチンとともに CTK も発現したが、興味深いことに、CTK 阻害剤によりスクレロスチンの発現が抑制され、CTK 阻害の骨形成作用にスクレロスチンの関与が示唆された。脛骨内移植によるマウス骨髄腫モデルにおいて、CTK 阻害剤は bortezomib の抗腫瘍活性を増強すると同時に、骨破壊を抑制し、骨形成を誘導した。【まとめ・考察】CTK 阻害薬と抗腫瘍薬の併用は腫瘍抑制とともに骨病変の進行抑制と骨病変部に効率よく骨形成誘導を惹起する新規薬の候補と考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Potent induction of bone formation by anti-resorptive cathepsin K inhibitor in osteolytic tumor

---

○Teramachi J

Dept Histol Oral Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

Restoration of bone in osteolytic lesions remains an important clinical issue in the treatment for multiple myeloma (MM). Unlike other anti-bone resorptive agents, cathepsin K (CTK) inhibitors potently suppress bone resorption while sparing cytotoxic damage in osteoclasts (OCs). In the present study, we explored the effects of CTK inhibition on bone metabolism in MM. The CTK inhibitor potently suppressed pit formation. Treatment with CTK inhibitor rather facilitated OC differentiation from RAW264.7 preosteoclastic cells as well as mouse whole bone marrow cells. Such CTK inhibitor-induced OCs were able to enhance ALP expression in mouse whole bone marrow cells, suggesting the induction of OC-driven osteoblastogenesis by CTK inhibitor. Expression of CTK has recently been demonstrated in osteocytes which secrete sclerostin, a potent inhibitor of bone formation. Intriguingly, CTK inhibition suppressed sclerostin expression in MLO-Y4 cells. Combinatory treatment with CTK inhibitors and bortezomib efficaciously eradicated MM cells and resumed bone formation, while bortezomib alone showed only partial suppression of tumor growth and bone destruction. Therefore, CTK inhibitors may become a unique anti-MM therapeutic option with a bone-modifying activity.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## O2-D4 シグナル調節分子 PRIP の破骨細胞分化における役割

---

○松田 美穂<sup>1</sup>, 自見英治郎<sup>1,2</sup>, 平田 雅人<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学

<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

<sup>3</sup>福歯大

---

PRIP [phospholipase C (PLC) related but catalytically inactive protein] は, Ins(1, 4, 5)P<sub>3</sub>結合性だが PLC 酵素活性を持たない分子として見いだされた, 種間で高度に保存されたタンパク質である. PRIP 欠損 (KO) マウスにおいて, 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 マウスでは, 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. また, マウスを用いた矯正的歯の移動の解析より, WT に比べ KO では, 歯の移動量および破骨細胞数の減少が見られた. そこで, 破骨細胞形成における PRIP の役割について, マウス骨髄細胞を用いて細胞生物学的解析を行った. WT および KO の骨髄細胞および前骨芽細胞との共存培養による破骨細胞への分化誘導の解析から, 骨髄細胞が KO 由来の場合のみ破骨細胞数の減少が見られた. 分化誘導に重要な M-CSF と RANKL の各受容体の膜発現を見たところ, KO 細胞において減少していた. また, 破骨細胞の分化制御に関わる種々の遺伝子の発現も減少していた. カルシニューリンのタンパクレベルでの発現量と活性も KO で有意に低下していた. 破骨細胞分化のマスターレギュレーターである転写因子 NFATc1 の細胞内局在を検討したところ, 野生型に比べ KO 細胞では, 破骨細胞分化に伴う NFATc1 の核移行量が減少していた. しかし, 細胞内カルシウム濃度を強制的に上昇させたところ, KO 細胞における破骨細胞の形成と NFATc1 の核内移行は回復した. これらの結果より, PRIP はカルシウムを介した calcium-calcineurin-NFATc1 シグナル経路の調節を通して破骨細胞分化を正に制御することが明らかとなった.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Positive regulation of osteoclast differentiation by PRIP

---

○Matsuda M<sup>1</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>, Hirata M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Fukuoka Dent Coll

---

PRIP [Phospholipase C (PLC)-related, but catalytically inactive protein] was previously identified as an inositol 1,4,5-trisphosphate-binding protein with a domain organization similar to that of PLC- $\delta$ , but lacking phospholipase activity. PRIP gene knockout (KO) in mice increases bone formation and concomitantly decreases bone resorption, resulting in increased bone mineral density. However, the role of PRIP in osteoclastogenesis has not yet been elucidated. Here, we investigated the effects of PRIP on osteoclastogenesis. Tooth movement analysis using orthodontic devices indicated smaller extent of tooth movement and fewer osteoclasts on the bone-resorption side in the KO mice than in WT mice. Osteoclast formation assays and flow cytometry indicated lower osteoclast differentiation in KO-bone marrow cells. The genes implicated in bone resorption and in osteoclast differentiation exhibited lower expression in differentiated and in immature KO cells, respectively. Moreover, calcineurin expression and activity were also lower in the KO cells. KO cells also displayed fewer M-CSF-induced changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> and exhibited reduced nuclear localization of NFATc1. Up-regulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> restored osteoclastogenesis of KO cells. These results indicate that PRIP deficiency impairs osteoclast differentiation, particularly at the early stages and that PRIP stimulates osteoclast differentiation through calcium-calcineurin-NFATc1 signaling via regulating intracellular Ca<sup>2+</sup>.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D5 オートファジーの活性は破骨細胞分化を誘導する

---

○荒井 敦<sup>1</sup>, 山田 一尋<sup>1</sup>, 宇田川信之<sup>2</sup>, 高橋 直之<sup>3</sup>, ワンクンユ<sup>4</sup>, キムリユーベン<sup>4</sup>

<sup>1</sup>松歯大 矯正, <sup>2</sup>松歯大 口腔生化

<sup>3</sup>松歯大 総歯研 機能解析, <sup>4</sup>カリフォルニア大 ロサンゼルス

---

【目的】 Autophagy は細胞成分を代謝する主要分解機構であり, 細胞の恒常性維持において重要な役割を担っている. 近年, 細胞の分化, 活性の過程においても Autophagy が関与することが報告されている. 破骨細胞においても, Autophagy 関連遺伝子が欠損することで破骨細胞の骨吸収機能不全が起こることが明らかになった. しかし, 破骨細胞分化過程において Autophagy がどのような役割を担っているかについてはいまだ不明な点が多い. そこで我々は破骨細胞分化における Autophagy の役割について解析をおこなった. 【結果】 1. 野生型マウス由来の骨髄マクロファージ (Mφ) への RANKL 刺激は, オートファゴソームの主要成分の一つである LC3B の発現を増加させた. 2. Autophagy 活性の初期段階に必要なとされる Beclin 1 の発現についても解析した結果, RANKL 刺激によりその発現が上昇した. さらに, Mφ の細胞株である Raw264.7 細胞に Beclin 1 を過剰発現させ, 破骨細胞分化能について調べると通常の細胞と比較し破骨細胞数は増加した. 次に, RANKL 刺激による Beclin 1 の発現上昇のメカニズムについての解析を行なった. 3. RANKL 刺激により Beclin 1 への Ubiquitin チェーンの結合量が上昇した. さらに, Beclin 1 の上流でその活性を誘導するとされる TRAF6 をノックダウンしたところ, Beclin 1 と ubiquitin の結合量は増加しなかった. 4. Beclin 1 の Ubiquitin 結合部位である K117 をミューテーションした細胞を作成し, RANKL 添加による破骨細胞分化能を解析した結果, 破骨細胞数は減少していた. 【考察】 今回の結果より, RANKL 刺激による Autophagy の活性化は, TRAF6 により誘導された Beclin 1 への ubiquitin チェーンの結合により生じることが明らかになった. RANKL により刺激された Autophagy の活性化は, 破骨細胞の分化誘導因子の一つであることが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

---

## Autophagy activation via Becn1 is required in RANKL-mediated osteoclast differentiation

---

○Arai A<sup>1</sup>, Yamada K<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>3</sup>, Wang C<sup>4</sup>, Kim R<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Div Hard Tissue, Matsumoto Dent Univ Inst Oral Sci, <sup>4</sup>Sch Dent, UCLA

---

**Objective:** Autophagic process, an important cellular mechanism that becomes activated under stress such as starvation, is recently shown to be involved in osteoclast differentiation. However, the precise role of autophagy in normal physiological process of osteoclastogenesis is not clear. Here, we investigated role of autophagy during RANKL-induced osteoclastogenesis. **Methods:** Bone marrow (BM) and RAW 264.7 (RAW) cells were used to undergo osteoclastic differentiation by RANKL. Osteoclastic and autophagic genes were examined using qRT-PCR and Western blotting. LC3B was monitored using confocal microscope for LC3B-GFP punctae. Becn1, known to initiate autophagy, was retrovirally overexpressed in RAW cells and osteoclast differentiation was evaluated. Ubiquitination status of Becn1 was examined by using Western blotting. **Results:** BM and RAW cells exhibited significant increases in autophagic genes during osteoclastogenesis by RANKL. Increase in LC3B expression and punctae was confirmed using Western blotting and confocal microscope. Overexpression of Becn1 in RAW cells increased osteoclastogenesis. Mechanistically, RANKL treatment induced ubiquitination of Becn1. BM cells from Becn1 +/- mice exhibited diminished expression of osteoclastic and autophagic genes at the later stages. **Conclusion:** Autophagy is physiologically important process during the RANKL-mediated osteoclastogenesis, and may be a potential therapeutic target for managing osteoclast-specific bone-related diseases.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D6 Ror2-Rho-Pkn3 シグナルは破骨細胞の骨吸収活性を促進する

---

○上原 俊介<sup>1</sup>, 山下 照仁<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>1</sup>, 高橋 直之<sup>2</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 口腔生化

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

---

**【背景】**我々は、Wnt 共受容体 Ror2 の破骨細胞における役割を解析し、以下のことを明らかにしている。(1)破骨細胞特異的 Ror2 欠損 (Ror2 cKO) マウスは、骨吸収機能の低下により骨量が増加する。(2)Ror2 の下流で Rho が活性化される。(3)Rho エフェクターである Protein kinase N3 (Pkn3) の発現が破骨細胞分化に伴い増加する。しかし、破骨細胞の骨吸収機能における、このシグナルの詳細な役割は不明である。**【方法と結果】**マイクロ CT 解析および骨形態計測により、Pkn3 欠損 (Pkn3 KO) マウスは、骨吸収の低下による骨量増加を呈することが明らかになった。Pkn3 KO 由来の破骨細胞の培養では、アクチンリング形成および吸収窩形成が低下していた。アデノウイルスを用いた野生型 Pkn3 の強制発現により、Pkn3 KO 破骨細胞の吸収窩形成は回復した。一方、プロリンリッチ領域 (PRR) を欠損した Pkn3 を発現しても回復しなかった。免疫沈降法により、Pkn3 が Ror2 シグナル依存的に PRR を介して c-Src と結合することが明らかとなった。Ror2 cKO 及び Pkn3 KO 破骨細胞では c-Src のキナーゼ活性が低下した。Ror2 cKO または Pkn3 KO 破骨細胞に恒常活性型 c-Src を発現すると吸収窩形成は回復した。病態時における Ror2 シグナルの役割を解析するため、抗 II 型コラーゲン抗体誘導性関節炎モデルを用いた。抗体の投与により、Ror2 cKO マウスおよびコントロールマウスで同程度の炎症を認めた。マイクロ CT 解析により、Ror2 cKO マウスにおける骨破壊の程度はコントロールマウスに比べて低いことが明らかになった。**【考察】**以上の結果から、Ror2 シグナルは、Rho-Pkn3-c-Src 経路を介して、破骨細胞の骨吸収活性を正に制御していると結論した。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Ror2-Rho-Pkn3 signaling promotes bone-resorbing activity of osteoclasts

---

○Uehara S<sup>1</sup>, Yamashita T<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

We have previously reported that osteoclast-specific Ror2 conditional knockout (Ror2 cKO) mice showed a high bone mass due to impaired bone-resorbing activity of osteoclasts. We also revealed that Wnt5a activated Rho in osteoclasts through Ror2 and protein kinase N3 (Pkn3), a Rho effector, was highly expressed in osteoclasts. To clarify roles of this signaling in osteoclast function, we analyzed bone phenotypes of Pkn3 knock-out (KO) mice. Micro CT analysis and bone histomorphometric analysis revealed that Pkn3 KO mice had a high bone mass due to impaired bone-resorbing activity. Osteoclasts formed from bone marrow cells of Pkn3 KO mice failed to resorb bone. Impaired bone-resorbing activity of Pkn3 KO osteoclasts was rescued by overexpression of wild-type Pkn3, but not proline-rich region-deletion mutant of Pkn3. Immunoprecipitation analysis revealed that wild-type Pkn3 bound to c-Src in a Ror2 dependent manner through PRR of Pkn3. The kinase activity of c-Src in Ror2 cKO and Pkn3 KO osteoclasts was lower than that in control and wild-type osteoclasts. Overexpression of constitutively active c-Src rescued the impaired bone-resorbing activity of both Ror2 cKO and Pkn3 KO osteoclasts. These results suggest that Wnt5a-Ror2 signaling promotes the bone-resorbing activity of osteoclasts through Rho-Pkn3-c-Src pathways.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D7 老齡期の破骨細胞形成における骨細胞由来の CCN2 の役割

---

○西田 崇<sup>1</sup>, 久保田 聡<sup>1,2</sup>, 滝川 正春<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化

<sup>2</sup>岡大 歯先端研セ

---

昨年の本学会で、我々は骨細胞を含むコラーゲンゲル上での破骨細胞分化が骨細胞の CCN2 を欠損させることによって抑制されることを報告した。この結果は加齢による骨量減少の病態を解明する手がかりになると考えるが、そのメカニズムはほとんどわかっていない。今回、骨細胞を介する CCN2 のこの作用が老齡期のマウスにも認められるのかを解析すると共に骨細胞と破骨細胞前駆細胞のどちらの細胞由来の CCN2 が破骨細胞への分化過程に重要な役割を持つかを検討した。生後 1ヶ月齢の同腹の *Ccn2*<sup>fl/fl</sup>ERT2Cre マウス及び対照群の *Ccn2*<sup>fl/fl</sup>マウスの腹腔内にタモキシフェンを 3日連続投与し、投与 6ヶ月後に大腿骨を採取した。骨髓細胞を回収後、残った骨組織から段階的なコラーゲナーゼ処理によって骨細胞様細胞を単離した。骨細胞様細胞は 3日間単層培養した後、コラーゲンゲル内に埋入した。一方、骨髓細胞は M-CSF 存在下で 3日間培養後、コラーゲンゲル上に播種し、RANKL 刺激で破骨細胞への分化誘導を行った。RANKL 添加 3日後に NFATc1 及びカテプシン K の産生量を Western blot 法で調べると、*Ccn2* 欠損骨細胞様細胞と野生型の骨髓細胞の組み合わせは、その逆の場合よりも NFATc1 及びカテプシン K の産生量が低下し、どちらの細胞も *Ccn2* を欠損させた組み合わせでは、さらに低下した。これらの結果から老齡期のマウスにおいても骨細胞様細胞由来の CCN2 が骨髓細胞由来の CCN2 よりも破骨細胞への分化に重要な役割を担っていると考えられた。会員外共同研究者；横井秀基（京都大学大学院医学研究科 腎臓内科）、向山政志（熊本大学大学院生命科学研究部 腎臓内科）

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## The role of CCN2 produced by aged osteocytes in the osteoclastogenesis

---

○Nishida T<sup>1</sup>, Kubota S<sup>1,2</sup>, Takigawa M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Adv Res Ctr Oral Craniofac Sci, Okayama Univ Dent Sch

---

In the last meeting, we reported that osteoclastogenesis of a mouse osteoclast-precursor cell line, RAW264.7 was inhibited by *Ccn2*-deficiency in the osteocyte-like cells embedded in collagen gel. Although this result shows the clues that cause decreased bone volume with aging, the mechanism is unclear. In this study, we investigated which CCN2 from osteocytes or osteoclast progenitor cells, had an important role in osteoclastogenesis using aged mice. *Ccn2*-deficient osteocyte-like cells and osteoclast progenitor cells were isolated from femur of *Ccn2*<sup>fl/fl</sup>ERT2Cre mice at 6-month after injection of tamoxifen, and then, osteocyte-like cells were embedded into collagen gel. M-CSF treated osteoclast progenitor cells were inoculated onto the collagen gel. After treatment with RANKL for 3 days, Western blotting was performed and the productions of NFATc1 and cathepsin K from the combination of *Ccn2*-deficient osteocytes and wild-type osteoclast progenitor cells were lesser than those from the combination of wild-type osteocytes and *Ccn2*-deficient progenitor cells. In addition, these productions were the least in the combination of both *Ccn2*-deficient cells. These findings suggest that CCN2 produced by osteocyte-like cells plays an important role in osteoclastogenesis, compared with that by osteoclast progenitor cells. (Non-member co-authors; Drs. Yokoi, H. and Mukoyama, M.)

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D8 破骨細胞由来の LIF は sclerostin の発現低下を介して、骨形成を促進する

---

○小出 雅則<sup>1</sup>, 小林 泰浩<sup>1</sup>, 山下 照仁<sup>1</sup>, 上原 俊介<sup>2</sup>, 中村美どり<sup>2</sup>, 平岡 行博<sup>3</sup>,  
尾崎 友輝<sup>1</sup>, 飯村 忠浩<sup>4</sup>, 高橋 直之<sup>1</sup>, 宇田川信之<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 総歯研 硬組織, <sup>2</sup>松歯大 口腔生化, <sup>3</sup>松歯大 化学

<sup>4</sup>愛媛大 プロテオサイエンスセ バイオイメーjing

---

【目的】骨の恒常性は骨吸収と骨形成が共役し維持される。我々は、(1) 骨吸収が亢進した osteoprotegerin 欠損マウス (OPG-KO) では骨形成も亢進すること、(2) OPG-KO において骨吸収を抑制すると骨形成も抑制されることを示した。近年、骨細胞は Wnt シグナルの阻害因子である sclerostin を産生し、骨形成を抑制することが示されている。我々は、骨吸収の促進が骨細胞の sclerostin の発現低下を介して骨形成を促進させることを報告した (第 57 回歯科基礎医学会, 2015)。今回、sclerostin の発現を低下させる破骨細胞由来の因子を検討した。【方法と結果】(1) 抗体アレイを用いて、破骨細胞の培養上清中のサイトカイン量を測定したところ、sclerostin 発現を抑制する可能性のある因子として leukemia inhibitory factor (LIF) を見出した。(2) Sclerostin を高発現する UMR106 細胞培養に LIF を添加すると、WB 法にて sclerostin の発現が抑制された。また、この培養に破骨細胞の培養上清を添加すると、sclerostin の発現が抑制された。抗 LIF 中和抗体を添加することにより、破骨細胞の培養上清による sclerostin の発現抑制効果は、消失した。(3) 12 週齢の OPG-KO の長管骨における LIF と sclerostin の発現を免疫染色法および qPCR 法で検討した。LIF 発現が著しく増加し、sclerostin 発現は低下した。(4) 骨吸収を抑制するため、OPG-KO に抗 RANKL 抗体を投与し、4 週後に長管骨の LIF と sclerostin の発現を調べた。抗 RANKL 抗体の投与により、破骨細胞数および LIF の発現が低下し、一方、sclerostin 発現は増加した。(5) この抗 RANKL 抗体の効果は、骨吸収と共に骨形成も低下させた。【まとめ】破骨細胞由来の LIF が sclerostin の発現を抑制し、骨形成を亢進させることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Osteoclast-derived LIF promotes bone formation through suppression of sclerostin expression

---

○Koide M<sup>1</sup>, Kobayashi Y<sup>1</sup>, Yamashita T<sup>1</sup>, Uehara S<sup>2</sup>, Nakamura M<sup>2</sup>, Hiraoka Y<sup>3</sup>, Ozaki Y<sup>1</sup>,  
Iimura T<sup>4</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Chem, Matsumoto Dent Univ, <sup>4</sup>PROS and ADRES, Ehime Univ

---

Bone is continuously remodelled by bone resorption and formation. Osteoprotegerin-deficient (OPG-KO) mice exhibited increased bone formation as well as increased bone resorption. Sclerostin, an antagonist of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, produced by osteocytes inhibits bone formation. We previously reported that osteoclasts suppress the expression of sclerostin, thereby promoting bone formation through the activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling (The 57th meeting of JAOB, 2015). Here, we examined what factors secreted by osteoclasts suppress the expression of sclerostin. The expression of sclerostin in UMR106 cells was decreased by the addition of conditioned medium from osteoclast cultures (Ocl-CM). Using an antibody array, we profiled the cytokines in Ocl-CM. The expression of leukemia inhibitory factor (LIF) was significantly increased during osteoclast differentiation. rLIF suppressed the expression of sclerostin in UMR106 cell cultures. The suppressive effects of Ocl-CM and rLIF on the sclerostin expression in UMR106 cells were abrogated by the treatments with an anti-LIF antibody. These results suggested that the osteoclast-derived LIF inhibited the expression of sclerostin in osteocytes. Administration of anti-RANKL antibody, antiresorptive agents, to OPG-KO mice suppressed LIF expression and increased sclerostin expression, thereby reducing bone formation in OPG-KO mice. Taken together, osteoclast-derived LIF promotes bone turnover through the suppression of sclerostin expression.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D9 マウス脛骨の発生における septoclast の由来と分化

---

○坂東 康彦, 坂下 英, 崎山 浩司, 天野 修  
明海大 歯 解剖

---

【目的】 septoclast は単核・紡錘形の細胞で、骨端板骨軟骨境界部で毛細血管に隣接して存在し、非石灰化軟骨の吸収に関与すると考えられているが、由来は明らかではない。我々はこれまでに、マウス脛骨 septoclast が表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP) を特異的に発現することを示した。今回、発生過程における分布変化と pericyte との関係を、免疫組織化学的に調べた。

【材料と方法】 E15 の胎仔および生後 1 週齢の ddY マウスを 4% paraformaldehyde 溶液で固定後、膝関節矢状断の凍結切片を作成した。septoclast は抗 E-FABP 抗体 (東北大学大和田祐二教授供与) をマーカーとして用いて免疫組織化学的に染色した。pericyte マーカーとして抗 PDGFR $\beta$  抗体と抗 NG2 抗体を用い E-FABP との蛍光多重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡により観察した。また、三次元再構築画像により、septoclast の発生過程における形態変化を解析した。

【結果】 E-FABP 陽性 septoclast は E15 の始めに脛骨原基軟骨中央部の軟骨膜付近に出現し、軟骨内へ侵入する血管とともに軟骨表面に移動した。E16 の一次骨化中心完成時には、骨端板直下の骨軟骨境界に局在した。septoclast には、E15 の始めには異なる方向に伸びる短い突起が少数見られたが、E15 の後期には数本の細長い突起がみられた。E-FABP 陽性 septoclast には発生最初から生後に至るまで、常に PDGFR $\beta$  または NG2 の免疫活性が共存した。

【考察】 septoclast は E15 の始めに pericyte から分化して E-FABP を発現することが分かった。septoclast は一次骨化中心の形成の際、血管の侵入に関与していることが示唆された。septoclast の突起は、軟骨原基の吸収過程において、残存する軟骨の方に伸び、長く成長することが分かった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Origin and differentiation of septoclasts during ontogeny of mouse tibiae

---

○Bando Y, Sakashita H, Sakiyama K, Amano O  
Meikai Univ Sch Dent Div Anat

---

**Purpose:** Septoclasts are mononuclear and spindle-shaped cells and distributed adjacent to the capillary sprouts at the chondro-osseous junction (COJ) of the epiphyseal plate. The origin of septoclasts is still unknown. We investigated the chronological localization of septoclasts and pericytes during tibial development. **Methods:** Frozen sections of the epiphyseal plate were obtained from the proximal tibiae of P1w ddY mice and embryos at E15. Double immunostainings for epidermal-type fatty acid-binding protein (E-FABP), a marker for septoclast and two pericyte markers, PDGFR $\beta$  and NG2 were performed. Anti-E-FABP antibody was provided by Prof. Yuji Owada, Tohoku University. **Results:** E-FABP-immunoreactive septoclasts were emerged at the perichondrium in the middle of the cartilaginous template of the tibia. Septoclasts migrated to the surface of the cartilage adjacent to the invasive blood vessels. Not only PDGFR $\beta$  but also NG2 was localized in septoclasts from embryo at E15 to postnatal mice at P1w. **Discussion:** We revealed that septoclasts are differentiated from pericytes with E-FABP-expression in the tibiae at early period of E15. Our results also suggest that septoclasts are involved in the blood vessel invasion during the formation of primary ossification center.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D10 Keap1 遺伝子欠損は IRF-8 と MafB の発現上昇を介して破骨細胞分化を抑制する

---

○坂井 詠子<sup>1</sup>, 城戸 瑞穂<sup>2</sup>, 福岡 裕<sup>1</sup>, 西下 一久<sup>1</sup>, 岡元 邦彰<sup>3</sup>, 筑波 隆幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>佐賀大 医 組織神経解剖

<sup>3</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

---

【目的】 Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) は、抗酸化酵素群の発現を制御する転写因子である Nuclear factor E2 p45-related factor 2 (Nrf2) に結合する細胞質タンパクである。酸化ストレス下では、Keap1 のシステイン残基が酸化されると Nrf2 は分解から免れ、核へ移行し第 2 相抗酸化酵素遺伝子の転写を促進する。我々はこれまでに Keap1 遺伝子欠損によって破骨細胞分化が顕著に抑制されることを見出した。本研究では、Keap1 を介した破骨細胞分化抑制の分子メカニズムを明らかにする目的で行った。【方法】破骨細胞分化を野生型、Keap1 遺伝子欠損マウス、および Nrf2 遺伝子欠損マウスを用いて比較した。TRAP 染色、リアルタイム PCR、ウェスタンブロッティングを行った。【結果と考察】Keap1 遺伝子欠損では TRAP 陽性多核破骨細胞の顕著な形成阻害が認められたが、Nrf2 遺伝子欠損では破骨細胞形成の亢進が認められた。破骨細胞分化に重要な転写因子である NFATc1 のタンパク発現が Keap1 遺伝子欠損では顕著な減少として認められ、逆に Nrf2 遺伝子欠損では NFATc1 のタンパク発現の上昇が認められた。また Keap1 遺伝子欠損では、NFATc1 の発現を負に制御する interferon regulatory factor-8 (IRF-8) と MafB の発現の顕著な増加と、それらを負に制御している Blimp1 の発現減少が見られ、Nrf2 遺伝子欠損では逆の効果が観察された。さらに Keap1 遺伝子欠損では peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\beta$  と複数のミトコンドリア酵素遺伝子の発現も抑制されていた。これらの結果より、酸化ストレス制御システムである Keap1/Nrf2 がミトコンドリアの生合成経路を介して IRF-8 を抑制し、さらに Blimp1 による IRF-8 と MafB の発現制御を介して NFATc1 の発現に作用し、破骨細胞分化を抑制している可能性が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Kelch-like ECH-associated protein 1 gene deletion inhibits osteoclast differentiation via up-regulation of interferon regulatory factor-8 and MafB

---

○Sakai E<sup>1</sup>, Kido MA<sup>2</sup>, Fukuma Y<sup>1</sup>, Nishishita K<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>3</sup>, Tsukuba T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>2</sup>Dept Anat & Physiol, Saga Univ Fac Med

<sup>3</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

**Background and purpose** Keap1 is a Nrf2-binding protein that suppresses the activation of Nrf2, a master transcription factor of anti-oxidative stress enzymes. Upon exposure to oxidative stress, oxidation of Keap1 cysteine residues inhibits Nrf2 degradation, stimulates Nrf2 nuclear translocation and induces the expression of phase II antioxidant enzymes. Our recent studies have demonstrated that deletion of Keap1 gene significantly inhibits osteoclastogenesis. In this study, we investigated the molecular mechanisms of Keap1-mediated suppression of osteoclastogenesis. **Methods** Osteoclast differentiation was evaluated using wild-type, Keap1-deficient, and Nrf2-deficient mice. TRAP-staining, QPCR, and western blot analysis were performed. **Results and discussions** Formation of TRAP-positive multinucleated osteoclasts was suppressed in Keap1-deficient cells, while that was increased in Nrf2-deficient cells. Gene expression of Irf8 and MafB, negative regulator of NFATc1, was significantly up-regulated, and Blimp1, negative regulator of IRF-8 and MafB, was down-regulated in Keap1-deficient cells. Moreover, gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\beta$  (PGC1 $\beta$ ) and several mitochondrial enzymes was down-regulated in Keap1-deficient cells. These results suggest that the Keap1/Nrf2 axis has crucial roles in osteoclastogenesis affecting the expression of NFATc1 via mitochondria/IRF-8 and Blimp1/IRF-8/MafB pathways. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D11 JAK 阻害薬は骨芽細胞の RANKL 発現を抑制し、破骨細胞の分化を阻害する

---

○村上 康平<sup>1</sup>, 上原 俊介<sup>1</sup>, 高橋 直之<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>1</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 口腔生化

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

---

【目的】Janus Kinase (JAK) は I 型および II 型サイトカイン受容体に結合し、シグナル伝達を担う。哺乳類では JAK1, JAK2, JAK3, Tyrosine Kinase 2 の 4 種類が知られており、近年、JAK 阻害薬は抗サイトカイン治療薬として注目されている。JAK1/2 阻害薬である baricitinib や汎 JAK 阻害薬である tofacitinib はマウス関節炎モデルの骨破壊を抑制するが、その機序は十分には解明されていない。そこで我々は、破骨細胞の分化に対する JAK 阻害薬の影響を検討した。

【方法・結果】(1) 活性化ビタミン D<sub>3</sub> (1,25D<sub>3</sub>) とプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 存在下で、マウス骨髄細胞と骨芽細胞を共存培養すると破骨細胞が形成される。ここに baricitinib または tofacitinib を添加したところ、濃度依存的に破骨細胞の分化は阻害された。(2) 一方、baricitinib と tofacitinib は M-CSF と RANKL で誘導する破骨細胞の分化を阻害しなかった。つまり、JAK 阻害薬は骨芽細胞に作用することが示唆された。(3) マウス骨芽細胞培養に JAK 阻害薬を添加したところ、1,25D<sub>3</sub> と PGE<sub>2</sub> で増加する RANKL の発現は抑制された。(4) RNA 干渉により JAK1 または JAK2 をノックダウンした結果、1,25D<sub>3</sub> と PGE<sub>2</sub> で増加する RANKL 発現は抑制され、共存培養系における破骨細胞の分化は阻害された。(5) 共存培養系の JAK 阻害薬による破骨細胞の分化阻害は、RANKL を添加することにより回復した。(6) 共存培養系の培地に含まれるサイトカインを抗体アレイで解析したところ、1,25D<sub>3</sub> と PGE<sub>2</sub> は JAK を介したシグナル伝達を行う Interleukin-6 (IL-6), IL-11, leukemia inhibitory factor (LIF) の分泌を促進させた。(7) 1,25D<sub>3</sub> と PGE<sub>2</sub> は IL-6, IL-11, LIF の下流シグナルである STAT3 を活性化させ、JAK 阻害薬はそれを阻害した。

【結論】JAK 阻害薬は骨芽細胞の RANKL 発現を抑制することで、破骨細胞の分化を阻害する。(非会員研究協力者 信州大学医学部 中村幸男) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## JAK inhibitors inhibit osteoclast differentiation via suppressing RANKL expression in osteoblasts

---

○Murakami K<sup>1</sup>, Uehara S<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>1</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

Janus kinases (JAKs) are hubs in the signaling process of more than 50 cytokine or hormone receptors. However, the function of JAK in bone metabolism remains to be elucidated. Here, we showed that the inhibition of JAKs in osteoblast-lineage cells led to impaired osteoclastogenesis due to the reduced expression of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL). Co-cultures of bone marrow cells with mouse calvarial osteoblasts induced osteoclast formation in the presence of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1,25D<sub>3</sub>) and prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Treatments with JAK1/2 inhibitor baricitinib or pan JAK inhibitor tofacitinib markedly inhibited osteoclastogenesis in the co-culture. On the other hand, the JAK inhibitors did not inhibit RANKL-induced osteoclast formation in bone marrow macrophage cultures. These results indicated that the JAK inhibitors acted on osteoblasts, but not on bone marrow macrophages. JAK inhibitors suppressed 1,25D<sub>3</sub> and PGE<sub>2</sub>-induced up-regulation of RANKL expression in osteoblasts. Moreover, the addition of recombinant RANKL to the co-culture completely rescued the impairment of osteoclastogenesis treated with JAK inhibitors. Additionally, shRNA-mediated knockdown of JAK1 or JAK2 suppressed RANKL expression in osteoblasts and inhibited osteoclastogenesis. Hence, JAK1 and JAK2 represent novel therapeutic targets for osteoporosis as well as inflammatory bone diseases including rheumatoid arthritis. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D12 ヘリオキサンチン誘導体による破骨細胞分化抑制

---

○天野 均, 岩城 太, 大浦 清  
大歯大 薬理

【目的】ヘリオキサンチン誘導体は, MC3T3 細胞の ALP 活性を亢進するスクリーニングにより見出された低分子化合物である. BMP 様作用を持ち骨芽細胞分化・骨形成亢進に関与することが報告されている. 本研究は, ヘリオキサンチン誘導体の *in vitro* での破骨細胞分化過程における影響を明らかにする目的で行った. 【方法と結果】 ddY 系マウスの大腿骨, 脛骨から調整した造血幹細胞に, 培養開始時よりヘリオキサンチン誘導体を 1, 2, 5  $\mu$ M 添加したものと, 非添加の対照群とに分け 37°C 5% CO<sub>2</sub>, 95% air 気相下にて培養した. CSF-1 と RANKL を共添加し 6 日間培養後, 破骨細胞を同定した. ヘリオキサンチン誘導体添加群において TRAP 陽性多核細胞及び F アクチンリングを有する細胞の大きさ, 数ともに濃度依存的に減少した. また, 培養上清中の NO 濃度が濃度依存的かつ時間依存的に上昇した. NO のシグナル伝達経路を阻害するグアニル酸シクラーゼ作用阻害剤の ODQ を添加したところ, 破骨細胞分化抑制が解除された. NOS 阻害薬 L-NAME 存在下でも同様の効果が認められたことから, ヘリオキサンチン誘導体による破骨細胞分化阻害に外来性の NO が関与している可能性が示唆された. 【結論】ヘリオキサンチン誘導体には, *in vitro* での破骨細胞の分化過程を抑制する効果があることがわかり, 骨形成を促進し, 骨吸収を抑制する理想的な骨粗鬆症治療薬につながる可能性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## Effect of a helioxanthin-derivative (TH) on osteoclast differentiation

---

○Amano H, Iwaki F, Ohura K

Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ

A helioxanthin-derivative, 4-(4-methoxyphenyl)pyrido[4, 3: 4, 5]thieno[2, 3-b]pyridine-2-carboxamide (TH), induced osteogenic differentiation in MC3T3-E1 cell. The combination of TH and bone morphogenetic protein (BMP) 2 induced the mRNA expression of osteoblast marker genes and calcification in primary fibroblasts. We examined whether TH could inhibit osteoclast differentiation *in vitro*. Using the hematopoietic stem cells of ddY mice, TH (1-5  $\mu$ M) was added to the culture in the experimental group, and the number of osteoclasts was measured with rhodamine phalloidin staining and TRAP staining. In osteo assay, bone resorption area was compared by the von Kossa staining. TH has been demonstrated that transient increase of NO is deeply involved in osteoclast differentiation. The number of TRAP-positive multinucleated cells and F-actin rings were both decreased depending on TH concentration. The bone resorption area was reduced in a concentration-dependent manner of TH. In order to verify the pharmacological action, inhibition recovery experiment was conducted by adding soluble guanylyl cyclase inhibitor (ODQ) in osteoclast formation process. Inhibitory effect of TH on osteoclastogenesis was blocked by addition of ODQ. These results suggest that both action of TH induced NO inhibit osteoclast differentiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D14 ケモカイン CCL25 投与が乳幼児期マウス骨形成に与える影響

---

○雪田 聡<sup>1</sup>, 二宮 禎<sup>3</sup>, 細矢 明宏<sup>4</sup>, 中村 浩彰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>静岡大 院教育 理科

<sup>2</sup>松歯大 歯 口腔解剖

<sup>3</sup>松歯大 総歯研 硬組織形態解析

<sup>4</sup>北医療大 歯 組織

---

CCL25 (TECK)は胸腺に発現しているケモカインの一種であり、受容体である CCR9 を介したりンパ球の誘引により免疫の発達に関与している。近年、CCL25 がマウス及びヒトの母乳中に含有されていることが確認され、CCL25 を含有した人工ミルクを投与した乳幼児期マウスと非投与群とを比較した結果、CCL25 は乳幼児期の免疫発達を促進する効果があることが示唆された。すなわち、乳汁中に含まれる CCL25 は乳幼児の成長に重要な生理活性物質であると考えられる。骨組織は乳幼児期において大きく成長し、免疫にも関与する。そこで本研究では CCL25 が乳幼児期マウスの骨組織形成に与える影響を検討した。

まず、CCL25 及び CCR9 遺伝子の骨組織における発現を検討した結果、両遺伝子が骨組織において発現している事、乳幼児期では CCL25 投与によりその発現が上昇することを見出した。乳汁中 CCL25 の役割を知るため、サイトカインなどの生理活性物質を含まない人工ミルクを作成して生後 3 日から 10 日までの 8 日間、3 時間ごとに人工的に哺育する人工哺育実験を行った。CCL25 を含有した人工ミルク投与群とコントロール群とで骨組織の長さ、重量、骨量、骨芽細胞および破骨細胞のマーカー遺伝子の発現量と単位面積当たりの細胞数を計測した。本発表では、これらの結果を踏まえ、母乳中に含まれるケモカインが乳幼児期の骨組織成長に影響を与えうるのかについて論じる。

(学会員外共同研究者：茶山和敏 (静岡大・院総合・農学)、夏目真帆 (静岡大・教育・総合科学)、前田久留実 (静岡大・院教育・理科)、佐野隆之 (静岡大・教育・総合科学))

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The effect of administration of CCL25 on bone development during early childhoods

---

○Yukita A<sup>1</sup>, Ninomiya T<sup>3</sup>, Hosoya A<sup>4</sup>, Nakamura H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Educ, Shizuoka Univ

<sup>2</sup>Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>4</sup>Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

The chemokine CCL25 (Chemokine (C-C motif) Ligand 25), which is also called as TECK (Thymus-Expressed Chemokine), is involved in the development of immune system. A recent study shows that CCL25 is included in human and mouse milk and that CCL25 promotes the immune development in young mice. These results show that CCL25 is an important components of milk for normal development during early childhoods. In this study, we attempt to investigate the importance of CCL25 for bone formation during early childhoods. First, we tested gene expression level of CCL25 and its receptor, CCR9. Reverse-Transcription PCR assays showed that these genes are expressed in bone tissue and that oral administration of CCL25 to young mouse enhances the expression of these genes. Next, we investigated the effect of CCL25 on bone formation. Two days old mouse pups were fed the formula-milk with or without CCL25 for 8 days, then, the length of their tibia and femur, expression of osteoblast and osteoclast marker genes, numbers of osteoblast and osteoclast, and bone mineral density were estimated. In this presentation, we will present results of these estimation and discuss whether CCL25 is an important component of milk for bone formation during early childhoods.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O2-D15 ゼレドロン酸投与が骨細胞マーカー Dmp1 に及ぼす影響について

○社領 美紀<sup>1</sup>, 佐藤 淳<sup>1</sup>, 宇佐美 悠<sup>1</sup>, 廣瀬 勝俊<sup>1</sup>, 大家 香織<sup>2</sup>, 小守 壽文<sup>3</sup>, 豊澤 悟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔病理

<sup>2</sup>阪大病院 検査

<sup>3</sup>長大 院医歯薬 細胞生物

【目的】ビスフォスフォネート (BP) 投与患者では, BP 関連顎骨壊死 (BRONJ) や非定型大腿骨骨折 (AFF) が発生し, BP の骨吸収抑制作用がその発生に関与すると考えられている. 骨吸収抑制により骨代謝回転が低下すると死滅する骨細胞が増加するため, 骨代謝制御の中心となる骨細胞数が減少した骨質の評価は, BRONJ や AFF 発生の前段階として重要と考えられる. 本研究では, 骨細胞が特異的に産生する Dmp1 が, BP 投与による骨質評価に有用な骨代謝マーカーになる可能性を検討するため, ゼレドロン酸 (ZOL) 投与による血中 Dmp1 値の変化を既知の骨代謝マーカーと共に検討した. 【方法】生後 8 週齢 SD 系ラット (♂) に ZOL (低用量群: 10  $\mu$ g/kg, 高用量群: 100  $\mu$ g/kg) を週 1 回で 4 週間, 皮下投与した. 投与 2, 4 週目に採取した血液は, 各種の骨代謝マーカー (破骨細胞: TRAP5b, 成熟骨芽細胞: OC, 骨細胞: Dmp1) の ELISA にて測定した. 投与 5 週目に脛骨および顎骨を採取し, 形態学的検討を行った. 【結果と考察】ZOL 投与群の骨組織標本には, 骨表層から剥離またはアポトーシスに陥った破骨細胞や, 骨梁の増加が認められ, 骨吸収抑制現象がみられた. 骨代謝マーカーは, 投与 2 週目の低用量群で TRAP5b が 47%, OC が 75%, Dmp1 が 45% 減少し, 高用量群で TRAP5b が 44%, OC が 69%, Dmp1 が 49% に減少した. 投与 4 週目の低用量で TRAP5b が 68%, OC が 74%, Dmp1 が 62% 減少し, 高用量で TRAP5b が 68%, OC が 74%, Dmp1 が 54% に減少した ( $p < 0.01$ ). このように, Dmp1 は骨細胞が産生する骨基質であり, 骨形成系マーカーに分類されると考えられるが, OC より骨吸収系の TRAP5b に類似して著しい低下し, 骨代謝回転の抑制を検知する高感度の指標となることが示唆された. 本研究の一部は, 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の橋渡し研究加速ネットワークプログラムの支援によって行われた.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

## Change of serum Dmp1 level in rats treated with bisphosphonate administration

○Sharyo M<sup>1</sup>, Sato S<sup>1</sup>, Usami Y<sup>1</sup>, Hirose K<sup>1</sup>, Oya K<sup>2</sup>, Komori T<sup>3</sup>, Toyosawa S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Dent

<sup>2</sup>ClinLabo, Osaka Univ Dent Hosp

<sup>3</sup>Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Bisphosphonate (BP)-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) and atypical femoral fracture is rare complications in patients who are treated with BP. Despite their pathogenesis is not fully understood, it may be associated with over-suppression of bone resorption by antiresorptive agent BP. However, the good marker for monitoring the over-suppression of bone resorption in the BP-related diseases is still unknown. Under low bone-metabolic rotation, the number of dead osteocytes is reported to increase. Dmp1 is bone matrix protein, which produced specifically by osteocytes. Then we investigated the usefulness of circulating Dmp1 for monitoring the over-suppression of bone resorption. Twenty-four male SD rats were divided into two zoledronic acid (ZOL)-treated groups and a control group. ZOL was injected subcutaneously at dose of 10 or 100  $\mu$ g/kg for 4 weeks at once per a week. The serum samples were collected at 2 and 4 weeks after the first injection. The serum values of Dmp1, OC and TRAP-5b, were determined by ELISA. In ZOL groups, serum level of Dmp1 was drastically decreased, compared to those of OC and TRAP-5b. In conclusion, circulating Dmp1 may be the potential bone metabolic marker to monitor over-suppression of bone resorption (that is, prior warning of BRONJ).

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O2-D16 骨芽細胞の分化におけるプロテインホスファターゼ PP2A $C\alpha$ の役割とその標的因子

---

○岡村 裕彦<sup>1</sup>, 吉田 賀弥<sup>2</sup>, 内部 健太<sup>1</sup>, 池亀 美華<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔形態

<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健教育

---

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  $C\alpha$ ) を中心に三量体を形成し、様々な蛋白質の脱リン酸化に関与する。今回我々は、骨形成および骨芽細胞分化における PP2A  $C\alpha$  の役割について検討した。[方法] 1. 骨特異的にドミナントネガティブ PP2A  $C\alpha$  を発現したマウス (PP2A-Tg) の体重、骨量を調べた。2. 骨分化誘導培地で培養した MC3T3-E1 細胞において PP2A  $C\alpha$  の発現と PP2A 活性を調べた。3. PP2A  $C\alpha$  の発現を抑制した MC3T3-E1 細胞 (shPP2A) を樹立し、リアルタイム PCR, ALP 染色, alizarin red 染色を用いて、骨芽細胞分化能を調べた。4. 骨に必須の転写調節因子 Dlx5 および Runx2 と Osterix の転写活性との関連についてルシフェラーゼアッセイにより解析した。5. PP2A  $C\alpha$  の標的因子について質量分析法を用いて調べた。[結果と考察] PP2A-Tg マウスは野生型に比べて、体重、骨量および骨髄内脂肪量の増加が認められた。骨芽細胞分化に伴い PP2A  $C\alpha$  の発現および PP2A 活性が低下した。shPP2A 細胞では Osterix, Bone sialoprotein, Osteocalcin 等の骨分化マーカーの発現が増加し、骨芽細胞分化能が亢進した。Dlx5 および Runx2 は shPP2A 細胞で高発現しており、Osterix の転写活性を促進した。PP2A  $C\alpha$  の標的因子として GSK-3 $\beta$  と Calreticulin を同定した。以上の結果から、PP2A  $C\alpha$  は、骨関連因子および GSK-3 $\beta$  を介して骨芽細胞分化と骨形成を調節する重要な因子であることが分かった。

**[利益相反]** 利益相反状態にはありません。

---

### The role of PP2A Calpha in osteoblast differentiation and its target factors

---

○Okamura H<sup>1</sup>, Yoshida K<sup>2</sup>, Uchibe K<sup>1</sup>, Ikegame M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Dept Oral Health Edu Tokushima Univ Grad Sch Med Dent Pharm

---

The serine/threonine protein phosphatase 2A (PP2A) regulates many important physiological processes. In this study, we investigated the roles of alpha-isoform of PP2A catalytic subunit (PP2A Calpha) in bone formation and osteoblast differentiation. Transgenic mice that specifically express dominant negative PP2A Calpha in osteoblastic cells showed higher cortical bone mineral density and increase in body weight. In vitro study, the expression and phosphatase activity of PP2A Calpha decreased during osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells. To further clarify the role of PP2A Calpha in osteoblast differentiation, we established PP2A knockdown cells (shPP2A) by infecting lentivirus particles expressing shRNA specific for PP2A Calpha. shPP2A cells showed accelerated osteoblast differentiation with the upregulation of bone-related genes such as Osterix, Bone sialoprotein, and Osteocalcin. Transcriptional activity of Osterix promoter region was higher in shPP2A cells than that of the control cells, which was controlled by transcription factors Dlx5 and Runx2. Using immunoprecipitation and Mass spectrometry, GSK3beta and Calreticulin were identified as target factor of PP2A Calpha. Phosphorylation of GSK3beta (inactive form) increased in shPP2A cells, leading to upregulation of beta-catenin. Our results indicate that PP2A Calpha plays important roles in the regulation of bone formation and osteoblast differentiation through the GSK3beta/beta-catenin pathway.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D17 KLF4 は一次繊毛の形成・維持及び繊毛を介するシグナルに作用し骨芽細胞の分化を抑制する

---

○鬼頭 昭吉<sup>1,2</sup>, 竹内 優斗<sup>1</sup>, 阿部 真土<sup>1</sup>, 脇坂 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔解剖 1

<sup>2</sup>阪大 院歯 歯病障害歯

---

一次線毛は周囲環境から様々なシグナルを受容するための、細胞におけるいわばアンテナの役割を担う。一次線毛は Hedgehog や Notch などのシグナル受容に必須の役割を持っており、線毛の形成異常は線毛病 (ciliopathy) と呼ばれる一連の先天性の形態異常の原因となる。正常骨格発生においても、骨芽細胞における線毛形成が必須であり、線毛を介して伝達されるいくつかのシグナリングについて、精巧なバランスを保つことの重要性が示唆されている。しかしながら線毛形成が骨芽細胞遺伝子による制御を受けているのか、等の基本的な問題においても、いまだ不明な点が多い。Kruppel-Like Factor 4 (KLF4) は骨芽細胞分化を強力に抑制する因子であるが、今回 KLF4 により、培養骨芽細胞においてアセチル化チューブリン陽性の一次線毛形成が、コントロールに比べて亢進することを見出した。また血清除去により線毛形成を促した後に再度血清を培地に添加した際も、線毛の消退がコントロールに比べ緩徐であった。KLF4 による Hedgehog や Notch の下流因子の発現変化を検討したところ、Hedgehog 経路は阻害されていたのに対し Notch 経路は活性化されていた。また KLF4 による骨芽細胞分化の抑制は、Smo アゴニストの作用、また Notch シグナリングの阻害によっても部分的な回復が見られた。以上の結果から KLF4 は一次線毛の維持に寄与するものの、この線毛から伝達されるシグナルは選択的に活性もしくは抑制されており、シグナリングのバランスに作用することが示唆された。さらにこれら線毛より発するシグナルが、KLF4 の骨芽細胞分化抑制に寄与していることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Kruppel-Like factor 4 regulates osteoblast differentiation through regulating cilia-mediated signaling

---

○Kito A<sup>1,2</sup>, Takeuchi Y<sup>1</sup>, Abe M<sup>1</sup>, Wakisaka S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Kruppel-Like Factor 4 (KLF4) is a zinc finger type of transcription factor which is indispensable for normal development and homeostasis of various organs. Recent evidence indicated that KLF4 negatively regulates osteoblast maturation through repressing the transcription of bone matrix genes. However, the way KLF4 alters so many numbers of gene expressions is largely unknown. Here, we show that KLF4 regulates primary cilia formation and maintenance in cultured osteoblasts. When calvarial osteoblasts were cultured without changing the media for 72 hours, KLF4-induced cells showed significantly higher percentages of ciliated cells. Further, when cilia regression was examined by recovery of the serum, the rate of cilium regression was reduced in KLF4-induced cells. KLF4 differently regulated the cilia-mediated signaling; Hedgehog signaling was repressed while Notch signaling was augmented. Inducing Hedgehog signaling or inhibiting Notch signaling by chemical compounds in KLF4-induced osteoblasts partially restored its differentiation. Our results indicate that KLF4 regulates osteoblast differentiation by affecting the balance of the signal strength initiating from the primary cilia.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-D18 3次元培養骨髄間葉系幹細胞集塊 Clumps of an MSC/ECM complex の細胞分化を制御するメカノトランスダクション機構の解析

---

○小松 奈央, 加治屋幹人, 藤田 剛, 栗原 英見

広大院医歯薬保 歯周

【目的】 Clumps of an MSC/ECM complex (C-MSC)は3次元培養で骨髄間葉系幹細胞 (MSC) と細胞自身が産生する細胞外基質 (ECM) で構成された細胞集塊であり, 効果的な骨再生能を示す (Cytotherapy, 2015). 一方, 細胞を取りまく基質の固さ, 浮遊状態などがメカノトランスダクションを誘導し, 転写制御因子 YAP/TAZ を介して MSC の分化が制御されている. 本研究では, C-MSC 内におけるメカノトランスダクションの機能と細胞分化への影響を明らかにする. 【方法】 ヒト MSCs を 24-well plate に  $2.0 \times 10^5$  cells/well で播種し, アスコルビン酸含有の増殖培地で4日間培養し十分な ECM を産生させた. これを鈍的に剥離し, 細胞シート状態で浮遊させ, さらに培養を継続して C-MSC を得た. または, この C-MSC 作製過程から骨分化誘導培地による培養に変更して骨分化誘導を施された C-MSC (OIM-C-MSC) を作製した. この培養過程における C-MSC および OIM-C-MSC について, F-actin の形態, YAP/TAZ の局在と活性, 分化能を解析した. 【結果と考察】 C-MSC 作製過程における浮遊培養状態では, F-actin の脱重合が促進した. これと一致して, 経時的な YAP/TAZ の核外移行, 発現量の低下, 転写活性の低下を認めた. さらに, C-MSC は骨分化能より脂肪・軟骨分化能が高かった. しかし, F-actin の脱重合を阻害したところ, YAP/TAZ 活性が増加し, 脂肪・軟骨分化能が低下し, 骨分化能が上昇した. 一方, OIM-C-MSC は豊富な I 型コラーゲンで形づくられており, 高い YAP/TAZ 活性を示した. この YAP/TAZ 活性は, Integrin $\beta$ 1 siRNA 導入, もしくは F-actin 重合阻害剤によって抑制された. 以上から, C-MSC では浮遊培養状態であることがメカノトランスダクションを生じ, YAP/TAZ の核外移行を促進し, その活性を減弱させる可能性が示された. さらに, OIM-C-MSC では豊富な I 型コラーゲンを足場とすることで, F-actin の伸展を介して YAP/TAZ 活性の低下が減弱したと考えられる. 【利益相反】 利益相反状態にあります.

---

### Mechanotransduction in 3D culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex regulates the cell fate

---

○Komatsu N, Kajiya M, Fujita T, Kurihara H

Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

**Purpose:** Three-dimensional culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex (C-MSC) can induce tissue regeneration (Cytotherapy, 2015). Mechanical cues, such as stiffness of ECM or floating condition, cause mechanotransduction to regulate the transcriptional factor YAP/TAZ activity, which plays a role in the MSCs differentiation. Accordingly, we have investigated the YAP/TAZ signaling as the mechanotransducer in C-MSC. **Methods:** MSCs were seeded at a density of  $2.0 \times 10^5$  cells/well into 24-well plates and cultured with growth medium supplemented with L-ascorbic acid for 4 days. To obtain C-MSC, the cellular sheet composed of confluent cells was scratched at the edge and torn off. The cellular sheet then curled up and became round clumps of cells in three-dimensional culture. The YAP/TAZ activity, F-actin bundle formation, and the differentiation potency in C-MSC cultured with growth medium or osteo-inductive medium were analyzed. **Results & Conclusion:** YAP/TAZ activity in C-MSC was downregulated in accordance with actin depolymerization. Moreover, adipogenic/chondrogenic rather than osteogenic potential were enhanced in C-MSC. On the other hand, osteo-inductive medium elevated the amount of ECM to stimulate Integrin $\beta$ 1-ROCK-F-actin signaling, which resulted in the activation of YAP/TAZ in C-MSC. These findings suggested that YAP/TAZ play a role as the mechanotransducer to regulate cell fate in C-MSC.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## O2-E1 細胞内におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の役割

---

○江口 傑徳<sup>1,2,5</sup>, 奥舎 有加<sup>1</sup>, 中野 敬介<sup>3</sup>, 久保田 聡<sup>4</sup>, 滝川 正春<sup>2</sup>,  
カルダーウッドスチュアート<sup>5</sup>, 小崎 健一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>岡大 歯先端研セ

<sup>3</sup>岡大 院医歯薬 口腔病理

<sup>4</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化

<sup>5</sup>ベスイスラエル・ディーコネス医療セ, ハーバード大 医

---

MMP は、細胞外マトリクスや細胞外シグナルを調整するタンパク質分解酵素 (プロテアーゼ) として認知されてきた。私達は、軟骨における結合組織成長因子 (CTGF/CCN2) 遺伝子の転写調節因子を探索した結果、細胞内 MMP3 の転写因子としての役割を同定し、これを報告してきた (Eguchi T et al., 2008)。その後さらに、神経細胞の酸化ストレスやウイルス感染において、いくつかの MMP ファミリーメンバーが細胞内で何らかの機能を持つことが報告されている。最近、HSP 遺伝子群もまた細胞内 MMP3 の転写ターゲットであることが明らかになった (Eguchi T et al., 2017)。これらの知見に加え、本学会では、癌における細胞内 MMP の役割についてもお話ししたい。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### An intracellular role for Matrix metalloproteinases (MMPs)

---

○Eguchi T<sup>1,2,5</sup>, Okusha Y<sup>1</sup>, Nakano K<sup>3</sup>, Kubota S<sup>4</sup>, Takigawa M<sup>2</sup>, Calderwood SK<sup>5</sup>,  
Kozaki K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch

<sup>3</sup>Dept Oral Pathol Med, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>4</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>5</sup>BIDMC, Harvard Med Sch

---

Matrix metalloproteinases (MMPs) have been recognized as a proteinase of extracellular matrix and signaling. We searched a transcription factor that regulates connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) gene in chondrocytes and cartilage and identified a novel role for intracellular MMP3 as a transcription factor (Eguchi T et al., 2008). Thereafter, roles for intracellular MMPs in oxidative stress in neurons and viral infection have been shown. Recently, it was clarified that heat shock protein genes (HSPs) are also transcriptionally targeted by intracellular MMP3 (Eguchi T et al., 2017). In addition to these findings, in the present meeting, I will talk about a role for the intracellular MMP in cancer.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E2 抗アポトーシスタンパク質 MCL1 の安定性制御におけるアセチル化の役割

---

○清水 康平, 犬塚 博之, 福島 秀文, 福本 敏

東北大 院歯 先端再生医学研究セ

---

Bcl-2 ファミリーの抗アポトーシスタンパク質である MCL1 は、口腔がんや白血病、リンパ腫などの様々ながんにおいて高頻度に過剰発現しており、腫瘍化の促進や化学療法に対する抵抗性の獲得に寄与することが知られている。生理的条件下において MCL1 は、ユビキチン・プロテアソーム経路による量的制御とそれに拮抗する脱ユビキチン化酵素によりその発現量が厳密に制御されており、これらの量的制御機構の破綻が MCL1 の過剰な発現を誘導し、細胞のアポトーシス抵抗性獲得・腫瘍化に寄与することが明らかになりつつある。しかしながら、MCL1 の病的過剰発現に至る分子メカニズムには依然として不明な点が多い。そこで今回我々は、MCL1 の新たな翻訳後修飾としてアセチル化に着目し、その安定性制御における役割について解析を行った。

まず、リシン残基の点変異体及び質量分析を用いた解析から、アセチル基転移酵素により触媒される MCL1 のアセチル化部位を同定した。この MCL1 のアセチル化を模倣した KQ-MCL1 変異体は、野生型と比較してユビキチン化レベルが顕著に低下し、タンパク質の安定化を示した。そこで MCL1 の脱ユビキチン化を行う USP9X との相互作用を検証したところ、野生型と比較して KQ-MCL1 変異体との親和性が上昇していた。さらに、KQ-MCL1 変異体において低下したユビキチン化レベルとそれに伴う安定化は、USP9X のノックダウンにより野生型 MCL1 と同等の水準にまで復帰した。また、KQ-MCL1 変異体発現細胞株で観察されたアポトーシス抵抗性は USP9X 阻害剤投与により解除された。

以上のことから、MCL1 のアセチル化は USP9X 依存的な MCL1 の脱ユビキチン化を誘導して MCL1 タンパク質を安定化させ、その結果として細胞のアポトーシス抵抗性を亢進させることが明らかになった。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The role of acetylation in the regulation of MCL1 stability

---

○Shimizu K, Inuzuka H, Fukushima H, Fukumoto S

Cent for Adv Stem Cell and Regen Res, Tohoku Univ

---

MCL1, a critical pro-survival protein of the Bcl-2 family, is frequently overexpressed in many cancers including oral squamous cell carcinoma. Under physiological conditions, protein stability of MCL1 is tightly regulated by post-translational modifications such as phosphorylation, ubiquitination, and deubiquitination, and its dysregulation leads to aberrant expression of MCL1. However, the precise molecular mechanisms of MCL1 overexpression are still poorly understood. Here we report that acetylation is another layer of regulation for MCL1 stability. Mechanistically, we advocate that acetylation of MCL1 leads to increased MCL1 stability through promoting deubiquitination by USP9X deubiquitinase. As a result, MCL1 oncogenic function is enhanced, whereby cells expressing an acetylation-mimetic KQ mutant confer apoptosis resistance and promote tumorigenesis in vivo. Moreover, in keeping with these findings, we found that enhanced anti-apoptotic function of KQ-MCL1 can be canceled by USP9X inhibitor. Thus, our study identifies an acetylation-dependent regulatory mechanism governing MCL1 stability in concert with deubiquitination.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E3 悪性黒色腫の顎骨浸潤と転移における BMP シグナルの役割

---

○小川 昌洋<sup>1</sup>, 古株彰一郎<sup>1</sup>, 中富 千尋<sup>1</sup>, 松原 琢磨<sup>1</sup>, 渡邊 誠之<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九歯大 生化

<sup>2</sup>九歯大 麻酔

<sup>3</sup>九大 院歯 OBT セ

---

【背景・目的】悪性黒色腫は口腔粘膜にも発生する最も悪性度の高い癌の一つで早期に周囲組織に浸潤し転移する。BMP (bone morphogenetic protein) は異所性骨を誘導する因子として発見されたが、現在までに細胞の増殖・分化、アポトーシスなど多彩な生命現象を担っている。さらに BMP は癌の浸潤や転移における上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) と関連することが知られ、とりわけ悪性黒色腫の EMT に BMP が関与する報告があるがそのメカニズムには不明な点が多い。そこで本研究ではマウス悪性黒色腫細胞株 B16 細胞の EMT における BMP シグナルの役割を検討した。【方法・結果】まず B16 細胞を BMP2 で処理し経時的に細胞の形態を観察した。すると B16 細胞は BMP2 の濃度依存的に間葉系細胞様形態に変化した。この形態変化は BMP4 処理や構成的活性型 BMP 受容体の過剰発現によっても誘導されたが、BMP 受容体キナーゼ阻害剤 (LDN193189) 処理により形態変化は起きなくなった。また、BMP2 処理により上皮マーカーの E-cadherin の発現が低下し、逆に間葉系マーカーの N-cadherin, Vimentin などの発現が増加した。次にトランスウェル上層で B16 細胞培養し下層に Vehicle または BMP2 を添加したところ、上層から下層に遊走・浸潤した細胞数は BMP2 添加群で優位に多かった。さらにマトリクスメタロプロテアーゼ MMP9 の発現量と酵素活性を検討すると BMP 処理した B16 細胞で MMP9 の発現量と酵素活性の上昇を認めた。【考察・結論】BMP シグナルは B16 細胞の間葉系細胞様性質の獲得、すなわち EMT を誘導することが明らかとなった。また EMT を起こした結果、癌の浸潤や転移の形成に重要な細胞の遊走・浸潤能の獲得やタンパク質分解酵素 MMP9 の活性化が亢進されたと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Role of the BMP signal in jawbone invasion and the metastasis of the malignant melanoma

---

○Ogawa M<sup>1</sup>, Kokabu S<sup>1</sup>, Nakatomi T<sup>1</sup>, Matsubara T<sup>1</sup>, Watanabe S<sup>2</sup>, Jimi E<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Dent Anesthesiol, Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>OBT Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Malignant melanoma (MM), one of the most aggressive neoplasms, invades surrounding tissue and develops distant metastasis at an early stage. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is the process by which cells lose epithelial characteristics and acquire mesenchymal phenotypes. Bone morphogenetic proteins (BMPs) are multifunctional cytokines, originally discovered as factors inducing ectopic bone formation, that regulate essential cellular events such as proliferation, differentiation, and apoptosis. BMPs are also known to be involved in EMT and are one of the autocrine factors in MM. Thus, in this study, we examined the role of BMPs in EMT of B16 mouse MM cells. BMP2 treatment caused the morphological change of B16 cells into mesenchymal-like shapes. B16 cells treated with BMP2 showed increased mRNA levels of mesenchymal marker genes such as N-cadherin and Vimentin and decreased expression of epithelial marker genes such as E-cadherin. Furthermore, production and activity of the major gelatinase, MMP-9, increased in B16 cells treated with BMP2. Taken together, BMP signaling induces EMT of B16 MM cells and in the results, the cells acquired a migration capacity and increased the production of MMP9, which are important processes in the invasion and metastasis of carcinogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E4 癌における Ets1 ファミリー分子の機能解析

---

○斉藤 正夫

山梨大 院 医学教育セ, 生化学

---

がん細胞における Ets1 の発現異常などは, これまでにも多数報告されている. 今回, 我々は, Ets1 ファミリー分子の Ets1 や ESE1 が非常にユニークな発現特性を示すこと, ならびにお互いどうし調節し合いながら, EMT 調整因子の ZEB1 の発現を制御していることを見いだした. 本実験は乳癌細胞を用いたものであり, 現在口腔癌細胞で詳細に解析を行っている.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### The roles of Ets1 and ESE1 in cancer cells

---

○Saitoh M

Dept Biological Chem, Univ Grad Sch Med Univ Yamanashi

---

The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a crucial morphological event that occurs during progression of epithelial tumors. We reported previously that levels of the  $\delta$ EF1 family proteins (ZEB1/ $\delta$ EF1 and ZEB2/SIP1), key regulators of the EMT, are positively correlated with EMT phenotypes and aggressiveness of breast cancer. Here, we show that Ets1 induces ZEB expression and activates the ZEB1 promoter, independently of its threonine 38 phosphorylation status. In the basal-like subtype of breast cancer cells, siRNAs targeting Ets1 repressed expression of ZEBs and partially restored their epithelial phenotypes and sensitivity to anti-tumor drugs. ESE1, a member of the Ets transcription factor family, was originally characterized as being expressed in an epithelial-restricted pattern, placing it within the epithelium-specific ETS subfamily. ESE1, highly expressed in the luminal subtype of breast cancer cells, was repressed by activation of MEK-ERK pathway, resulting in induction of ZEBs through Ets1 upregulation. Conversely, Ets1, highly expressed in the basal-like subtype, was repressed by inactivation of MEK-ERK pathway, resulting in reduction of ZEBs through ESE1 upregulation. These findings suggest that ESE1 and Ets1, whose expressions are reciprocally regulated by MEK-ERK pathway, define the EMT phenotype through controlling expression of ZEBs in each subtype of breast cancer cells.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## O2-E5 口腔扁平上皮癌における Snail, Slug の役割の解析

---

○中村 亮介<sup>1,2</sup>, 齊藤 正夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山梨大 院医 生化

<sup>2</sup>市立甲府病院 歯科口腔外科

---

今回我々は、口腔扁平上皮癌細胞における上皮間葉転換(EMT)誘導転写因子(Snail, Slug)の発現特性ならびに機能に関して検討した。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株である HSC4 を用いて実験を行った。まず、siRNA を用いて Snail, Slug の発現をノックダウンして解析したところ、Slug の発現を抑制する事で Snail の発現が上昇し、Snail の発現を抑制すると Slug の発現が上昇する事が、qRT-PCR と Western blot で確認された。また、EMT 誘導因子である TGF- $\beta$  による刺激を加えると、Snail, Slug の発現増加を認めた。TGF- $\beta$  の刺激を加えた状態で Snail, Slug の発現をノックダウンすると、Slug 単独のノックダウンに比べて Slug, Snail 両方をノックダウンした方が、コラーゲンゲルへの癌細胞の浸潤抑制が増強されることが認められた。また、抗癌剤耐性の抑制についても Snail, Slug 単独のノックダウンに比べて Snail, Slug 両方をノックダウンすることで、抑制効果が増強されることが確認された。さらに、Slug を遺伝子導入することで Snail の発現が抑制し、Snail を遺伝子導入することで Slug の発現が抑制する事が確認された。以上の結果より、癌細胞の浸潤と抗癌剤耐性には Snail, Slug の両方が関与しており、それぞれの発現に対して相反的に作用する可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## The roles of Snail and Slug in oral squamous cell carcinoma cells

---

○Nakamura R<sup>1,2</sup>, Saitoh M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biological Chem, Yamanashi Univ Grad Sch Med

<sup>2</sup>Dept Oral and Maxillofac Surg, Kofu Municipal Hosp

---

The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a crucial morphological event that occurs during the progression of epithelial tumors. EMT can be induced by transforming growth factor (TGF)- $\beta$  in some tumor cells through the induction of Snail and Slug, key regulators of EMT. Here, we investigated the expression and function of Snail and Slug in oral squamous cell carcinoma (OSCC). After siRNA against Snail and Slug were transfected into human OSCC HSC-4 cells, we found that Slug siRNAs induce Snail expression, while Snail siRNAs induce Slug expression as determined by qRT-PCR and immunoblotting analyses. As with previous findings, TGF- $\beta$  upregulated the expression of Snail and Slug, and promoted invasive properties of HSC-4 cells. Silencing both Snail and Slug, but not either alone, efficiently suppressed invasion of the cells. Similarly, TGF- $\beta$  induced drug resistance against some anti-cancer agents, which was also inhibited by both siRNAs. Furthermore we found that overexpression of Snail reduced Slug expression, and vice versa. Therefore, these findings suggest that Snail and Slug in cancer cells, in which the expression of both molecules is reciprocally regulated, redundantly affect the abilities of invasion and resistance of anti-cancer agents in cancer progression.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E6 ヒト肺癌(腺癌および肺扁平上皮癌)における Arl4c の発現は癌形成を促進する

---

○藤井 慎介<sup>1</sup>, 清島 保<sup>1</sup>, 松本 真司<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理

<sup>2</sup>阪大 院医 分子病態生化

---

私共は、最近、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルと EGF シグナルの協調的活性化により発現が誘導される形態形成制御因子として低分子量 G 蛋白質 Arf-like small GTP-binding protein (Arl4c) を同定した。多くの癌では Wnt/ $\beta$ -catenin または EGF/Ras-MAPK シグナルが異常活性化しているが、Arl4c の癌での発現と機能は不明である。本研究では、癌、特に肺癌(腺癌および扁平上皮癌)における Arl4c の発現と機能について検討することを目的とした。免疫組織学的に Arl4c がヒト肺腺癌症例において腫瘍組織特異的に高頻度で過剰発現しており、in vitro および in vivo の実験系にて、その発現は肺腺癌細胞の腫瘍形成に必要であった。また、Arl4c の発現は増殖因子(Wnt/ $\beta$ -catenin および Ras-MAPK)シグナルに依存していた。加えて、Arl4c は免疫組織学的に高頻度に肺扁平上皮癌(SCC)症例においても高発現していた。しかし、肺 SCC 細胞株における Arl4c の高発現は増殖因子シグナルに依存せず、Arl4c 遺伝子の 3' 非翻訳領域の CpG が低メチル化状態であった。肺 SCC 細胞株において DNA の脱メチル化を促進する DNA 脱メチル化酵素(TET)をノックアウトすると、Arl4c 遺伝子 3' 非翻訳領域のメチル化が亢進し、Arl4c の発現が減少した。これらの結果から、Arl4c は複数の癌腫において高頻度に高発現し、その発現は増殖因子シグナルまたは DNA メチル化に制御され、癌形成に関与する新たな癌の分子標的となりうる可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にあります。

---

### Arl4c expression promotes tumorigenesis of lung cancer (adenocarcinoma and squamous cell carcinoma)

---

○Fujii S<sup>1</sup>, Kiyoshima T<sup>1</sup>, Matsumoto S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oral Pathol, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ

<sup>2</sup>Dept Mol Biol and Biochem, Grad Sch Med, Osaka Univ

---

We recently demonstrated that expression of Arl4c, an Arf-like small GTP-binding protein, induced by a combination of Wnt/ $\beta$ -catenin and EGF signaling promotes epithelial tubulogenesis. Abnormalities in Wnt/ $\beta$ -catenin and EGF/Ras-MAPK signaling are involved in various human cancers, however, its expression and roles in tumorigenesis are not understood. Arl4c was highly expressed at high frequencies in lung adenocarcinomas immunohistochemically. In lung adenocarcinoma cells, knockdown of Arl4c inhibited proliferation capabilities in vitro and in vivo. Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin and Ras/MAPK signaling reduced Arl4c expression in lung adenocarcinoma cancer cells. We also found that Arl4c was strongly expressed at high frequencies in lung squamous cell carcinoma (SCC). Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin and Ras-MAPK signaling did not affect Arl4c expression in lung SCC cells, but lung SCC cells showed high Arl4c expression with DNA hypomethylation of Arl4c gene. Knockout of ten-eleven translocation (TET) reduced 5hmC levels and Arl4c expression in lung SCC cells. These results suggest that Arl4c could be a new molecular target for cancer therapy, and its expression would be regulated by growth factor signalings or DNA methylation status.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## O2-E7 非コード RNA による口腔癌の進展制御

---

○川久保-安河内 友世<sup>1</sup>, 森岡 政彦<sup>1,2</sup>, 安河内 篤<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>2</sup>, 中島 学<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福岡大 薬 免疫・分子治療

<sup>2</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御

---

マイクロ RNA (miRNA) は、18~25 塩基程度の短鎖非コード RNA (ncRNA) であり、自身の塩基配列と相補性が高い配列をもつ遺伝子の発現制御を担うことで、多彩な生命現象や病態形成に関わっている。現在、タンパク質をコードするヒト遺伝子の 60% 以上が miRNA の制御下にあると考えられており、すべての細胞機能の恒常性維持に必須の因子と言える。また、miRNA は、細胞間コミュニケーションにおいても重要な役割をもつことが明らかにされており、特に、細胞外小胞に含まれている miRNA は、血液などの体液中でも安定な状態で標的細胞に運ばれることから、各種疾患の診断や薬効把握などの創薬ツールとしても期待されている。我々は最近、がん細胞が分泌するエクソソーム (細胞外小胞の一種) が、がん微小環境の構築、特に浸潤・転移能を規定する重要因子を内包している可能性を同一患者由来で転移性の異なる口腔扁平上皮癌細胞株 2 種 (非転移株 SQUU-A, 高転移株 SQUU-B) を用いた実験により明らかにした。そこで、今回、SQUU-B 由来エクソソームに存在する浸潤・転移能規定因子を同定するため、エクソソーム内 miRNA に着目した解析を行った。miRNA-mRNA ペアリング解析を行った結果、SQUU-B のエクソソーム内に存在する浸潤誘導因子としての miRNA およびその標的 mRNA を同定した。さらに、標的 miRNA の導入により、非浸潤・転移株である SQUU-A が浸潤能を獲得することが明らかとなった。これらのことから、腫瘍組織内の多様ながん細胞が分泌するエクソソームには、それぞれ固有の発現パターンを示す miRNA が内包されていること、さらにエクソソームによって運ばれた miRNA は、標的細胞内で遺伝子発現を制御することでがんの微小環境を規定していることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Regulation of oral cancer development mediated by non-coding RNA

---

○Kawakubo-Yasukochi T<sup>1</sup>, Morioka M<sup>1,2</sup>, Yasukochi A<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Nakashima M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ

<sup>2</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

MicroRNAs (miRNAs), small non-coding RNAs oligonucleotides, can regulate at least 60% human genes via mRNA destabilisation or inhibition of translation. There is increasing evidence that miRNAs are involved in the pathogenesis of many diseases, including cancer. Especially, circulating miRNAs encapsulated in exosomes are thought to be important as potential non-invasive diagnostic markers to detect various pathophysiological conditions, because they are protected from degradation by a lipid bilayer. We previously demonstrated the spread of the invasive or metastatic potential between oral squamous carcinoma cell clones, SQUU-A (nonmetastatic) and SQUU-B (highly-metastatic) established from local recurrence events of a tongue cancer, derived from the same tumor mass was mediated by exosomes. Here we challenged miRNA-mRNA pairing analysis by the use of exosomes originated by those cell clones, and identified the possible miRNA and its downstream mRNAs responsible for invasive potential. Our findings offer insights that each malignant cell clone in an identical tumor mass secreted each unique exosome that encapsulates specific miRNAs, and that miRNAs could undertake crosstalk among different malignant cell clones in an identical tumor microenvironment to regulate clinical prognosis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E8 分子シャペロン R2TP の口腔扁平上皮癌進展における作用機序の解析

---

○木口 哲郎<sup>1,2</sup>, 柿原 嘉人<sup>1</sup>, 山崎 学<sup>3</sup>, 高木 律男<sup>2</sup>, 佐伯万騎男<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理

<sup>2</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口外

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 口腔病理

---

R2TP は、出芽酵母で最初に同定された4種類のタンパク質 (RVB1, RVB2, PIH1, TAH1) からなる複合体で、ヒートショックプロテイン (HSP90) と相互作用する因子として単離された。分子生物学的解析から、出芽酵母において R2TP は増殖期になると細胞質から核内に移行し、リボソーム合成を促進することがわかってきた。また、TEL2 タンパク質を介した PIKK ファミリーへのシグナル伝達としての機能や、細胞周期調節、アポトーシスへの関与が示されてきた。我々は、口腔扁平上皮癌の進展において R2TP がどのように関与しているのか調べるため、口腔扁平上皮癌由来培養細胞 (HSC2, HSC3, HSC4) を用いて解析を行った。まず、口腔扁平上皮癌における R2TP complex の存在を確認するために、R2TP の相互作用因子である TEL2 に対する免疫沈降を行い、ウェスタンブロット解析を行った。その結果、HSC2, HSC3, HSC4 のいずれの培養細胞においても R2TP が TEL2 と複合体を形成していることが明らかとなった。次に、R2TP の発現や局在と口腔扁平上皮癌の悪性度との関連性を検討するため、口腔扁平上皮癌組織に対する免疫組織染色を行った。その結果、R2TP のキーファクターである PIH1 は高分化型癌組織では細胞質に局在したのに対し、増殖活性が高く高悪性度の低分化型癌組織では顕著な核への局在が観察された。また、低分化型癌組織における PIH1 の発現の亢進も認められた。以上より、R2TP の核移行が口腔癌の悪性化に寄与している可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of the function of molecular chaperone R2TP in progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC)

---

○Kiguchi T<sup>1,2</sup>, Kakihara Y<sup>1</sup>, Yamazaki M<sup>3</sup>, Tkagi R<sup>2</sup>, Saeki M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Div Oral Pathol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

R2TP complex was isolated from *Saccharomyces cerevisiae* as a factor to interact with HSP90 and is composed of RVB1, RVB2, PIH1, TAH1. We identified it translocates to nucleus from cytoplasm in growth phase and activates ribosome biogenesis in yeast. The emerging roles of R2TP have been discovered, which are involved in PIKK signaling with TEL2, cell cycle, apoptosis. To investigate how R2TP is involved in the progression of OSCC, we analyzed its biological characteristics by using OSCC cell lines (HSC2, HSC3, HSC4). To confirm the existence of R2TP in OSCC, we performed co-immunoprecipitation assay by using anti-TEL2 antibody, which is an interacting protein of R2TP. After the immunoprecipitation, we analyzed the levels of R2TP proteins by Western blotting. The result showed that R2TP is formed by interacting with TEL2 in OSCC. Next, we determined the localization of R2TP in OSCC biopsy specimens by immunohistochemical analysis to examine the relationship between R2TP and malignancy of OSCC. As a result, PIH1 localized in nucleus in poorly-differentiated OSCC which is malignant whereas localized in cytoplasm in well-differentiated OSCC. Furthermore, PIH1 was overexpressed in poorly-differentiated OSCC. Thus, our data suggests that the translocation of R2TP into nucleus could contribute to malignancy of OSCC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E9 頭頸部扁平上皮癌細胞における DKK3 過剰発現は腫瘍細胞の悪性度を増大させる

---

○片瀬 直樹, 藤田 修一

長大 院医歯薬 口腔病理

---

【目的】発表者らは頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)で重要な癌関連遺伝子として DKK3 を同定し, HNSCC では DKK3 陽性率が高く DKK3 陽性群は予後不良であること, HNSCC 由来細胞で DKK3 発現をノックダウンすると細胞の浸潤性, 遊走性が有意に低下することを報告した. 本研究では, DKK3 が HNSCC において癌の進展を促進する可能性を検証するため, DKK3 過剰発現細胞で検討した. 【方法】ヒト舌癌由来 HSC-3 細胞を用い, DKK3 発現プラスミドのトランスフェクションによる過剰発現系を構築した. 過剰発現の影響を MTT assay, migration assay, invasion assay で確認するとともに, nude mouse 皮下へ細胞の移植を行い組織学的に検討した. DKK3 過剰発現によって変化するシグナルの動態はターゲット遺伝子の Real time PCR, シグナル分子の western blotting, TCF/LEF reporter assay で行なった. 【結果と考察】DKK3 過剰発現細胞は, コントロールに比較して DKK3 発現, 細胞増殖, 遊走能, 浸潤性の全てが有意に増加した. また, ノードマウスへの移植でも DKK3 過剰発現細胞では有意に腫瘍径と MIB-1 index が増大した. この現象の背景として, cyclin D1, c-myc などの Wnt signal のターゲット遺伝子の発現増加が認められたが, TCF/LEF の活性は上昇していなかった一方で, Akt と c-Jun のリン酸化が亢進していた. DKK3 過剰発現細胞で Akt のリン酸化を阻害する LY294002 を作用させると, DKK3 過剰発現による腫瘍の悪性度増加はキャンセルされた. このことから, DKK3 が HNSCC では特異的に, Akt のリン酸化を介して腫瘍の悪性度に貢献することが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## DKK3 overexpression increases malignant properties of head and neck squamous cell carcinoma cells

---

○Katase N, Fujita S

Dept Oral Pathol Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

We previously reported that DKK3 was the candidate gene that might play specific roles in pathogenesis and progression of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). DKK3 belongs to the DKK family that function as antagonist of oncogenic Wnt signaling. It has been reported that DKK3 does not possess Wnt inhibitory function, and its biological roles are not well explained. However, very interestingly, our data have demonstrated that DKK3 expression was high and might conduce worse prognosis in HNSCC, and that knockdown of DKK3 in HNSCC cells resulted in reduced cellular migration and invasion. From these data, we hypothesized that DKK3 might exert oncogenic function specifically in HNSCC. In the present research, we generated DKK3-overexpression cells, to assess oncogenic roles of DKK3 in HNSCC. DKK3-overexpression cells showed significantly higher cell proliferation, migration, invasion and elevated in vivo tumor growth, together with increased expression of cyclin D1 and c-myc. These effects were driven not by Wnt signaling but by phosphorylation of Akt. Akt inhibitor, LY294002 cancelled the increased cancer cell malignant properties in DKK3-overexpression cells. All these data strongly support our hypothesis. DKK3 might be a specific cancer-associated gene, and it might be a promising target of cancer suppression of HNSCC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E10 咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路：Tourette's syndromeとの関与

---

○佐藤 文彦<sup>1</sup>, 上村 夢<sup>2</sup>, 冠野 千晴<sup>3</sup>, 堤 友美<sup>4</sup>, 加藤 隆史<sup>5</sup>, 吉田 篤<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2

<sup>2</sup>阪大 院歯 矯正

<sup>3</sup>阪大 院歯 麻酔

<sup>4</sup>阪大 歯

<sup>5</sup>阪大 院歯 口腔生理

---

【背景と目的】 Tourette's syndrome とそれに随伴する前駆衝動には視床-島皮質路が関わっていること、及び、その回路が咀嚼筋筋紡錘感覚を伝達することが、臨床検査や治療、ヒトの研究から示唆されている。しかしそのような回路の詳細は不明であり、その解明を目指した。【方法】ラットを用い、ペントバルビタール麻酔下で実験した。逆行性/順行性トレーサーである wheat-germ agglutinin conjugated horseradish peroxidase (WGA-HRP) と逆行性トレーサーである Fluorogold (FG) を脳内に微量注入した。また、咬筋筋紡錘感覚の脳内の入力部位を電気生理学的に探索した。【結果】電気生理学的に同定した、咬筋筋紡錘感覚が入力する視床部位 (VPMcvm) に WGA-HRP を注入したところ、密集した標識軸索終末が二次体性感覚野 (S2) の最吻側部の吻腹側に接した顆粒性島皮質の背側部 (dGIrvs2) に、またそれに接した一次体性感覚野 (S1) の腹側端と S2 の最吻側部に粗な標識終末が認められた。咬筋筋紡錘感覚が入力した dGIrvs2 に FG を注入したところ、標識細胞が視床の VPMcvm と後腹側核の小細胞部 (VPPC) に認められた。【考察】本研究によって、咬筋筋紡錘感覚を伝達する VPMcvm-dGIrvs2 路の存在とその様態が明らかになった。この回路が Tourette's syndrome に関与する可能性が高い。dGIrvs2 には、VPPC からの投射もあることから、味覚や内臓感覚を入力すると考えられる。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Thalamo-insular pathway conveying proprioception from rat jaw-closing muscle spindles: possible key pathway in Tourette's syndrome

---

○Sato F<sup>1</sup>, Uemura Y<sup>2</sup>, Kanno C<sup>3</sup>, Tsutsumi Y<sup>4</sup>, Kato T<sup>5</sup>, Yoshida A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Anat and Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Orthodont Dentofac Orthopedics, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Dent Anesthesiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>4</sup>Sch Dent Osaka Univ

<sup>5</sup>Dept Neurosci and Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Earlier clinical and human studies have suggested that the insular cortex is involved in Tourette's syndrome and its associated premonitory urges, and receives proprioception from jaw-closing muscle spindles (JCMSs). However, such thalamo-insular pathway remains unclear. Thus, we examined such thalamo-insular pathways conveying proprioception from rat JCMSs by tract tracing and electrophysiological recording methods. Injections of an anterograde and retrograde tracer, wheat-germ agglutinin-conjugated horseradish peroxidase, demonstrated that the thalamo-insular pathway arising from the caudo-ventromedial edge of ventral posteromedial thalamic nucleus (VPMcvm) terminated mainly in a rostrocaudally narrow area in the dorsal part of granular insular cortex rostroventrally adjacent to the rostralmost part of secondary somatosensory cortex (dGIrvs2) and slightly in its vicinity including small parts of primary and secondary somatosensory cortices, but not in the other cerebral cortical areas. The VPMcvm-dGIrvs2 pathway was confirmed by injections of a retrograde tracer Fluorogold in the dGIrvs2. Further, recordings of responses to electrical stimulation of masseter nerve or to jaw-opening revealed that both VPMcvm and dGIrvs2 received proprioception from JCMSs. These results indicated that proprioception from JCMSs is principally transported by the VPMcvm-dGIrvs2 pathway, suggesting that the VPMcvm-dGIrvs2 pathway is the key pathway involved in Tourette's syndrome and its associated premonitory urges. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E11 マウス大脳皮質体性感覚野第 II/III 層錐体細胞において小胞体からの $\text{Ca}^{2+}$ 放出の抑制により細胞死が遅延する

---

○河野 奨, 佐藤 元, 尹 東旭, 豊田 博紀, 加藤 隆史

阪大 院歯 口腔生理

---

虚血時の神経細胞死のシグナル伝達経路には、小胞体ストレスの経路が関与している。虚血時、リアノジン受容体(RyR)の働きによる  $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release (CICR) が起こり、小胞体内の  $\text{Ca}^{2+}$  が枯渇して小胞体ストレスが起こることが知られている。本研究では、大脳皮質体性感覚野第 II/III 層錐体細胞において、RyR の機能を抑制して、虚血による神経細胞死が遅延されるか否かを検討した。ホールセルパッチクランプ法を用いて、膜電流固定下で膜電位を記録し、低酸素・低グルコース (oxygen and glucose deprivation: OGD) 溶液を負荷した時の、膜電位変化を観察した。CICR を抑制する目的で、パッチ電極内に 100  $\mu\text{M}$  ruthenium red (RyR のブロッカー) を充填した。大脳皮質体性感覚野第 II/III 層錐体細胞に OGD 溶液を灌流すると、急激に脱分極が生じ、細胞死が生じた。コントロール条件下と ruthenium red 存在下において、脱分極までの潜時、脱分極の最大時間変化量、脱分極の変化量、最大脱分極値を比較・検討した結果、ruthenium red により、脱分極の変化量が有意に減少し、脱分極の時間変化量も減少傾向にあることが明らかになった。これらの結果から、ruthenium red は大脳皮質体性感覚野第 II/III 層錐体細胞において、RyR の機能を抑制し、虚血によって引き起こされる神経細胞死を遅延することが示唆される。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## The reduction of calcium release from the endoplasmic reticulum suppresses cell death in layer II/III pyramidal neurons of the mouse somatosensory cortex

---

○Kawano T, Sato H, Yin D, Toyoda H, Kato T

Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

The endoplasmic reticulum (ER) stress is involved in cell death signaling pathways following cerebral ischemia. During cerebral ischemia, calcium-induced calcium release (CICR) via activation of ryanodine receptors (RyRs) depletes ER calcium, resulting in ER stress. Here, we examined whether inhibition of activity of RyRs suppresses neuronal death caused by oxygen and glucose deprivation (OGD) in layer II/III pyramidal neurons of the mouse somatosensory cortex. Using whole-cell current-clamp recordings, we examined how bath application of OGD solution affects membrane potentials in the absence and presence of a blocker of RyRs, ruthenium red. In all layer II/III pyramidal neurons recorded, bath application of OGD solution caused a rapid depolarization of the membrane (anoxic depolarization). The maximum change in anoxic depolarization and maximum slope of anoxic depolarization were smaller in layer II/III pyramidal neurons recorded in the presence of ruthenium red, compared with those recorded in the absence of ruthenium red. These results suggest that inhibition of RyRs suppresses neuronal death caused by OGD in layer II/III pyramidal neurons of the mouse somatosensory cortex.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O2-E12 矯正力は大脳皮質興奮性および抑制性ニューロンの歯根膜刺激に対する応答を増大させる

○堀貫 恵利<sup>1</sup>, 清水 典佳<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 薬理

<sup>2</sup>日大 歯 矯正

【目的】矯正治療を受ける患者の多くは治療後の痛みを訴えるが、中枢神経系に対するその影響については不明な点が多い。我々は光学計測法を用いて、矯正力負荷1日後に歯根膜刺激に対する大脳皮質ニューロン活動が顕著に亢進し、その過興奮が1週間以内に正常状態に回復することを明らかにした。しかし光学計測法は、多くのニューロンの活動を加算して定量化するため、各々の細胞で生じる活動性を判別することはできない。そこで本研究は、二光子励起レーザー顕微鏡を用いたカルシウム・イメージング法による、矯正力負荷時の歯根膜刺激に対する興奮性および抑制性ニューロンの応答性を検討した。【試料および方法】本実験では、蛍光タンパク質 Venus を GABA 作動性ニューロンに発現するよう遺伝子改変した VGAT-Venus ラットを使用した。矯正力負荷モデルは、上顎切歯および臼歯にコイル・スプリングを結紮して作製した。頭蓋骨を開窓し、歯根膜感覚を処理する大脳皮質体性感覚野および島皮質にカルシウム指示薬である Oregon Green-488 BAPTA-1, AM (OGB-488) を脳表面から負荷し、歯根膜刺激に対する各細胞におけるカルシウム信号を記録した。また、矯正力負荷後の歯根膜刺激に対する応答を対照群と比較し、その特徴を解析した。【結果および考察】矯正力負荷1日後のモデル動物では、対照群と比較して上顎臼歯歯根膜刺激に応答する興奮性および抑制性ニューロンの割合がともに増加し、その最大振幅が顕著に増大した。また対照群と比較して、下顎臼歯歯根膜刺激に応答するニューロンの割合が顕著に増加した。【結論】光学計測法で観察された矯正力負荷による大脳皮質ニューロン活動の亢進メカニズムとして、興奮性および抑制性ニューロンの反応性の増大と活動電位の増加が示唆された。また、矯正力負荷によって歯根膜刺激に応答する大脳皮質ニューロンは、その受容野を拡大する可能性が示された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Experimental tooth movement increases the excitability of excitatory and inhibitory neurons in the insular cortex

○Horinuki E<sup>1</sup>, Shimizu N<sup>2</sup>, Kobayashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent

Pain and discomfort caused by tooth movement are common problems for patients under orthodontic treatment. Our recent studies have demonstrated that cortical excitatory propagation in the somatosensory and insular cortices induced by electrical stimulation of the periodontal ligament (PDL) is facilitated one day after experimental tooth movement (ETM). However, the question of how orthodontic force modulates the activity of cortical neurons at the single-cell level remains unresolved. In this study, we performed in vivo two-photon calcium imaging to investigate the change in neural activities of cortical neurons before and during ETM. To classify the type of neurons, we use the VGAT-Venus transgenic rat that expresses Venus fluorescent protein in GABAergic neurons. The ETM models received orthodontic treatment in which a coil-spring was ligated to the maxillary incisors and the right first molar. One day after ETM, the proportion of the responsive neurons to the PDL stimulation was markedly increased compared to that in controls. In addition, the peak amplitude of calcium transients observed both in excitatory and inhibitory neurons were significantly increased in the ETM models. These results suggest that the orthodontic force facilitates the cortical excitation by enhancing the responses of excitatory and inhibitory neurons in the insular cortex. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

## O2-E13 ラット下歯槽神経切除モデルにおける iPS 細胞由来神経堤細胞の移植効果

○鳥海 拓<sup>1,2</sup>, 渡辺 雅弘<sup>3</sup>, 篠田 雅路<sup>3</sup>, 普天間 拓<sup>1</sup>, 岩田 幸一<sup>3</sup>, 磯川桂太郎<sup>2</sup>, 本田 雅規<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 口腔解剖

<sup>2</sup>日大 歯 解剖 II

<sup>3</sup>日大 歯 生理

末梢神経が損傷されると、末梢性神経グリアであるシュワン細胞が再生軸索の誘導を担うことから、損傷末梢神経再生に対するシュワン細胞移植の有効性が報告されている。しかし、シュワン細胞を採取するには新たな神経組織の摘出が必要であり、また大量培養を行わなければならない。一方で、シュワン細胞は神経堤細胞から分化することが明らかになっている。そこでわれわれは、ヒト iPS 細胞から誘導した神経堤細胞をラット下歯槽神経切除部に移植し、感覚機能の回復と軸索再生への効果を検討した。ヒト iPS 細胞 (253G1) から誘導した神経堤細胞  $1 \times 10^6$  個を、I 型コラーゲン製配向性中空性担体 (長さ 5 mm, 内径 0.8 mm) の内腔に播種し、2 日間培養した (n=6)。対照群として、ラットシュワン細胞および皮膚線維芽細胞を用いた。7 週齢の雄性 SD ラットの下歯槽神経に長さ 4 mm の欠損部を作成し、細胞を播種した中空性担体を移植した。評価として、下唇への侵害機械刺激に対する逃避反射閾値の経日的測定、および移植 14 日目の担体中央部横断切片の免疫組織学的検討を実施した。神経堤細胞移植群では、コントロール群と比較して移植 3 日目から侵害機械刺激に対する逃避反射閾値の低下がみられた。また、移植 14 日目の神経堤細胞移植群の再生軸索の中央部横断切片で、ヒトミトコンドリアおよびシュワン細胞マーカーの S-100 $\beta$  に共陽性を示す細胞が認められた。さらに、軸索マーカーであるニューロフィラメント 200 に陽性を示す有髄線維数は、シュワン細胞移植群と比較して有意な差を認めなかった。以上の結果から、ヒト iPS 細胞由来神経堤細胞の移植は損傷下歯槽神経の軸索再生を誘導し、感覚機能の回復に有用であることが示された。会員外共同研究者：磯部仁博、佐久太郎 (株式会社アトリー)、岡篤志 (日本大学歯学部 6 年) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Transplantation of neural crest cells derived from human iPSC cells following inferior alveolar nerve transection in rats

○Toriumi T<sup>1,2</sup>, Watanabe M<sup>3</sup>, Shinoda M<sup>3</sup>, Futenma T<sup>1</sup>, Iwata K<sup>3</sup>, Isokawa K<sup>2</sup>, Honda M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

This study aimed to clarify if the transplantation of human-induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived neural crest cells which have been known as Schwann cell precursors is involved in the regeneration of transected inferior alveolar nerve (IAN) in rats. Human iPSCs were first induced to differentiate into neural crest cells. The iPSC-derived neural crest cells were then seeded in a 5-mm long seamless tube of oriented collagens. Rat Schwann cells obtained from sciatic nerves, or rat dermal fibroblasts were seeded as control groups. IAN transection (IANX) was performed in 7-week-old male Sprague-Dawley rats, and then the 4 mm gap was bridged by the cell-seeded collagen tube. In the neural crest cell transplantation group, the head-withdrawal reflex threshold to mechanical stimulation of the lower lip began to decrease on day 3 after transplantation. Immunofluorescence analysis showed that human mitochondria and S-100 $\beta$  double-positive cells were recognized in regenerative axons in transverse sections in the middle of the neural crest cell-seeded tubes 14 days after transplantation. These findings suggest that the human iPSC-derived neural crest cells could contribute to guiding axonal regeneration and the recovery of sensory function. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## O2-E14 機械刺激を受けた歯根膜細胞が産生する Wnt5a の神経突起伸長効果

---

○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実

東北大 院歯 歯科薬理

歯根膜は歯の植立作用および緩圧作用などを担うとともに、存在する痛覚受容器（自由神経終末）、固有受容器（伸展受容器であるルフィニ神経終末）が歯根膜痛、咀嚼圧を感知し様々な食べ物の性状を識別し咬合力を調節している。このように歯根膜に存在する神経は感圧において重要な働きをしている。しかし、歯根膜に負荷される機械刺激による神経の構造と機能の制御は明らかになっていない。この機構を解明するために、我々は、機械刺激依存的に歯根膜細胞から産生される分泌性神経軸索伸長因子の経時的変動を研究した。

ラット歯根膜より樹立した歯根膜初代培養細胞（rPDL 細胞）をシリコンチャンバーに播種し、周期的な機械刺激（0.5 Hz, 15%）を 72 時間まで負荷した。PDL 細胞より分泌性因子が産生されているかを明らかにするために、マウス初代培養三叉神経節（mTG）細胞に伸展後の rPDL 培地を添加したところ、神経突起の伸長が見られた。RT-PCR 法により rPDL 細胞には nerve growth factor（NGF）、brain-derived neurotrophic factor（BDNF）、neurotrophin-4（NT-4）、Wnt5a が発現している事を確認した。Real-time PCR 法により経時変化による mRNA 産生量の定量的解析を行った結果、機械刺激により NGF などの神経栄養因子は変化しなかったが、機械刺激負荷時間依存的に有意に Wnt5a の増加が見られた。

これらの結果は、機械的に刺激された歯根膜細胞が、Wnt5a 等の分泌性軸索ガイダンスタンパク質の産生を増強させることによりニューロンの軸索伸長を調節している可能性を強く示唆する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Effects of Wnt5A, released by periodontal ligament cells loaded with mechanical stimulation, on neurite elongation

---

○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M

Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent

The periodontal ligaments (PDLs), located at the interface between tooth and alveolar bones, are responsible for tooth planting and pressure absorbing actions. Neurons in the interface, such as Ruffini endings and free nerve endings, play a pivotal role in pressure sensing. However, the regulatory mechanism of nerve architecture by the PDL cells is not clear. To elucidate the mechanism, we measured the time-dependent changes of amounts of neurotrophic factors and axon guidance proteins produced by the PDL cells during mechanical stimuli.

We established primary PDL cell lines derived from rat (rPDL). The rPDL cells were seeded on silicon chamber, and loaded with periodic mechanical stimulation (0.5 Hz, 15%). The qPCR analysis revealed that the expression of Wnt5a in rPDL cells was increased in a stimulation period-dependent manner, while the expression of neurotrophic factors was constant. To analyze biological function of released factors, the supernatant media of the PDL cells with or without mechanical stimulation were added in the primary mouse trigeminal ganglion (mTG) cells. The supernatant of the mechanical-stimulated PDL cells enhanced the neuronal elongation in the mTG cells.

These results suggest that the mechanically stimulated PDL cells regulate the neuronal axon extension partly through the increase of Wnt5a secretion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E15 嚥下が顎反射に与える影響

---

○鈴木 拓, 吉原 翠, 辻 光順, 真柄 仁, 辻村 恭憲, 井上 誠  
新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

【目的】咀嚼や嚥下時には、顎位が安定して機能することが求められる。本研究では、末梢誘発性および皮質刺激誘発性嚥下時の顎反射の変調を検索して、嚥下運動時の感覚および運動調節機構を検討した。

【方法】実験にはウレタン麻酔下のウサギ 24 羽を使用した。開口反射、閉口反射、嚥下記録のために、顎二腹筋、咬筋、甲状舌骨筋の筋電位を導出した。開口・閉口反射誘発のために、それぞれ下歯槽神経、三叉神経中脳路核を 1 Hz にて 30 秒間、各反射を認める最小刺激強度の 2 倍の強さで刺激した。途中 10 秒間、条件刺激として、上喉頭神経 (SLN) または大脳皮質嚥下関連領野 (Cx) の連続電気刺激を行った。10 秒間で一度嚥下が生じる刺激強度を 1 T として、SLN の刺激強度は 0.8-4.0 T, Cx の刺激強度は 0.8-1.4 T とした。条件刺激前・中・後の各 10 秒間における開口反射および閉口反射の平均振幅および潜時の比較を行った。実験終了後、脳を摘出、ミクロトームにて 50  $\mu$ m 凍結切片を作成し、皮質刺激部位を組織学的に同定した。

【結果】嚥下誘発可能な皮質領域は、島皮質およびその周辺領域に局在していた。開口反射の振幅は、刺激側によらず SLN, Cx 刺激中および刺激後には有意に減少した。SLN, Cx とともに、0.8 T, 1 T 刺激時と比較し 4 T 刺激時の方が振幅は減少し、刺激強度が高いほうが大きな変調効果を認めた。潜時に関しては、すべての刺激強度において、刺激前・中・後で変化を認めなかった。さらに SLN 単独刺激, Cx 単独刺激時と比較し、SLN, Cx 同時刺激時の方が開口反射の振幅は小さくなる傾向を示した。閉口反射の振幅、潜時は、SLN/Cx 刺激前・中・後で変化を認めなかった。

【考察】嚥下時に開口反射は抑制を受け、閉口反射は抑制を受けないという現象は、円滑な嚥下遂行にとっては合目的的であると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The effect of swallows on the jaw reflex responses

---

○Suzuki T, Yoshihara M, Tsuji K, Magara J, Tsujimura T, Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

The aim of this study was to investigate whether the jaw reflex responses were modulated during peripherally and centrally-evoked swallows in animals. Experiments were carried out on rabbits anesthetized with urethane. Electromyographic activity was recorded from the digastric, masseter and thyrohyoid muscles for monitoring the jaw-opening reflex (JOR), jaw-closing reflex (JCR) and swallowing, respectively. To evoke the JOR and JCR, the inferior alveolar nerve and the trigeminal mesencephalic nucleus were stimulated. Either the superior laryngeal nerve (SLN) or cortical swallowing area (Cx) was stimulated at 30 Hz to evoke swallows. In a recording session, either the JOR or JCR was evoked at 1 Hz for 30 sec. In the middle 10 sec, SLN or Cx was simultaneously stimulated. The mean amplitudes and latencies of the JORs and JCRs were compared among the conditions; before, during and after SLN/Cx stimulation. The amplitudes of the JORs were significantly decreased during and after SLN/Cx stimulation compared with before stimulation. On the other hand, there was no difference in the JCR responses among the conditions. These results suggest that the JOR is inhibited during peripherally and centrally-evoked swallows, probably to prevent unnecessary jaw opening during swallowing whereas the JCR is not affected in functions.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E16 三叉神経損傷により誘導される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄に分布する視床および橋投射ニューロンの形態変化

---

○岡田 真治<sup>1,2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 補綴 1

<sup>2</sup>日大 歯 生理

---

三叉神経損傷後、視床後内側腹側核 (VPM) および橋結合腕傍核 (PBN) を経由する侵害情報の上行路においてどのような形態学的変化が生じるかは不明である。そこで今回、三叉神経損傷後、上口唇のカプサイシン刺激および侵害的機械刺激により活性化される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄 (Vc-C1) 投射ニューロンの形態学的変化を明らかにすることを目的とした。眼窩下神経慢性絞扼 (ION-CCI) 1週間後のラットにおいて、左側上口唇への熱または機械刺激に対する逃避閾値を測定し、右側 VPM または PBN に逆行性神経トレーサー Fluorogold (FG) を注入した。FG 注入から 3 日後、左側上口唇にカプサイシンまたは侵害的機械刺激を加え、Vc-C1 におけるリン酸化 extracellular signal-regulated kinase (pERK) 陽性 FG 標識投射ニューロンの分布様式を解析した。ION-CCI 群では、熱および機械刺激に対する逃避反射閾値の有意な低下を認めた。ION-CCI により FG 標識投射ニューロンの分布様式に変化は認められなかったが、カプサイシンおよび侵害的機械刺激により発現する pERK 陽性細胞数は有意に増加した。一方、ION-CCI 群では、カプサイシン刺激に対して pERK 陽性 VPM 投射および pERK 陽性 PBN 投射ニューロン数ともに有意に増加したが、侵害的機械刺激に対しては pERK 陽性 PBN 投射ニューロン数のみ有意に増加した。上記の結果から、三叉神経損傷に起因して、C-fiber 入力を受ける VPM 投射ニューロンの侵害情報伝達が、また C-fiber および A $\delta$ -fiber 入力を受ける PBN 投射ニューロンの侵害情報伝達が増強され、この変化が三叉神経損傷による痛覚過敏の弁別的様相と情動的様相に異なったメカニズムで関与する可能性が示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Morphological change in thalamic- and pontine-projection neurons in Vc and C1 following trigeminal nerve injury

---

○Okada S<sup>1,2</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

The aim of the present study was to elucidate morphological changes in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) and upper cervical spinal cord (C1) responding noxious stimulation, which send axons to ventral posteromedial thalamic nucleus- (VPM) or parabrachial nucleus (PBN) following trigeminal nerve injury. The head-withdrawal thresholds to heat and mechanical stimulation of the left lower lip were measured in rats with infraorbital nerve chronic constriction injury (ION-CCI) on day 7. These rats were injected fluorogold (FG) into the right VPM or PBN, and 3 days after that rats were stimulated by capsaicin or forceps in the left upper lip, and the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) in FG-labeled projection neurons were studied in Vc-C1. The number of pERK-immunoreactive (IR) cells was significantly larger in ION-CCI rats. The number of pERK-IR FG-labeled VPM or PBN projection neurons was significantly increased following capsaicin stimulation in ION-CCI rats, while that of pERK-IR FG-labeled PBN projection neurons was also significantly increased following noxious mechanical stimulation. The present findings suggest that these morphological changes may reflect differential involvement of these ascending pathways in sensory-discriminative and emotional/affective aspects of persistent pain associated with trigeminal nerve injury.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E17 抜歯はアルツハイマー病モデルマウスの中脳路核神経細胞のタウ・リン酸化を誘導する

---

○後藤 哲哉, 倉本恵梨子, Dhar Ashis, 岩井 治樹, 山中 淳之

鹿大 院医歯 機能形態

---

【目的】 無歯顎者では有歯顎者よりも認知症の発症率が高いことが知られているが、それがどのようなメカニズムで生じるかは明らかでない。認知症の原因疾患の一つであるアルツハイマー病 (AD) の病理学的特徴としてはアミロイド $\beta$ の凝集や神経細胞におけるタウのリン酸化、もしくは神経原線維変化とともに海馬の神経細胞数の減少等が知られているが、抜歯がどのようにADに関連するのかは不明である。本研究では、ADモデルマウスを使って、抜歯がどのようにADの進行に関わるかを調べることを目的とする。【方法】 ADモデルマウスはプレセニリン・タウ・アミロイド前駆体タンパク質の3遺伝子変異を導入した3xTgマウスを使用した。実験にはADの症状が現れ始める生後12か月齢マウスの両側上顎臼歯を麻酔下で抜去し、粉末食で1か月飼育した。マウスは固定し脳幹を含む脳及び三叉神経節の凍結切片を作成した。抜歯に関わる1次感覚神経および脳内のヒト・タウタンパクならびにリン酸化タウの発現を免疫組織学的に調べ、非抜歯の3xTgマウス、野生型BL/6マウスと比較検討した。【結果と考察】 生後12か月齢3xTgマウスの脳内ではADの初期症状を示す、ヒト・タウタンパクの免疫陽性反応が一次運動野皮質、海馬CA1領域に認められたが、野生型BL/6マウスでは観察されなかった。3xTgマウスでは海馬CA1野や扁桃体に加え三叉神経中脳路核においてもヒト・タウタンパクの局在が認められた。抜歯1か月後では、リン酸化タウタンパク質の発現が三叉神経中脳路核ニューロンに認められた。三叉神経節、三叉神経主感覚核や脊髄路核ではリン酸化タウの発現はほとんど見られなかった。以上の結果より、抜歯による神経への影響は特に中脳路核に認められ、ADの発症に関連する可能性が示唆された。会員外協力者：松本信英, 原博満 (鹿大), 道川誠 (名市大)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Tooth extraction induces the phosphorylation of tau at mesencephalic nucleus in Alzheimer model mice

---

○Goto T, Kumamoto E, Dhar A, Iwai H, Yamanaka A

Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

The edentulous person has a higher incidence of dementia than the dentulous ones. However, it is unknown how tooth loss is related to dementia including Alzheimer disease (AD). Therefore, we aim to investigate how tooth extraction affects the AD progression using 3xTg AD model mice.

Bilateral maxillary molars of 12-month-old mice were removed under anesthesia and raised for one month with a powdered meal. Mice were fixed and frozen sections of brain containing the brain stem and trigeminal ganglion were prepared. The expressions of human tau protein and phosphorylated tau were examined immunohistochemically, comparing with non-extracted teeth 3xTg mice and wild type BL/6 mice. In the brain of 12-month-old 3xTg mice, an immunopositive reaction of human tau protein was found in the primary motor cortex, hippocampal CA 1 region, but not in BL/6 mice. In 3xTg mice, human tau protein was also observed in trigeminal mesencephalic nucleus (Mes V). Phosphorylated tau protein was observed in Mes V neurons in tooth extracted 3xTg mice. In the other trigeminal ganglion, phosphorylated tau was scarcely observed. These results suggest the effect of tooth extraction was found particularly in Mes V, which indicates the possibility of being related to the onset of AD.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## O2-E18 開口負荷がマウスの心房に与える影響

---

○吹田 憲治<sup>1</sup>, 八木澤由佳<sup>2</sup>, 大貫 芳樹<sup>1</sup>, 梅木 大輔<sup>2</sup>, 石川美佐緒<sup>3</sup>, 伊藤 愛子<sup>2</sup>,  
川村 直矢<sup>4</sup>, 中村 芳樹<sup>2</sup>, 奥村 敏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 生理, <sup>2</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 I, <sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病

---

【目的】不正咬合は口腔機能のみならず自律神経系の異常を惹起し、全身の他臓器に影響を及ぼし得ることが示唆されている。交感神経活動の過剰および／または慢性的な亢進は心房心筋細胞のリモデリングを誘発して心房性不整脈の重要な原因となることが知られているが、その分子機構の詳細は未だ不明な点が多く、不正咬合との関連も明確でない。本研究では、開口負荷 (bite-opening: BO) が心房に与える影響について検討した。【方法】16週齢の雄マウス (C57BL/6) をコントロール (CTRL) 群、下顎切歯に歯科用レジン装着した BO 群、および BO 処理マウスに  $\beta$  アドレナリン受容体遮断薬であるプロプラノロール (Pro) を投与した (BO + Pro) 群の3群に分けた。プロプラノロールの投与は、1 mg/mL のプロプラノロールを含む飲料水をマウスに自由飲水させることにより行なった。2週間飼育後、マウスから心房を摘出し、心房重量/脛骨長比を測定した。また、心房から抽出したタンパク質を用いたウェスタンブロットティングにより、心房心筋細胞の細胞内シグナル伝達に与える BO の影響を調べた。【結果】心房重量/脛骨長比では3群間に有意な差は認められなかった。ウェスタンブロットティング解析では、BO 群において CTRL 群よりも Akt のリン酸化の有意な減少が認められた。また、CTRL 群と比して BO 群ではリン酸化 CaMKII の有意な増加を認めた。一方、アポトーシスの指標となる Bax/Bcl-2 比は、BO 群で CTRL 群よりも有意に増加していた。BO によるこれらの変化は BO + Pro 群で抑制される傾向があったが有意差は認められなかった。【考察】開口負荷はマウスの心房において Akt シグナル伝達経路、カルシウムハンドリングおよびアポトーシスに影響を与えることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Effect of bite-opening on atrium in mice

---

○Suita K<sup>1</sup>, Yagisawa Y<sup>2</sup>, Ohnuki Y<sup>1</sup>, Umeki D<sup>2</sup>, Ishikawa M<sup>3</sup>, Ito A<sup>2</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>,  
Nakamura Y<sup>2</sup>, Okumura S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

**Purpose:** Malocclusion is known to have various adverse effects not only on the oral cavity area but also autonomic nervous system. An excessive and/or chronic activation of sympathetic tone is considered to be potentially important factor for the pathogenesis of life-threatening atrial arrhythmias. To obtain an insight into the molecular mechanism in response to malocclusion, we investigated the effect of bite-opening (BO, a procedure of mechanical overload) on the morphology and signal transduction of atrial myocyte in mice. **Materials & Methods:** C57BL/6 male mice (16-week-old) were divided into three groups: control, BO, and BO mice treated with 1 mg/mL of propranolol, a  $\beta$ -adrenergic receptor antagonist, via drinking water. Two weeks after initiation of each treatment, the measurement of atrial weight and immunoblot analysis using protein extracts from atria were performed. **Results & Conclusion:** There was no significant difference in the atrial weight/tibia length ratio. The phosphorylation level of Akt was significantly decreased in BO group as compared to control group. The amount of phosphorylated CaMKII was significantly increased in BO than control. The Bax/Bcl-2 ratio of BO was significantly greater than that of control. These results suggested that BO treatment affects Akt-mediated signaling, calcium handling and apoptosis in atrial myocyte in mice.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-1 高齢者における顎関節の形態学的研究

---

○東 雅啓<sup>1</sup>, 河田 亮<sup>2</sup>, 松尾 雅斗<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 口腔科学 歯科形態

<sup>2</sup>神歯大 院歯 口腔科学 神経組織発生

---

【目的】高齢社会に伴い、顎関節症患者の割合も増加傾向にある。歯科臨床において顎関節症の診断には症状と画像診断による下顎頭の変形や関節円板の転位の診査が行われてきた。しかし、臨床における形態学的報告はX線画像を中心にしたものが多く、その骨構造を詳細に観察した報告や、全身疾患との関係性を含めた検討は少なかった。そこで今回我々は系統解剖実習用献体を用いて、顎関節の画像所見に肉眼所見を加えて複合的な観察を行い、さらに全身疾患との関係についても検討を加えた。【方法】対象は系統解剖実習用献体17体（男性3体、女性14体）で、平均年齢82.8歳（50-102歳）であり、解剖実習前に全身のCT撮影を行った。得られた左右34関節の関節円板の形態および穿孔の有無を肉眼的に観察し、さらには下顎頭の形態を確認するためにX線撮影後、下顎頭を矢状分割し断面の骨構造を観察した。また、残存歯の状態からEichnerの分類を用いて、咬合状態との関係性を検討した。このうち、50歳代の2例は対照群として用いた。本研究は神奈川歯科大学研究倫理審査委員会の承認（承認番号367号）を得て実施した。【結果と考察】対象とした34関節のうち、円板転位がみられたものは3関節、円板の穿孔は6関節であった。また、全身疾患との関連では悪性関節リウマチ症例では円板の断裂がみられた。下顎頭の変形は29関節でみられ、そのうち両側に変形がみられた症例は7体、片側のみの症例は4体であった。矢状断面では、下顎頭変形が認められた症例で皮質骨の菲薄化がみられる傾向があった。本研究において、高齢者における顎関節は形態と骨構造には様々な変化が顕著にみられた。今後さらに症例数を増やし、高齢者における顎関節形態変化について検討する予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Morphological observation of the temporo-mandibular joint in elderly people

---

○To M<sup>1</sup>, Kawata A<sup>2</sup>, Matsuo M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Anat, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Nerve Tissue Embryol, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

---

**Purpose:** The purpose of this study is to clarify the tendency for the prevalence of elderly in temporo-mandibular disorders in elderly people. In the dental clinical field, diagnostic imaging is evaluating the deformation of the mandibular condyle and the articular disc displacement in the temporomandibular joint (TMJ). **Materials & Methods:** To observe TMJ dysfunction in elderly people through not only diagnostic imaging but also gross observation, we utilized cadavers used for the teaching of anatomy. The study was approved by the Ethics Committee of the Kanagawa Dental University (Approval Number. 367). **Results & Conclusion:** With 34 TMJ from 17 systemic anatomy cadavers, we observed the morphology of the mandibular condyle and the TMJ disc. Three TMJs showed disc displacement, 6 showed disc perforation, and 29 showed deformation of the mandibular condyle. These findings indicate that the TMJ shows a variety of morphological characteristics and bone structure in elderly people. Further studies are warranted to investigate TMJ dysfunction in elderly people and its relationship with systemic disease in greater detail. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-2 前・後上歯槽管/溝内を走行する上歯槽神経の分布パターン

---

○真喜志佐奈子, 大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

**【背景と目的】**これまでの定説では, 上顎神経は翼口蓋窩にて3つの枝(前・中・後上歯槽神経)に分岐し, それぞれ異なる歯槽管を走向しながら, 歯を含む上顎組織に分布すると考えられてきた。最近我々は, 3つの各歯槽管は1本の歯槽管に収束することを明らかにした。しかし, その出現率や歯槽管の詳細な三次元的構造, 各神経・血管の残存歯への分布領域は未解決の問題である。今回我々は,  $\mu$ -CT画像にて歯槽管の三次元的構造を解析し, 内部を通る前・後上歯槽神経・血管の走向と歯槽管との関係に加え, 歯列領域の知覚を司る各神経の割合について考察した。

**【材料と方法】**本研究は2014年度新潟大学歯学部人体解剖学実習で用いた9体の解剖体を対象とした。離断した頭部を医科用CT撮影し, 歯槽管・溝の走向を画像構成ソフトOsiriXにて確認後, 採取部位を決定し, 上顎洞・鼻腔底の一部を含む上顎骨の下鼻甲介側を切り出した。試料の $\mu$ -CT画像を取得し, 3D骨形態計測ソフトTRI/3D-BON-FCSにて歯槽管の詳細な三次元的構造を構築・解析した。並びに試料を脱灰・パラフィン包埋し, 組織切片にて神経・血管の走向を確認した。

**【結果と考察】**前・後上歯槽管は翼口蓋窩よりそれぞれ別ルートにて上顎骨内部へと侵入するが, その後は上顎骨下鼻甲介側内において, 共通の歯槽管に収束することが明らかになった。また, 同部位の組織学切片と合わせて比較すると, 収束後の歯槽管中には神経周膜に囲まれた複数の神経束と動静脈が観察され, それらは走行中にも収束と分散を生じていることが分かった。また, その神経束・血管の太さや分布領域はバリエーションを示した。本研究によって, これまで未知であった上歯槽管の詳細な三次元的構造が明らかになり, 前歯・臼歯部を含む上顎組織の知覚に関わる上・中・下後上歯槽神経の各割合がこれまでの概念とは大きく異なることが示唆された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## The patterns of superior alveolar nerves running in anterior and posterior superior alveolar canals/grooves

---

○Makishi S, Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

In general, it was believed that three superior alveolar canals/grooves (SACGs; anterior, middle and posterior) including nerves and vessels run separately inside or on the surface of the maxillary sinus wall. However, our previous study has shown that they converge together near the floor of nasal cavity before they link up with the superior dental nerve plexus. These findings suggest that the rate of supplied branches from each superior alveolar nerves to incisor, premolar and molar areas is probably differ greatly from conventional conception. Still, there are no available data on this point. Thus, in this study, we analyzed human maxillae using TRI/3D-BON-FCS software after taking their  $\mu$ -CT images; in addition, histological section to reveal the detailed three-dimensional structure of SAGCs and the nerve supplying patterns. As a result, the anterior and posterior SACGs converge together in the inferior concha side of anterior maxilla.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

### P1-3 歯科用コーンビーム CT による上顎第一小臼歯の根管形態の観察

---

○奥座 崇史, 佐藤 知哉, 芹川 雅光, 斎藤 博, 宇佐美晶信

奥羽大 歯 口腔解剖

【目的】上顎第一小臼歯は歯根および根管において様々な形態が出現することが知られている。また、根管の解剖学的形態には人種差が存在することも知られており、これまでデンタル X 線写真など様々な方法を用いた報告がなされてきた。そこで、今回歯科用コーンビーム CT (以下, CBCT) にて撮影された日本人の上顎第一小臼歯の画像データより、歯根の歯頸側 1/3, 中央および根尖側 1/3 における根管数について計測を行なった。【方法】試料は奥羽大学歯学部附属病院放射線科にて撮影された、根管処置のおこなわれていない上顎第一小臼歯を含む 50 例の CBCT 再構築画像を用いた。根管数の計測のために、歯根の歯頸側 1/3 と中央部および根尖側 1/3 の位置における水平断面を設定した。それぞれの計測位置における画像データ上で歯根の範囲を選択し、二値化を行った画像より根管数の計測をおこなった。【結果および考察】上顎第一小臼歯の根管数は歯頸側 1/3, 中央, 歯根側 1/3 すべてで 2 根管のものが 31.9% で最も多く観察された。ついで、歯頸側 1/3 では 2 根管または 1 根管で、歯根中央は 2 根管で根尖側 1/3 では 1 根管のものが、それぞれ 14.9% 観察された。CT 値の得られない CBCT 画像に対して、適切な画像処理をおこなうことにより根管形態を評価することができた。この結果より、様々な根管形態をとる上顎第一小臼歯の根管治療に先立ち、根管形態を評価するためには CBCT が有用であると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Observation of shape of maxillary first premolar root canals using cone beam computed tomography

---

○Yoza T, Sato T, Serikawa M, Saito H, Usami A

Dept Oral Anat, Ohu Univ Sch Dent

**Purpose:** Differences regarding the shape of maxillary first premolar roots and root canals have been reported, including ethnic-related distinctions. Several studies have reported a variety of methods for determining those shapes, such as dental radiologic imaging. In this study, we used dental cone beam computed tomography (CBCT) to evaluate the shape of root canals of maxillary first premolars at the cervical third, midway, and apical third of the roots. **Material & Methods:** Fifty reconstructed CBCT images that included the maxillary first premolar were obtained from Ohu University Hospital. To investigate root canal shapes in those images, slice images were obtained from the cervical third, midway, and apical third of the roots. Following binarization, we performed morphological evaluations of the examined root canals. **Results & Conclusion:** The most frequently observed (31.9%) shape was two root canals covering the full root, followed by two root canals midway, and one root canal in the apical third with one or two in the cervical third. Maxillary first premolar root canals vary in shape, thus CBCT findings are useful for detailed evaluations.

**Conflicts of interest:** The authors have no competing interests to declare in regard to this study.

---

---

## P1-4 ヒト上頸神経節における肉眼解剖学的評価

---

○光岡 一行, 佐藤 巖

日歯大 生命歯 解剖 1

---

【目的】頭頸部交感神経幹は上頸神経節（SCG）と中頸神経節および下頸神経節が存在し、主に迷走神経の上頸神経節（SCG）と下頸神経節との間に見出され、SCGは下位の髄節の神経と交通しているばかりでなく迷走神経、舌咽神経、副神経、三叉神経および顔面神経などの脳神経に枝をおくる。しかしながら、ヒトSCGの上部、中部、下部領域におけるこれらの交感神経節幹枝の部位や、神経細胞の形態、交通枝の分布に関する詳細な報告は殆どない。そこで、SCGから出る交通枝の分布と構成する細胞体との関係を肉眼解剖と組織学的に評価し、頭頸部の交感神経系の形態的特異性を明らかにすることを目的とした。【方法と材料】高齢者ヒトから得られたSCG（54例、女性24、男性30例）の形態の評価（長さ、幅および厚さ）および位置を測定し、SCGを上位から均等に3分割した領域（上部、中部、下部領域）での迷走神経、舌咽神経、頸神経および副神経に送る各交通枝を肉眼的に評価した。【結果と考察】SCGは第二から第三頸椎の位置で見出され、心臓枝、迷走神経および舌咽神経に枝を持つことが判明した。SCG交通枝の数は、上部領域で高頻度に検出され（ $\chi^2=587.72$ ,  $df=26$ ,  $p<0.001$ ）、単位面積（ $1\text{ mm}^2$ ）あたりのニューロン数、中部領域において最も頻繁に存在し（ $233\pm 40.2$ , 48.9%）、萎縮細胞もみられた（ $\chi^2=587.72$ ,  $df=26$ ,  $p<0.001$ ）。SCGの交通枝は、迷走神経および舌咽神経が主体であり、これら中部の分枝の経路は頭頸部の神経節ブロック療法および頸部郭清や切除における頭頸部外科処置に重要な情報を与えるものであることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Morphological evaluation of the superior cervical ganglion in Japanese cadaver donors

---

○Mitsuoka K, Sato I

Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

---

The sympathetic trunks composed of the superior cervical ganglion (SCG), middle cervical ganglion from and inferior cervical ganglion from sympathetic trunks and they made various communications between the vagus and glossopharyngeal nerves. These cervical ganglions not only communicate with the nerve of the inferior meningeal node but also branches to the cranial nerves. Especially, little information exists concerning the origin of these sympathetic ganglion branches in the human SCG. We described the human SCG of the communication with cranial and cervical nerve by macroscopic and histological methods. This study characterized 72 SCG samples from 54 elderly Japanese human cadavers using macroscopic and hematoxylin eosin double staining from paraffin blocks. The SCG in all cadaver donors was located at the C2 and C3 vertebra levels. The number of SCG branches were frequently in the superior region of the SCG. The number of ganglion cells per unit area ( $1\text{ mm}^2$ ) was most large in the middle region of which shrunken neurons was apparently found in compared with other regions. The communication branches of the SCG are mainly connected to the vagus and glossopharyngeal nerves. Characterizing specific supply of these branches can provide useful data for head and neck ganglion block and surgical treatments.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-5 長骨骨幹端領域における骨修復機構

---

○井上 知, 大塚 裕忠, 中村 雅典

昭大 歯 口腔解剖

【目的】長骨は皮質骨が豊富な骨幹部と海綿骨が豊富な骨幹端が存在する。海綿骨が豊富に存在する部位は、皮質骨が豊富な部位と比較して骨損傷の治癒が早いと考えられている。ヒトにおける骨折の多くは骨幹端で発生するが、動物実験における骨修復機構の解析は、長骨骨幹部を用いて解析が行われており、両部位の修復過程を直接比較した報告はない。本研究では骨幹端および骨幹部における骨修復過程を比較検討した。【材料と方法】マウス脛骨の骨幹端と骨幹部にドリルで骨孔を作製し、術後3日から42日で試料を採取し、マイクロCTを用いて仮骨形成および骨塩量を計測した。その後、パラフィンおよび凍結切片を作製し、組織学的解析（トルイジンブルー染色、アルカリフォスファターゼ（ALP）および免疫組織化学（type 1 collagen (Col1), osteocalcin (OCN))を行った。mRNAの発現はリアルタイムPCR（骨膜: *sox9*, *type 2 collagen*, 骨髄: *osterix*, *runx2*, *type 1 collagen*）を用いて解析した。【結果】骨幹端の治癒過程では、骨膜側に軟性仮骨は認められず、硬性仮骨もほとんど観察されなかった。一方、骨幹部では軟性仮骨が5日目、硬性仮骨が14日目をピークに観察された。骨幹端における軟骨形成に関わるmRNAの発現は、骨幹部と比較して低値であった。骨髄内仮骨は骨幹端において骨幹部よりも早期に形成が認められ、ALP, OCN および Col1 も早期に発現が認められた。骨幹端における *osterix*, *runx2*, *type 1 collagen* の mRNA の発現は骨幹部と比較して、早期かつ高い値を示した。骨孔部におけるBMDは、骨幹端において早期にもとの値への回復が認められた。【考察】骨幹端は骨髄内から形成された仮骨によって修復され、骨幹部の修復過程とは異なっていた。骨膜や骨髄は部位によって組成が異なり、骨損傷に対しても異なる反応を示すことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Healing process of the metaphyseal region in long bone

---

○Inoue S, Otsuka H, Nakamura M

Dept Oral Anat, Showa Univ Sch Dent

In humans, fractures of long bones mainly occur in metaphysis. However, most studies of bone repair process have focused on diaphysis. In this study, we compared bone repair process between metaphysis and diaphysis of mouse tibia. At indicated times after surgery, samples were collected and examined by histomorphometrical analysis using micro-computed tomography, histological analysis using toluidine blue, histochemical staining for alkaline phosphatase, and immunohistochemical for osteocalcin and type 1 collagen. Quantitative real-time PCR was used to analyze expression of mRNAs in periosteum and bone marrow. In metaphysis, cartilage was not detected on periosteal side. The bone aperture was filled with newly formed bone produced from bone marrow at day 7. In diaphysis, cartilage was formed around aperture at day 4 and sequentially replaced by bone on periosteal side. The bone aperture was filled with newly formed bone at day 14. In bone marrow, expression of osteogenic markers appeared earlier in metaphysis than diaphysis. The mRNA expression of chondrogenesis markers was markedly upregulated in diaphysis compared with that in metaphysis on periosteal side. Our findings indicate a clear difference in bone repair process between both sites, suggesting cells in periosteum and bone marrow are different response to bone injury.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-6 組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによるモルモット臼歯 apical bud の観察

---

○清野 雄多<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>2</sup>, 依田 浩子<sup>1</sup>, 大島 勇人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態

<sup>2</sup>九歯大 解剖

---

**【目的】** モルモットの切歯と臼歯は常生歯であり, その形成端に apical bud と呼ばれる幹細胞を含む上皮細胞塊を有する (Hashimoto et al.: Arch Histol Cytol 71: 317-332, 2008). 今回我々は, モルモット臼歯 apical bud を組織連続切片三次元構築法と BrdU ラベリングによって観察した.

**【方法】** 生後 1 日~4 週齢モルモットに BrdU を腹腔内投与し, 5~20 日後に深麻酔下で 4% パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定後, EDTA 脱灰後, 通法に従い上下顎臼歯の矢状断・水平断・前頭断パラフィン切片を作製し, 抗 BrdU 抗体による免疫染色を施した.

さらに, 水平断組織標本において, apical bud 境界を Adobe Photoshop<sup>®</sup> 上でトレースし, ImageJ<sup>®</sup> にて重ね合わせ, 3D 構築を行い, KOH 消化法 (Ushiki and Murakumo: Arch Histol Cytol 54: 427-436, 1991) によりコラーゲン線維を含む細胞外基質を除去後, タンニン酸・オスミウム処理, 脱水, 臨界点乾燥, スパッタ蒸着を施した走査電顕像と比較した.

**【結果および考察】** 水平断切片では, 下顎臼歯は頰側にエナメル質, 舌側にエナメル質とセメント質をもつ S 字状の咬合面形態を示した. 組織連続切片三次元構築において, 切歯と同様, 臼歯 apical bud は人が頭をもたげた様な丸みのある特徴的な形態を示した. 1 つの apical bud が単純な形態の切歯を形成する一方, モルモット臼歯形成端には, BrdU label-retaining cells を含む上皮細胞塊である apical bud が複数存在し, モルモット臼歯の持続的成長と複雑な歯冠形態との関係が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Apical buds in guinea pig cheek teeth demonstrated by three-dimensional reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling

---

○Seino Y<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Ida-Yonemochi H<sup>1</sup>, Ohshima H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

---

**Purpose:** Guinea pigs have continuously growing inisor and cheek teeth, which have a special epithelial structure referred to as an "apical bud" containing adult stem cells. This study aimed to clarify the relationship between the cusp pattern and stem cell compartments in guinea pig cheek teeth by three-dimensional (3D) reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling.

**Materials and Methods:** One-day- to 4-week-old guinea pigs with BrdU injections before 5-20 days before fixation were transcardially perfused with 4% paraformaldehyde under deep anesthesia. The maxillae and mandibles including cheek teeth were dissected, decalcified in a 10% EDTA solution, and embedded in paraffin. Serial horizontal sections were stained with hematoxylin and eosin, in addition to BrdU immunohistochemistry. The marginal border of apical buds in serial horizontal sections was traced with Adobe Photoshop<sup>®</sup> and these image sequences were stacked in ImageJ<sup>®</sup> to build 3D image.

**Results and Discussion:** The apical bud in guinea-pig cheek teeth showed a human head-like structure like that in rodent incisors and contained BrdU label-retaining cells. Thus, the present study suggested that plural apical buds produce the crown mold in a zigzag fashion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-7 TRP チャンネルを標的とした口腔癌細胞制御

---

○合島怜央奈<sup>1,2</sup>, 曹 愛琳<sup>2,3</sup>, 高 イキ<sup>2</sup>, 吉本 怜子<sup>3</sup>, 森 啓輔<sup>1</sup>, 檀上 敦<sup>1</sup>,  
山下 佳雄<sup>1</sup>, 清島 保<sup>3</sup>, 城戸 瑞穂<sup>2</sup>

<sup>1</sup>佐賀大 医 歯科口腔外科

<sup>2</sup>佐賀大 医 生体構造機能

<sup>3</sup>九大 院歯 口腔病理

---

細胞内へのカルシウム流入は、がんの進展や転移に重要な役割を担う。TRP (transient receptor potential) チャンネルは、細胞の増殖・分化・細胞死など多様な生理応答を調節する  $Ca^{2+}$  透過性の高い非選択的陽イオンチャンネルである。我々はこれまでに温度感受性 TRP チャンネル群が口腔癌細胞に発現することを報告した。本研究では TRPV4 チャンネルを標的とした口腔癌における抗腫瘍効果について検討を行った。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC2, HSC3, HSC4) における TRPV4 は、高分化型扁平上皮癌由来の HSC4 で HSC2, HSC3 よりも高く発現していた。HSC4 へ TRPV4 選択的アゴニストを加えると、顕著で持続的に細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇を認められた。また、TRPV4 選択的アゴニスト添加により濃度依存的に細胞死が誘導され、この細胞死は阻害剤や siRNA による機能的ノックダウン (siTRPV4 細胞) により抑制された。さらに TRPV4 アゴニスト投与により、細胞死のシグナル分子である Jun N-terminal kinase および p38 のリン酸化が増強された。siTRPV4 細胞では、細胞間接着分子である E-cadherin や  $\beta$ -catenin の局在が変化し、細胞間接着が減弱していた。また、上皮成長因子受容体のリン酸化が増強し、細胞の遊走能が亢進する傾向が認められた。以上より、口腔扁平上皮癌には機能的な TRPV4 が発現し、がん細胞の細胞死や遊走能に関与することが示唆された。これらのことから TRPV4 は口腔癌を制御する新しい治療ターゲットとなる可能性がある。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## TRP channel regulates oral squamous cell carcinoma

---

○Aijima R<sup>1,2</sup>, Cao A<sup>2,3</sup>, Gao W<sup>2</sup>, Yoshimoto R<sup>3</sup>, Mori K<sup>1</sup>, Danjo A<sup>1</sup>, Yamashita Y<sup>1</sup>,  
Kiyoshima T<sup>3</sup>, Kido M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral & Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ

<sup>2</sup>Dept Anat & Physiol, Fac Med, Saga Univ

<sup>3</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Calcium influx plays an important role in cancer progression and metastasis. Transient receptor potential (TRP) channels are  $Ca^{2+}$ -permeable nonselective cation channels that regulate cell proliferation, differentiation, and cell death. We hypothesized that TRPV4 plays an anti-cancer role in oral squamous cell carcinoma (OSCC). We found more TRPV4 expression in HSC4, well-differentiated OSCC cell line, than in HSC2 and HSC3. We observed that a selective TRPV4 agonist, significantly and continuously increased intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in HSC4. Furthermore, TRPV4 stimulation induced phosphorylation of Jun N-terminal kinase and p38, and cell death in a dose-dependent manner. These responses were decreased by TRPV4 inhibitors. Knockdown of TRPV4 in HSC4 changed the subcellular localization of the adherens junction molecules, E-cadherin and  $\beta$ -catenin, and reduced cell-cell contact. These results suggest that TRPV4 could be a novel therapeutic target for oral cancer treatment.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-8 Wnt/ $\beta$ -catenin 経路と FGF8 共刺激による歯原性間葉系細胞の象牙芽細胞分化作用の検討

---

○木村 基善<sup>1</sup>, 東 俊文<sup>2</sup>, 新谷 誠康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 小児歯

<sup>2</sup>東歯大 生化

---

【目的】 wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路と FGF8 は共に歯の発生及び分化に重要な働きをしていることが知られている。しかし歯胚発生分化は複雑で未だ解明されていない点が多い。本研究では象牙芽細胞分化における Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路と FGF8 の役割を新生児マウス歯胚間葉系細胞を用いて検討することを目的とする。【材料及び方法】 Cre 依存性 EGFP レポーターマウスと DMP1-Cre マウスを交配し、Dmp1 発現と同時に EGFP を発現するコンディショナルトランスジェニックマウスを作製した。この新生児マウス臼歯部より間葉系組織を回収、細胞を単離したのち3週間培養した。wnt3a, wnt5a, GSK3 $\beta$  阻害剤 (CHIR99021) および FGF8 を 10% FCS 添加 DMEM に添加し、オールインワン蛍光顕微鏡 (BZ-X700) により観察した。象牙芽細胞への分化の評価は象牙芽細胞および骨細胞の分化マーカーの発現を real time PCR 法を用いて分析した。また、EGFP 陽性細胞フローサイトメトリーによってソーティングし、解析を行った。【結果と考察】 CHIR99021 と FGF8 の同時投与により象牙芽細胞分化マーカーである Dmp1, Dspp, Nestin, Pannexin3 の発現は他の群と比較して有意に亢進が認められた。骨細胞分化マーカー (Runx2, Bglap, Rank1) の発現は全てにおいて発現の低かった。Sp7 や Ibsp は有意な発現亢進が認められた。Wnt3a および CHIR99021 添加群において Dmp1 の発現が EGFP の発現および蛍光免疫染色により認められた。これら刺激時の  $\beta$ -catenin の核内移行も観察された。本研究により Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路と FGF8 による共刺激が象牙芽細胞分化促進に働く可能性を示した。今後更なる検討を行う予定である。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## The concurrent stimulation of Wnt and FGF8 signaling proceeds differentiation of dental mesenchymal cells into odontoblast

---

○Kimura M<sup>1</sup>, Azuma T<sup>2</sup>, Shintani S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Biochem, Tokyo Dent Coll

---

Tooth development involves complicated processes but remain poorly understood. The purpose of this study was to investigate the role of Wnt signaling and FGF8 in dental mesenchymal cells and investigate the effects of concurrent stimulation of dental mesenchymal cells in differentiation into odontoblast. We used DMP1-inducible enhanced green fluorescence protein (EGFP) by crossing Cre dependent EGFP reporter mouse and Dmp1 Cre expression mouse. Murine dental mesenchymal cells obtained from neonatal mouse dental germ were cultured for 3week in DMEM with Wnt3a, Wnt5a, GSK3 $\beta$  inhibitor and FGF8. The cells were observed with fluorescence microscope (BZ-X700). The degree of odontoblast differentiation was analyzed by mRNA expression of odonto/osteo differentiation markers. The EGFP expressing cells were isolated by fluorescence-activated cell sorting and analyzed. The expression of odontoblast markers (*Dmp1*, *Dspp*, *Nestin*, *pannexin3*) were significantly increased in dental mesenchymal cells by simultaneous treatment of GSK3 $\beta$  inhibitor and FGF8 as compared with control or single treatment of Wnt3a, Wnt5a, GSK3 $\beta$  inhibitor and FGF8. Osteogenic differentiation markers (*Rank1*, *Runx2* and *Bglap*) were decreased, *Sp7* and *Ibsp* were increased. Immunofluorescence staining showed the expression of Dmp1 in cytoplasm. The nuclear translocation of  $\beta$ -catenin by treatment of Wnt3a and GSK3 $\beta$  inhibitor were observed. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-9 3次元培養骨髄間葉系幹細胞集塊 Clumps of an MSC/ECM complex の細胞分化を制御するメカノトランスダクション機構の解析

---

○小松 奈央, 加治屋幹人, 藤田 剛, 栗原 英見

広大院医歯薬保 歯周

【目的】 Clumps of an MSC/ECM complex (C-MSC)は3次元培養で骨髄間葉系幹細胞 (MSC) と細胞自身が産生する細胞外基質 (ECM) で構成された細胞集塊であり, 効果的な骨再生能を示す (Cytotherapy, 2015). 一方, 細胞を取りまく基質の固さ, 浮遊状態などがメカノトランスダクションを誘導し, 転写制御因子 YAP/TAZ を介して MSC の分化が制御されている. 本研究では, C-MSC 内におけるメカノトランスダクションの機能と細胞分化への影響を明らかにする. 【方法】 ヒト MSCs を 24-well plate に  $2.0 \times 10^5$  cells/well で播種し, アスコルビン酸含有の増殖培地で4日間培養し十分な ECM を産生させた. これを鈍的に剥離し, 細胞シート状態で浮遊させ, さらに培養を継続して C-MSC を得た. または, この C-MSC 作製過程から骨分化誘導培地による培養に変更して骨分化誘導を施された C-MSC (OIM-C-MSC) を作製した. この培養過程における C-MSC および OIM-C-MSC について, F-actin の形態, YAP/TAZ の局在と活性, 分化能を解析した. 【結果と考察】 C-MSC 作製過程における浮遊培養状態では, F-actin の脱重合が促進した. これと一致して, 経時的な YAP/TAZ の核外移行, 発現量の低下, 転写活性の低下を認めた. さらに, C-MSC は骨分化能より脂肪・軟骨分化能が高かった. しかし, F-actin の脱重合を阻害したところ, YAP/TAZ 活性が増加し, 脂肪・軟骨分化能が低下し, 骨分化能が上昇した. 一方, OIM-C-MSC は豊富な I 型コラーゲンで形づくられており, 高い YAP/TAZ 活性を示した. この YAP/TAZ 活性は, Integrin $\beta$ 1 siRNA 導入, もしくは F-actin 重合阻害剤によって抑制された. 以上から, C-MSC では浮遊培養状態であることがメカノトランスダクションを生じ, YAP/TAZ の核外移行を促進し, その活性を減弱させる可能性が示された. さらに, OIM-C-MSC では豊富な I 型コラーゲンを足場とすることで, F-actin の伸展を介して YAP/TAZ 活性の低下が減弱したと考えられる. 【利益相反】 利益相反状態にあります.

---

### Mechanotransduction in 3D culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex regulates the cell fate

---

○Komatsu N, Kajiya M, Fujita T, Kurihara H

Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

**Purpose:** Three-dimensional culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex (C-MSC) can induce tissue regeneration (Cytotherapy, 2015). Mechanical cues, such as stiffness of ECM or floating condition, cause mechanotransduction to regulate the transcriptional factor YAP/TAZ activity, which plays a role in the MSCs differentiation. Accordingly, we have investigated the YAP/TAZ signaling as the mechanotransducer in C-MSC. **Methods:** MSCs were seeded at a density of  $2.0 \times 10^5$  cells/well into 24-well plates and cultured with growth medium supplemented with L-ascorbic acid for 4 days. To obtain C-MSC, the cellular sheet composed of confluent cells was scratched at the edge and torn off. The cellular sheet then curled up and became round clumps of cells in three-dimensional culture. The YAP/TAZ activity, F-actin bundle formation, and the differentiation potency in C-MSC cultured with growth medium or osteo-inductive medium were analyzed. **Results & Conclusion:** YAP/TAZ activity in C-MSC was downregulated in accordance with actin depolymerization. Moreover, adipogenic/chondrogenic rather than osteogenic potential were enhanced in C-MSC. On the other hand, osteo-inductive medium elevated the amount of ECM to stimulate Integrin $\beta$ 1-ROCK-F-actin signaling, which resulted in the activation of YAP/TAZ in C-MSC. These findings suggested that YAP/TAZ play a role as the mechanotransducer to regulate cell fate in C-MSC.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

## P1-10 多段階癌抑制分子 CXCL14 の発現上昇は p38 $\delta$ マップキナーゼ特異的シグナル経路による

○陽 暁艶<sup>1,2</sup>, 小澤 重幸<sup>1,2</sup>, 生駒 丈晴<sup>1,2</sup>, 前畑洋次郎<sup>1</sup>, 加藤 靖正<sup>3</sup>, 畑 隆一郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 口腔難治疾患研

<sup>2</sup>神歯大 院歯 顎顔面診断治療

<sup>3</sup>奥羽大 歯 口腔機能分子生物

[背景と目的] 我々は CXCL14 を野生型マウスの 10 倍発現するトランスジェニックマウスを用いて、ケモカイン CXCL14 が発癌、癌の増殖、転移のすべての段階を抑制する多段階癌抑制分子であることを明らかにした (Yang, et al. Scientific Reports 2015, J Oral Biosci 2016). さらにヒト口腔癌細胞を用いた移植実験により、セツキシマブ (EGF 受容体に対するモノクローナル抗体) の腫瘍抑制作用は、癌細胞の CXCL14 の発現によることを明らかにした (Yang, et al. Oncogenesis, 2016). 本研究では CXCL14 遺伝子の発現制御機構を明らかにするために、HSC-3 (ヒト口腔扁平上皮癌) 細胞を用いて、紫外線 (UV) による CXCL14 の発現上昇のシグナル伝達機構について調べた. [結果] HSC-3 細胞の CXCL14 の発現低下は ERK1/2MAPK キナーゼ (MAPK) のリン酸化 (活性化) による. 細胞を UV 照射すると CXCL14 の発現上昇と同時に p38 MAPK のリン酸化 (活性化) と ERK1/2 MAPK の不活性化が起こった. p38 MAPK には  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  の 4 種のアイソフォームが存在する. p38 MAPK のリン酸化は p38 $\alpha/\beta$  の阻害剤で阻害されなかったことから, p38 $\gamma/\delta$  の関与が考えられた. 細胞をあらかじめ種々の p38 MAPK アイソフォームに対する shRNA で処理すると, p38 $\delta$  に対する shRNA のみが UV による CXCL14 の発現上昇を阻害した. さらに p38 の各種アイソフォームを細胞に過剰発現すると, p38 $\delta$  と ERK1/2 の複合体の形成と共にリン酸化 ERK1/2 の減少が確認された. [結論] 今回の結果から, UV 照射による CXCL14 遺伝子の発現上昇は p38 $\delta$ MAPK アイソフォームの特異的な活性化機構によることが明らかになった. この情報は CXCL14 による癌の治療と予防において重要と考えられる.

**[利益相反]** 利益相反状態にはありません.

### p38 $\delta$ MAP kinase specific pathway stimulates gene expression of chemokine CXCL14, a multistep tumor suppressor

○Yang X<sup>1,2</sup>, Ozawa S<sup>1,2</sup>, Ikoma T<sup>1,2</sup>, Maehata Y<sup>1</sup>, Kato Y<sup>3</sup>, Hata R<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Oral Health Sci Res Cent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Dentmaxillo Diag Treat Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Oral Fxn Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent

**[Introduction]** We previously reported that the chemokine CXCL14 is a multistep tumor suppressor that suppresses carcinogenesis, tumor growth and metastasis (Yang, et al. Scientific Reports 2015, J Oral Biosci 2016). The purpose of this study was to find the mechanism of transcriptional regulation of CXCL14 in HSC-3, a human tongue squamous cell carcinoma cell. **[Results]** UV irradiation of squamous cell carcinoma cells induced up-regulation of gene expression of chemokine CXCL14, stimulation of p38MAPK kinase (MAPK) phosphorylation (activation), and down-regulation of the phosphorylation of ERK1/2 MAPK. The stimulation of p38 MAPK phosphorylation was not inhibited by the presence of inhibitors of p38 $\alpha$  and  $\beta$ , suggesting p38 phosphorylation was not reflection of these 2 isoforms and that p38 $\gamma$  and  $\delta$  might be responsible for the phosphorylation. Then we pretreated the cells with respective isoform specific short hairpin (sh) RNAs before UV irradiation. Only shRNA for p38 $\delta$  attenuated the UV-induced up-regulation of CXCL14 gene expression. **[Conclusion]** Our data indicate that gene expression of chemokine CXCL14, a multistep tumor suppressor, is regulated by p38 MAPK isoform specific signaling.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-11 咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明に関する研究—エストロゲンと $\beta$ -crystallinA4 は腱細胞の分化・増殖を促進させる—

---

○林 直樹<sup>1</sup>, 佐藤 毅<sup>1</sup>, 磯崎 祐太<sup>1</sup>, 伊神 英治<sup>1</sup>, 湯本 愛実<sup>1</sup>, 古株彰一郎<sup>2</sup>, 依田 哲也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>埼玉大 医口外

<sup>2</sup>九歯大 分子情報生

---

**【目的】**咀嚼筋腱・腱膜過形成症は、側頭筋の腱や咬筋の腱膜などが過形成し、筋の伸展が妨げられて開口障害を呈する疾患で、発症要因は不明である。われわれは本疾患患者の腱組織において、ストレス関連タンパク質である  $\beta$ -crystallin A4 (CRYBA4) が特異的に上昇すること、また、本疾患患者の男女比は 1: 8.5 と女性に多く、本疾患患者で血中のエストロゲン濃度が高いことを報告した。今回、咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明を目的として、腱細胞における CRYBA4 およびエストロゲンの作用について検討を行った。**【方法】**マウス眼球 cDNA から PCR にて CRYBA4 を増幅し発現ベクター pcDNA3 ヘクローニングを行い、CRYBA4 発現ベクターを作製した。腱細胞株として TT-D6 細胞、およびエストロゲンとして  $17\beta$ -estoradiol を用いた。CRYBA4 発現ベクターを TT-D6 細胞へ遺伝子導入した。解析には RT-PCR, リアルタイム PCR, 細胞増殖試験および Western blotting を用いた。**【結果】**TT-D6 細胞において CRYBA4 遺伝子の発現を認めた。TT-D6 細胞に  $17\beta$ -estoradiol 処理をすることにより、腱分化マーカーである tenomodulin, collagen6A1 の発現が上昇した。また、CRYBA4 を過剰発現させた TT-D6 細胞では増殖促進を認めたが、Tnmd 発現に変化はなかった。しかしながら、CRYBA4 を過剰発現させた TT-D6 細胞において  $17\beta$ -estoradiol を作用させることで、細胞増殖は促進し、tenomodulin の発現が著しく上昇した。**【考察】**咀嚼筋腱・腱膜過形成症では、CRYBA4 タンパク質の発現亢進による腱細胞増殖促進およびエストロゲンによる腱細胞分化促進の結果、腱組織の過形成が起こる可能性が示唆された。**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## A study for elucidation of masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia—Estrogen and $\beta$ -crystallin A4 promotes tenocyte differentiation and proliferation

---

○Hayashi N<sup>1</sup>, Sato T<sup>1</sup>, Isozaki Y<sup>1</sup>, Ikami E<sup>1</sup>, Yumoto M<sup>1</sup>, Kokabu S<sup>2</sup>, Yoda T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Saitama Med Univ

<sup>2</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

---

Masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia (MMTAH) exhibits bilateral hyperplasia of tendons and aponeuroses of the masticatory muscles, resulting in restricted muscle extension and subsequent limited mouth opening. Although the pathological condition of this disease is due to hyperplasia of tendon-aponeurosis, the etiology of MMTAH still remains unclear. We have previously shown the increment of tendon  $\beta$ -crystallinA4 (CRYBA4) protein and the upregulation of serum estrogen in MMTAH and also reported the ratio of men to women with MMTAH is 1: 8.5. Here we investigated the role of CRYBA4 and estrogen in tenocytes. We constructed CRYBA4 expression vector by a standard RT-PCR technique using murine eyes. We used TT-D6 which is tendon cell line and  $17\beta$ -estoradiol (E2). RT-PCR, real time RT-PCR, a cell proliferation assay, and immunoblotting techniques were performed. CRYBA4 expressed by TT-D6.  $17\beta$ -estoradiol treatment increased gene expression of tenocyte differentiation, such as tenomodulin and collagen 6A1. Forced expression of CRYBA4 promoted tenocyte proliferation without change of tenomodulin expression. Drastic upregulation of tenomodulin was observed in CRYBA4-overexpressed TT-D6 with  $17\beta$ -estoradiol treatment. We speculate that upregulation of CRYBA4 and high level of estrogen may cause tendon-aponeurosis hyperplasia in MMTAH.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-12 モノカルボン酸トランスポーター 1 は骨芽細胞分化の新規制御因子である

---

○笹 清人, 吉村健太郎, 宮本 洋一, 上條竜太郎

昭大 歯 口腔生化

【目的】細胞膜およびミトコンドリア内膜に分布するモノカルボン酸トランスポーター 1 (MCT1) は、乳酸やピルビン酸、ケトン体などのモノカルボン酸の細胞内外およびミトコンドリアへの輸送担体である。我々は以前、軟骨細胞の MCT1 が炎症性軟骨細胞死および軟骨基質の分解に重要な役割を果たしていることを報告した。一方、他の硬組織構成細胞における MCT1 の機能は不明である。そこで本研究では、骨芽細胞分化における MCT1 の役割を解析した。【方法】MCT1 の発現を siRNA により抑制したマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を骨形成因子(BMP2)で刺激し、骨芽細胞分化をアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性および骨芽細胞分化マーカー遺伝子 (Tnap, Runx2, Osx) 発現を定量的に解析するとともに、BMP2/Smad の標的遺伝子 Id1 の発現を Luciferase reporter assay で評価した。さらに p53 の核移行を蛍光免疫染色により解析した。【結果】Mct1 siRNA は、C2C12 細胞における BMP2 誘導性の ALP 活性上昇および骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現上昇を抑制した。癌抑制遺伝子 p53 の核移行ならびに p53 とその下流で骨芽細胞分化を抑制することが知られている転写因子 Klf4 の発現は Mct1 siRNA により上昇した。一方、Mct1 siRNA は BMP2/Smad の標的遺伝子 Id1 の発現を変化させなかった。これらの現象は、初代培養骨芽細胞でも観察された。【考察】MCT1 が骨芽細胞分化に必要であることが明らかとなった。そのメカニズムとして、MCT1 は p53 の発現抑制を介して骨芽細胞分化の抑制因子 KLF4 の発現を負に制御する可能性が考えられた。今回の研究は、これまでモノカルボン酸の担体として認識されていた MCT1 に骨芽細胞分化の制御という新たな機能を見出したもので、MCT1 が骨形成制御の新たな標的となる可能性を示唆するものである。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Monocarboxylate transporter-1 functions as a positive regulator of osteoblast differentiation

---

○Sasa K, Yoshimura K, Miyamoto Y, Kamijo R

Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

Monocarboxylate transporter-1 (MCT1) distributed in plasma membrane and mitochondrial inner membrane is a transmembrane transporter for monocarboxylates such as lactate and pyruvate. We previously reported that MCT1 is required for chondrocyte death and degradation of cartilage matrix in inflammatory conditions. Function of MCT1 in osteoblasts, however, has not elucidated. Here we studied the role of MCT1 in osteoblast differentiation. After introduction of Mct1 siRNA, mouse myoblastic C2C12 cells were stimulated with bone morphogenetic protein (BMP)-2. Alkaline phosphatase (ALP) activity and expression of marker genes for osteoblast differentiation, namely, Tnap, Runx2, and Osx, were assessed to evaluate their differentiation into osteoblast-like cells. Mct1 siRNA suppressed BMP2-induced increase in expression of osteoblast-associated genes and ALP activity. While Mct1 siRNA did not affect the mRNA expression of Id1, it augmented that of p53 and Klf4, transcription factors that suppress osteoblast differentiation. In addition, nuclear accumulation of p53 was enhanced by Mct1 siRNA. These results indicate that MCT1 promotes osteoblast differentiation via suppressed expression of p53 and KLF4. The present study indicates that MCT1 functions as a positive regulator of osteogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-13 低分子量 G タンパク質 Rac1 は骨芽細胞分化の負の制御因子である

---

○鈴木 大, 山田 篤, 笹 清人, 上條竜太郎

昭大 歯 口腔生化

Rac1 は Rho ファミリーに属する低分子量 G タンパク質の一つで、細胞の様々な機能にとって重要な役割を果たしているが、骨形成における機能に関しては未だ不明な点が多い。我々は、未分化間葉組織特異的に Rac1 遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウトマウス (*Prx1-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>*) の頭蓋骨で、縫合部の癒合不全が起こることを見出した。そこで、*Prx1-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>* マウスの頭蓋より初代培養骨芽細胞を採取し、骨芽細胞分化に対する影響を検討した。その結果、*Prx1-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>* マウス由来の骨芽細胞でアルカリホスファターゼ (ALP) 活性がコントロールと比較し有意に上昇していることが確認された。また、骨芽細胞特異的に Rac1 遺伝子を欠損させた *Coll-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>* マウスの初代培養骨芽細胞でも同様に ALP 活性の上昇が見られた。続いて、siRNA を用いて野生型マウスの初代培養骨芽細胞に対し、Rac1 の発現を抑制したところ、ALP 活性の上昇とともに、*Runx2*, *Sp7* (Osterix), *Bglap* (Osteocalcin), *Ibsp* (Bone Sialoprotein) などの骨芽細胞分化マーカーの遺伝子発現の上昇が認められた。さらに、siRNA による Rac1 の発現抑制は骨芽細胞の石灰化を亢進させた。最後に、骨格標本の解析から胎生期において *Prx1-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>* マウスの頭蓋骨の石灰化がコントロールマウスと比較し亢進していることが明らかとなった。以上の結果から、Rac1 は骨芽細胞分化を負に制御しており、*Prx1-Cre; Rac1<sup>fl/fl</sup>* マウスは骨芽細胞分化の亢進によって頭蓋骨の早期石灰化が引き起こされ、縫合部の癒合不全を呈した可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Small GTPase Rac1 is a negative regulator in calvarial osteoblast differentiation and ossification

---

○Suzuki D, Yamada A, Sasa K, Kamijo R

Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

Rac1 is a small GTP-binding protein of Rho family and plays a critical role in the control of cell polarity and migration. However, the roles of Rac1 to osteoblast differentiation were largely unknown. In this study, we found that Rac1 conditional knockout mice have incomplete fusions of suture and fontanels even when adults and premature ossification on calvariae at embryonic days. Moreover, calvarial osteoblasts which obtained from Rac1 conditional knockout mice indicated upregulation of alkaline phosphatase activity. Therefore, the Rac1 deletion of osteoblasts by siRNA led enhanced expressions of osteoblast marker genes (*Runx2*, *Sp7*, *Bglap*, and *Ibsp*). In summary, these results suggested that Rac1 controls osteoblast differentiation negatively, and regulates cranium development properly.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-14 Actin-Binding LIM protein 1 は破骨細胞における細胞骨格形成と細胞機能を制御する**

---

○榎原 春菜<sup>1,2</sup>, 坂井 詠子<sup>1</sup>, 岡元 邦彰<sup>3</sup>, 筑波 隆幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>長大 院医歯薬 歯科矯正

<sup>3</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

---

破骨細胞は単球・マクロファージ系前駆細胞より分化した多核細胞で、石灰化した骨の吸収を司る唯一の細胞である。骨吸収サイクルにおける、破骨細胞の骨面への接着とそこからの離脱は細胞骨格の動的構造に依存している。しかしながら、破骨細胞の細胞骨格形成の制御因子については不明な点が多い。本研究では、DNA マイクロアレイを用いて破骨細胞の成熟化とともに上昇する遺伝子の中から Actin-Binding LIM protein 1 (ab-LIM1) を同定した。ab-LIM1 はアクチンフィラメントと結合する LIM タンパク質であることから、細胞骨格形成に関する機能解析を試みた。まず siRNA による ab-LIM1 遺伝子のノックダウン解析を行った。ab-LIM1 ノックダウン破骨細胞は多核化と巨大化を示し、種々の破骨細胞マーカー遺伝子の発現レベルが有意に上昇していた。免疫蛍光染色による観察において、ノックダウン破骨細胞では細胞骨格を形成するアクチンとチューブリンが広範囲にわたって進展している様子や、異常なアクチンリング形成が認められた。またノックダウン細胞では遊走能の増加、骨吸収能の増加が認められた。次に ab-LIM1 遺伝子の過剰発現細胞を作製し、その解析を行った。すると、ab-LIM1 過剰発現細胞では多核細胞が殆ど形成されず、各種破骨細胞マーカー遺伝子の発現レベルは有意に低下し、遊走能、骨吸収能ともに減少していた。以上の結果より、ab-LIM1 は破骨細胞と前駆細胞におけるアクチン形成を制御することで細胞骨格形成と遊走能、骨吸収能を制御することが予想される。共同演者：吉田 教明

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Actin-Binding LIM protein 1 regulates cytoskeleton and cell function in osteoclasts**

---

○Narahara H<sup>1,2</sup>, Sakai E<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>3</sup>, Tsukuba T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ, Grad Sch Biomed Sci

<sup>2</sup>Dept Dent Orthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>3</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ, Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Osteoclasts are bone-resorbing and multinucleated giant cells that are formed by fusion of monocyte/macrophage lineage. Osteoclasts are regulated by actin-based dynamic organelles, which are implicated in cell adhesion, spreading, and migration. However, the detailed mechanisms of cytoskeletal organization in osteoclasts remain to be elucidated. In this study, we identified Actin-Binding LIM protein 1 (ab-LIM1) as an up-regulated gene during osteoclast differentiation from macrophages, using DNA microarray analyses. Knockdown of ab-LIM1 by small interfering RNA induced multinucleation and larger cell formation in monocytic RAW-D derived osteoclasts. In ab-LIM1 depleted cells, the mRNA levels of various osteoclast marker genes were significantly higher than those in the control cells. Immunofluorescence observation by confocal microscopy revealed that the larger cell formation in ab-LIM1 knock-down cells was owing to abnormal elongation by actin and tubulin formations. Furthermore, knockdown of ab-LIM1 caused abnormal filopodium formation and vacuolation, and impaired cell migration and bone resorption. Conversely, overexpression of ab-LIM1 enhanced mononucleation, and decreased mRNA levels of various osteoclast marker genes. Reduced bone resorption and cell migration were also observed in ab-LIM1 overexpressing cells. Thus, these findings suggest that ab-LIM1 regulates cytoskeleton, and cell function such as migration and bone resorption by controlling actin formation in osteoclasts.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-15 Activin は RANKL 誘導の破骨細胞分化を亢進する

---

○梶田 倫功<sup>1,2</sup>, 有吉 渉<sup>1</sup>, 沖永 敏則<sup>1</sup>, 西原 達次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 感染分子生物

<sup>2</sup>九歯大 顎顔面外科

---

【目的】 Activin-A は赤芽球分化誘導因子として、また下垂体の FSH 分泌を促進するタンパク質として発見され、TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属する成長因子である。これまでの研究で骨基質中に豊富に存在する Activin-A が破骨細胞形成を制御することが示されているが、その詳細な分子メカニズムは解明されていない。そこで *in vitro* の破骨細胞誘導系に対して Activin-A を作用させ、その分化修飾メカニズムについて分子生物学的な解析を行なった。【方法】 マウス由来の骨髄細胞とマウス由来の破骨細胞前駆細胞株である RAW264.7 cell を RANKL および Activin-A 存在 / 非存在下に一定期間培養して、TRAP 染色およびアクチンリング染色を行い、破骨細胞の形成と成熟を評価した。また、Activin-A 刺激時の破骨細胞関連遺伝子の発現を Real-time RT-PCR、細胞内シグナル分子の活性化については Western blotting 法にてそれぞれ検証した。【結果】 骨髄細胞培養系において、RANKL および M-CSF で刺激し Activin-A 存在下において、RANKL に誘導される TRAP 陽性多核細胞の形成およびアクチンリングの形成は Activin-A 添加により亢進が観察された。Real-time RT-PCR 解析の結果、RANKL による NFATc1, MMP9, Cathepsin-K, Oc-STAMP の遺伝子発現誘導が Activin-A 併用群で増強していた。NFATc1, c-fos については Activin-A 併用により、タンパクレベルでの発現亢進が検出された。NFATc1 上流の分子である MAPK, CREB については RANKL 刺激によるリン酸化の亢進は確認されたものの Activin-A の誘導でタンパクの発現は亢進されなかった。【結論】 Activin-A は破骨細胞前駆細胞に作用して NFATc1 の発現亢進を介して、RANKL 誘導下の破骨細胞形成を正に制御することが示された。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Activin-A enhances RANKL-induced osteoclast differentiation

---

○Kajita T<sup>1,2</sup>, Ariyoshi W<sup>1</sup>, Okinaga T<sup>1</sup>, Nishihara T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ

---

Previous studies have shown that Activin-A abundantly present in bone matrix regulates osteoclast formation, but its detailed molecular mechanism has not been elucidated. The aim of this study is to investigate the effects of Activin-A on osteoclast differentiation *in vitro* by conducting molecular biological analysis. Mouse-derived bone marrow cells and RAW 264.7 cell were cultured in the presence / absence of RANKL and Activin-A. After culturing the cells, TRAP staining and actin ring staining were performed to assess osteoclast formation and maturation. In addition, the expression of osteoclast-related genes was examined by real time RT-PCR and the activation of intracellular signaling molecule was confirmed by western blotting analysis. Activin-A enhanced RANKL-induced formation of TRAP-positive multinucleated cells and actin rings formation in bone marrow cells. Real-time RT-PCR analysis reveals that induction of osteoclast-related genes expression by RANKL was enhanced by the stimulation with Activin-A. We also found that expression of NFATc1 and c-fos proteins was up-regulated by Activin-A. Although phosphorylation of MAPK and c-fos proteins was induced by RANKL, phosphorylation of these molecules was not changed by Activin-A. Activin-A positively regulates osteoclast formation induced by RANKL via enhanced expression of NFATc1.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-16 形成過程のエナメル質中のケラチン 75 について

---

○千葉理紗子<sup>1</sup>, 山本 竜司<sup>1</sup>, 大久保水羽<sup>1</sup>, 斉藤 まり<sup>1</sup>, 西川 純雄<sup>2</sup>, 山越 康雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 生化

<sup>2</sup>鶴大 歯 生物

ケラチン 75 (KRT75) 遺伝子の突然変異は抜け毛のみならず虫歯など歯に対しても様々な問題を引き起こす可能性があることが示唆されており, 近年エナメル質に存在することが報告されているが, その動態については不明である. 【目的】本研究では形成過程にあるブタエナメル質中の KRT75 について免疫組織化学 (IHC), 遺伝子およびタンパク実験を行うことを目的とした. 【方法】IHC 実験は, 生後 5 日齢および 11 日齢のマウス下顎臼歯切片を作製して KRT75 抗体を用いた免疫染色を行った. 遺伝子実験は, 生後約 5 ケ月のブタ永久切歯エナメル器より基質形成期, 移行期, 成熟期に相当する領域から total RNA を調製して KRT75 の遺伝子発現を定量 PCR にて分析した. タンパク実験は, 同齢のブタ永久第二大臼歯の幼若エナメル質より KRT75 の分離精製を行い, KRT75 抗体を用いたウェスタンブロットにて特定されたタンパクバンドを液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS/MS) にて解析を行った. 【結果と考察】IHC 実験では, KRT75 が生後 5 日齢および 11 日齢マウス共にエナメル質中に存在することが観察された. 遺伝子実験では, ブタ切歯エナメル器を用いた定量 PCR において, KRT75 の遺伝子発現がエナメル質形成過程の全ステージで確認されたが, 移行期で特に発現が高かった. さらにタンパク実験では, ウェスタンブロットより KRT75 抗体陽性のタンパク質が, 幼若および成熟エナメル質で検出され, LC-MS/MS 分析により KRT75 であることが同定された. 以上, KRT75 の遺伝子発現が全ステージで継続していること, KRT75 タンパク質が幼若および成熟エナメル質で量的にさほど変化がないことより, KRT75 はエナメル質形成過程において他のエナメルタンパク質とは異なる動態を呈していることが考えられた.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

### Keratin 75 of developing enamel

---

○Chiba R<sup>1</sup>, Yamamoto R<sup>1</sup>, Okubo M<sup>1</sup>, Saito M<sup>1</sup>, Nishikawa S<sup>2</sup>, Yamakoshi Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem and Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

<sup>2</sup>Dept Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

**Our objective:** is to investigate the dynamics of keratin 75 (KRT75) during enamel formation. **Methods:** Immunohistochemical study with KRT75 antibody was performed for mandibular molars sections of the 5- and 11-day-old mice. For genetic study, enamel organ epithelia corresponding to the secretory, transition and maturation stages were prepared from tooth germs of permanent incisors of 5-month-old pig and the gene expression of KRT75 was analyzed by quantitative PCR. Both immature and mature enamel proteins were extracted from tooth germs of the second molars of 5-month-old pig. Each of protein fractions was characterized by SDS-PAGE and Western blotting. The KRT75 antibody-positive bands were excised from SDS-PAGE gel and were further characterized by LC-MS/MS. **Results and Discussion:** The KRT75 was observed in enamel matrix of both days 5 and 11 mice. The mRNA of porcine KRT75 expressed in three stages of ameloblasts, and its level, in particular, was high at the transition stage. The porcine KRT75 protein was identified by LC-MS/MS analysis. Western blotting showed that the KRT75 was present in both porcine immature and mature enamel with almost equal amount. These findings suggest that KRT75 may have the different status with other enamel proteins during enamel formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-17 Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラー抽出液が 3 種のヒト由来幹細胞の増殖分化におよぼす影響**

---

○石樽 大嗣<sup>1,2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 新谷 耕平<sup>1,2</sup>, 巽 勇介<sup>1,2</sup>, 井殿 泰鳳<sup>1,2</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 神谷 真子<sup>3</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 堀田 正人<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 保存修復

<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>朝日大 営 化学

---

**【目的】** Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは様々なイオンを溶出するフィラーとして報告されている. このフィラーを応用して新たな歯科材料を開発するためには溶出したイオンに対する歯髄組織や歯周組織の応答を明らかにする必要がある. そこで我々は, 溶出イオン量の異なる S-PRG フィラー抽出液からなる培地を作製し, 3 種のヒト幹細胞 (ヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSCs), ヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC), ヒト脂肪組織由来幹細胞 (hASC) を培養して, 溶出イオンに対する 3 種の幹細胞の応答について解析した. **【材料と方法】** 株式会社松風より提供を受けた S-PRG フィラー抽出液 (フィラー/溶媒比 1:1) を幹細胞増殖培地で希釈して S-PRG フィラー抽出液含有培地を作製した. 溶出したイオンの組成を検討するために, ICP 発光分析およびフッ素イオン電極法による測定を行った. そして, S-PRG フィラー抽出液含有培地を用いて 3 種の幹細胞を培養し, 増殖の検討およびアルカリホスファターゼ (ALP) 活性染色を行った.

**【結果と考察】** 3 種のヒト幹細胞の S-PRG フィラー抽出液に対する感受性は異なっており, hDPSC では 250 倍に希釈した培地で細胞毒性は示さなかったが, hASC では 250 倍および 500 倍希釈培地で著しい細胞毒性を示し, hBMSC では 250 倍希釈培地でわずかに毒性が認められたが 500 倍希釈培地では細胞毒性は認められなかった. また, 500~1000 倍希釈培地では細胞増殖が阻害された一方で, ALP 活性が上昇した. さらに, 骨芽細胞あるいは象牙芽細胞のマーカー遺伝子の発現変化を検討中であるが, 細胞種によって感受性が異なることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Effects of the surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler eluate on the proliferation and differentiation of 3 types of human stem cells**

---

○Ishigure H<sup>1,2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Shintani K<sup>1,2</sup>, Tatsumi Y<sup>1,2</sup>, Idono T<sup>1,2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Kamiya M<sup>3</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Hotta M<sup>1</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin

---

It has been reported that S-PRG fillers had a various ion-releasing ability. In this study, we evaluate the properties of cell culture media containing the S-PRG eluate using 3 types of human stem cells including human dental pulp stem cells (hDPSCs), human bone marrow derived stem cells (hBMSCs) and human adipose tissue derived stem cells (hASCs) in culture. S-PRG fillers eluates were prepared by Shofu. The eluates were diluted to 1/100 - 1/2000 with the stem cell growing media, respectively. The amount of released ions i. e., Sr<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Na<sup>+</sup>, SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, and BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, from the fillers were analyzed by the inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). The concentration of F<sup>-</sup> was also determined using a F<sup>-</sup> electrode method. The cells were harvested for 1-14 days in these media. For the evaluation of cell proliferation, Alamar Blue solution was used, and additionally, ALP staining was performed. Changes in the expression of marker genes of osteoblasts or odontoblasts, are now under investigation. The sensitivity of the 3 types of human stem cells to our conditioned media containing the S-PRG fillers eluate was valied. It was suggested that sensitivity varies to the extracted various ions from the S-PRG fillers depended on the cell type. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-18 Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーのヒト血清タンパク質塩析効果の検討

---

○巽 勇介<sup>1,2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 石樽 大嗣<sup>1,2</sup>, 清水翔二郎<sup>1,2</sup>, 越智 葉子<sup>1,2</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 神谷 真子<sup>3</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 堀田 正人<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 保存修復

<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>朝日大 営 化学

---

【目的】 Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは様々なイオンを溶出する新たなフィラーとして報告されている。このフィラーを応用した歯科材料を開発するためには、S-PRG フィラーから徐放するイオンの種類や量について検討し、その特性を明らかにして、溶出したイオンに対する歯髄組織や歯周組織の応答を明らかにする必要がある。そこで我々は S-PRG フィラーを添加した新たな歯科材料の開発、あるいは S-PRG フィラーから徐放するイオンを含有する抽出液を歯科材料として応用するための基礎データを集積すべく、S-PRG フィラー/溶媒比の異なる S-PRG フィラー抽出液中に徐放されるイオンの量比の検討を行い報告してきた。今回は抽出液とヒト血清を混和して、沈殿したタンパク質あるいは上清を用い、培養細胞に対する作用について検討した。【材料と方法】 株式会社松風より提供を受けた S-PRG フィラー抽出液を用いて、S-PRG フィラー抽出液/ヒト血清の混合比を 1:2, 1:1 および 2:1 として 4°C で、24 時間攪拌し、S-PRG フィラー抽出液によりヒト血清タンパク質の塩析を行った。S-PRG フィラー抽出液に含まれるイオン組成は、ICP 発光分析およびフッ素イオン電極法により測定した。また、沈殿後のタンパク質あるいは上清に残ったタンパク質を培地に添加し、ヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) の増殖について検討した。【結果と考察】 3 種の塩析条件で得た沈殿血清タンパク質と上清では、S-PRG フィラー抽出液と血清を 1:1 で混合した後の上清を添加した培地で hDPSC の増殖が最も促進されたことから、タンパク質の同定を行うことにより、塩析条件を調節することで沈殿タンパク質あるいは上清に残るタンパク質のコントロールが可能であることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Salting out effect in the surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler eluate on the human serum proteins

---

○Tatsumi Y<sup>1,2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Ishigure H<sup>1,2</sup>, Shimizu S<sup>1,2</sup>, Ochi Y<sup>1,2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Kamiya M<sup>3</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Hotta M<sup>1</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin

---

It has been reported that S-PRG fillers have various ion-releasing abilities. We reported that the amount of ions released from the S-PRG fillers under different conditions. In this study, we evaluate the salting out effects of S-PRG filler eluate on the human serum proteins and effects of these proteins on the human dental pulp stem cell (hDPSC) proliferation. S-PRG filler eluates were obtained by Shofu (Kyoto). The eluates and human sera were mixed at a 1:2, 1:1, and 2:1 ratio by volume. The amount of released ions i. e., Sr<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Na<sup>+</sup>, SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, and BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, from the S-PRG fillers were analyzed by the inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES) and the concentration of F<sup>-</sup> was also determined using a F<sup>-</sup> electrode method, respectively. We evaluated the effects of precipitated proteins from human sera by the fillers or the supernatants of the mixture of the filler eluates and human sera on the human dental pulp stem cell (hDPSC) proliferation. The supernatant obtained under the condition of 1:1 mixture promoted hDPSC proliferation. Our results suggest that it is possible to control precipitated proteins or proteins remaining in the supernatant from human sera by adjusting salting out conditions of S-PRG filler eluates.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-19 *Mmp20* ノックアウトマウス・エナメル質中の TGF- $\beta$ アイソフォームについて

○大久保水羽<sup>1</sup>, 小林 冴子<sup>2</sup>, 長野 孝俊<sup>1</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 山越 康雄<sup>3</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病

<sup>2</sup>鶴大 歯 小児歯

<sup>3</sup>鶴大 歯 生化

トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- $\beta$ ) は、哺乳類では 3 種類のアイソフォーム (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3) が存在する。我々はこれまでに形成過程にあるブタ幼若エナメル質中には TGF- $\beta$ 1 が存在することを見出し、*in vitro* の実験においてマトリックスメタロプロテアーゼ 20 (MMP20) によって活性化されることを明らかにした。【目的】そこで、*Mmp20* ノックアウトマウスを使用し、*in vivo* においても TGF- $\beta$ 1 が MMP20 によって活性化されるかどうかを明らかにし、TGF- $\beta$ 1 以外のアイソフォームについても調べた。【材料と方法】生後 5 日および 11 日齢の MMP20 に関連したマウス；*Mmp20*<sup>+/+</sup> (WT), *Mmp20*<sup>+/-</sup> (Het) および *Mmp20*<sup>-/-</sup> (KO) の第 1 大白歯からエナメルタンパクを抽出し、ザイモグラフィおよび SDS-PAGE にて MMP20 活性およびタンパク質バンドの変化を確認した。また、タンパク質試料をヒト歯根膜由来培養細胞 (HPDL 細胞) に添加してアルカリホスファターゼ (ALP) 活性の測定を行い、TGF- $\beta$  活性として評価した。さらに TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 抗体を用いた ELISA を行って TGF- $\beta$  アイソフォームの同定を行った。【結果および考察】5 日齢の WT と Het マウスではアメロゲニンバンドが分解されていたが、KO マウスでは分解が生じていなく、11 日齢では異なる分解様式を示した。また、KO マウスにおける TGF- $\beta$  活性は WT と Het と比較して有意に減少した。さらに ELISA では TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 が同定され、TGF- $\beta$ 1 と  $\beta$ 3 は、ほぼ同一量を示したが、TGF- $\beta$ 2 はそれらの 1/25~1/40 量であった。以上の結果より、MMP20 が *in vivo* においても TGF- $\beta$  の活性化に関与する事と、TGF- $\beta$  の存在量がアイソフォーム間で異なる事が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

### TGF- $\beta$ isoforms in enamel of *Mmp20* knockout mice

○Okubo M<sup>1</sup>, Kobayashi S<sup>2</sup>, Nagano T<sup>1</sup>, Gomi K<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

**Our objectives:** are to investigate the active-form TGF- $\beta$ , and to identify TGF- $\beta$  isoforms in enamel of *Mmp20* null mice. **Methods:** Proteins were isolated from maxillary and mandibular first molars of *Mmp20*<sup>+/+</sup> (WT), *Mmp20*<sup>+/-</sup> (Het) and *Mmp20*<sup>-/-</sup> (KO) mice at days 5 and 11. Each of protein samples was characterized by SDS-PAGE, zymography and Western blotting. TGF- $\beta$  activity in each of samples was evaluated by determining ALP-inducing activity in hPDL cells. TGF- $\beta$  isoforms were identified by ELISA against TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2 and  $\beta$ 3 antibodies. **Results:** Active-form MMP20 was detected in both day-5 and -11 enamel proteins from WT and Het mice, but not in KO mouse. By day 5, amelogenin cleavage products were detected in WT and Het mice, but only original amelogenin was found in KO mouse. Both day-5 and -11 protein samples from all mice enhanced ALP-inducing activity, but ALP activity of KO mouse was significantly lower than that of WT and Het mice. Three TGF- $\beta$  isoforms (TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2 and  $\beta$ 3) were detected by ELISA. The amount of TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 3 was almost equal, but that of TGF- $\beta$ 2 was 1/25 of TGF- $\beta$ 1 and 1/40 of TGF- $\beta$ 3, respectively. **Conclusion:** MMP20 was necessary for the activation of TGF- $\beta$ s in *in vivo* enamel. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-20 抗炎症性分子 Del-1 は Wnt5a-Ror2 伝達経路を阻害し骨吸収を抑制する

---

○前川 知樹<sup>1,3</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>, 土門 久哲<sup>1,3</sup>, 永井 康介<sup>3</sup>, 寺尾 豊<sup>1,3</sup>, 前田 健康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 高口機教研セ

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 微生物

---

【背景】血管内皮細胞において分泌される Del-1 タンパク質は、白血球の遊走および炎症を制御している。これまでに、Del-1 が構成ドメイン依存的な炎症抑制ならびに破骨細胞分化と活性抑制を示すことを、マウス・サルを用いた実験で明らかにしてきた。近年 Del-1 が、発生段階においての骨形成に Wnt タンパク質と関連すること、特にβカテニンを介さない非古典経路で重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。また、骨芽細胞系細胞と破骨細胞前駆細胞との間の Wnt5a-Ror2 シグナル伝達系が、非古典経路の活性化と破骨細胞の分化において重要な因子の一つであることから、Del-1 が骨吸収制御にどのように関わっているかを分子レベルで検索した。

【方法】野生型マウスと Del-1KO マウスおよび Ror2KO マウスより採取した破骨前駆細胞を用い、Wnt5a と Del-1 刺激による破骨細胞分化関連分子の変動をウエスタンブロット法と qPCR 法にて比較した。Del-1 と Wnt5a, Ror2 との相互作用は、プルダウンアッセイにて結合能を判定した。

Wnt5a のデコイ受容体と Del-1 接種による破骨細胞の制御に関しては、野生型マウスと Del-1KO マウスを用いた in vivo 歯牙結紮モデルにて解析した。【結果と考察】マウス破骨前駆細胞において、Del-1 は Wnt5a-Ror2 伝達経路を阻害することが示された。プルダウンアッセイによる解析から、Del-1 は、Wnt5a と競合的に Ror2 に結合することが認められたため、Del-1 は Wnt5a の競合的拮抗剤として働くと推察された。また、歯周病モデルマウスへの Ror2 デコイ受容体と Del-1 の局所接種では、歯牙結紮による炎症と骨吸収が抑制されていた。以上より、Del-1 は、既知のインテグリンを介する破骨細胞分化抑制能と、白血球の遊走抑制による局所炎症の抑制能に加え、新たに Wnt5a 競合的かつβカテニン非依存的な非古典経路の阻害能を有することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Local regulator Del1 inhibits bone-resorption via suppression of Wnt5a-Ror2 signaling axis

---

○Maekawa T<sup>1,3</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>, Domon H<sup>1,3</sup>, Nagai K<sup>3</sup>, Terao Y<sup>1,3</sup>, Maeda T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

**RATIONALE:** The endothelial cell-secreted protein Del1 works homeostatically to regulate neutrophil transmigration and local inflammation. Our preliminary studies suggest that Del1 regulates osteoclasts via Wnt5a-Ror2 axis. Therefore, the multifunctional Del1 can potentially act as a gatekeeper of inflammation and may be a candidate therapeutic target. The overall objective is to investigate how Del1 expression is regulated at the molecular signaling level, define novel Del1 functions, and identify key functional sites within the Wnt5a-Ror2 signaling that could be exploited as anti-inflammatory drugs. **METHODS:** The expression of osteoclast-related molecules was examined in bone marrow cell cultures from Del1-KO and Ror2-KO mice using immunoblotting and qPCR. To determine interactions between Del1 and Wnt5a-Ror2 axis, all recombinant proteins were subjected to pull-down assay. To evaluate Del1 and Ror2 function, intervention study was performed in periodontitis model in mice. **RESULTS:** Del1 suppressed Wnt5a-Ror2 axis in osteoclast precursors, which, in turn, decreased osteoclast formation and their bone-resorbing activity. Moreover, Del1 competitively antagonize Wnt5a to Ror2. Administration of Del1 in mice inhibits inflammation and bone loss by periodontitis. **CONCLUSIONS:** In the present study, Del1 is suggested to be a functionally versatile molecule which homeostatically regulates critical upstream and downstream events during inflammatory bone loss. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-21 マウス口腔扁平上皮癌細胞株(Sq1979)のIL-1 $\alpha$ による間葉系細胞(10T1/2)を介した免疫抑制機構

---

○伊藤 宏衣<sup>1</sup>, 神谷 真子<sup>2,3</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 稲垣 慶則<sup>2,4</sup>, 村松 泰徳<sup>1</sup>, 住友伸一郎<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口外, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>朝日大 営 化学, <sup>4</sup>朝日大 歯 麻酔

---

【目的】 癌による免疫系制御に間葉系間質細胞が重要な役割を果たす。我々はC3Hマウス口腔扁平上皮癌細胞株Sq1979の放出する液性因子が、同系マウス由来の線維芽細胞(10T1/2)による抗CD3抗体刺激脾細胞のIFN- $\gamma$ 産生能の抑制作用を増強することを報告した(伊藤他第58回歯科基礎医学会)。Sq1979の液性因子と10T1/2細胞の接触によるTh1型免疫反応の抑制機構を解明するために、Sq1979で活性化しているサイトカイン群をスクリーニングし共培養系において中和抗体を用いてその機能解析を試みると共に、10T1/2細胞の免疫調節因子の発現変化を観察した。【方法】Sq1979細胞(理研BRC)で特異的に発現の高いサイトカイン遺伝子群をcDNAマイクロアレイ法と定量的PCR法により同定し、中和抗体を用いて機能的に重要な液性因子の同定を試みた。【結果と考察】Sq1979では他のサブクローンに比べSaa3, Lcn2, Fxyd2, Il-1 $\alpha$ , Il-1f6, Il-6, Ccl7およびCcl2 mRNA発現が上昇していた。Sq1979細胞の馴化培地を抗Il-1 $\alpha$ 中和抗体で処理すると、10T1/2細胞による、刺激脾細胞のIFN- $\gamma$ 産生能の抑制に対する増強作用が消失した。一方同様に、抗Il-1f6およびIl-6中和抗体で処理しても、この増強作用は変化しなかった。また、Sq1979細胞の馴化培地は10T1/2細胞にCcl2, Ccl7, およびIl-6 mRNAを顕著に誘導するが、抗Il-1 $\alpha$ 抗体処理すると、その誘導能は消失した。以上の事実から、Sq1979はIl-1 $\alpha$ を介して10T1/2細胞の引き起こす免疫抑制作用を増強するとともに、腫瘍に有利なサイトカイン産生を誘導し、OSCCの進展を促進することが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Immunosuppressive effect of mesenchymal cells (10T1/2) is enhanced by IL-1 $\alpha$ from mouse oral squamous cell carcinoma cells (Sq1979)

---

○Ito H<sup>1</sup>, Kamiya M<sup>2,3</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Inagaki Y<sup>2,4</sup>, Muramatsu Y<sup>1</sup>, Sumitomo S<sup>1</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Chem, Asahi Univ Sch Business, <sup>4</sup>Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent

---

Mesenchymal stroma cells contribute for tumor-promoting immune suppression. C3H mouse mesenchymal cells, 10T1/2, suppressed IFN- $\gamma$ -producing capability of mouse spleen cells stimulated by anti CD3 + antibody. This suppressive effect of 10T1/2 cells was specifically enhanced by humoral factor(s) from oral squamous cell carcinoma (OSCC), Sq1979 cells (RIKEN BRC). Using microarray (SuperPrint G3 Mouse GE Microarray Kit, Agilent) and real time PCR (SYBR Premix EX Taq, TaKaRa) analyses, we screened specifically elevated mRNAs in parental Sq1979 cells. Our results demonstrated that the expression of Saa3, Lcn2, Fxyd2, Il-1 $\alpha$ , Il-1f6, Il-6, Ccl7 and Ccl2 mRNAs was elevated in Sq1979 than in other sub-clones. Interestingly, the enhancement of immunosuppressive effect of 10T1/2 cells by Sq1979 conditioned medium (CM) was specifically abolished by adding the anti Il-1 $\alpha$  antiserum; however the effect was not occurred by adding anti Il-1f6 or il-6 antisera. Sq1979 CM could significantly induce the expression of Il-6, Ccl7 and Ccl2 mRNAs in 10T1/2 cells, which was also abolished by adding the anti Il-1 $\alpha$  antiserum. Our results demonstrated that the Il-1 $\alpha$  secreted by Sq1979 cells enhanced immune-suppressive function of mesenchymal stromal cells. The Il-1 $\alpha$  could also promote pro-tumoral cytokine production of the stromal cells. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-22 静脈麻酔薬が口腔扁平上皮癌組織微小環境における免疫制御におよぼす影響

○稲垣 慶則<sup>1,2</sup>, 神谷 真子<sup>2,3</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 伊藤 宏衣<sup>2,4</sup>, 住友伸一郎<sup>4</sup>, 櫻井 学<sup>1</sup>, 智原 栄一<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 麻酔, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>朝日大 営 化学, <sup>4</sup>朝日大 歯 口腔外科

【目的】我々は、マウス口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) と同系マウスの胎仔線維芽細胞 (10T1/2) を単独あるいは組合せて刺激脾細胞と共培養することで、間質細胞を含む腫瘍組織内微小環境モデルの構築を試みてきた。さらに、その培養系を用いて局所麻酔薬が脾細胞のサイトカイン産生能および腫瘍組織の微小環境に与える影響を解析し、昨年の本大会で報告している。そこで本研究では、同実験系をもちいて、静脈麻酔薬として汎用されているプロポフォールが癌組織微小環境に与える影響を観察し局所麻酔薬の場合と比較検討した。【方法】OSCCとしてC3Hマウス頬粘膜由来扁平上皮癌細胞株 (Sq-1979) とこの細胞株を移植されたマウスの頸部転移リンパ節から樹立したサブクローン (L6-8 および L5-11) を用いた。また、癌関連間質細胞のモデルとしてC3Hマウス胎児由来線維芽細胞株 (10T1/2) を用いた。脾細胞は同系統マウスより単離し、抗CD3抗体を用いて脾細胞中のT細胞を特異的に48時間刺激した。麻酔薬の細胞障害性はPrestoBlue生細胞試薬を用いて測定し、サイトカイン産生量はELISA法にて測定した。【結果と考察】プロポフォールの50%細胞障害濃度 (CC50) は、リドカイン、ロピバカインなどの局所麻酔薬のCC50 (それぞれ0.33~0.97 mg/ml, 0.15~2.54 mg/ml) より低く、単離脾細胞 (0.14 mg/ml) < L5-11 (0.23 mg/ml) < Sq-1979-1 (0.27 mg/ml) < 10T1/2 (0.45 mg/ml) < L6-8 (1.65 mg/ml) の順に高かった。この細胞選択性は局所麻酔薬の場合と類似していた。さらに、プロポフォールは細胞障害性を全く示さない低濃度領域 (~0.1 mg/ml) においても刺激脾細胞からのインターフェロン (IFN) $\gamma$  産生を強く抑制したが、局所麻酔薬ではIFN $\gamma$  産生を完全に抑制するにはCC50以上の濃度が必要であった。以上の結果から、プロポフォールは局所麻酔薬と比較してより低い濃度で効果的に脾細胞の免疫応答抑制効果をもたらすことが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Effects of the intravenous anesthetics on the immune response in the microenvironment of oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissue

○Inagaki Y<sup>1,2</sup>, Kamiya M<sup>2,3</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Ito H<sup>2,4</sup>, Sumitomo S<sup>4</sup>, Sakurai S<sup>1</sup>, Chihara E<sup>1</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, <sup>4</sup>Dept Oral & Maxillofacial Surg, Asahi Univ Sch Dent

We have established an *in vitro* model for tumor microenvironment mimicking tumor-specific immunity, using co-culture system. Then, we evaluated the effects of local anesthetics on the cytotoxicity and immune response against anti-CD3-antibody-stimulated spleen cells in this co-culture system. In the present study, we have further examined the effect of the intravenous anesthetics on the cytotoxicity and immune response, and compared with the effects of local anesthetics. A C3H mouse OSCC cell line (Sq-1979-1), the metastasized sub-clones (L5-11 and L6-8) and an embryotic fibroblastic cell line (10T1/2) of the same lineage were used. The cytotoxicity of propofol toward these cells were higher than those of local anesthetics including lidocaine and ropivacaine. The 50% cytotoxicity concentration (CC50) values toward spleen cells, L5-11, Sq-1979-1, 10T1/2, and L6-8 cells were 0.14, 0.23, 0.27, 0.45, and 1.65 mg/ml, respectively. These sensitivities were similar to those of local anesthetics. Interferon-gamma production by antigen-stimulated spleen cells was completely abolished at much lower concentration of propofol (0.1 mg/ml) than the levels for CC50, while the local anesthetics did not completely abolish interferon-gamma production at the level for CC50. These results suggest that immune response of spleen cells is more sensitively affected by propofol than the local anesthetics. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

### P1-23 3次元培養による間葉系幹細胞の骨形成における $\beta$ -catenin の相互作用

---

○今村 彩香<sup>1,2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>2,3</sup>, 小島 寛<sup>1</sup>, 岡部 幸司<sup>3</sup>, 大野 純<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 障害歯

<sup>2</sup>福歯大 再生医セ

<sup>3</sup>福歯大 細胞生理

---

【目的】骨再生には、足場、形成促進因子及び幹細胞の存在が必須である。臨床や再生治療においてPRPやCGFなどの促進因子や自家骨による補填材は使用されているものの、骨再生のために幹細胞が用いられる場合は少ない。本研究は骨基質形成能を有するマウス間葉系幹細胞株(D1 ORL UVA 細胞)を使用し、本来の生体での環境に近く細胞間相互作用が高く、移植により適する球状細胞塊(3D スフェロイド)を形成する3次元培養手法を用い骨芽細胞へと分化させ、2次元培養法(2D)による細胞との増殖や分化能の違いや骨基質形成能をqPCR法、Western blotting法を使用して比較検討した。【結果】3D スフェロイドは、2Dに比較して骨分化・形成時に骨形成関連分子(ALP, Runx2, Osterix)の発現を促進した。同時にSmadを介してWnt/ $\beta$ -catenin経路も活性化した。そこで、 $\beta$ -catenin欠損させた間葉系細胞を作成し骨分化誘導刺激を行った結果、3D スフェロイド  $\beta$ -catenin 欠損細胞ではsmadの持続的な抑制と共に骨形成関連遺伝子の発現が抑制された。従って、3D スフェロイドにおけるWnt/ $\beta$ -catenin経路の活性化は骨形成の促進に関与することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Mesenchymal stem cell spheroids upregulated osteogenesis via Wnt/ $\beta$ -catenin activation

---

○Imamura A<sup>1,2</sup>, Kajiyama H<sup>2,3</sup>, Kojima H<sup>1</sup>, Okabe K<sup>3</sup>, Ohno J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Grow & Dev, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Reser Cent for Regen Med, Fukuoka Dent Coll

<sup>3</sup>Dept Physiol Sci & Mol Biol, Fukuoka Dent Coll

---

**Purpose:** Mesenchymal stem cells (MSCs), multipotential and self-renewal cells are favored source for regenerative medicine. Culture of multicellular spheroids, more accurately mimics the biological microenvironment. However, it is unclear why the type of spheroid MSCs promotes bone formation compared to monolayer MSCs. In the present study, we assessed whether the osteogenetic potential of spheroid MSCs is greater than that of monolayer MSCs. **Materials & Methods:** Mouse MSCs cultured two types of multicellular spheroid and monolayer formation. We examined the effects of spheroid culture on osteoblastic differentiation and calcification in mouse MSCs compared to monolayer culture using quantitative RT-PCR and Western blot analysis. **Results & Discussion:** The expression of osteogenesis related molecules such as ALP, Runx2, and Osterix upregulated in spheroid MSCs than monolayer MSCs after the addition of BMP2 during osteogenesis induction. BMP2, simultaneously activated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling molecules in spheroid MSCs. On contrast, the upregulation of osteogenesis related molecules reduced in  $\beta$ -catenin KO spheroid MSCs. The results suggest the type of spheroid MSCs upregulates the osteogenesis related molecules via Wnt/ $\beta$ -catenin activation compared to the monolayer cultivation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-24 マウス鼻甲介に含まれる神経堤由来細胞を用いた骨誘導法の確立

---

○吉田 寛<sup>1</sup>, 須澤 徹夫<sup>1</sup>, 榎 宏太郎<sup>2</sup>, 上條竜太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔生化

<sup>2</sup>昭大 歯 矯正

【目的】神経堤細胞は胎生期の神経管癒合部から生じ、上皮-間葉転換を伴いながらいわゆる神経堤由来細胞 (NCDCs) となり胚内を広く遊走し定着先の環境で多様な細胞に分化する。一部の NCDCs は、成体であっても未分化な状態で体内各所に潜伏するため、再生医療の細胞ソースとして応用が期待される。我々は口腔顎顔面領域における NCDCs の分布の検索から、鼻甲介に NCDCs が高密度に局在する事を見出した。今回、NCDCs の骨形成誘導能を評価するため、培養細胞による骨芽細胞誘導と骨欠損モデルマウスへ移植し骨誘導能を解析した。【方法】NCDCs を標識可能なミエリンプロテインゼロのプロモーター下で GFP を発現する P0-Cre/CAG-CAT-EGFP 成体マウス (P0 マウス) の鼻甲介から細胞を採取し、GFP を指標に NCDCs を解析した。NCDCs を培養後に、骨芽細胞分化誘導能は alkaline phosphatase (ALP) 活性染色と、石灰化能は Alizarin red 染色で評価した。頭頂骨に自然修復しない部分骨欠損を作成したモデルマウスへ NCDCs を混入したアテロコラーゲンスポンジ (以下担体) を移植し、術後 12 週間の修復過程を CT 撮影で評価した。【結果】P0 マウス鼻甲介から採取した細胞は、bFGF 含有無血清培地による培養で、培養経過に伴い細胞数と GFP 陽性率が増加した。BMP-2 含有分化誘導培地で強い ALP 活性染色と Alizarin red 染色陽性を示す骨芽細胞様細胞へと分化した。NCDCs を混入した担体を骨欠損部位に移植すると、骨組織の形成が認められた。【考察】鼻甲介の NCDCs は骨芽細胞様細胞へ誘導可能で、移植すると高い骨誘導能を有することから、低侵襲に採取できる細胞ソースとして硬組織再生へ応用できることが示唆された。(共同研究者：大隅典子東北大学大学院医学系研究科) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Osteogenic potential of neural crest-derived cells in nasal conchae of adult mice

---

○Yoshida H<sup>1</sup>, Suzawa T<sup>1</sup>, Maki K<sup>2</sup>, Kamijo R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent

Neural crest cells in the embryo delaminate from the neural tube and migrate extensively as neural crest-derived cells (NCDCs) where they have potential to differentiate into various cell types including osteoblasts. Some NCDCs in adults reside as stem cells and are considered to be a useful cell source for regenerative medicine. We have previously found that NCDCs existed at high-density on nasal concha. To analyze the osteogenic potential of NCDCs in nasal concha, we utilized the double transgenic (P0-Cre/CAG-CAT-EGFP) mice in which NCDCs express green fluorescence protein (GFP) throughout their life. When separated cells of nasal conchae were cultured on serum-free media, GFP-positive cells were increased in a time-dependent manner during the culture period. Meanwhile, GFP-positive cells had increased alkaline phosphatase (a marker enzyme of osteoblast differentiation) activity and mineralization as shown by alizarin red staining, in osteoblastic differentiation media. Furthermore, we transplanted the atelocollagen scaffolds with NCDCs into bone defects surgically created in mouse calvaria. At 12 weeks after transplantation, the scaffolds with NCDCs groups regenerated a bone-like tissue. NCDCs-derived nasal conchae have potential to differentiate into osteoblast-like cells and osteogenic potential. Therefore NCDCs-derived nasal concha is useful in future clinical cell-based therapy or cell source of bone regeneration. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-25 マウス iPS 細胞から象牙芽細胞への分化誘導方法における FGF8, KSR の効果についての検討

○荻原 有記<sup>1</sup>, 小田嶋彩乃<sup>3</sup>, 星野 立樹<sup>1</sup>, 小野寺晶子<sup>2</sup>, 齋藤 暁子<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>, 東 俊文<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東歯大 院歯 麻酔

<sup>2</sup>東歯大 生化

<sup>3</sup>東歯大 口科研

**【目的】** 歯を構成する象牙芽細胞は神経堤細胞から分化することが知られているが、iPS 細胞から神経堤細胞、象牙芽細胞への分化誘導メカニズムについては不明な点が多い。本研究では、マウス iPS (miPS) 細胞から神経堤細胞、そして象牙芽細胞への分化誘導における FGF8, KSR の有効性について検討する。**【材料および方法】** 細胞は miPS 細胞 (APS0001 株) を使用。miPS 細胞用培地 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium に 15% KnockOut Serum Replacement (KSR), 1% Non-Essential Amin Acids, 1% L-Glutamine, 1% Penicillin-Streptomycin (P/S), 0.11 mM 2-mercaptoethanol を添加) を用いて miPS 細胞を培養し、胚葉体 (EB) を形成させた。EB 形成時は、神経提誘導培地 (DMEM-F12: Neurobasal media を 1:1, 0.5×N2, 0.5×B27, 5 μg/ml Insulin, 20 ng/ml bFGF, 20 ng/ml EGF, 1% P/S を添加) を用い 4 日間浮遊培養した。Collagen コートプレートに EB を播種し、得られた細胞を Neural Crest Cells (NC) とした。継代 2 回目 (NC-P2) の細胞を回収し、象牙芽細胞誘導培地として、KSR (-) (DMEM-F12 に、1% P/S, 100 ng/ml FGF8 を添加) と KSR (+) (DMEM-F12 に、10% KSR, 1% P/S, 100 ng/ml FGF8 を添加) それぞれについて、1, 7, 14 日目の細胞を回収し、リアルタイム PCR にて象牙芽細胞マーカーの発現解析を行った。**【結果および考察】** 今回の結果より、象牙芽細胞マーカー DSPP の発現量は、KSR (+) 7 日目でも増加し、14 日目においては減少が認められた。Nestin の発現量は、KSR (+) で 1 日目から 14 日目まで緩やかな上昇が認め、KSR (-) では 1 日目にコントロールの約 2 倍の発現量が認められたが、その後は 14 日目まで徐々に減少した。これらのことから、miPS 細胞からの象牙芽細胞分化誘導には KSR と FGF8 が有用であり、分化誘導時期においては神経堤細胞から 7 日目での回収が最適な時期であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Effects of FGF8 and KSR using mouse iPS cells which were differentiated into the odontoblast cells

○Ogihara Y<sup>1</sup>, Odashima A<sup>3</sup>, Hoshino T<sup>1</sup>, Onodera S<sup>2</sup>, Saito A<sup>2</sup>, Ichinohe T<sup>1</sup>, Azuma T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Biochem, Tokyo Dent Coll

<sup>3</sup>Dept OCC, Tokyo Dent Coll

**Purpose:** Odontoblast cells are known to differentiate from neural crest cells. In this study we investigated whether FGF8 and KSR are effective for the odontogenic differentiation of mouse induced pluripotent stem (miPS) cells. **Materials & Methods:** We used miPS cells which maintained on feeders in miPS medium. Embryoid bodies (EBs) were cultured in neural crest cells induction medium to obtain neural crest cells (NC). 2nd passage of NCs (NC-P2) were treated with KSR (+) (1% P/S, 100 ng/ml FGF8, and 10% KSR in DMEM-F12) and KSR (-) (1% P/S, 100 ng/ml FGF8 in DMEM-F12) on day 1, 7, and 14. The expression of odontoblast markers were analyzed by quantitative real-time PCR. **Result & Conclusion:** The expression of DSPP was highest on day 7 with KSR (+), and decreased on day 14. The Nestin expression in KSR (+) group was gradually increased through 14 days, and reached twice as much as control. These results were suggested that FGF8 and KSR combination treatment for 7 days was most effective for the odontogenic differentiation of miPS cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-26 上皮系細胞における B7-H1 発現に関わるシグナル探索

---

○金 キン, 永井 重徳, 東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

---

活性化 T 細胞に発現誘導される PD-1 分子は, そのリガンドの 1 つである B7-H1 (PD-L1) と結合し T 細胞の活性化を抑制する. B7-H1 は上皮細胞や癌細胞に発現誘導され, 特に癌細胞における PD-1: B7-H1 阻害は癌免疫療法で効果をあげている. 炎症時に産生される IFN- $\gamma$  は B7-H1 発現を誘導するが, この発現制御機構の詳細は不明である. 本研究では, IFN- $\gamma$  刺激による B7-H1 発現にかかわるシグナル分子を探索した. マウス扁平上皮癌細胞株 SCC-VII を用い, IFN- $\gamma$  を加えて B7-H1 発現を誘導する系に 80 種類のリン酸化酵素阻害剤を添加した. その結果, 5-iodotubercidin (5-ITU) が B7-H1 発現を濃度依存的に抑制した. またこの阻害剤により, 転写因子 AP-1 (Activator protein 1) の構成分子である c-Jun のリン酸化およびタンパク発現が阻害された. これらの結果は表皮角化細胞株 PAM212 でも確認された. 以上の結果から, IFN- $\gamma$  刺激によって上皮系細胞に誘導される B7-H1 発現は, AP-1 による調節を受けていることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Regulation of B7-H1 expression on keratinocytes

---

○Jin X, Nagai S, Azuma M

Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

PD-1 expressed on activated T cells binds to one of their ligands, B7-H1 (PD-L1), followed by suppression of T cell activation. B7-H1 expression is induced on epithelial cells or tumor cells, and the blockade of B7-H1 is a remarkable treatment especially in anti-tumor therapy. Although IFN- $\gamma$  induces B7-H1 expression at inflammatory sites, the mechanism remains to be fully elucidated. In this study, we explored the signaling molecules involved in B7-H1 expression induced by IFN- $\gamma$ . By screening of 80 kinase inhibitors with a murine squamous cell carcinoma SCC-VII, 5-iodotubercidin (5-ITU) was identified as an inhibitor of B7-H1 expression. This inhibitor suppressed the phosphorylation and protein expression of c-Jun, a component of transcription factor AP-1 (Activator protein 1). All the results collectively suggest that B7-H1 expression on epithelial cells induced by IFN- $\gamma$  is regulated by AP-1.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-27 PI3K-Akt 経路は IL-27 誘導 Tr1 細胞分化を増強する**

---

○Nadya Niken Adiba, 東 みゆき, 永井 重徳

医科歯科大 院医歯 分子免疫

---

## **PI3K-Akt pathway enhances the differentiation of IL-27-induced Tr1 cells**

---

○Nadya N, Azuma M, Nagai S

Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

**[Purpose]** Foxp3<sup>-</sup> IL-10-producing type 1 regulatory T (Tr1) cell is one of the helper T (Th) subsets that has strong immunosuppressive properties and helps to control excessive inflammatory responses such as tissue inflammation or autoimmunity. Therefore, it is important to clarify the molecular mechanism of Tr1 differentiation for the regulation of the inflammatory responses, but it has not characterized yet. In this time, we investigated the signaling pathway related to Tr1 differentiation, especially focused on the role of phosphoinositide 3-kinase (PI3K), a lipid kinase that generated phosphatidylinositol triphosphate (PIP3) to transduce the cell activity such as translation or cell survival, including immune cells. **[Material & Methods]** CD25<sup>+</sup> naturally occurring regulatory T (nTreg)-depleted conventional CD4<sup>+</sup> T cells were isolated from BALB/c WT mice, and were stimulated with anti-CD3ε and anti-CD28 Abs adding IL-27 in the presence or absence of PI3K inhibitors. The ratio of IL-10-producing Tr1 cells was measured by FACS. We investigated the expression of Tr1-related molecules by RT-PCR. To understand the role of PI3K pathway on Tr1 differentiation *in vivo*, PI3K inhibitor was administered in the differentiation of Tr1 in mice by anti-CD3ε Ab inoculation and ratio of IL-10-producing Tr1 cells was observed in spleen, Peyer's patches and colonic lamina propria. **[Results & Conclusion]** The suppression of the PI3K-Akt pathway results in impairment of IL-27-induced Tr1 (IL-27-Tr1) cell differentiation *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, on the contrary to our expectation, although key molecule related to Tr1 differentiation were up-regulated, this suppression down-regulates IL-21 receptor expression in Tr1 cells, followed by suppression of IL-10 expression by IL-27-Tr1 cells. These results suggest that the PI3K pathway enhances IL-10 expression by IL-27-Tr1 cells through the up-regulation of IL-21 receptor.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-28 動脈硬化の病態におけるオステオカルシンの役割

○近藤 皓彦<sup>1</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>1,2</sup>, 溝上 顕子<sup>1,3</sup>, 自見英治郎<sup>1,3</sup>, 平田 雅人<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学

<sup>2</sup>福岡大 薬 統合臨床医 免疫・分子治療

<sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

<sup>4</sup>福歯大

オステオカルシン (OC) は骨芽細胞が分泌する骨基質タンパク質であり, 3つのグルタミン酸残基のカルボキシル化状態によって, GlaOC と GluOC の2種がある. OCの大部分は GlaOCとして骨基質中に局在しているが, 骨リモデリングの過程で溶出したものが GluOCを含めて血液中を循環している. OCと動脈硬化との関わりを示唆する報告は散見されるが, 動脈硬化におけるOCの役割の詳細は未だ解明されていない. そこで本研究では, 動脈硬化誘発飼料で飼育したマウスを用いて, 動脈硬化の病態におけるOCの役割について検討した. 動脈硬化誘発飼料で飼育したC57Bl/6雌マウスに対して, GluOCの腹腔内投与 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight, 5回/週) を10週間行った. その結果, GluOC投与群では, 総コレステロール値, LDL-C, および LDL-C/HDL-C比に顕著な改善が認められた. また, GluOC投与群の肝臓と脂肪において, コレステロール代謝に関わる核内受容体 LXR $\alpha$  (Liver X receptor $\alpha$ ) およびその下流遺伝子の発現量が有意に上昇していた. さらに, GluOC投与群では, 血清中 NO (Nitric oxide) 濃度が上昇していた. この機序を解析するために, 正常ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAECs) に対して GluOC (100 ng/ml) を添加したところ, eNOS (endothelial NO synthase) のリン酸化が亢進し, NO産生量が上昇した. この結果から, GluOCは, 血管内皮細胞におけるeNOSのリン酸化を促進させることでNO産生を亢進させていることが示された. なお, GlaOCではeNOSのリン酸化レベルは変化しなかった. 以上より, GluOCは, 複数の機序を以て動脈硬化発症抑制作用を発揮している可能性が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

## Functions of uncarboxylated osteocalcin in atherosclerotic pathogenesis

○Kondo A<sup>1</sup>, Kawakubo-Yasukochi T<sup>1,2</sup>, Mizokami A<sup>1,3</sup>, Jimi E<sup>1,3</sup>, Hirata M<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Immunol and Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ

<sup>3</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>4</sup>Fukuoka Dent Coll

Osteoblast-derived osteocalcin (OC) is divided into two forms,  $\gamma$ -carboxylated (Gla) and uncarboxylated (Glu) OC. OC was reported to be involved in atherosclerosis pathophysiology, however, the physiological action of OC and the effect of OC administration under atherogenic conditions in vivo have not yet been examined. In this study, we examined a preventive role of GluOC in an early step of atherosclerosis using C57Bl/6 mice fed artery-hardening food (F2HFD1) for 10 weeks. Mice intraperitoneally administrated with GluOC (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight, five times a week) reduced the values of serum total cholesterol, LDL-C, and LDL-C/HDL-C ratio, compared with the control. Furthermore, GluOC treatment led to elevated expression levels of liver X receptor  $\alpha$  (LXR $\alpha$ ), a key transcription factor in cholesterol metabolism, in white adipose tissue and liver. Further analysis revealed that GluOC significantly increased serum nitric oxide (NO) level in serum, and that GluOC promoted phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) dose-dependently in human aorta endothelial cells (HAECs) in vitro. We thus propose that GluOC exhibited potential atheroprotective effects through serum NO production and hypercholesterolemia improvement in wild-type mice.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-29 メルケル細胞-神経細胞間コミュニケーション

---

○東川明日香<sup>1</sup>, 小島 佑貴<sup>1</sup>, 寺島-重藤 玲子<sup>2</sup>, 井上 博之<sup>2</sup>, 河野 恭佑<sup>1</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>,  
黒田 英孝<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 院歯 生理

<sup>2</sup>東歯大 院歯 麻酔

---

圧受容を担う Merkel cell (MC)は口腔粘膜や、毛包、全身の皮膚の基底層などに存在する。MCは、その細胞内に膜に包まれた特徴的な有芯顆粒(小胞)を多数有する。また周囲角化細胞とはデスモソームを介し接着を行い、神経終末とは複合体を形成している。近年、MCの圧受容にTRP channelやPiezo channelが関与すると報告されている。しかしMC-神経終末間の細胞間連絡機構については未知のまま残されている。そこで、メルケル細胞に直接機械刺激を与えたときの応答を、細胞内遊離カルシウム濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )を指標に検討した。またMC-三叉神経節細胞の共培養モデルを作製し、MCへの直接機械刺激に対する周囲の三叉神経節細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 応答を記録した。メルケル細胞に直接機械刺激を5秒間加えると、一過性に $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が見られた。直接機械刺激の持続時間を30秒間、1分間と延長しても、同様に $[Ca^{2+}]_i$ の増加が見られ、その増加に脱感作は見られなかった。MC-三叉神経節細胞共培養系において、5秒間の直接機械刺激をMCに加えると周囲の三叉神経節細胞にも $[Ca^{2+}]_i$ の増加が観察された。それらの増加はいくつかの受容体阻害薬で抑制された。メルケル細胞は、連続する直接機械刺激に対して、脱感作を見せなかった。MC-神経節細胞間には、化学的な神経伝達物質を介した神経伝達様式が存在することが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Neural communication between Merkel cells and neurons

---

○Higashikawa A<sup>1</sup>, Kojima Y<sup>1</sup>, Terashima-Shigefuji R<sup>2</sup>, Inoue H<sup>2</sup>, Kouno K<sup>1</sup>, Ando M<sup>1</sup>,  
Kuroda H<sup>2</sup>, Kimura M<sup>1</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>, Tazaki M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

---

Merkel cells (MCs) have been proposed to form a part of the MC-neurite complex with sensory neurons. Although recent evidences have shown that the mechano-sensitive channels, such as TRP and Piezo channels, contribute to the mechanosensory transduction in MCs, detailed mechanism for intercellular neural communication between MCs and neurons have remained to be clarified. The present study examined direct mechanical stimulation-induced intracellular free  $Ca^{2+}$  concentration  $[Ca^{2+}]_i$  increases in MCs. We also measured  $[Ca^{2+}]_i$  responses from the trigeminal ganglion neurons following direct mechanical stimulation to the MCs in the MC-neurons coculture system. Following direct mechanical stimulation to MCs, we could observe increases in  $[Ca^{2+}]_i$  with stimulation of 5, 30 or 60 sec in duration. In the MC-neuron coculture, application of direct mechanical stimulation to MCs resulted in the increases in  $[Ca^{2+}]_i$  in the TG neurons. These  $[Ca^{2+}]_i$  increases were suppressed by antagonist(s) for receptor(s) of the certain neurotransmitter(s). These results indicate that neurotransmitters released from MCs mediate synaptic communication in the MC-neurite complex.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-30 エンドセリン-1 シグナルを介した口内炎疼痛メカニズム

○野代 知孝<sup>1,2</sup>, 人見 涼露<sup>1</sup>, 伊藤 美紗<sup>3</sup>, 氏原 泉<sup>1</sup>, 正木 千尋<sup>2</sup>, 細川 隆司<sup>2</sup>, 小野堅太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 歯 生理

<sup>2</sup>九歯大 歯 口腔再建リハ

<sup>3</sup>九歯大 歯 顎口腔機能矯正

口内炎が発症するとその疼痛により会話や食事が困難となり QOL が低下する。口内炎による疼痛発生機序については不明な点が多く、有効な治療法は少ない。我々は、口内炎モデルラットに自発痛および機械的アロディニアが発症することとエンドセリン-1 (ET-1) 受容体が三叉神経節ニューロンに発現することを以前報告している。本研究では、ET-1 がどのようにラット口腔内疼痛に関与しているかを調べることを目的とした。50%酢酸を用いて口内炎モデルを作製し、口内炎部組織における ET-1 の発現を免疫組織学的手法と ELISA 法にて解析した。また、口内炎部組織から得られた細菌を好気性、嫌気性下で培養し、細菌コロニー数を評価した。さらに抗菌薬処置後の ET-1 のタンパク量の変化と細菌コロニー数の変化を評価した。次に、ET-1 受容体 (ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>) 拮抗薬を用いて自発ラビング時間(自発痛の指標)および機械逃避閾値(接触痛の指標)を評価した。疼痛評価は、ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>拮抗薬であるボセンタンの尾静脈投与、ET<sub>A</sub>拮抗薬 BQ-123 または ET<sub>B</sub>拮抗薬 BQ-788 の局所塗布の 1 時間後に行った。酢酸処理 2 日後において潰瘍を伴う口内炎が発症し、明らかな腫脹を認めた。また、潰瘍部位を中心に ET-1 の発現と口内炎部組織中の濃度が増加した。口内炎部組織の好気・嫌気性菌はともに増加し、抗菌薬によって ET-1 濃度、細菌数ともに有意に抑制した。自発痛は、ボセンタン投与および BQ-788 塗布により抑制し、接触痛は、ボセンタン投与、BQ-123 および BQ-788 塗布後に抑制した。以上の結果より、口内炎部位に細菌侵入が起ることでエンドセリン-1 の産生が増加し、疼痛が発症した可能性があることが示唆された。また、口内炎部組織で増加した ET-1 が、ET<sub>B</sub>または ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>を介してそれぞれ自発痛または接触痛発症に関与している可能性が示唆された。これらの結果は今後の潰瘍性口内炎の病態解明の一助となることが考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Mechanism of oral ulcerative mucositis-induced pain via endothelin signaling

○Nodai T<sup>1,2</sup>, Hitomi S<sup>1</sup>, Ito M<sup>3</sup>, Ujihara I<sup>1</sup>, Masaki C<sup>2</sup>, Hosokawa R<sup>2</sup>, Ono K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Physiol Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Oral Reconstr Rehabil Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ

Endothelin-1 is known to be involved in pain. But, there are few reports to investigate the effect of endothelin-1 on orofacial pain. In the present study, we examined whether endothelin-1 is involved in oral ulcerative mucositis (OUM)-induced pain. Experimental OUM was developed on day 2 after topical treatment with acetic acid in the labial fornix region of the inferior incisors in rats. Endothelin-1 level and bacterial loading in OUM were evaluated. Spontaneous pain and mechanical allodynia were assessed 1 hour after drug treatment. Bosentan, a nonselective endothelin receptor antagonist were administered into the tail vein. BQ-123, a endothelin receptor type A (ET<sub>A</sub>) antagonist, and BQ-788, a endothelin receptor type B (ET<sub>B</sub>) antagonist, were topically applied to the OUM with a cotton swab. In OUM, endothelin-1 level and bacterial loading were increased compared with Naive. OUM-induced spontaneous pain and mechanical allodynia were inhibited by bosentan. Furthermore, the spontaneous pain was inhibited by BQ-788 and the mechanical allodynia was inhibited by BQ-123 and BQ-788. These results suggest that endothelin-1 increment in OUM is involved in pain induction; spontaneous pain via ET<sub>B</sub> and mechanical allodynia via ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub>. Endothelin receptors are new target for pain relief of drug treatments in OUM.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

## P1-31 多チャンネル容量性触圧センサを用いた咀嚼時の頬粘膜による接触面圧測定

○長谷川真奈<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>2</sup>, 岡本圭一郎<sup>2</sup>, 清水 志保<sup>2,3</sup>, 中谷 暢佑<sup>2,3</sup>, 山村 健介<sup>2</sup>, 藤井 規孝<sup>1</sup>, 高木 律男<sup>3</sup>, 山田 好秋<sup>4</sup>

<sup>1</sup>新潟大 医歯病 歯総診, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 口腔生理

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口外, <sup>4</sup>東歯大短大 歯衛生

【目的】頬筋は表情筋の一つであり、咀嚼時に頬粘膜を歯列の頬側面に接触させることによって食塊を咬合面上に誘導する役割を果たすことで知られている。従来の研究では筋活動記録を用いて機能時の活動様式が検討されてきたが、頬筋は解剖学的に他の咀嚼筋や表情筋と近接または重なっており、筋電図活動のコンタミネーションが生じやすいため、その解釈を困難としている。そこで、咀嚼筋の筋電図を記録するとともに、頬粘膜と上顎歯列頬側面の間に生じる接触圧を計測することで、咀嚼嚥下時に頬筋が果たす役割を検証することとした。【方法】正常歯列を有する健常者を対象に、12チャンネルの触覚アレイセンサ DIGITACTS ARRAY MODEL 5601 (Pressure Profile Systems, Inc.) を左右両側の上顎犬歯部から臼歯部の頬側面にデンタルフロスを用いて固定し、こんにやくゼリーと咀嚼調節食品(プロセスリード)を咀嚼した際の圧変化を記録した。これと同時に、咬筋と舌骨上筋の筋電図の記録も行った。【結果】こんにやくゼリー咀嚼時には、小白歯部において咀嚼中および嚥下時に一過性の圧の上昇が認められたが、大白歯部での変化はほとんど記録されなかった。咀嚼に対する圧応答は、咬合相に先立って始まり、咬筋活動のピークよりも早く Offset がみられた。嚥下時には、小白歯から大白歯部までの比較的広範囲に圧の変化が認められ、圧応答の onset には時間差があった。プロセスリード咀嚼時には、こんにやくゼリーと比較して圧変化量は有意に小さかった。【考察】咀嚼時には、閉口相における頬筋の活動と、開口相での舌による食塊形成の協調的な運動によって、食塊が常に咬合面上に保持されることが示唆された。凝集性の高い食品は、食塊が分散せず咀嚼により惹起される感覚情報が減少し、頬筋活動を低下させることが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## A measurement of contacted surface pressure between buccal mucosa and tooth surface by multi-channel capacitive tactile sensing technology

○Hasegawa M<sup>1,2</sup>, Kurose M<sup>2</sup>, Okamoto K<sup>2</sup>, Shimizu S<sup>2,3</sup>, Nakatani Y<sup>2,3</sup>, Yamamura K<sup>2</sup>, Fujii N<sup>1</sup>, Takagi R<sup>3</sup>, Yamada Y<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp

<sup>2</sup>Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Dept Dent Hyg, Tokyo Dent Junior Coll

Buccinator is known to control the location of the food bolus by compressing the cheeks towards the tooth during mastication. Previous studies have assessed the roles of buccinators on oral function using EMG; however results were inconsistent due to anatomical features that buccinators are located adjacent to or overlap the other muscles. Our objective was to evaluate the roles of buccinators during mastication by measurements of pressure that was induced by contact of the buccal mucosa to the tooth. Tactile sensor plate with 12 channels was fixed on buccal side of maxillary dental arches. Changes of buccinator pressure were recorded during mastication of different types of bolus with simultaneous EMG recording of masticatory muscles. Phasic pressure increases at premolar regions were observed during mastication and swallowing, while those at molar region were not distinct. The phasic response preceded EMG burst of masseter ended just prior to occlusal phase. During swallowing, outputs showed extensive pressure changes with different onset timing. These findings indicate that increases in phasic pressure at premolar region could contribute to keep the bolus on the occlusal table as the jaw closes. Multi-channel sensing device could be suitable for evaluation of food transport from oral cavity to pharynx.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

**P1-32 象牙芽細胞における高 pH 感受性 store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE)**

○木村 麻記<sup>1</sup>, 小島 佑貴<sup>1</sup>, 東川明日香<sup>1</sup>, 大山 定男<sup>1</sup>, 陽田みゆき<sup>1</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>,  
河野 恭祐<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理

<sup>2</sup>東歯大 麻酔

象牙質形成や感覚受容機構における象牙芽細胞の Ca<sup>2+</sup>シグナルは、細胞外刺激誘発性 Ca<sup>2+</sup>流入と細胞内ストアからの Ca<sup>2+</sup>放出によって調節される。我々は以前、ストアからの Ca<sup>2+</sup>放出でストア内 Ca<sup>2+</sup>の枯渇が生じると、細胞外から Ca<sup>2+</sup>が流入する (store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE)) ことを報告した (Shibukawa and Suzuki, 2003)。しかしながら、その詳細な活性化過程、活性化分子機構、薬理学的特性は不明である。そこで本研究では、象牙芽細胞における SOCE の薬理学的特性を検討した。新生仔ラット切歯から急性単離した象牙芽細胞に fura-2 を負荷し細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) を測定した。細胞外 Ca<sup>2+</sup>非存在下で、ストア膜上の Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA) 阻害薬、P2Y 受容体・ムスカリン受容体アゴニストを投与すると一過性に [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が増加した。[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が静止レベル付近まで戻った後、細胞外に 2.5 mM Ca<sup>2+</sup>を投与すると [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が増加した。その増加は Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> (CRAC) チャンネル阻害薬で抑制された。SERCA 阻害薬の前投与後、2.5 mM Ca<sup>2+</sup>を含む高 pH 溶液 (pH 9) を投与すると [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が増加した。その増加は TRPA1 チャンネル阻害薬で抑制され、その振幅は pH 7.4 の 2.5 mM Ca<sup>2+</sup>投与時と比べて大きかった。培養ヒト象牙芽細胞を石灰化誘導培地中 (pH 7.4) で 21 日間培養後、alizarin red 染色と von Kossa 染色を行った。その結果、CRAC チャンネル阻害薬投与群では投与しなかった群と比べ有意差はなかった。象牙芽細胞においてストア内の Ca<sup>2+</sup>の枯渇は CRAC チャンネルを介した高 pH 感受性を示す SOCE を活性化することが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

**High pH-sensitive store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE) in rat odontoblasts**

○Kimura M<sup>1</sup>, Kojima Y<sup>1</sup>, Higashikawa A<sup>1</sup>, Oyama S<sup>1</sup>, Shimada M<sup>1</sup>, Ando M<sup>1</sup>, Kouno K<sup>1</sup>,  
Tazaki M<sup>1</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

In a previous study, we have reported that the store depletion by Ca<sup>2+</sup> release from intracellular Ca<sup>2+</sup> stores induced store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE) in odontoblasts. However, their detailed process and molecular mechanism for activation as well as pharmacological properties of SOCE remain unclear. In this study, we investigated pharmacological properties of SOCE in acutely isolated rat odontoblasts. We measured intracellular free calcium concentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) using fura-2. In the absence of extracellular Ca<sup>2+</sup>, thapsigargin (TG), 2-methylthioadenosine diphosphate trisodium salt or carbachol increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. After [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> returned to the near-resting levels, Krebs solution with 2.5 mM Ca<sup>2+</sup> (pH 7.4) increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> as SOCE. The SOCE was suppressed by Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> (CRAC) channel inhibitors. After pretreatment of TG, alkaline solution with 2.5 mM Ca<sup>2+</sup> elicited [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> increases which were suppressed by pretreatment of TRPA1 channel antagonist. The amplitudes in the presence of TRPA1 channel antagonist with high-pH were larger than those in the absence of them (pH 7.4). We conducted alizarin red and von Kossa staining in human odontoblasts (HOB) cells cultured for 21 days. Application of CRAC channel inhibitors had no effect on mineralization levels. These results suggested that the store depletion activates alkali-sensitive SOCE via CRAC channels in odontoblasts.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

### **P1-33 眼窩下神経結紮モデルの島皮質における興奮伝播の可塑的变化**

---

○坐間 学<sup>1,2</sup>, 堀貫 恵利<sup>1,3</sup>, 金子 忠良<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 薬理

<sup>2</sup>日大 歯 口外・顎顔面外科

<sup>3</sup>日大 歯 矯正

---

【目的】末梢神経損傷後に生じる慢性的な痛みは神経障害性疼痛と呼ばれ、患者のQOLを著しく低下させる。しかし、慢性疼痛の発症や維持に関わる分子機構は徐々に明らかになっているものの、その詳細については不明な点が多く、効果的な治療法がないのが現状である。痛み起因する不快感やその認知に関与する大脳皮質領域において、末梢神経損傷後に生じる局所神経回路の変化は、急性痛が慢性痛へ移行する要因の一つと考えられるが、そのメカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、眼窩下神経結紮による神経障害性疼痛モデル動物を用いて、機械刺激に対する逃避閾値を調べると同時に、口腔顔面領域の電気刺激に対する大脳皮質神経活動の可塑的变化を検討した。【方法】SDラットの右側眼窩下神経を絹糸で半結紮(PNL)したモデル動物を作製した。PNLモデル動物の口ヒゲ部にvon Freyフィラメントを用いて機械刺激を与え、逃避閾値を疼痛反応とし、結紮直前および結紮1日、3日、7日、14日後に計測した。また、麻酔下にて上下顎臼歯歯髓に双極電極を挿入後、左側大脳皮質に膜電位感受性色素RH1691を負荷し、歯髓電気刺激に対する大脳皮質神経活動を光学計測法により定量化した。【結果】PNLモデルの機械刺激に対する逃避閾値は、処置1日後に顕著な低下を示し、その後14日間にわたり漸減した。また、PNL7日後における光学計測によって、PNLモデルでは対照群と比較して上下顎臼歯の歯髓刺激に対する大脳皮質体性感覚野および島皮質における神経応答が有意に増大していることが明らかになった。【考察】PNL後1日目から機械刺激に対するアロディニアが生じ、少なくとも14日後まで持続することが明らかとなった。またそのメカニズムの一端として、三叉神経第2枝および第3枝領域への刺激に対する大脳皮質での異常な興奮性の増大が考えられた。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### **Infraorbital nerve injury facilitates the excitatory propagation evoked by the stimulation of orofacial regions in insular cortex**

---

○Zama M<sup>1,2</sup>, Horinuki E<sup>1,3</sup>, Kaneko T<sup>2</sup>, Kobayashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Div Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent

---

Peripheral nerve injury often changes neural circuits in the central nervous systems, and as a result, neuropathic pain is induced. The neural mechanisms underlying development and maintenance of trigeminal neuropathic pain have been unclear, and therefore, we performed optical imaging to elucidate the changes in cortical excitation following the ligation of the infraorbital nerve (ION) with a 5-0 silk thread. To assess the mechanical sensitivity, we apply mechanical stimulation to the maxillary whisker pad skin using von Frey filament, and measured the head-withdrawal threshold. After the behavioral experiment, a voltage-sensitive dye was applied to the cortical surface, and cortical responses to the dental pulp stimulation were recorded. One day after the ION injury, the head-withdrawal threshold was significantly reduced compared with that in controls. This hypersensitization continued until 14 days after the ION injury. Seven days after the ION injury, optical signals evoked by the dental pulp stimulation were significantly increased in comparison to those of controls. These findings suggest that the ION injury induces mechanical allodynia for at least 14 days, and the enhanced cortical responses is likely to be a part of the mechanisms underlying the development of neuropathic pain.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-34 ラット三叉神経運動核背側網様体に存在する Phox2b 陽性ニューロンの生理学的・形態学的性質

○那小屋公太<sup>1,2</sup>, 中村 史朗<sup>2</sup>, 中山希世美<sup>2</sup>, 望月 文子<sup>2</sup>, 佐藤 文彦<sup>3</sup>, 吉田 篤<sup>3</sup>,  
井上 誠<sup>1</sup>, 井上 富雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生理

<sup>3</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2

Phox2b は自律神経系の発現に関与する転写因子の一種であり, 脳幹の様々な部位に発現している. 三叉神経運動核背側網様体 (RdV) にも Phox2b 陽性ニューロンが存在していることが報告されているが, これらのニューロンの性質は未だ不明である. そこで本研究は Phox2b 陽性 RdV ニューロンの生理学的および形態学的性質を明らかにすることを目的とした. Phox2b-EYFP ラットを用い, ホールセルパッチクランプ法とバイオサイチンによる細胞内染色法により生理学的及び形態学的解析を行った. Phox2b 陽性ニューロンは低頻度発火型 (LF) ニューロンの割合が高く (86%), Phox2b 陰性ニューロンは高頻度発火型 (HF) ニューロンの割合が高かった (83%). Phox2b 陽性ニューロンはほとんど自発発火を認めなかった (2%) のに対し, Phox2b 陰性ニューロンの多くは自発発火を認めた (74%). また, LF, HF ニューロンの発火頻度の違いには A 型カリウム電流と持続性ナトリウム電流が寄与していることが示唆された. さらに, 三叉神経中脳路核, 三叉神経脊髄路, 三叉神経主感覚核のいずれから入力を受ける Phox2b 陽性ニューロンの割合 (24%) は Phox2b 陰性ニューロンの割合 (53%) と比較し低かった. 軸索の走行を形態学的に解析したところ, 約半数の Phox2b 陽性ニューロン (42%) と Phox2b 陰性ニューロン (50%) が三叉神経運動核 (MoV) 内に軸索を終止していた. 以上の結果より, RdV に分布する Phox2b 陽性ニューロンは, Phox2b 陰性ニューロンとは異なる電気生理学的性質を有しており, 多くは MoV へ投射することが示された. したがって, Phox2b は顎口腔機能に関わるニューロン群にも発現する可能性が考えられる. 【利益相反】利益相反状態にはありません.

## Physiological and morphological properties of Phox2b<sup>+</sup> neurons located in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus

○Nagoya K<sup>1,2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Nakayama K<sup>2</sup>, Mochizuki A<sup>2</sup>, Sato F<sup>3</sup>, Yoshida A<sup>3</sup>, Inoue M<sup>1</sup>,  
Inoue T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Phox2b is a member of transcription factors and essential for the development of the autonomic nervous systems. Although Phox2b<sup>+</sup> neurons are located in the reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus (RdV), features of Phox2b<sup>+</sup> neurons are still unclear. In this study, we investigated physiological and morphological features of Phox2b<sup>+</sup> RdV neurons in Phox2b-EYFP knock-in rats using whole-cell recording and intracellular labeling. The majority of Phox2b<sup>+</sup> neurons (86%) showed low-frequency firing, while most of Phox2b<sup>-</sup> neurons (83%) exhibited high-frequency firing. Few Phox2b<sup>+</sup> neurons fired spontaneously (2%), whereas many Phox2b<sup>-</sup> neurons were spontaneously active (74%). The difference of firing frequency was suggested to be due to A type potassium currents and persistent sodium currents. Twenty-four percent of Phox2b<sup>+</sup> neurons and fifty-three percent of Phox2b<sup>-</sup> neurons received synaptic inputs from the trigeminal mesencephalic nucleus, spinal trigeminal tract or principal sensory trigeminal nucleus. Morphological analysis revealed that about half of the Phox2b<sup>+</sup> (42%) and Phox2b<sup>-</sup> neurons (50%) sent their axons to the trigeminal motor nucleus (MoV). These results suggest that Phox2b<sup>+</sup> neurons have distinctive electrophysiological properties and project to the MoV. Phox2b may be expressed in a certain group of neurons related to the jaw-movement.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P1-35 三叉神経脊髄路核尾側亜核第 I/II 層に存在する興奮性及びおよび抑制性ニューロンの膜特性**

---

○中谷 有香, 山本 清文, 小林 真之

日大 歯 薬理

口腔顔面領域の侵害情報は、三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Sp5C) の I 層および II 層に投射する。Sp5C には  $\gamma$ -アミノ酪酸やグリシンを含有する抑制性介在ニューロンが多数存在し、周囲のニューロンの活動を抑制している。I 層には上位中枢へ投射するニューロンが存在することから、この領域に存在する抑制性ニューロンの活動は侵害受容の制御に直接関与すると考えられる。既に Sp5C 第 I 層および第 II 層ニューロンは、電気生理学的特性にしたがって Tonic, Phasic, Delayed onset, Single spike タイプの 4 種類に分類されており、それぞれの軸索ならびに樹状突起の形態学的特徴との相関が報告されている。しかし、興奮性および抑制性のニューロンの区別は明確でなかった。そこで我々は、抑制性ニューロンが緑色蛍光タンパク Venus で標識された遺伝子改変動物 (VGAT-Venus ラット) を用いることで Sp5C の I および II 層におけるニューロンについて興奮性であるか抑制性であるかを同定し、各々の膜特性を明らかにした。実験には VGAT-Venus ラット (22-35 日齢) を用いた。通法に従って脳スライスを作製し、Sp5C 第 I/II 層のニューロンからホールセル・パッチクランプ記録を行った。Sedlacek ら (2007) の報告に基づいて記録したニューロンを電気生理学的に分類すると、Venus 陽性ニューロンは Tonic タイプおよび Delayed onset タイプが大多数を占め、Venus 陰性ニューロンは主に Phasic タイプであった。以上の結果は、発火特性に従って興奮性および抑制性ニューロンを同定できる可能性を示しており、今後細胞外記録による実験におけるニューロンの分類の一助となると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

**The intrinsic membrane properties of excitatory and inhibitory neurons in the trigeminal spinal subnucleus caudalis**

---

○Nakaya Y, Yamamoto K, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

The trigeminal spinal subnucleus caudalis (Sp5C) plays a role in relaying orofacial sensory information to the higher central nervous system. Neurons in the superficial layers of Sp5C, lamina I and II, receive nociceptive primary afferents. Although the intrinsic membrane properties of these neurons have been classified into four subtypes, a chemical feature, glutamatergic or GABAergic/glycinergic, has remained unknown. Here, we performed whole-cell patch-clamp recording from Sp5C lamina I/II neurons of VGAT-Venus transgenic rats to identify their electrophysiological profiles in combination with an identification of the chemical feature. Most Venus-positive neurons, i. e. GABAergic or glycinergic neurons, exhibited tonic or delayed onset spike firing. On the other hand, most Venus-negative neurons, presumably considered as glutamatergic neurons, showed phasic spike firing. These findings suggest that glutamatergic projection neurons could be distinguished by their firing properties from inhibitory interneurons in Sp5C. This may contribute to classification of Sp5C neurons that are extracellularly recorded in vivo preparations.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-36 オレキシンはタンパクキナーゼ C の活性を介してラット島皮質抑制性シナプス伝達を促進する

○臼井 緑<sup>1</sup>, 大井 良之<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 薬理

<sup>2</sup>日大 歯 麻酔

オレキシンは視床下部で発見された神経ペプチドであり、これまで摂食や睡眠リズムの調節に対する機能が明らかにされてきた。近年、上位中枢から脊髄後角へのオレキシン含有線維の投射やオレキシンの髄腔内投与による侵害情報伝達の抑制が報告され、オレキシンによる疼痛抑制が注目されている。無顆粒島皮質 (AI) は侵害情報を処理する大脳皮質であり、視床下部からオレキシン神経の投射を受け、オレキシン受容体を発現していることが知られており、その局所神経回路の調節にオレキシンが関わっている可能性が高い。そこで我々は、ラット AI の興奮性錐体細胞 (Pyr) および抑制性介在ニューロンの一つである fast-spiking 細胞 (FS) から同時ホールセル・パッチクランプ記録を行い、単一抑制性シナプス後電流 (uIPSC) に対するオレキシンの修飾作用を解明することを目的とした。ラット急性脳スライス標本を作製し、AI においてシナプス前細胞である FS からシナプス後細胞である Pyr への uIPSC を記録し、オレキシンの作用を検討した。オレキシン受容体 1 および 2 (OX1/OX2) アゴニストであるオレキシン A または B 100 nM を灌流投与したところ、uIPSC の振幅が増大する一方、paired-pulse ratio と failure rate は変化しなかった。また、選択的 OX2 アゴニストである [Ala11, D-Leu15]-orexin B の灌流投与では uIPSC は変化せず、OX1 アンタゴニストである SB334867 の灌流投与によって、オレキシン A および B の効果は阻害された。さらに、細胞内シグナル伝達物質の一つであるタンパクキナーゼ C (PKC) の阻害薬である staurosporine の前投与によって、オレキシン A の効果は阻害された。AI において、オレキシンは主にシナプス後細胞の OX1 を介して抑制性シナプス伝達を増強することが明らかになった。また、この増強効果は PKC を介していた。以上の知見より、オレキシンは Pyr を抑制し AI からの出力を低下することで下行抑制系を賦活する可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Orexin facilitates GABAergic inhibitory synaptic transmission in the rat insular cortex

○Usui M<sup>1</sup>, Oi Y<sup>2</sup>, Kobayashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent

The orexin is a peptide regulating wakefulness and appetite. Recent studies have demonstrated suppressive effects of orexin on nociception. The insular cortex (IC) plays a role in processing nociception. IC expresses both orexinergic receptor 1 (OX1) and 2 (OX2), receives dense orexinergic inputs. Therefore orexin possibly regulates IC activities, which may regulate nociception. However, it remains unknown how cortical orexinergic receptors modulate synaptic transmission. We performed paired whole-cell patch-clamp recordings from fast-spiking cells (FS) and pyramidal cells (Pyr) in IC and examined the effects of orexinergic ligands on unitary inhibitory postsynaptic currents (uIPSCs) obtained from FS to Pyr connections. Application of orexin A or B enhanced the amplitude of uIPSCs without changing paired-pulse ratio and failure rate. Application of [Ala11, D-Leu15]-orexin B, a selective OX2 agonist, didn't enhance the amplitude of uIPSCs. Next, we examined the effects of OX1 and OX2 selective antagonists on the orexin-induced facilitation of uIPSCs to examine which receptors play a major role. Pre-application of SB334867, an OX1 antagonist, diminished the orexin A/B-induced facilitation. Moreover, pre-application of staurosporine, a selective protein kinase C inhibitor, diminished the orexin A-induced facilitation. OX1 facilitates uIPSCs postsynaptically, and this facilitation of inhibitory transmission may reduce IC excitation, which may suppress nociception. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-37 嚥下が顎反射に与える影響

---

○鈴木 拓, 吉原 翠, 辻 光順, 真柄 仁, 辻村 恭憲, 井上 誠  
新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

【目的】咀嚼や嚥下時には、顎位が安定して機能することが求められる。本研究では、末梢誘発性および皮質刺激誘発性嚥下時の顎反射の変調を検索して、嚥下運動時の感覚および運動調節機構を検討した。

【方法】実験にはウレタン麻酔下のウサギ 24 羽を使用した。開口反射、閉口反射、嚥下記録のために、顎二腹筋、咬筋、甲状舌骨筋の筋電位を導出した。開口・閉口反射誘発のために、それぞれ下歯槽神経、三叉神経中脳路核を 1 Hz にて 30 秒間、各反射を認める最小刺激強度の 2 倍の強さで刺激した。途中 10 秒間、条件刺激として、上喉頭神経 (SLN) または大脳皮質嚥下関連領野 (Cx) の連続電気刺激を行った。10 秒間で一度嚥下が生じる刺激強度を 1 T として、SLN の刺激強度は 0.8-4.0 T, Cx の刺激強度は 0.8-1.4 T とした。条件刺激前・中・後の各 10 秒間における開口反射および閉口反射の平均振幅および潜時の比較を行った。実験終了後、脳を摘出、ミクロトームにて 50  $\mu$ m 凍結切片を作成し、皮質刺激部位を組織学的に同定した。

【結果】嚥下誘発可能な皮質領域は、島皮質およびその周辺領域に局在していた。開口反射の振幅は、刺激側によらず SLN, Cx 刺激中および刺激後には有意に減少した。SLN, Cx とともに、0.8 T, 1 T 刺激時と比較し 4 T 刺激時の方が振幅は減少し、刺激強度が高いほうが大きな変調効果を認めた。潜時に関しては、すべての刺激強度において、刺激前・中・後で変化を認めなかった。さらに SLN 単独刺激, Cx 単独刺激時と比較し、SLN, Cx 同時刺激時の方が開口反射の振幅は小さくなる傾向を示した。閉口反射の振幅、潜時は、SLN/Cx 刺激前・中・後で変化を認めなかった。

【考察】嚥下時に開口反射は抑制を受け、閉口反射は抑制を受けないという現象は、円滑な嚥下遂行にとっては合目的的であると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The effect of swallows on the jaw reflex responses

---

○Suzuki T, Yoshihara M, Tsuji K, Magara J, Tsujimura T, Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

The aim of this study was to investigate whether the jaw reflex responses were modulated during peripherally and centrally-evoked swallows in animals. Experiments were carried out on rabbits anesthetized with urethane. Electromyographic activity was recorded from the digastric, masseter and thyrohyoid muscles for monitoring the jaw-opening reflex (JOR), jaw-closing reflex (JCR) and swallowing, respectively. To evoke the JOR and JCR, the inferior alveolar nerve and the trigeminal mesencephalic nucleus were stimulated. Either the superior laryngeal nerve (SLN) or cortical swallowing area (Cx) was stimulated at 30 Hz to evoke swallows. In a recording session, either the JOR or JCR was evoked at 1 Hz for 30 sec. In the middle 10 sec, SLN or Cx was simultaneously stimulated. The mean amplitudes and latencies of the JORs and JCRs were compared among the conditions; before, during and after SLN/Cx stimulation. The amplitudes of the JORs were significantly decreased during and after SLN/Cx stimulation compared with before stimulation. On the other hand, there was no difference in the JCR responses among the conditions. These results suggest that the JOR is inhibited during peripherally and centrally-evoked swallows, probably to prevent unnecessary jaw opening during swallowing whereas the JCR is not affected in functions.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-38 三叉神経損傷により誘導される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄に分布する視床および橋投射ニューロンの形態変化

---

○岡田 真治<sup>1,2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 補綴 1

<sup>2</sup>日大 歯 生理

---

三叉神経損傷後、視床後内側腹側核 (VPM) および橋結合腕傍核 (PBN) を経由する侵害情報の上行路においてどのような形態学的変化が生じるかは不明である。そこで今回、三叉神経損傷後、上口唇のカプサイシン刺激および侵害的機械刺激により活性化される三叉神経脊髄路核尾側亜核-上部頸髄 (Vc-C1) 投射ニューロンの形態学的変化を明らかにすることを目的とした。眼窩下神経慢性絞扼 (ION-CCI) 1週間後のラットにおいて、左側上口唇への熱または機械刺激に対する逃避閾値を測定し、右側 VPM または PBN に逆行性神経トレーサー Fluorogold (FG) を注入した。FG 注入から3日後、左側上口唇にカプサイシンまたは侵害的機械刺激を加え、Vc-C1 におけるリン酸化 extracellular signal-regulated kinase (pERK) 陽性 FG 標識投射ニューロンの分布様式を解析した。ION-CCI 群では、熱および機械刺激に対する逃避反射閾値の有意な低下を認めた。ION-CCI により FG 標識投射ニューロンの分布様式に変化は認められなかったが、カプサイシンおよび侵害的機械刺激により発現する pERK 陽性細胞数は有意に増加した。一方、ION-CCI 群では、カプサイシン刺激に対して pERK 陽性 VPM 投射および pERK 陽性 PBN 投射ニューロン数ともに有意に増加したが、侵害的機械刺激に対しては pERK 陽性 PBN 投射ニューロン数のみ有意に増加した。上記の結果から、三叉神経損傷に起因して、C-fiber 入力を受ける VPM 投射ニューロンの侵害情報伝達が、また C-fiber および A $\delta$ -fiber 入力を受ける PBN 投射ニューロンの侵害情報伝達が増強され、この変化が三叉神経損傷による痛覚過敏の弁別的様相と情動的様相に異なったメカニズムで関与する可能性が示された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Morphological change in thalamic- and pontine-projection neurons in Vc and C1 following trigeminal nerve injury

---

○Okada S<sup>1,2</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

The aim of the present study was to elucidate morphological changes in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) and upper cervical spinal cord (C1) responding noxious stimulation, which send axons to ventral posteromedial thalamic nucleus- (VPM) or parabrachial nucleus (PBN) following trigeminal nerve injury. The head-withdrawal thresholds to heat and mechanical stimulation of the left lower lip were measured in rats with infraorbital nerve chronic constriction injury (ION-CCI) on day 7. These rats were injected fluorogold (FG) into the right VPM or PBN, and 3 days after that rats were stimulated by capsaicin or forceps in the left upper lip, and the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) in FG-labeled projection neurons were studied in Vc-C1. The number of pERK-immunoreactive (IR) cells was significantly larger in ION-CCI rats. The number of pERK-IR FG-labeled VPM or PBN projection neurons was significantly increased following capsaicin stimulation in ION-CCI rats, while that of pERK-IR FG-labeled PBN projection neurons was also significantly increased following noxious mechanical stimulation. The present findings suggest that these morphological changes may reflect differential involvement of these ascending pathways in sensory-discriminative and emotional/affective aspects of persistent pain associated with trigeminal nerve injury.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

### P1-39 三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄における視床または橋投射ニューロンの分布様式

○齋藤 弘人<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 補綴 1

<sup>2</sup>日大 歯 生理

口腔顔面領域からの侵害情報上行路は、三叉神経脊髄路尾側亜核 (Vc) および上部頸髄 (C1) の侵害受容ニューロンを経由し、視床後内側腹側核 (VPM)、視床内側核群 (MTN) または橋結合腕傍核 (PBN) へ投射し、続いて VPM は大脳皮質に、MTN と PBN は辺縁系に情報を送る。しかし、侵害情報を伝える投射ニューロンにおける投射先の違いによる Vc および C1 での分布様式については不明な部分が多い。そこで、本研究では侵害刺激によってリン酸化する phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) を神経興奮のマーカーとし、さらに、主に C 線維末端から放出される substance P の受容体である neurokinin 1 receptor (NK1) の投射ニューロンにおける発現様式を検討した。雄性ラットの右側 VPM, MTN または PBN に 3% Fluorogold (FG) を注入した。FG 注入から 7 日後、左側上唇にカプサイシンを注射 (300  $\mu$ M, 10  $\mu$ l) することにより C 線維を刺激し、5 分後に灌流固定した。Vc~C1 における pERK-NK1 共陽性 FG 標識投射ニューロンの分布様式を解析した。pERK および NK1 陽性細胞は Vc から C1 の I-II 層に限局していた。FG 標識投射ニューロンに対する pERK-NK1 共陽性 FG 標識投射ニューロンの割合は、Vc から VPM へ 8.6%、尾側 Vc-C1 から MTN へ 25.0%、Vc から PBN へ 15.3%、尾側 Vc-C1 から PBN へ 21.1% と吻尾的な分布の相違が認められた。このような pERK-NK1 共陽性 FG 標識ニューロンにおける投射先の相違による吻尾的な発現分布の違いは、口腔顔面領域から視床または橋への痛覚伝導に関する侵害情報処理に対する機能的な違いを反映している可能性があるかと推察された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Distribution differences of thalamic and parabrachial projection neurons in the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord

○Saito H<sup>1</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Second-order neurons in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) and upper cervical spinal cord (C1) are critical for craniofacial pain processing and ascend their axons to the ventral posteromedial thalamic nucleus (VPM), medial thalamic nuclei (MTN) and parabrachial nuclei (PBN). The contribution of each region to trigeminal nociception was assessed by the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase-immunoreactive (pERK-IR) and neurokinin 1 receptor (NK1), which is the receptor for substance P, -IR neurons expressed with fluorogold (FG)-labeled projection neurons in Vc-C1. FG (3%) was injected into the right VPM, MTN or PBN in male rats. On day 7 after FG injection, rats were stimulated by capsaicin (300  $\mu$ M, 10  $\mu$ l) in the left upper lip and perfused within 5 minutes. The lower brain stems were cut, and sections were processed for pERK and NK1 immunohistochemistries. The percentage of pERK-NK1-IR FG-labeled neurons was following: middle-Vc to VPM: 8.6%; caudal-Vc-C1 to MTN: 25.0%; middle-Vc to PBN: 15.3% and caudal-Vc-C1 to PBN: 21.1%. The rostrocaudal distribution differences of pERK-NK1-IR FG-labeled neurons in Vc-C1 may reflect functional differences among these projection areas regarding orofacial nociception. Acknowledgment: JSPS KAKENHI No. 17K11855

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-40 ドライアイ誘発性眼痛に対するジクアホソルナトリウム点眼の効果

---

○菅原 詩織<sup>1,2</sup>, 美久月瑠宇<sup>1,2</sup>, 齊藤 弘人<sup>2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 歯科心身

<sup>2</sup>日大 歯 生理

---

外分泌腺の機能低下により発症するドライシンドロームには、ドライアイ、ドライマウス、ドライノーズ、ドライスキンなどが挙げられ、その症状の部位特異性から三叉神経領域の感覚入力と深く関与していることが推察される。特に、三叉神経第I枝に支配される角膜は人体の中で最もC線維の密度が高い部位であり、角膜の乾燥は不快感だけでなく痛みを誘発する。近年、P2Y2受容体のアゴニストであるジクアホソルナトリウム (Diquas<sup>®</sup>) 点眼液がドライアイ治療に用いられている。ジクアホソルナトリウムは結膜上皮および杯細胞膜上のP2Y2受容体に作用し、細胞内カルシウム濃度を上昇させることで、水分およびムチンの分泌を促進する。しかし、末梢でのジクアホソルナトリウムによる水分およびムチンの増加がドライアイに起因する眼痛を抑制するか否かは不明である。そこで今回、涙腺摘出モデル雄性ラットを用い、ジクアホソルナトリウムの中枢感作抑制効果を行動薬理的、および免疫組織学的に解析した。涙腺摘出当日から3%ジクアホソルナトリウムを4週間(10 $\mu$ l 6回/日)点眼した群と涙腺摘出2週間後からジクアホソルナトリウムの4週間点眼を開始した群では、コントロール群と比較して涙液分泌量は有意に上昇し、眼への高張食塩水(5.0M)刺激による瞬目回数は有意に減少した。さらに三叉神経脊髄路核におけるextracellular signal-regulated kinase (ERK)のリン酸化は後者の群でコントロール群と比較して有意に抑制された。上記の結果より、ジクアホソルナトリウム点眼により水分およびムチンが増加し、結果的に三叉神経脊髄路ニューロンの興奮性を抑制する可能性が示された。(共同研究:慶應大学医学部眼科学教室 坪田 一男教授, 東京医科歯科大学大学院歯科心身医学分野 豊福 明教授, 謝辞:参天製薬株式会社)【利益相反】利益相反状態にあります。

---

## Effect of diquafosal sodium ophthalmic administration on ophthalmalgia under dry eye condition

---

○Sugawara S<sup>1,2</sup>, Mikuzuki L<sup>1,2</sup>, Saito H<sup>2</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

Dry syndrome including dry eye (DE), dry mouse, dry nose and dry skin is caused by exocrine glands dysfunction. The cornea is innervated by the first branch of trigeminal nerve and the density of C-fibers innervating cornea is the highest in the human body. DE is known to cause ophthalmalgia as well as unpleasantness in the eye. Recently, P2Y2 agonist diquafosal sodium (Diquas<sup>®</sup>) is selected for the treatment of DE. Diquafosal accelerates moisture and mucin secretion from conjunctival epithelium and goblet cells. However, it's still unknown whether the tear secretion by diquafosal prevent ophthalmalgia. Three percent diquafosal (10 $\mu$ l 6times/day) was applied for 4 weeks on the exorbital gland-removed rats (DE rats). In diquafosal treated-DE rats, reduced tear volume was significantly recovered and the number of eye blinks elicited by hypertonic saline (5.0 M) application was suppressed compared with control group. The number of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase-immunoreactive cells in trigeminal subnucleus caudalis was significantly smaller in the diquafosal-treated group compared with control group. These data suggest that diquafosal application to the DE is a possible treatment to prevent ophthalmalgia via acceleration of tear secretion in DE patients. (Acknowledgements: Keio Univ. Sch. Med Prof. Kazuo Tsubota and SANTEN Co.)

---

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## P1-41 ラット三叉神経節細胞における P2X<sub>7</sub> 受容体の発現検索

---

○井上 博之<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>1</sup>, 石川 昂<sup>3</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 佐藤 正樹<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>,  
田崎 雅和<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>東歯大 組織発生

【目的】神経障害性疼痛の発生や調節機構に、ATP を介した細胞間コミュニケーションの関連が示唆されている。細胞外 ATP は開口分泌、細胞膜 ATP/ヌクレオチド透過性チャネル、細胞障害・死などによって放出され、細胞膜上の ATP 受容体を活性化する。ATP を含めたヌクレオチド受容体にはイオンチャネル型 ATP (P2X) 受容体と G タンパク共役型ヌクレオチド (P2Y) 受容体があり、侵害性疼痛や神経障害性疼痛発生のメカニズムの一端を担っている。P2X 受容体には P2X<sub>1-7</sub> のサブタイプが存在し、なかでも P2X<sub>7</sub> 受容体はグルタミン酸を開口分泌すると報告されている。本研究では三叉神経に発現する P2X<sub>7</sub> 受容体の機能的検索を行った。【方法】ペントバルビタール麻酔下に新生仔 Wistar ラットの三叉神経節を急性単離し、48 時間初代培養を行った。培養細胞には神経細胞とグリア細胞が共存している。そこで whole-cell patch-clamp 法を用いて、ナトリウム電流が発生した細胞を神経細胞、発生しなかった細胞をグリア細胞と同定した。試薬には P2X<sub>7</sub> 受容体のアゴニストである Bz-ATP と、アンタゴニストである A-740003 を用いた。【結果および考察】神経細胞とグリア細胞は 100 μM Bz-ATP により内向き電流を示した。その電流密度は神経細胞とグリア細胞とでは有意差はなかった。神経細胞、グリア細胞ともに 100 μM Bz-ATP の連続投与で、その誘発電流密度は減少し、脱感作した。神経細胞における Bz-ATP 誘発性内向き電流 (100 μM Bz-ATP) は、A-740003 (6 μM) により有意に抑制されたが、グリア細胞では抑制されなかった。Bz-ATP 誘発性内向き電流の不活性化を示す減衰時定数は、神経細胞と比較しグリア細胞の方が有意に大きい値を示した。アンタゴニスト感受性、減衰時定数の違いから、両者に発現する Bz-ATP 感受性 P2X 受容体に機能的差異があると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## A search for expression of P2X<sub>7</sub> receptors in rat trigeminal ganglions

---

○Inoue H<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>1</sup>, Ishikawa N<sup>3</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Satou M<sup>2</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Tazaki M<sup>2</sup>,  
Ichinohe T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Dent Coll, Dept Dent Anesthesiol, <sup>2</sup>Tokyo Dent Coll, Dept Physiol

<sup>3</sup>Tokyo Dent Coll, Dept Histol Dev Biol

It has been suggested that P2X<sub>7</sub> receptor plays important roles in neuropathic pain. The aim of this study was to examine expressions of P2X<sub>7</sub> receptors in neurons and glial cells derived from rat trigeminal ganglion. Trigeminal ganglions were isolated from newborn rats under anesthesia, and were primary-cultured for 48 hr. Bz-ATP was utilized as an agonist of the P2X<sub>7</sub> receptor, while A-740003 was used for its antagonist. We identified cells showing voltage-dependent inward currents as neurons. Glial cells were identified as cells exhibiting no inward currents. At applications of 100 uM Bz-ATP to the neurons and glial cells, we observed inward currents. There was no significant difference in the current density (pA/pF) of the Bz-ATP-induced currents between both cells. Repeated application of Bz-ATP caused desensitizing effect on their currents. Inward current elicited by 100 uM Bz-ATP was significantly suppressed by 6 uM A-740003 in neurons, but not in glial cells. Time constant of inactivation for Bz-ATP-induced inward current in glial cells was significantly larger than that in the neurons. These results indicate that both neurons and glial cells expressed P2X<sub>7</sub> receptors. There are functional differences of biophysical/pharmacological properties in P2X<sub>7</sub> receptors between neurons and glial cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-42 ラット三叉神経節グリア細胞の遅延整流型 $K^+$ 電流

---

○小島 佑貴<sup>1</sup>, 東川明日香<sup>1</sup>, 大山 定男<sup>1</sup>, 河野 恭佑<sup>1</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>, 西 孝一<sup>1</sup>,  
黒田 英孝<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理

<sup>2</sup>東歯大 麻酔

---

目的：神経系においてニューロン以上の数的支配を示すグリア細胞は、髄鞘の形成、神経栄養因子の放出、シナプス伝達そのものの制御など様々な機能を有している。三叉神経節 (TG) ニューロン付近に存在するグリア細胞は、多くの細胞機能に加えて、疼痛の制御に関わるとされるが、その細胞膜電気生理学的特性は未だ解明されず残されている。そこで本研究では、急性単離した TG グリア細胞に発現している電位依存性イオンチャネルの生物物理学的特性を検討した。方法：5-7 日齢の新生仔ウイスターラットの TG から、ニューロン及びグリア細胞を急性単離した。Whole-cell patch-clamp 法で電位依存性内向き電流を生じない細胞をグリア細胞とした。標準細胞外液として Krebs 液 (pH 7.4) を用い、電極内 (細胞内) 液組成として (mM), 140 KCl, 10 NaCl, 10 HEPES (pH 7.2) を用いた。細胞外液  $K^+$  濃度 ( $[K^+]_o$ ) は、Krebs 液から  $Na^+$  を等モラー濃度で置換することで様々な細胞外  $[K^+]_o$  溶液 (10, 50, 100 mM) を作製した。結果：グリア細胞に保持電位 (Vh)  $-70$  mV から 10 mV ステップの電位刺激を行ったところ、遅延整流型の外向き電流が記録された。 $[K^+]_o$  を 10 mM, 50 mM, 100 mM と変化させたところ、 $[K^+]_o$  が増加するにつれ外向き電流の反転電位は脱分極側にシフトした。反転電位から外向き電流が純粋な  $K^+$  透過性を示すことが示唆された。考察：グリア細胞に、遅延整流型電位依存性  $K^+$  チャネルの発現が示唆された。**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Glial cells in rat trigeminal ganglion express delayed-rectifier $K^+$ currents

---

○Kojima Y<sup>1</sup>, Higashikawa A<sup>1</sup>, Ohyama S<sup>1</sup>, Kouno K<sup>1</sup>, Ando M<sup>1</sup>, Nishi K<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>2</sup>,  
Kimura M<sup>1</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>, Tazaki M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

---

**Purpose:** Glial cells involve in various functions and play important roles in generation of chronic and/or neuropathic pain. However, biophysical properties of TG glial cells have remained to be clarified. We examined plasma membrane voltage-dependent ionic currents in TG glial cells by whole-cell patch-clamp method in a voltage-clamp condition. **Methods:** TG cells were isolated from Wistar rats (5-7 days old). We identified TG cells, that did not express voltage-dependent inward currents, as TG glial cells. We prepared Krebs solution as standard extracellular solution. Intracellular solution was composed (in mM); 140 mM KCl, 10 mM NaCl, 10 mM HEPES. To assess ionic selectivity, we also prepared extracellular solutions containing 5, 10, 50 or 100 mM potassium chloride, by substituting  $Na^+$  for  $K^+$  equimolarly. **Results:** Depolarizing voltage steps to +80 mV from a holding potential of  $-70$  mV with 10mV increments evoked outwardly delayed-rectifying currents with extracellular  $K^+$  concentration ( $[K^+]_o$ ) of 5 mM. The values of reversal potential in 4 different extracellular potassium chloride concentrations approximated to those expected for potassium ion selective currents, assuming pure potassium ion conductance. **Discussion:** The results indicated that TG glial cells expressed delayed-rectifying voltage-dependent  $K^+$  channels.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-43 口髭部皮膚切開痛に対する新生児期皮膚外傷性ストレスの影響

---

○相馬 久実<sup>1</sup>, 篠田 雅路<sup>2</sup>, 浦田健太郎<sup>3</sup>, 白川 哲夫<sup>1</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 小児歯

<sup>2</sup>日大 歯 生理

<sup>3</sup>日大 歯 補綴 1

---

【目的】 新生児期の精神的および身体的ストレスは、成人後の神経系にさまざまな変化を引き起こし、異常疼痛の原因となることが知られている。歯科領域の疾患においては、舌痛症、非定型顔面痛や顎関節症の痛みなどはストレスと密接に関連していると考えられているが詳細は不明である。本研究では、新生児期外傷性ストレスモデル動物を作製し、顔面部皮膚切開痛に対する新生児期外傷性ストレスの影響を検討した。

【材料と方法】 雄性SDラット（生後4日目）の口髭部皮膚をイソフルラン吸入麻酔下にて切開縫合した（新生児期外傷群）。生後7週目、深麻酔下にて口髭部皮膚を再度切開して縫合した。再切開縫合後14日目まで、口髭部皮膚に熱および機械刺激を与え、逃避反射閾値を隔日的に測定した。さらに再切開縫合後14日目、口髭部投射三叉神経節ニューロンにおけるTetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel (Nav 1.8) 発現を解析した。

【結果】 生後7週目、コントロール群と比較して新生児期外傷群において口髭部皮膚の熱および機械痛覚に変化みられなかった。再切開縫合後14日目、新生児期外傷群において熱および機械痛覚過敏が増強し、口髭部投射Nav 1.8陽性三叉神経節ニューロンが有意に増加した。

【結論】 新生児期皮膚外傷によって生じる成人期口髭部皮膚切開後の熱および機械痛覚過敏の増強には口髭部投射三叉神経節ニューロンにおけるNav 1.8の増加によるニューロン活動の亢進が関与することが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反が無いことを宣言する。

---

## Neonatal skin injury affects whisker pad skin-incised pain in adulthood

---

○Soma K<sup>1</sup>, Shinoda M<sup>2</sup>, Urata K<sup>3</sup>, Shirakawa T<sup>1</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent

---

It is known that exposure to traumatic injury in early life causes plastic changes in the nervous system in adulthood, occasionally resulting in ubiquitous chronic pain. However, the pathogenic mechanisms of orofacial pain hypersensitivity associated with neonatal orofacial traumatic stress remain unclear. Here, we examined the involvement of tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel (Nav 1.8) expression in trigeminal ganglion (TG) neurons in orofacial pain hypersensitivity induced by neonatal orofacial traumatic stress. Whisker pad skin in male SD rats (4 days) was incised (neonatal injury group), and the whisker pad skin was incised again on week 7. Following the re-incision, heat and mechanical head-withdrawal thresholds in the whisker pad skin were measured for 14 days, and Nav 1.8 expression in TG neurons innervating whisker pad skin was examined on day 14. On day 14 following the re-incision, heat and mechanical hypersensitivities were enhanced in neonatal injury group and the number of Nav 1.8-positive TG neurons innervating whisker pad skin was increased. These results suggest that Nav 1.8 hyper-expression in TG neurons involved in enhancement of neuronal excitability, resulting in orofacial pain hypersensitivity by neonatal orofacial traumatic stress.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **P1-44 舌神経損傷後の舌痛に対する三叉神経節 CGRP 陽性細胞の表現型変化と神経-グリア機能連関の関与**

---

○美久月瑠宇<sup>1,2</sup>, 菅原 詩織<sup>1,2</sup>, 片桐 綾乃<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 歯科心身医学

<sup>2</sup>日大 歯 生理

---

口腔顔面領域に発症する神経障害性疼痛メカニズムを解明するために、我々は舌神経圧迫 (LNC) モデルラットを開発し、この発症機構について解析を進めている。これまでに同モデルを用い、舌神経損傷により舌に痛覚過敏が発症し、三叉神経節 (TG) において神経細胞体周囲を取り囲む satellite glial cell (SGC) が活性化することを確認した。しかし、舌神経圧迫による神経節細胞と SGC の機能連関については不明な部分が多い。そこで今回、舌神経損傷によって生じる舌痛の発症メカニズムの一端を解明するために LNC モデルを用いて、三叉神経節神経細胞体から放出される神経ペプチド calcitonin gene related peptide (CGRP), extracellular signal regulated kinase (ERK1/2) のリン酸化、および神経-グリア機能連関について検討した。LNC により、SGC において ERK1/2 のリン酸化が確認された。また、CGRP 陽性細胞数およびリン酸化 ERK1/2 陽性細胞に囲まれる神経節細胞数が増加した。特に大型の CGRP 陽性細胞数の増加が顕著であった。LNC モデルラットの三叉神経節に CGRP 受容体拮抗薬または ERK1/2 の阻害薬を投与すると、痛覚過敏発症が抑制され、CGRP 陽性細胞数およびリン酸化 ERK1/2 陽性細胞に囲まれた神経節細胞数の増加抑制が確認された。以上の結果から、LNC によって CGRP 陽性細胞の表現型の変化および CGRP 陽性細胞数増加が生じ、神経細胞体から放出された CGRP により SGC で ERK1/2 のリン酸化が惹起され、これにより SGC が活性化された。以上、神経損傷により三叉神経節内において神経-グリア機能連関が亢進することによって、舌痛が増悪する可能性が明らかになった。**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Involvement of phenotypic change in trigeminal ganglion neurons and neuron-glia interaction in persistent tongue pain associated with lingual nerve injury**

---

○Mikuzuki L<sup>1,2</sup>, Sugawara S<sup>1,2</sup>, Katagiri A<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

Satellite glial cell (SGC) activation and phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in the trigeminal ganglion (TG) are known to be involved in trigeminal neuropathic pain. However, mechanisms underlying orofacial neuropathic pain is still unknown. To evaluate the mechanisms, neuron-SGC interaction, calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive (IR) expression, ERK1/2-phosphorylation (pERK1/2) in the TG were studied in lingual nerve crush (LNC) rats. The enhancement of ERK1/2-phosphorylation was observed in SGCs following LNC. The number of CGRP-IR neurons and neurons encircled with pERK1/2-IR cells or activated SGCs were significantly larger at day 3 after LNC. Moreover, the percentage of large sized CGRP-IR neurons was significantly higher in LNC rats. Following CGRP receptor blocker or ERK pathway inhibitor administration into the TG for 3 days after LNC, the number of CGRP-IR neurons and neurons encircled with pERK1/2-IR cells or activated SGCs were significantly decreased. The reduced nociceptive reflex thresholds of the tongue were significantly recovered in LNC rats. The present findings suggest that CGRP released from TG neurons is involved in SGC activation through ERK1/2 phosphorylation resulting in the enhancement of TG neuronal excitability. The phenotypic switching of large myelinated afferent neurons expressing CGRP may also account for the present mechanisms. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P1-45 ラット三叉神経節ニューロンにおけるブラジキニン B<sub>1</sub>受容体を介した Ca<sup>2+</sup>動態の検索**

○寺島-重藤 玲子<sup>1</sup>, 東川明日香<sup>2</sup>, 小島 佑貴<sup>2</sup>, 井上 博之<sup>1</sup>, 川口 綾<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 田崎 雅和<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 麻酔

<sup>2</sup>東歯大 生理

【目的】三叉神経支配領域における疼痛発生にブラジキニン(BK)受容体が関与することが知られている。BK受容体はB<sub>1</sub>受容体とB<sub>2</sub>受容体の二種類のサブタイプが存在する。B<sub>2</sub>受容体は恒常的に発現しており急性疼痛に関与する。B<sub>1</sub>受容体は炎症や組織障害時に誘導的に発現することから慢性疼痛に関与するとされる。近年、新生仔ラット三叉神経節(TG)ニューロンにおけるB<sub>2</sub>受容体の組織学的、機能的発現が明らかになったが、その一方でB<sub>1</sub>受容体の組織学的発現は明らかになったものの、その機能特性に関しては未だ知見が少ない。そこでTGニューロンにおけるB<sub>1</sub>受容体刺激による細胞内Ca<sup>2+</sup>動態を検討した。【方法】新生仔Wistarラット(7-8日齢)より三叉神経節を単離し48時間初代培養を行った。この培養細胞にCa<sup>2+</sup>蛍光色素であるfura-2を用いて細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)の変化を記録した。B<sub>1</sub>受容体のアゴニストはLys-[Des-Arg<sup>9</sup>]BK、細胞内Ca<sup>2+</sup>ストアにおけるリアノジン受容体阻害薬はdantrolene、選択的小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPaseの抑制にはcyclopiazonic acid(CPA)を用いた。全ての実験の最後に高K<sup>+</sup>誘発性[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加を示した細胞をニューロンとして解析を行った。【結果と考察】細胞外Ca<sup>2+</sup>([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>)存在下にLys-[Des-Arg<sup>9</sup>]BKを投与すると[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>は一過性に増加した。この増加は[Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>非存在下においても観察された。DantroleneおよびCPAを作用させた後、Lys-[Des-Arg<sup>9</sup>]BKを投与すると[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の一過性の増加は抑制された。これらの結果からB<sub>1</sub>受容体の活性化によって増加する[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>は細胞内Ca<sup>2+</sup>ストア由来であることが強く示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

**Ca<sup>2+</sup> mobilization via bradykinin B<sub>1</sub> receptor activation in rat trigeminal ganglion neurons**

○Terashima-Shigefuji R<sup>1</sup>, Higashikawa A<sup>2</sup>, Kojima Y<sup>2</sup>, Inoue H<sup>1</sup>, Kawaguchi A<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>1</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Tazaki M<sup>2</sup>, Ichinohe T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

Bradykinin (BK) receptors in the trigeminal ganglion (TG) neurons are involved in generation of pain in the orofacial area. There are two subtypes of BK receptor; B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> receptors. The B<sub>2</sub> receptor is constitutively expressed and considered to be involved in acute pain, while the B<sub>1</sub> receptor is inducibly expressed following inflammatory response and/or tissue injury to mediate chronic pain. Recent studies revealed the morphological and functional expression of the B<sub>2</sub> receptor in neonatal rat TG neurons. Expression of the B<sub>1</sub> receptor in the TG neurons has been reported, however, its functional and/or pharmacological profile remains to be clarified. To investigate intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization pathway by B<sub>1</sub> receptor activation, we measured intracellular free Ca<sup>2+</sup> concentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) from TG neurons. TG cells were isolated from neonatal Wistar rats (7-8 days old) and primary cultured for 48 hr. [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> was measured by fura-2 fluorescence. Application of Lys-[Des-Arg<sup>9</sup>]BK (B<sub>1</sub> receptor agonist) increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in the TG neurons in both the presence and absence of extracellular Ca<sup>2+</sup>. Pretreatment by dantrolene and cyclopiazonic acid (CPA) suppressed Lys-[Des-Arg<sup>9</sup>]BK-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> increase. These results suggested that B<sub>1</sub> receptor activation-induced increases in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> were mainly derived by Ca<sup>2+</sup> release from the intracellular Ca<sup>2+</sup> store.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-46 老化モデルマウスにおける唾液分泌機能の解明

---

○宮城 勇大, 近藤 祐介, 楠田優一郎, 宗政 翔, 堀 裕亮, 正木 千尋,  
細川 隆司

九歯大 口腔再建リハ

【目的】加齢が唾液腺機能に与える影響の詳細は不明である。本研究では老化促進モデルマウスである Senescence-Accelerated Mouse (SAM)を用いて、加齢の唾液分泌機能に対する影響を明らかにすることを目的とした。【方法】老化促進モデルとして SAM Prone1 (SAMP1) を、コントロールとして SAM Resistant1 (SAMR1) をそれぞれ 16 週齢および 48 週齢で用いた。まず Pilocarpine の腹腔内投与を用いた *In vivo* 解析にて耳下腺および顎下腺機能を評価した。次いで、ムスカリン受容体作動薬 Carbachol,  $\beta$  アドレナリン受容体作動薬 Isoproterenol を用いた *Ex vivo* 顎下腺灌流モデルにて顎下腺機能の詳細を評価した。さらに、Fura2-AM を導入した顎下腺腺房細胞を用い、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇を評価した。【結果と考察】 *In vivo* 解析において、耳下腺からの唾液分泌量は 48 週齢の SAMP1 と SAMR1 で同等であった。一方、顎下腺からの唾液分泌量は SAMR1 と比較して SAMP1 で有意に低下した ( $p=0.02$ )。 *Ex vivo* 顎下腺灌流モデルにおいて、16 週齢では Carbachol 刺激による唾液分泌量は SAMP1 と SAMR1 で同等であったが、48 週齢においては SAMR1 と比較して SAMP1 で有意に低下した ( $p=0.03$ )。一方、Carbachol と Isoproterenol 同時刺激による唾液分泌量は SAMP1 と SAMR1 で同等であった。また、Carbachol 刺激による顎下腺腺房細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇は、48 週齢の SAMP1 と SAMR1 で同等であった。以上の結果より、耳下腺の唾液分泌機能は加齢に影響を受けないこと、顎下腺のムスカリン性刺激による唾液分泌機能は加齢により低下することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of salivary gland function in aging model mouse

---

○Miyagi Y, Kondo Y, Kusuda Y, Munemasa T, Hori Y, Masaki C, Hosokawa R

Div Oral Reconstr Rehabil, Kyushu Dent Univ

【Purpose】 The effect of aging on salivary gland function is not well described. This study aimed to clarify how aging affects salivary gland function using Senescence-Accelerated Mouse. 【Methods】 SAM Prone1 (SAMP1) and SAM Resistant1 (SAMR1) (16- or 48-week-old) were used as the aging model and control, respectively. To evaluate parotid (PG) and submandibular gland (SMG) function, we used *In vivo* analysis with intraperitoneal pilocarpine stimulation. *Ex vivo* SMG perfusion with carbachol or isoproterenol was used to evaluate the detailed SMG function. [ $Ca^{2+}$ ]<sub>i</sub> increase was measured in Fura2-AM-loaded SMG acinar cells. 【Results and Conclusion】 Saliva secreted from PG of 48-week-old SAMP1 and SAMR1 *In vivo* was comparable, whereas saliva from 48-week-old SAMP1 SMG *In vivo* was significantly less than that of the control ( $p=0.02$ ). Carbachol-induced saliva from SMG of 16-week-old SAMP1 and SAMR1 were equivalent, whereas SMG of 48-week-old SAMP1 secreted significantly less amount of saliva than that of the control ( $p=0.03$ ). Simultaneous stimulation with carbachol and isoproterenol induced comparable saliva from SMG of 48-week-old SAMP1 and SAMR1. Carbachol-induced [ $Ca^{2+}$ ]<sub>i</sub> increase in 48-week-old SAMP1 was comparable to that in SAMR1. These results suggest that aging did not affect PG function, but muscarinic stimulation-induced saliva secretion from SMG was diminished by aging.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-47 2型糖尿病が唾液腺における副交感神経性血管拡張反応に与える影響**

---

○佐藤 寿哉, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

糖尿病に伴う口腔乾燥症は糖尿病患者の半数近くで認められ、口腔内環境の悪化によるう蝕や歯周疾患などの口腔内疾患を招きやすい。近年、我々は唾液分泌における唾液腺の副交感神経性血流増加反応の重要性について報告した。糖尿病ではしばしばニューロパチーが出現することから、自律神経系を介した唾液腺血流調節に影響が及ぶことが予想される。そこで本研究では糖尿病に伴う唾液分泌障害機序について新たな視点での解明を目指し、糖尿病が唾液腺の副交感神経性血流増加反応に与える影響を自然発症型の2型糖尿病ラットを用いて検討した。糖尿病ラットとコントロールラットをウレタン麻酔し、舌神経の求心性刺激時の大唾液腺の血流動態をレーザースペックルイメージング血流を用いて記録した。交感神経と迷走神経は頸部にて切断し、その影響を完全に排除した。舌神経刺激はラットの唾液腺に刺激頻度と強度に依存した血流増加反応を誘発させたが、耳下腺の血流増加はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。耳下腺の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およびムスカリン受容体拮抗薬であるアトロピンの静脈内投与により著しく抑制された。アセチルコリンの静脈内投与は耳下腺に濃度依存的な血流増加反応を誘発させたが、その反応はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。耳下腺におけるムスカリン M1 および M3 受容体の mRNA 発現はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。我々の結果から2型糖尿病ラットにおける耳下腺のコリン作動性副交感神経性血流増加反応の抑制が示され、耳下腺におけるムスカリン受容体の発現低下が血流増加反応の抑制のメカニズムの1つとして重要な役割を果たしていることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Influence of type 2 diabetes on parasympathetic vasodilation in the salivary glands of rats**

---

○Sato T, Ishii H

Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

We examined the hemodynamics in the salivary glands of urethane-anesthetized, spontaneously-developed type 2 diabetic rats and nondiabetic control rats during electrical stimulation of the lingual nerve (LN), using a laser speckle imaging flow meter in order to study relationship between hyperglycemia and parasympathetic vasodilation in glands. LN stimulation induced intensity- and frequency- dependent glandular blood flow increases in both diabetic and nondiabetic rats; however, the magnitude of increase in the parotid gland was significantly lower in the diabetic rats, although this is not case in submandibular and sublingual gland. Blood flow increase in the parotid gland was markedly inhibited by the autonomic ganglion blocking drugs, hexamethonium or antimuscarinic drugs, atropine. Although intravenous administration of acetylcholine increased the parotid gland blood flow in a dose-dependent manner, the response of diabetic rats was significantly lower than that of the nondiabetic rats. The mRNA expression of M1 and M3 muscarinic acetylcholine receptors in diabetic rats were lower than that in nondiabetic rats. Our results indicate that type 2 diabetes impairs parasympathetic vasodilation in the parotid gland and suggest that a disturbance in the cholinergic vasodilator pathway may contribute to impairment of parasympathetic vasodilation in the parotid gland of diabetic rats.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-48 成体マウスの切歯形成における BMP シグナルの役割

---

○町谷亜位子<sup>1,2</sup>, 自見英治郎<sup>3</sup>, 須田 直人<sup>2</sup>, 片桐 岳信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>埼玉大 ゲノム 病態生理

<sup>2</sup>明海大 歯 矯正

<sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

---

Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )ファミリーの Bone morphogenetic protein (BMP)は、歯の発生に重要な成長因子として知られている。BMPの細胞内シグナルは、受容体によりリン酸化されて活性化される転写因子 Smad1/5/9によって伝達され、転写共役因子 Smad4との複合体形成により標的遺伝子の転写が制御される。齧歯類の切歯には生後も幹細胞が存在し、生後も持続的な増殖と分化により切歯が伸長する。本研究では、成体マウスの切歯形成における BMP シグナルの役割を解析した。生後 13 週齢マウスの下顎骨矢状断切片を、リン酸化 Smad1/5/9, Smad4, 石灰化に重要なアルカリホスファターゼ (ALP)の各特異的抗体で免疫染色を行った。リン酸化 Smad1/5/9 と Smad4 は、Cervical loop 領域、分泌期、成熟期、成熟期後期全てのステージの上皮細胞と間葉系細胞に発現が認められた。ALP は、特に象牙芽細胞、分泌期の中間層で高発現しており、成熟期のエナメル芽細胞と乳頭層にも認められた。生後 10 週齢の野生型マウスに、BMP 受容体阻害剤 LDN193189 を 3 週間連続投与すると、リン酸化 Smad1/5/9 の発現量が低下するとともに、分泌期の中間層、象牙芽細胞で ALP の発現低下が認められた。以上の結果から、BMP シグナルは切歯の中間層や象牙芽細胞に作用して石灰化を制御する可能性が示唆された。【会員外共同研究者】塚本翔, 関根典子, 大手聡

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## A role of BMP signaling in incisor formation in adult mice

---

○Machiya A<sup>1,2</sup>, Jimi E<sup>3</sup>, Suda N<sup>2</sup>, Katagiri T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pathophysiol, Res, Cent for Genomic Med, Saitama Med Univ

<sup>2</sup>Div Orthod, Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent

<sup>3</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Bone morphogenetic proteins (BMPs) are members of the transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) family and important for tooth development. BMPs activate transcription factors Smad1/5/9 through phosphorylation by receptor. Smad4 is an essential co-activator for the transcriptional activity of Smad proteins. Rodent incisor is a unique model of tooth growth, because it is continuously formed and grown even in adults. The incisor contains undifferentiated stem cells at cervical loop, and they proliferate and differentiate to mature cells during tissue formation. In the present study, we examined a role of BMP signaling in adult mice incisors formation. Localization of phosphorylated Smad1/5/9, Smad4 and alkaline phosphatase (ALP) in mouse incisor was analyzed by immunohistochemical staining using specific antibodies. Phosphorylated Smad1/5/9 and Smad4 were detected in not only stem cells but also proliferating and differentiating cells. ALP was abundantly detected in odontoblasts and SI layer, and weakly detected in mature ameloblasts and papillary layer. In mice, injection of LDN193189, a small BMP receptor specific chemical inhibitor, decreased the levels of phosphorylated Smad1/5/9 and ALP in odontoblasts and SI layer. These findings suggest that BMP signaling regulates mineralization of incisor through the Smad1/5/9-ALP pathway.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-49 骨と軟組織に対するピエゾサージェリーの切削能に関する実験的検討

---

○大竹 義雄<sup>1,2</sup>, 中村 恵<sup>2</sup>, 逸見 晶子<sup>2</sup>, 高橋 哲<sup>1</sup>, 笹野 泰之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 顎顔面口外

<sup>2</sup>東北大 院歯 顎口腔形態創建

---

**【緒言】** ピエゾサージェリーは、ピエゾ電気効果による超音波振動を利用した新規の骨切削器具で、臨床の場においてインプラントの除去や上顎洞底挙上術、歯周外科等に利用されている。ピエゾサージェリーは従来使用されてきた回転切削器具と異なり、硬組織のみを選択的に切削し、近接する軟組織を損傷しないと言われている。しかし、ピエゾサージェリーが軟組織に与える影響について、詳細な基礎的研究の報告はない。そこで本研究では、骨と軟組織に対する切削能を切削に要する時間と切削面の形状を指標に評価する実験系を確立し、ピエゾサージェリーの切削能を従来の回転切削器具と比較検討した。**【方法】** 切削には、ピエゾサージェリーと専用のチップ、回転切削器具として歯科用エンジンと3種類のバー（カーバイドバー・フィッシャーバー・ラウンドバー）を用いた。生後10週齢のWistar系雄性ラットを安楽死させ、脛骨と舌を摘出して試料とした。フォースゲージを用いて切削圧を一定に保ちながら、各切削器具で脛骨と舌を切削し、切断に要する時間を計測した。さらに、脛骨の切削面を走査型電子顕微鏡にて観察し、表面形状を形態学的に検討した。舌については切削部位のパラフィン切片を作製し、H-E染色を施して組織学的に検討した。**【結果】** ピエゾサージェリーによる骨の切断時間は平均225.06秒で、回転切削器具（平均32.44秒以内）と比較して有意に長かった。走査型電子顕微鏡像では、回転切削器具の骨切削面は粗造であったが、ピエゾサージェリーの骨切削面は滑沢であった。また舌は、回転切削器具では平均7.55秒以内に切断されたが、ピエゾサージェリーでは切断されなかった。**【結論】** ピエゾサージェリーは骨の切削に時間を要するが、骨切削面は滑沢で、軟組織に損傷を与えない。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Experimental investigation on the performance of cutting bone and soft tissue with piezosurgery

---

○Otake Y<sup>1,2</sup>, Nakamura M<sup>2</sup>, Henmi A<sup>2</sup>, Takahashi T<sup>1</sup>, Sasano Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

**Introduction:** Piezosurgery is a novel osteotomy technique utilizing ultrasonic microvibrations created by the piezoelectric effect. Piezosurgery devices, different from conventional rotary instruments, is said to cause less damage to soft tissues because of its selective cutting of mineralized bone. However, few studies have reported on the effect of piezosurgery on soft tissues. In this study, we established an experimental system for assessing the performance of cutting bone and soft tissues, and characterized piezosurgery by comparing to conventional drilling. **Methods:** The time required for cutting tibias and tongues, which are removed from euthanized 10-week-old male Wistar rats, was measured when specimens were cut with piezosurgery or conventional drilling at a constant cutting pressure by use of a force gauge. The cutting surface of tibias was examined with scanning electron microscopy (SEM). Tongues after cutting were processed for histology and stained with hematoxylin and eosin. **Results:** The time required for cutting was significantly longer with piezosurgery than with conventional drilling. SEM images indicated that the cutting surface of tibias with piezosurgery was smooth. Tongues were not cut with piezosurgery. **Conclusion:** Piezosurgery results in the smooth cutting surface of bone and less damage to soft tissues. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-50 矯正歯の移動による sclerostin 発現の変化は歯槽骨改造を調節する

---

○小田垣直弥<sup>1</sup>, 石原 嘉人<sup>2</sup>, 王 紫儀<sup>1</sup>, 上岡 寛<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 矯正

<sup>2</sup>岡大病院 矯正

---

【目的】 Sclerostin (Scl)は骨細胞に特異的な分泌性蛋白で、骨形成を負に制御し、メカニカルストレスによる調節機構を有する。しかしながら、矯正歯の移動で起こる歯槽骨の改造にSclが及ぼす影響は不明な点が多い。我々は、矯正歯の移動時における歯槽骨中及び歯根膜中のSclの発現パターンについて、領域単位及び細胞単位で時空間的解析を行った。【方法】8週齢雄性ICRマウスの上顎第一大臼歯を10gの牽引力にてそれぞれ0, 1, 5, 10日間近心移動を行った後パラフィン切片を作製し、免疫蛍光染色を行った。Sclの発現パターンに関する解析は、歯根膜圧迫側及び牽引側について境界部から200×310ピクセルの領域を測定し、それぞれを領域単位及び細胞単位の観点から解析した。ヒト歯根膜線維芽細胞の初代培養系を用い、圧迫力及び伸展力を付与した場合の骨代謝関連因子の発現をRT-PCR法によって比較検討した。【結果と考察】矯正歯の移動によって圧迫側での歯根膜の狭窄ならびに牽引側での伸展を認めた。圧迫側の骨細胞数は1日目から有意に減少した。領域単位の解析において、牽引側でのSclの蛍光輝度値は1日目においてのみ有意に減少する一方、圧迫側では5日目をピークに10日目まで有意に上昇した。領域単位における圧迫側と牽引側でのSclの対比的発現変化は、歯根膜境界部から歯槽骨方向へ経時的に拡散し、5日後をピークに減衰した。次に細胞単位での解析において、牽引側ではScl陽性細胞の割合に著明な変化を認めなかったのに対し、圧迫側では5日後において有意な上昇を認め、10日後では歯の移動開始前の水準に戻った。また骨代謝関連因子群の遺伝子発現の上昇及び下降は、圧迫及び伸展力で対照的な結果を示した。【結論】矯正歯の移動モデルによる圧迫側及び牽引側での比較検討から、Sclは歯根膜へのメカニカルストレスの差異による発現制御を受け歯槽骨改造を調節する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Sclerostin modulates alveolar bone turnover during orthodontic tooth movement

---

○Odagaki N<sup>1</sup>, Ishihara Y<sup>2</sup>, Wang Z<sup>1</sup>, Kamioka H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Orthodont, Okayama Univ Hosp

---

Sclerostin (Scl) represses bone formation and favors bone resorption. We demonstrated the spatio-temporal pattern of Scl expression in alveolar bone and periodontal ligament (PDL) during orthodontic tooth movement (OTM) by cell unit and region unit. Mice were loaded with coil spring placed between the maxillary first molar and the incisors to move the first molar mesially for 0, 1, 5, 10 days, respectively. A region from the boundary of PDL were measured in both compression and tension side. The changes in osteogenic gene expression of isolated human PDL cells were assessed by RT-PCR. In the analysis of region unit, histogram and profile of fluorescence intensity showed that Scl expression in the alveolar bone was increased on pressure side, peaked at day 5 with gradually increased region of significance. The ratio of Scl positive osteocytes on tension side didn't change significantly, whereas the positive ratio on pressure side was significantly increased on day 5. The osteogenic gene expression in human PDL cells was reciprocally changed between compression and stretch force. Our results suggested that the potential role of Scl in regulating alveolar bone remodeling in response to OTM possibly due to the different kind of mechanical stress induced to PDL.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-51 マウス Meckel 軟骨における低酸素・オートファジー関連因子の局在と低酸素培養の影響**

---

○坂下 英<sup>1</sup>, 坂東 泰彦<sup>1</sup>, 崎山 浩司<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 解剖

<sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科 II

---

目的: 無血管の軟骨組織は他組織より低酸素に陥り易く, 低酸素抵抗性を備えていると考えられる. 本研究では, 低酸素環境で誘導され, オートファジー関連因子でもある HIF-1 $\alpha$  のマウス胎仔の Meckel 軟骨における発現と変動について器官培養系を用いて調べた. 方法: *in vivo*: 胎齢 13 日 (E13)-E18 の ddy マウスを固定後, 10  $\mu$ m の凍結連続切片を作成し抗 HIF-1 $\alpha$  抗体, 抗 LC3 抗体を用いて免疫組織化学を行った. *in vitro*: E10 の ddy マウスの第 1 鰓弓を摘出し, 培養 4 日目から 1% O<sub>2</sub> に調整した低酸素チャンバー内で, 無血清培地で 37°C, 5% CO<sub>2</sub> で計 10 日間培養した. 培養した組織はパラフィン包埋後, 10  $\mu$ m 連続切片を作成し *in vivo* 同様に免疫組織化学染色を行った. 結果: *in vivo*: E13-14 では Meckel 軟骨全体に HIF-1 $\alpha$  免疫陽性細胞が認められた. E15-18 では軟骨膜から離れた Meckel 軟骨中心部の小型軟骨細胞の細胞質全体に HIF-1 $\alpha$  免疫陽性部位が認められた. E16 以降では肥大軟骨細胞の細胞質, そして小型軟骨細胞の細胞膜に HIF-1 $\alpha$  免疫陽性部位が認められた. *in vitro*: 低酸素培養下では HIF-1 $\alpha$ , LC3 の発現が対照群と比較して強く認められ, 肥大軟骨細胞が殆ど認められなかった. 低酸素培養した下顎は小さく, Meckel 軟骨の矮小化, 非対称性が認められた. 考察と結論: 低酸素環境下で, HIF-1 $\alpha$ , LC3 の発現が亢進したことから, 低酸素環境では軟骨細胞のオートファジーの亢進が引き起こされることが示唆された. また, 低酸素環境では HIF-1 $\alpha$  の軟骨細胞の分化抑制などの働きによってメッケル軟骨の形成異常などが引き起こされ, その結果顎顔面領域の奇形を引き起こすことが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Localization of hypoxia- and autophagy-related factors in mouse Meckel's cartilage and effects by the hypoxic culture**

---

○Sakashita H<sup>1</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent

---

We investigated the expression and localization of HIF-1 $\alpha$  and LC3 in Meckel's cartilage (MC) of mouse embryos and cultured mandibles under the hypoxic condition. Embryos at 10th day (E10) and E13-E18 of ddY mice were used. The 1st branchial arch of E10 embryos was cultured for 10 days, and the hypoxic culture was applied under 1% of an oxygen partial pressure after the 4th day of the organ culture. Embryos and explants were fixed and serial sections were made and antibodies for HIF-1 $\alpha$  and Lc3 were applied immunohistochemically. HIF-1 $\alpha$ -immunoreactivity was found in the entire cytoplasm of small chondrocytes located in the core portion of MC in E15-18 MC, whereas peripheral chondrocytes of MC were immunonegative. After E16, HIF-1 $\alpha$  began to locate in the cytoplasm of hypertrophic chondrocytes and cell membrane of small chondrocyte of MC. In MC of cultured mandibles under hypoxic condition, higher expression of HIF-1 $\alpha$  and LC3, lack of hypertrophic chondrocytes, and smaller and asymmetric MC in smaller mandibles were observed. These results suggest that autophagy of chondrocytes is induced under the hypoxic condition. MC malformation is induced by an inhibition of chondrocytes differentiation by hypoxia-related factors such as HIF-1 $\alpha$  under the hypoxic condition.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-52 歯の発生・創傷治癒過程における歯髄恒常性維持に関わる IGF binding protein 5 の役割

---

○斎藤浩太郎, 大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

**【目的】**今回我々は、ドキシサイクリン (dox) でヒストン結合 GFP 発現制御が可能なノックインマウス (TetOP-H2B-GFP マウス) を用いて上皮および歯髄幹細胞/前駆細胞をラベルし、その恒常性維持における IGF binding protein 5 (IGFBP5) の役割について解析した。

**【方法】**胎生 14 日齢に dox を投与した TetOP-H2B-GFP マウスの上顎第一臼歯を抜去後、歯根を切除し舌下部へ移植した。術後 3 から 7 日に、または胎生 15 日から生後 6 週齢で灌流固定し、抗 IGFBP5, 抗 IGF1, 抗 GFP 免疫組織化学, TUNEL 染色, *Igfbp5* の *in situ* hybridization を行い、また RT-PCR にて遺伝子発現を検索した。

**【結果および考察】**生後 4 週の切歯では apical bud, 分泌期エナメル芽細胞, 歯髄内広範に強い *Igfbp5* の発現と IGF1 陽性反応が認められた。また, apical bud に局在する GFP 陽性ラベル細胞のあるものは IGFBP5 を共発現していた。臼歯の発生過程において, 生後 1 週までは歯髄/歯乳頭細胞の核に IGFBP5 陽性反応が広範に認められ, 生後 2 週以降, 象牙芽細胞下層の細胞の核に強い陽性反応が見られた。また, 生後 4 週齢以降の歯髄において, 歯髄中央部血管周囲に加え, 象牙芽細胞下層に GFP ラベル細胞が局在しており, 同部位には強い *Igfbp5* の発現が認められた。歯冠部の舌下移植後 3 から 7 日において, 歯髄内広範に *Igfbp5*/IGFBP5 の発現が認められ, また, 多数の GFP ラベル細胞が歯髄内に維持されており, これらのラベル細胞は IGFBP5 を共発現していたが, TUNEL 染色は陰性であった。以上より, IGFBP5 は上皮および歯髄幹細胞/前駆細胞の維持に重要な役割を演じることが示唆された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## The role of IGF binding protein 5 in the maintenance of pulpal homeostasis during tooth development and wound healing in mice

---

○Saito K, Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

This study aimed to elucidate the role of IGF binding protein 5 (IGFBP5) in the maintenance of pulpal homeostasis during tooth development and wound healing in doxycycline-inducible H2B-GFP transgenic mice using immunohistochemistry for IGFBP5, IGF1, and GFP, TUNEL assay, and *in situ* hybridization for *Igfbp5*. Following extraction of the maxillary first molar, the roots were resected and immediately autografted into the sublingual region. During molar development, IGFBP5-positive cells were broadly observed in the dental papilla/pulp by postnatal Week 1. During postnatal Weeks 2-6, subodontoblastic cells expressed strong IGFBP5-positive reaction. H2B-GFP label-retaining cells (LRCs) were distributed in the subodontoblastic layer in addition to the center of dental pulp associating with the perivascular environment on postnatal Week 4. In incisors, the expression of *Igfbp5* was observed in apical bud, secretary ameloblasts, and dental pulp. GFP-positive LRCs located in apical bud co-expressed IGFBP5. On postoperative Days 3-7, IGFBP5-positive cells were broadly observed in the dental pulp, and GFP-positive LRCs remained in the dental pulp. These LRCs co-expressed IGFBP5 and lacked TUNEL-positive reaction. The results suggest that IGFBP5 plays a role in the maintenance of pulpal homeostasis in the process of wound healing following tooth injuries in addition to during tooth development.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-53 K14-GFP マウスのヘルトビッチ上皮鞘と大白歯の歯根形成について

---

○中津川昂平, 黒坂 寛, 山城 隆

阪大 院歯 矯正

【目的】歯根の形成は、機能的な歯牙形成には必須であり、この過程が障害されることにより、短根や歯根湾曲が生じることが知られている。過去の研究から、歯根形成にはヘルトビッチ上皮鞘 (HERS) の存在が重要であり、特に歯根の分岐には上皮性根間突起 (ED) の癒合が重要であることが知られているが、そのメカニズムについては完全には明らかになっていない。今回、我々は歯根形成過程において様々なシグナル伝達経路の役割を解明するため、上皮特異的に GFP を発現し、HERS を可視化できるマウス (K14-GFP) を用いて上下顎第一大臼歯の HERS の伸長過程の詳細な観察および解析を行った。【方法】K14-GFP マウスを用い、上下顎第一大臼歯を摘出して *in vivo* での形態観察を行った。摘出した大白歯の器官培養を行い、*in vitro* で HERS の伸長の観察を行った。また、古典的 Wnt シグナルを活性化させる LiCl を培養液に添加し、HERS の伸長への影響を観察した。【結果および考察】生後 1-3 日の K14-GFP マウスの上顎第一大臼歯の培養時の HERS の形態変化より、ED は頰側あるいは口蓋側に伸長した。一週間の器官培養により、*in vivo* での形態変化と同様に ED は伸長し、伸長速度は *in vivo* と比較して *in vitro* では 1/2 の速さで伸長した。培養時に LiCl を添加して培養すると、ED の伸長は抑制され、生後 1 日目の大白歯でその効果は著明に現れた。一方、下顎第一大臼歯では、生後 3 日未満の大白歯の培養では個体の収縮により観察は困難であったが、生後 5 日の大白歯の培養では、ED の癒合が認められた。本研究により、上下顎で第一大臼歯の ED の伸張時期が異なり、上顎第一大臼歯では wnt シグナルにより歯根形成が抑制されることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Hertwig's epithelial root sheath and root development of molars in K14 GFP mice

---

○Nakatsugawa K, Kurosaka H, Yamashiro T

Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

**Objective:** Proper development of the root is essential for functional tooth formation. Elongation and fusion of Hertwig's epithelial root sheath (HERS) and epithelial diaphragm (ED) are known to be important for root formation. To elucidate the role of various signaling pathways in the root formation, we used the mice which express epithelial specific GFP (K14-GFP) to visualize HERS, and the elongation process of HERS were observed. **Methods:** Morphological observation of HERS *in vivo* was performed by taking multiple embryonic stage of K14-GFP mouse upper first molars. Additionally, the process of HERS elongation was observed using novel organ culture technique which developed in our lab. In order to assess the role of canonical Wnt signaling pathway during root development, lithium chloride (LiCl: activator of canonical Wnt signaling) was supplemented during the organ culture. **Results:** The ED showed dramatic elongation during root development. This ED elongation also could be seen in cultured condition. Under supplemented LiCl, the elongation of ED was substantially suppressed. Present study indicated the cultured protocol which we develop is useful to investigate molar root development. Also the results suggested the process of ED elongation requires proper canonical Wnt signaling.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-54 CRISPR/Cas9 による Aqp1 欠損モデルマウスとその歯周組織の組織学的解析**

---

○河野 芳朗, 杉山 明子, 滝川 俊也

朝日大 歯 口腔解剖

---

アクアポリン 1 (AQP1) は浸透圧による水分子の移動に関与する分子で様々な組織に発現している。我々は組織学的解析により AQP1 が歯周組織中のある種の細胞群に発生初期から成体に至るまで発現していることを報告してきた。歯周組織のこれらの細胞は大きな細胞表面積/体積比を持ち、異種組織の境界面に局在するという共通の特徴を持っていた。しかしながら、これらの細胞での AQP1 の歯周組織での役割については全く解っていない。我々は歯周組織での AQP1 の役割を解明するために CRISPR/Cas9 ゲノム編集法によって *Aqp1*-KO マウスを作成した。*Aqp1*-KO マウスは成獣期まで生存し、肉眼的に著名な表現型は見られなかった。免疫組織化学的検索では、ヘテロ接合体で、野生型に比べ顕著な AQP1 の発現の減少が観察された。興味深いことに、組織学的にはホモ接合体とヘテロ接合体共に同様の歯根膜線維の密な歯根膜腔と不整なセメント質および固有歯槽骨表面が観察された。マイクロ CT による解析では、波打ったエナメル質・象牙質を持った切歯が観察され、歯根膜の機能不全による萌出速度の減弱、それによるエナメル質・象牙質の長軸的圧縮が示唆された。これらのことより、AQP1 欠損は歯根膜の形態異常、および機能不全を引き起こし、AQP1 が歯周組織の正常な機能に必須であることが示された。このマウスモデルは歯根膜の恒常性のメカニズムの解明のために有効であると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## ***Aqp1*-knockout mice generated through CRISPR/Cas9-mediated deletion for the analysis of the role of aquaporin 1 in the periodontium**

---

○Kawano Y, Sugiyama A, Takigawa T

Dept Oral Anat, Asahi Univ Sch Dent

---

The critical roles played by aquaporin1 (AQP1), which facilitate osmotic movement of water molecules, are known in diverse tissues. Our histological studies have shown that AQP1 is expressed in certain cells from early developmental stage to adulthood in the periodontium. These cells share common characteristics such as high surface area to volume ratios, and unique inter-tissue distributions in the periodontium. However, the role of AQP1 in the periodontium is unknown. To investigate the role of AQP1 in the periodontium, we created knockout mice carrying an AQP1 protein deletion via CRISPR/Cas9-mediated genome editing. Morphological and immunohistochemical analysis demonstrated that heterozygous offspring exhibit less AQP1 expression in cells in the periodontium than the wild type. Interestingly, heterozygotes and homozygotes showed similar morphology of dense periodontal ligament fibers and an irregular surface of cementum and alveolar bone proper. Micro-CT analysis revealed undulating enamel and dentin in incisors, suggesting compression and a reduced eruption rate due to a malfunction of the periodontium. Thus, this study provides evidence that AQP1 deficiency causes morphological changes and functional disorder in the periodontium and that AQP1 is required for periodontium integrity. This mouse model will serve for elucidation of the mechanisms of periodontium homeostasis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P1-55 エナメルマトリックスタンパクによる歯周組織再生**

---

○Hasan MD Riasat<sup>1,2</sup>, Shalehin Nazmus<sup>1</sup>, 建部 廣明<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>1</sup>, 斎藤 隆史<sup>2</sup>,  
入江 一元<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 組織

<sup>2</sup>北医療大 歯 う蝕制御治療

---

**Effects of the enamel matrix derivative on the regeneration of degraded periodontal tissues**

---

○Hasan M<sup>1,2</sup>, Shalehin N<sup>1</sup>, Takebe H<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>1</sup>, Saito T<sup>2</sup>, Irie K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Histol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

<sup>2</sup>Div Clinic Cariol Endodont Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

**Purpose** Milk is commonly recommended as a tooth storage media during dental avulsion. But our previous study showed that milk causes disturbance of periodontal ligament (PDL) followed by ankyloses when the tooth transplanted. The enamel matrix derivative (EMD) has been found to promote regeneration of periodontal tissues. Purpose of the present study is to observe the effects of EMD on the periodontal tissue after immersing the tooth in milk for 1h using transplantation method. **Materials& Methods** Five week SD male rats maxillary first molar teeth were extracted under general anesthesia. Extracted teeth were immersed in milk for one hour. Then they were transplanted in a receiving pocket within the abdominal wall (control group). In some teeth, EMD were applied on the root surface before transplantation (experimental group). Two week after transplantation, rats were fixed and the teeth were carefully excised with the surrounding tissue. Examination were done histologically&immunohistochemically. **Results&Conclusion** After two weeks, newly formed alveolar bone was observed in both control and experimental group. Experimental group showed more bone formation than the control group. In control group, rough cementum surface was frequently observed. The ankyloses were observed in some samples. On the other hand, in experimental group, neither of ankyloses nor rough cementum surface were observed. Many cathepsin K positive cells were observed in control group around the alveolar bone and cementum area. More CD68 positive cells were also detected in control group than experimental group. Present study suggests that, EMD has potential to prevent the cementum degradation and to help the regeneration of damaged periodontal tissue.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-56 人工再構成歯胚作製法を用いた歯肉接合上皮における遺伝子発現の網羅的解析

○関 辰明<sup>1,2</sup>, 相澤 怜<sup>1</sup>, 美島 健二<sup>2</sup>, 山本 松男<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 歯周病

<sup>2</sup>昭大 歯 口腔病理

歯周病原細菌の侵入に対して、最前線で感染防御の役割を果たす歯肉接合上皮 (JE) は、歯肉上皮と異なる構造、機能を有していることが明らかになっている。JE の特異的マーカーとして ODAM が報告されているものの、JE 細胞の単離が困難であり、細胞株も確立されていないため、その性質には未だ不明な部分がある。我々は JE が GFP を発現するマウス再構成歯胚を用いることにより、JE 細胞の単離を試みた。本研究の目的は、再構成歯胚由来の JE 細胞を用いて遺伝子発現の網羅的解析を行い、その性質を解明することである。GFP トランスジェニックマウス歯胚由来の歯原性上皮と、野生型マウス歯胚由来の間葉系細胞から再構成歯胚を作製し、4日間培養した。培養後、再構成歯胚を野生型マウスの抜歯後の上顎第一臼歯部に移植し、接合上皮のみ GFP 陽性の再構成歯を萌出させた。萌出後の再構成歯周囲組織を採取し、フローサイトメリーにより GFP 陽性 JE 細胞を単離、回収した。その後、RNA シークエンス、リアルタイム PCR 法により JE 細胞の発現遺伝子の網羅的解析を行い、免疫組織学的解析により遺伝子発現様式の検討を行った。JE 細胞において、*Odam*, *Krt17*, *S100a8* の遺伝子発現が口蓋歯肉上皮細胞と比較して増加しており、免疫組織学的解析からも JE において、これらタンパク質の発現が認められた。再構成歯胚由来の JE 細胞の遺伝子発現様式は過去の報告と同様の結果であり、接合上皮研究での有用な細胞源となり得る。また、JE 細胞において、抗酸化ストレス反応関連遺伝子である *Slc7a11* と *Gsr* の発現が増加していた。JE 細胞は酸化ストレスに対して抵抗する可能性を有することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## A comprehensive gene expression analysis of junctional epithelium using a bioengineered tooth germ method

○Seki T<sup>1,2</sup>, Aizawa R<sup>1</sup>, Mishima K<sup>2</sup>, Yamamoto M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodontol, Showa Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Pathol, Showa Univ Sch Dent

It has been reported that junctional epithelium (JE) has several unique features to prevent bacterial infection. However, those molecular mechanisms remain to be completely elucidated. We have created GFP-positive JE cells using a bioengineered tooth germ method in mice. The aim of this study was to investigate the character of JE cells by a comprehensive gene expression analysis. Bioengineered tooth germs, which consisted of GFP-transgenic mouse-derived epithelial cells and normal mouse-derived mesenchymal cells, were cultured for 4 days before transplantation into alveolar bone of normal mice. The gene expressions of isolated GFP-positive JE cells around erupted bioengineered teeth using flow cytometry were examined by RNA sequences and real-time PCR. The expressions of *Odam*, *Krt17* and *S100a8* were increased in GFP-positive JE cells compared with gingival epithelial cells. Also, the expressions of *Slc7a11* and *Gsr*, known as antioxidative stress marker genes, were increased in GFP-positive JE cells. The gene expression patterns of GFP-positive JE cells were similar to those of natural JE cells. JE cells from bioengineered tooth germs may be a useful cell source for periodontal research.

**Conflict of Interest:** The authors declare no competing interests.

---

## **P1-57 歯周炎による骨吸収へのホウ酸の効果**

---

○Shalehin Nazmus, Hasan MD Riasat, 建部 廣明, 細矢 明宏, 入江 一元  
北医療大 歯 組織

---

## **Histological evaluation of boric acid effects on alveolar bone loss and periodontitis**

---

○Shalehin N, Hasan M, Takebe H, Hosoya A, Irie K  
Div Histol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

**Purpose** Inhibition of bone resorption in periodontitis is a key objective of dental treatment, because periodontal diseases are the major cause of tooth loss. Boric acid ( $H_3BO_3$ ) is a weak acid of boron and it is usually used as a pesticide. Recently, this acidic agent has been suggested to reduce aggressive alveolar bone loss in periodontitis, but the mechanisms of the inhibition is still uncertain. Therefore, in the present study, we histologically evaluate alveolar bone in experimental periodontitis of rats after administration of boric acid. **Materials&Methods** Thirty-six 4 weeks old SD male rats were used in this experiment. After the animals had been anesthetized, 5-0 silk ligatures were tied around the left maxillary second molars and boric acid was perorally administrated at a dosage of 0 and 3 mg/kg/day by mixing with distilled water for 2 weeks. The specimens were fixed with 4% paraformaldehyde and decalcified. After having been embedded in paraffin, the samples were sectioned sagittally and were processed for immunohistochemistry using antibodies against CD68 and cathepsin K. As a control, the maxillae of untreated rats were processed in the same way. **Results&Conclusion** In the control group, no inflammation was observed in the periodontal ligament of distal second molar root. However, a lot of CD68 positive cells indicating macrophages appeared in this tissue by placement of ligature without boric acid administration. Number of cathepsin K-positive osteoclasts was also increased on the surface of alveolar bone. These osteoclasts were seemed to have high resorption activities because of their large cell size. Boric acid administration prevented severe bone resorption stimulated by ligature and reduced number of cells positive for CD68 and cathepsin K. Therefore, these results suggested that boric acid could reduce bone resorption in ligature-induced periodontitis, at least in part, by inhibiting osteoclastogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-58 温度感受性イオンチャネル TRPV4 は口腔上皮細胞の細胞間接着と運動性を制御する

○吉本 怜子<sup>1,2</sup>, 合島怜央奈<sup>3</sup>, 大崎 康吉<sup>4</sup>, 張 旌旗<sup>4</sup>, 曹 愛琳<sup>1,5</sup>, Gao Wei Qi<sup>5</sup>,  
清島 保<sup>1</sup>, 城戸 瑞穂<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup>九大 院歯 歯周, <sup>3</sup>佐賀大 医 歯科口腔外科

<sup>4</sup>九大 院歯 分子口腔解剖, <sup>5</sup>佐賀大 医 組織・神経解剖

上皮は外界の刺激から生体を防御するバリアとして機能している。上皮バリアの維持には上皮細胞の増殖・移動と緊密な細胞間接着の形成とのバランスが重要である。我々は口腔上皮が、温度感受性イオンチャネル transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) を介して E-cadherin による細胞間接着を温度依存的に形成・制御することを見出した。そこで本研究では、口腔上皮における細胞間接着と細胞運動に温度が与える影響を明らかにすることを目的とした。野生型 (WT) あるいは TRPV4 遺伝子欠失 (V4KO) マウス新生仔より採取した口腔上皮初代培養細胞を低カルシウム濃度にて培養した。その後、24 時間の高カルシウム濃度刺激により、細胞間接着が形成されたところでパラホルムアルデヒドにて固定し、細胞間接着関連分子および細胞の移動に関わるアクチン系を免疫細胞化学的に染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。31°C では WT, V4KO ともに細胞辺縁にアクチン、およびリン酸化ミオシンが多く集積していた。37°C では V4KO では辺縁への集積が認められたものの、WT で顕著に減弱していた。さらに、細胞の運動性への影響を、ホログラフィック顕微鏡による生細胞イメージングにて検討した。V4KO では WT に比べ細胞運動が顕著に活発になっていることがわかった。以上より、温度変化は TRPV4 の活性化およびアクチン系の制御によって細胞間接着の変化をもたらし、同時に細胞運動にも影響することが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Thermo-sensitive ion channel TRPV4 regulates intercellular junction and motility of oral epithelial cell

○Yoshimoto R<sup>1,2</sup>, Aijima R<sup>3</sup>, Ohsaki Y<sup>4</sup>, Zhang JQ<sup>4</sup>, Cao AL<sup>1,5</sup>, Gao WQ<sup>5</sup>, Kiyoshima T<sup>1</sup>,  
Kido M<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Sect Periodontol, Grad Sch Dent, Kyushu Univ

<sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Saga Med Sch

<sup>4</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent, Kyushu Univ

<sup>5</sup>Dept Anat Physiol, Saga Med Sch

Epithelial barrier plays an important role in protecting our body. To maintain proper barrier, epithelial cells need to have intimate cell-cell contact and at the same time they need to keep continuous proliferation and migration. Recently, we found that the cell-cell contact was regulated by ion channel, transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in response to temperature changes. We here aimed to elucidate whether temperature and TRPV4 affect cell-cell contact and migration. We used primary cultured oral epithelial cells from wild type (WT) or TRPV4 deficient (V4KO) mice. Cells cultured in low Ca<sup>2+</sup> media were stimulated with high Ca<sup>2+</sup> media for 24h then we immunocytochemically observed the molecules of cell-cell adhesion complex or actomyosin filament. We found distinct differences in subcellular distribution of F-actin and myosin in WT or V4KO cells. Furthermore, under live cell imaging using holographic microscopy, we found that V4KO cells had higher cell motility than WT cells. Based on our data, temperature changes affect cell-cell adhesion and cell motility by activation of TRPV4 and regulation of actomyosin contractility. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-59 喘息モデルマウスの機械的アロディニアと TRPV1

---

○曹 愛琳<sup>1,2</sup>, 高 イキ<sup>1</sup>, 吉本 怜子<sup>2</sup>, 合島怜央奈<sup>3</sup>, 大崎 康吉<sup>4</sup>, 張 旌旗<sup>4</sup>, 城戸 瑞穂<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>佐賀大 医 組織・神経解剖

<sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理

<sup>3</sup>佐賀大 医 歯科口腔外科

<sup>4</sup>九大 院歯 分子口腔解剖

---

## Tactile allodynia in OVA-induced asthma model mice

---

○Cao AL<sup>1,2</sup>, Gao WQ<sup>1</sup>, Yoshimoto R<sup>2</sup>, Aijima R<sup>3</sup>, Ohsaki Y<sup>4</sup>, Zhang JQ<sup>4</sup>, Kido M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat Physiol, Saga Med Sch

<sup>2</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Saga Med Sch

<sup>4</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

**Purpose:** In recent years common allergic diseases have become more prevalent. Such as allergic dermatitis or asthma patients suffer hypersensitivities of skin or airway, which could exacerbate the severity of the diseases. In addition, unpleasant feeling seems to suffer more in the orofacial region than other part of the body. We tried to explore the relationship between tactile allodynia and gliosis using OVA-induced asthma model mice. **Methods:** 6-week-old male mice were intraperitoneally administered with ovalbumin (OVA) and aluminum gel (Alum) every three weeks. PBS or Alum injected mice were used as control. After sensitization, OVA solution was inhaled for 4 days to induce asthma. Von Frey test to facial region was performed all three groups. In addition, TRPV1 antagonist or vehicle was injected into facial skin in the OVA sensitized mice. Mechanical sensitivity was assessed after 30 min. After behavior test the mice were transcardially perfused with paraformaldehyde and the extracted tissues were immunohistochemically examined. **Result and Conclusion:** OVA sensitized mice showed significantly higher sensitivities to mechanical stimulation in facial skin compared with the control groups. Larger number of TRPV1 immunoreactive neurons in the trigeminal ganglion and facial skin was found in the OVA sensitized mice than in the PBS or Alum-injected mice. After the injection of TRPV1 antagonist, sensitivity to mechanical stimulus was suppressed compared with the vehicle treated group. Our data suggested that OVA sensitization was associated with tactile allodynia via TRPV1.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-60 亜鉛欠乏症ラットにおけるエブネル腺の変化

---

○平良芙蓉子<sup>1,2</sup>, 川邊 好弘<sup>3</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 崎山 浩司<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 解剖

<sup>2</sup>明海大 歯 口外Ⅱ

<sup>3</sup>明海大 歯 オーラルリハビリ

---

**【目的】** 有郭乳頭や葉状乳頭の直下に存在する純漿液性の小唾液腺エブネル腺は味覚との関連が示唆されているが詳細は明らかになっていない。また、純漿液腺としては例外的に発達した筋上皮細胞を備えている。そこで、本研究では味覚とエブネル腺筋上皮の関係を調べるため、味覚異常を引き起こす亜鉛欠乏症ラットを用いて免疫組織化学的に解析した。**【材料・方法】** 10週齢と15週齢の正常 Wistar 系雄ラットと、4週齢から11週間亜鉛欠乏食を与えた雄ラットを4%パラフォルムアルデヒド溶液で固定し、舌の有郭乳頭部から凍結切片を作製して抗 $\alpha$ 平滑筋アクチン(SMA)抗体を用いて免疫染色を行い、光学顕微鏡的観察とレーザー顕微鏡による三次元的形態解析を行った。**【結果・考察】** 亜鉛欠乏症ラットのエブネル腺は正常ラットと比較して、腺房細胞の大きさや分布、定面積に占める SMA 免疫陽性領域(筋上皮細胞の占める面積)に著名な変化は見られなかった。個々の筋上皮細胞の解析では、突起の本数には変化は見られなかったが、突起の太さは亜鉛欠乏症ラットは正常ラットと比べて有意に太かった。**【結論】** 味覚の異常とエブネル腺の形態的变化には大きな関連は認められなかったが、筋上皮細胞の突起の太さが太くなったことにより、腺房をより強く圧迫し、エブネル腺唾液の分泌・排出を促進しているのではないかと考えられた。このことは、亜鉛欠乏により低下した味覚受容に対して、味蕾の洗浄作用を向上させる為ではないかと思われた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Morphological changes of von Ebner's gland in the zinc deficiency rat

---

○Taira F<sup>1,2</sup>, Kawabe Y<sup>3</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Div Oral Rehabil, Meikai Univ Sch Dent

---

The Ebner's gland (EG) located beneath the circumvallate and foliate papillae, and its functions are considered to be related to the gustation. EG, a pure serous gland, possess developed myoepithelium whereas other pure serous glands have no myoepithelium generally in acini. We investigated immunohistochemically and morphometrically the morphology of myoepithelial cells (MECs) in EG of zinc deficiency (ZD) rats with taste disorder. EGs were obtained from the tongue of 10 and 15 week-old male Wistar rats. Rats with ZD were produced by ZD diet for 11 weeks after 4-week-old. Rats were fixed in 4% paraformaldehyde and frozen sections of the tongue were prepared for immunohistochemistry using an anti- $\alpha$  smooth muscle actin (SMA) antibody. Distribution of MECs, area occupied by SMA-stained myoepithelium, and number of processes of individual MEC in EGs of the zinc deficiency rats were not different from those in control rats. However, the thickness of MEC processes in EGs of the zinc deficiency rats was significantly larger than control rats. These results suggest that MECs make their processes thicker to produce more vigorous salivary secretion against dysgeusia by the zinc deficiency.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## P1-61 ラット舌下腺におけるアディポネクチンの局在と糖尿病の影響

---

○三宅 言輝<sup>1,2</sup>, 平良芙蓉子<sup>1,2</sup>, 小笠原悠大<sup>1,2</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 崎山 浩司<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 解剖

<sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科 II

---

【目的】アディポネクチンは脂肪細胞で産生分泌されるタンパク質性のホルモンで、血中に多量に存在し、抗動脈硬化・抗糖尿作用など多彩な生理機能を有している。我々はラット舌下腺の筋上皮にアディポネクチンが局在することを見出したが、さらに糖尿病の影響について解析した。

【方法】8週齢のWistarラットと8週齢2型糖尿病(GK)ラットを4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定後、舌下腺を摘出して凍結切片を作成し、抗アディポネクチン抗体と、抗受容体(adipoR1, adipoR2)抗体、および抗 $\alpha$ 平滑筋アクチン(SMA)抗体を用いてDAB発色および蛍光標識による二重染色を行い、RT-PCRでアディポネクチンのmRNAの発現量を解析した。【結果】正常舌下腺ではSMA免疫陽性の筋上皮細胞にアディポネクチンの免疫活性が局在した。受容体R1, R2ともに腺房細胞の基底側面細胞膜に局在した。8週齢GKラット舌下腺では、筋上皮細胞のアディポネクチン免疫活性は顕著に低かったが、受容体の腺房細胞への局在は正常と同様に認められた。RT-PCRでも、GKラット舌下腺のアディポネクチンの発現量は正常と比較して顕著に低かった。【考察と結論】2型糖尿病患者は血液中のアディポネクチンの低下と、唾液分泌の減少が生じると報告されている。舌下腺筋上皮のアディポネクチンは腺房細胞に働いて唾液分泌に関わると考えられるが、糖尿病では筋上皮での発現・分泌が低下して唾液分泌を低下させることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Localization of adiponectin in sublingual glands of rats and effects by diabetes mellitus

---

○Miyake G<sup>1,2</sup>, Taira F<sup>1,2</sup>, Ogasawara Y<sup>1,2</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent

---

**Objective:** Adiponectin is a hormone produced by adipocytes and has anti atherosclerotic and anti diabetic reactions. We found that adiponectin is localized myoepithelial cells in sublingual gland of rats. In this study, we analyzed sublingual glands of rats with diabetes mellitus (DM). **Methods:** Male Wistar rats of 8-week-old and type 2-DM (GK) rats of 8-week-old were fixed by 4% paraformaldehyde solution. Sublingual glands were immunohistochemically analyzed using antibodies for adiponectin, adipoR1, adipoR2 and alpha smooth muscle actin (SMA). **Results:** In sublingual glands, immunoreactivity for adiponectin was specifically localized in myoepithelial cells simultaneously immunopositive for SMA. Immunoreactivity for both AdipoR1 and R2 were localized along the basolateral cell membrane of mucous acinar cells. **Discussion and Conclusion:** Patients with type 2 DM show decreased blood adiponectin and salivation. Because myoepithelial adiponectin in sublingual glands possibly regulate the salivary secretion by acinar cells, decreased expression of adiponectin in myoepithelium causes to decrease saliva secretion in GK rats.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P1-62 レチノイン酸シグナルと Shh シグナルの相互作用が口蓋裂及ぼす役割**

---

○Wang Qi, 山城 隆, 黒坂 寛  
阪大 院歯 矯正

---

**Retinoic-acid-induced cleft palate by regulating Sim2 and sonic hedgehog signaling**

---

○Wang Q, Yamashiro T, Kurosaka H  
Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

<**Purpose**> Cleft palate is a common congenital anomaly in humans and is thought to be caused by genetic and environmental factors. Excessive intake of retinoic acid (RA) or its precursor, vitamin A, during early pregnancy is associated with increased incidence of cleft palate in offspring. However, the pathogenetic mechanism of cleft palate caused by excess RA is not fully understood. <**Materials & Methods**> We gave all-trans RA (25 mg/kg body weight) to ICR pregnant mice by gastric intubation from embryonic day 8.5 to 10.5. <**Results & Conclusion**> We found reduced cell proliferation in RA-treated embryonic palatal shelves. Moreover, we discovered disrupted Sonic hedgehog (Shh) signaling pathway results into cleft palate by assessing the expression level of Shh, and its downstream gene Ptch1 in developing palatal shelves. We also detected down-regulation of Single-minded homolog 2 (Sim 2) expression which is known to be associated with cleft palate. Interestingly, the incidence of cleft palate due to overdose RA was reduced by administration of SAG (Shh signaling agonist). These results indicate synergistic roles of RA and Shh signaling pathway during palatogenesis. In addition, we discovered series of defects in craniofacial muscle including myolohyoid and genioglossus, ect - which are known to be important for depressing the mandible and the tongue. From the fact RA induced Cleft palate was rescued in cultured condition without the mandible, it is strongly suggested failure of palatal shelf elevation caused by tongue malposition and/or muscles of mandible depression underlies the etiology of cleft palate. Altogether, we have uncovered novel intrinsic and extrinsic mechanisms of cleft palate caused by overdosed RA signaling pathway.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-63 頭頸部における2次軟骨の形態学的な特徴の解明

---

○北村 啓<sup>1</sup>, 廣内 英智<sup>2</sup>, 山本 将仁<sup>2</sup>, 石川 昂<sup>1</sup>, 阿部 伸一<sup>2</sup>, 山本 仁<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 組織発生

<sup>2</sup>東歯大 解剖

【緒言】下顎頭や蝶形骨翼状突起内側板の軟骨原基は、「遅れて発生する。」「既存骨の骨膜に由来する。」「2次骨化中心がない。」という理由から2次軟骨と定義される。近年、2次軟骨の未分化間葉細胞は骨と軟骨の両方に分化能を持ち、体幹、四肢を構成する1次軟骨と比べ特異的な性質を持つことが知られている。しかしながら、2次軟骨における骨形成過程の特性については未だ不明な点が多く残されている。そこで我々は、1次軟骨と比較した2次軟骨の骨形成過程の形態的特徴を明確にすることを目的とし、検索を行った。【方法】試料として、胎生14~17日齢のICRマウスを用いた。1次軟骨として頭蓋底の軟骨(蝶形骨体と翼状突起外側板)を、2次軟骨として下顎頭軟骨、翼状突起内側板の軟骨を観察対象とした。軟骨細胞の分化成長過程を観察する為に抗TypeX Collagen抗体(CoIX), 抗Sox9抗体(Sox9)を用いて免疫組織化学染色し、アルカリフォスファターゼ(ALP)を酵素染色した。さらに、肥大軟骨細胞の大きさを客観的に評価するために、それぞれの軟骨の細胞の大きさを計測した。【結果および考察】2次軟骨のCoIX陽性肥大軟骨細胞の形態は1次軟骨に比べ有意に小さかった。これは、肥大軟骨細胞の著しい増加と急速な石灰化を円滑に進めるために2次軟骨が獲得したものであると考えられた。また、2次軟骨にある線維層の未分化な細胞にはSox9とALPが共発現しており、この所見は1次軟骨には認められなかった。したがってALPとSox9が共発現する未分化な細胞は、骨細胞と軟骨細胞の両方に分化できる能力があることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Morphological characteristics of secondary cartilage in the head and neck region

---

○Kitamura K<sup>1</sup>, Hirouchi H<sup>2</sup>, Yamamoto M<sup>2</sup>, Ishikawa N<sup>1</sup>, Abe S<sup>2</sup>, Yamamoto H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Anat, Tokyo Dent Coll

The mandibular condyle and medial pterygoid plate of the sphenoid bone are defined as secondary cartilage. It has been demonstrated that undifferentiated mesenchymal cells forming these cartilages can differentiate into both bone and cartilage. However, only a few studies on the ossification mechanism of secondary cartilages, the mandibular condyle and the medial pterygoid plate of the sphenoid bone, have been reported, and it remains unclear. We performed this study to clarify the characteristics of ossification of secondary chondrocytes. For samples, ICR Mice at embryonic days 14.5-17.5 were used. The mandibular condylar cartilage and the medial pterygoid process were observed as secondary cartilage, and cartilages of the cranial base which is primary cartilage, were observed as a control. Hypertrophic cells in the secondary cartilages were smaller than those in the primary cartilage, and this may have been a characteristic acquired by secondary cartilage to smoothly promote a marked increase in hypertrophic cells and rapid calcification. Sox 9 and ALP were co-expressed in undifferentiated cells in the fiber layer of the secondary cartilages, and this was not observed in the primary cartilage, suggesting that undifferentiated cells co-expressing ALP and Sox 9 have the ability to differentiate into both osteocytes and chondrocytes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P1-64 Rogdi 遺伝子はマウスエナメル質石灰化において重要である**

---

○三井シルビア なおみ, 泰江 章博, 田中 栄二  
徳大 院医歯薬 矯正

---

***Rogdi* is important for enamel biomineralization in mice**

---

○Mitsui SN, Yasue A, Tanaka E

Dept Orthod Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

**Purpose:** Amelogenesis imperfect (AI) was early described in Kohlschütter-Tonz syndrome (KTS), a rare autosomal-recessive neurodegenerative disorder characterized by progressive dementia and epilepsy. Although the genetic etiology of KTS was recently attributed to mutations in *ROGDI*, the role of this transcription factor in enamel formation remains unknown. The aim of the present study is to generate *Rogdi* deficient mice and to clarify its role in enamel formation. **Material & Methods:** *Rogdi* disrupted mice were generated by targeting the fifth exon with CRISPR/Cas system. After verification of the correct targeting of the founders, mosaic mice were mated with wild-type. Scanning electron microscopy (SEM), micro-CT and histology were analysed to study the phenotype. In order to investigate the cis-regulatory element, *in silico* analysis was performed using MatInspector (Genomatix Software). **Results and Conclusion:** After verification of *Rogdi* targeting by sequencing, allele with frameshift mutation causing premature stop codon was selected for further analysis. Gross morphological analysis of *Rogdi*<sup>-/-</sup> mice revealed abrasion of the incisors enamel, as well as lacked pigmentation, with chalky white appearance. SEM and micro-CT images showed the loss of enamel in *Rogdi*<sup>-/-</sup> mice at 4 weeks, which was hypomineralized with altered enamel structure. Moreover, ameloblasts at the maturation stage were shorter with altered polarization. *In silico* analysis predicted that SMAD3 binds in the cis-regulatory region of *Rogdi*. In addition, *Smad3*<sup>-/-</sup> mice also shows AI, suggesting that it might be an upstream regulator of *Rogdi*. Taken together, *Rogdi*<sup>-/-</sup> mice generated with CRISPR/Cas system showed AI, resembling the phenotype observed in KTS, which might be caused due to alterations in the maturation stage of enamel formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-65 Runx-Cbfb シグナル伝達は Stat3 を調節してエナメル形成に関わっている**

---

○Sarper Safiye<sup>1</sup>, 黒坂 寛<sup>1</sup>, 小野 瞳<sup>2</sup>, 山城 隆<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 矯正

<sup>2</sup>阪大 院歯 顎治

---

### **Runx-Cbfb signaling involved in enamel formation by regulating Stat3**

---

○Sarper S<sup>1</sup>, Kurosaka H<sup>1</sup>, Ono H<sup>2</sup>, Yamashiro T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Ortho, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

Mouse incisor enamel formation includes different biological phenomenas such as cell differentiation, epithelial-mesenchymal transition and stem-cell homeostasis in the cervical loop. There is complicated signalling pathway keeps these all activities in operation. Runx-Cbfb signalling is one that involved in morphogenesis of hair, salivary gland, palate through orchestrating epithelial-mesenchymal transition. We have already discovered that epithelial elimination of Cbfb gene results in lack of enamel formation and disturbed stem cell maintenance in incisor. Stat3 (Signal transducer and activator of transcription 3) is one of the member of JAK/STAT signaling pathway that is another one involved in development. Stat3 is known to intersect stem cell pluripotency, self-renewal. However there is no study shows Stat3 involvement in incisor formation. In this study we explain Runx-Cbfb signalling involvement in enamel formation by regulating Stat3. Purpose In order to investigate how Runx-Cbfb signalling in the dental epithelium involved in incisor formation through Stat3 we used epithelial specific knock out mouse of Runx1 and Cbfb. Materials & Methods We generated epithelial specific Runx1 and Cbfb knock out mouse. We used micro-CT to see morphological defect. In order to reveal histological defect of K14-Cre Runx1fl/fl (Runx1 cKo) and K14-Cre Cbfbfl/fl (Cbfb cKo) mice we performed hematoxylin-eosin staining. For cellular behaviour analysis we did proliferation and apoptosis assay. We used laser microdissection system and in situ hybridization to disclose genes that have interaction with Runx-Cbfb signaling. Immunofluorescence analysis are used to localize the phosphorylated Stat3. We used Stat3 inhibitor at culture to reveal in vitro results of Stat3 disturbance. Results & Conclusion From gross morphological analysis of incisor teeth we revealed enamel formation defect at Runx1 cKo and Cbfb cKo mouse incisors. Moreover histological analysis uncovered that Runx1 cKo and Cbfb cKo mice have smaller cervical loop and cell polarization defect. As the result of q-PCR of laser microdissected tissue, we revealed that expression of enamel specific genes significantly decreased at dental epithelium of cKo incisor. Other than these genes Tgfb1 and Lgr5 is decreased dramatically. Immunohistochemistry analysis showed that p-Stat3 is significantly decreased at cKo mouse cervical loops. At this cervical loop area proliferation and apoptosis functions are disturbed. Taken together Runx-Cbfb signalling in dental epithelium is critical for Stat3 activation, stem cell homeostasis, ameloblast differentiation and enamel formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## P1-66 歯髄細胞のスフェロイド形成に及ぼす TGF- $\beta$ と BMP の影響

---

○斉藤 まり, 唐木田丈夫, 山本 竜司, 大井田新一郎, 山越 康雄

鶴大 歯 生化

歯髄細胞は骨, 歯および軟骨形成への分化能を有しており, トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- $\beta$ ) や骨形成タンパク質 (BMP) などのサイトカインが, それらへの分化に密接に関わっている。【目的】本研究では, 歯髄細胞から象牙芽細胞への分化に対する TGF- $\beta$  および BMP の影響について三次元培養 (3D) システムを用いて形成した細胞塊 (スフェロイド) を調べることを目的とした。【方法】SV40 large T antigen を遺伝子導入し不死化させた株化ブタ歯髄細胞を二次元培養して細胞本来が有するアルカリホスファターゼ活性を測定し, 活性の高い細胞株 (PPU-7) と低い細胞株 (PPU-16) を選択して, TGF- $\beta$  および BMP の存在下で形成した 3D スフェロイドに対して形態観察, 象牙芽細胞マーカー遺伝子の発現および構成タンパク質について調べた。【結果および考察】PPU-7 および PPU-16 に対して TGF- $\beta$  および BMP は, 両者の細胞増殖能および 3D スフェロイド形成に影響を及ぼすことが判明した。また, 3D スフェロイド内部は Von Kossa 染色にて石灰化様を呈していた。さらに定量 PCR を用いた遺伝子解析では, BMP2 添加によって Heat-shock protein 25 と Microtubule-associated protein tau の発現が, TGF- $\beta$  添加では象牙質シアロリントタンパク質遺伝子の発現が上昇し, 象牙芽細胞に分化していることが示唆された。TGF- $\beta$  と BMP2 は, これら遺伝子発現に対して正反対の影響を与えていた。また, スフェロイド内部の石灰化様組織から抽出したタンパク質から象牙質シアロタンパク質と象牙質リントタンパク質が同定された。以上, ブタ歯髄細胞の象牙芽細胞分化を誘導するために TGF- $\beta$  および BMP2 は, 歯髄細胞の遺伝子発現を特異的かつ一過的に調節することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effect of TGF- $\beta$ and BMP on spheroid formation of dental pulp cells

---

○Saito M, Karakida T, Yamamoto T, Oida S, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

**Objective:** The present study was performed to investigate the effect of BMP2 and TGF- $\beta$  for odontoblastic differentiation of dental pulp cells in the three-dimensional (3D) spheroid cell culture systems, and characterize the expression of odontoblastic and dentin proteins in spheroids, which spontaneously formed, at both the mRNA and protein levels. **Methods:** Porcine dental pulp cells were immortalized with pSV3-neo and two cell lines (PPU-7 and PPU-16) were selected. Spheroids that spontaneously formed from PPU-7 were characterized by mineralized nodule formation, qPCR, and protein extraction. **Results and Discussion:** Histology localized mineralized nodules in the inner opaque zone of spheroids after Von Kossa staining. The qPCR analysis revealed that BMP2 up-regulated both heat-shock protein 25 (HSP25) and microtubule-associated protein tau (MAPT), while TGF- $\beta$ 1 up-regulated a Dspp variant encoding the full-length DSPP. Interestingly, BMP2 and TGF- $\beta$ 1 showed the opposite effects on the mRNA expressions of odontoblastic/dentin genes. Both dentin sialoprotein (DSP) and dentin phosphoprotein (DPP) were identified or detected in protein extracts obtained from spheroids by Western blot analysis or Stains-all staining. We conclude that BMP2 and TGF- $\beta$  are necessary for promoting odontoblastic differentiation of porcine dental pulp cells during spheroid formation while specifically and/or transiently regulating the mRNA expression of odontoblastic genes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-67 ラット切歯上皮シートを用いた初代細胞培養：構成細胞の再集合と細胞マーカーによる識別

---

○中野 崇文<sup>1,2,3</sup>, 杉浦 真琴<sup>3</sup>, 坂口もも子<sup>3</sup>, 神部 芳則<sup>1</sup>, 森 良之<sup>1</sup>, 高野 吉郎<sup>3</sup>, 田畑 純<sup>3</sup>

<sup>1</sup>自治医大 歯科口腔外科

<sup>2</sup>鎌ヶ谷総合病院 口腔外科

<sup>3</sup>医科歯科大 院医歯 硬組織構造

---

**【目的】**細胞培養は歯胚発生研究には必須の方法であるが、細胞を分散させると扁平になり、エナメル芽細胞の初代培養においても、*in vivo* との乖離が大きいことが否めない。そこで、本研究では、エナメル器の構成細胞を初代培養して、その細胞種類の把握と識別を目的とした形態とマーカーによる解析を行った。**【材料と方法】**生後10日齢Wistar系ラット切歯の唇側より剥離したエナメル上皮シートを酵素処理で分散させて播種し、完全MCDB153培地で7日間培養し、解析に用いた。また剥離した直後の上皮シートをニトロセルロース紙に伸展、固定しテクノビット樹脂切片を作成して、各種マーカーの判別に用いた。**【結果】**培養下においては、集塊形成が見られ、細胞ごとの再集合が確認された。そして、集塊形成をする 1)大型な多角形の細胞、2)中型円形細胞、集塊形成をしない 3)紡錘形細胞、4)他の細胞に重層する小型細胞、の4つが識別できた。固定後の培養細胞と上皮シートの樹脂切片を用い、抗サイトケラチン14抗体、抗アメロゲニン抗体を用いた免疫組織学的染色およびPAS染色、ALP染色にて比較して、染色性および培養細胞の経時変化より培養下で見られた4種の細胞を染め分けることができ、分化段階が低いエナメル芽細胞、高いエナメル芽細胞、星状網細胞、中間層細胞に一致することが示唆された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Primary cell culture of epithelial sheet of rat incisor: cell reaggregation and identification using cell markers

---

○Nakano T<sup>1,2,3</sup>, Sugiura M<sup>3</sup>, Sakaguchi M<sup>3</sup>, Jinbu Y<sup>1</sup>, Mori Y<sup>1</sup>, Takano Y<sup>3</sup>, Tabata M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Jichi Med Univ

<sup>2</sup>Kamagaya Gen Hosp

<sup>3</sup>Dept Biostructural Sci, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

**【Aim】** Cell culture is the essential method to study tooth germ development, but the cell morphology *in vitro* showed differed from that *in vivo*. To establish a method for the cell identification of the component cells in enamel organ, we examined the morphological and marker study using the primary cell culture.

**【Materials & Methods】** Enamel epithelial sheets were peeled from the labial side of incisors of newborn 10d Wistar rats. The cells were dispersed enzymatically, and cultured in complete-MCDB153 for 7 days. The sheets were also immediately extended on nitro-cellulose paper, fixed and used for Technovit section.

**【Results】** In culture, cell clustering and reaggregation is observed. The clustered cells were classified into 1) large-sized, polygonal cells and 2) medium-sized, rounded cells, and non-clustered cells were classified into 3) spindle shaped cells and 4) small-sized, rounded cells overlying the others, that is, 4 cells were classified morphologically. Immunostaining for cytokeratin14 and amelogenin, PAS staining and ALP staining were performed for culture cells and Technovit sections. According to the specific staining patterns and time course changing of cultured cells, we can identify the 4 types of cells match the early ameloblast, secretory ameloblast, stellate reticulum, and stratum intermedium respectively.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-68 ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤はマクロファージ分化 THP-1 細胞からの炎症性サイトカインの産生を抑制する

○金子 純也<sup>1,3</sup>, 沖永 敏則<sup>1</sup>, 引地 尚子<sup>2</sup>, 有吉 渉<sup>1</sup>, 藤井 誠子<sup>3</sup>, 高橋 理<sup>3</sup>,  
西原 達次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 感染分子生物

<sup>2</sup>九歯大 口腔保健

<sup>3</sup>九歯大 顎顔面外科

【目的】現在、マクロファージは、機能面から M1/M2 型に分類される。M1 マクロファージは、炎症の誘導や増強に関与し、インターロイキン (IL) -1 などの炎症性サイトカインの発現を介して炎症反応を促進し、M2 マクロファージは IL-1ra などの抗炎症性サイトカインの発現を介して炎症反応を抑制する。今回、われわれは、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) がヒストンのアセチル化を制御することで遺伝子の発現を制御することが知られているということに着目し、*in vitro* においてマクロファージ分化における炎症性サイトカインの誘導に、HDAC 阻害剤がどのような影響を及ぼすかについて、詳細に解析した。【方法】phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 処理により、ヒト単球様 THP-1 細胞をマクロファージ様細胞へ分化させた。さらに、大腸菌由来 lipopolysaccharide (LPS) を用いて M1 マクロファージ分化に誘導させた。ハイブリッド型 HDAC 阻害剤 Ky-2 を使用した。成熟型 IL-1 $\beta$  の細胞外分泌の誘導を促進するために ATP を適宜使用した。細胞生存率を WST-8 assay, 遺伝子発現を Real-Time RT-PCR, タンパク発現を Western Blotting および ELISA にて解析した。【結果】Ky-2 によって、LPS で誘導された炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の発現は抑制された。さらに、NLRP3 インフラマソーム関連タンパクの発現も、Ky-2 により抑制された。【考察】M1 マクロファージ分化誘導において、Ky-2 は、LPS と ATP が誘導する NLRP3 インフラマソームの関連タンパクの発現を抑制することで、M1 マクロファージ分化マーカーである IL-1 $\beta$  の発現を抑制することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Histone deacetylase inhibitors suppress inflammatory cytokine production on macrophage-polarized THP-1 cells

○Kaneko J<sup>1,3</sup>, Okinaga T<sup>1</sup>, Hikiji H<sup>2</sup>, Ariyoshi W<sup>1</sup>, Fujii S<sup>3</sup>, Takahashi O<sup>3</sup>, Nishihara T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ

**Objective:** Macrophages are divided into M1/M2 macrophages. It is well known that M1 macrophages are involved in the induction and exacerbation of inflammation, expressing proinflammatory mediators including Interleukin (IL) -1. In the present study, we investigate the effects of Ky-2, a hybrid-compound HDAC inhibitor, on M1-polarized macrophage induced by lipopolysaccharides (LPS). **Material and Methods:** Human monocyte-like THP-1 cells were polarized to macrophage-like cells by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), and then polarized to M1 macrophages by LPS. ATP was used for the induction of mature IL-1 $\beta$ . The gene expression was confirmed by real-time RT-PCR. The protein expression was detected by Western blotting and ELISA. **Results:** The expression of IL-1 $\beta$  gene and protein was upregulated in LPS-treated THP-1 cells, but Ky-2 treatment downregulated the expression. In addition, Ky-2 treatment downregulated these expression of NLRP3 inflammasome-associated proteins in LPS-treated THP-1 cells. **Conclusions:** These results indicate that Ky-2 pretreatment downregulates the expressions of inflammatory cytokine, IL-1 $\beta$ , in LPS-treated THP-1 cells, suggesting that Ky-2 might regulate inflammatory response by LPS through NLRP3 inflammasome inactivation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **P1-69 細胞外 purine nucleotide 刺激はヒト口腔上皮細胞における炎症性サイトカイン産生を増強する**

---

○宍戸 香<sup>1,2</sup>, 黒石 智誠<sup>1</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔分子制御

<sup>2</sup>東北大 院歯 顎口腔矯正

---

【背景】細胞外 ATP は P2 受容体 (P2R) を介して様々な細胞を活性化し, 神経伝達物質や細胞間シグナル伝達物質として機能する. P2R はイオンチャネル型である P2XR (P2X1-7) と G 蛋白質共役型である P2YR (P2Y1, 2, 4, 6 および 11-14) の 2 つのサブタイプに分類される. 生理的条件下において, 細胞外 ATP は ATP 分解酵素によりその濃度が厳密にコントロールされている. その一方, 細胞・組織傷害により細胞外に分泌された ATP は damage-associated molecular patterns (DAMPs) として機能し, 炎症性サイトカイン産生やアポトーシスを誘導することにより様々な疾患に関与する. 本研究では口腔粘膜疾患における ATP-P2R システムの関与を検討する目的で, ヒト口腔扁平上皮癌由来細胞株である HSC-2 細胞をモデルとして, P2R 刺激による炎症性サイトカイン産生誘導を解析した. 【方法】HSC-2 細胞における P2R mRNA 発現は RT-PCR 法により解析した. HSC-2 細胞を各種 P2R アゴニストで刺激培養し, 培養上清中 IL-6 および IL-8 濃度を ELISA 法により, IL-6 および IL-8 mRNA 発現量を定量 RT-PCR 法により測定した. 【結果および考察】HSC-2 細胞では P2X4-6 および全ての P2YR mRNA の発現が認められた. ATP 刺激 HSC-2 細胞では, 刺激後 2 時間をピークとして IL-6 および IL-8 mRNA の発現量が増加した. また, 培養上清中 IL-6 濃度の有意な増加と IL-8 濃度の増加傾向が認められた. ADP 刺激 HSC-2 細胞においても同様に, 培養上清中 IL-6 および IL-8 濃度の増加が認められた. これに対し, P2Y2, 4 および 6 のアゴニストである UTP もしくは UDP 刺激では, IL-6 および IL-8 の産生誘導は認められなかった. 以上の結果から, P2R 刺激による口腔粘膜での炎症反応誘導が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## **Extracellular purine nucleotides induce inflammatory cytokine production in human oral epithelial cells**

---

○Shishido K<sup>1,2</sup>, Kuroishi T<sup>1</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Extracellular ATP stimulates various cells via P2 purinergic receptors (P2Rs). P2XRs (P2X1-7) are ligand-gated ion channels, while P2YRs (P2Y1, 2, 4, 6 and 11-14) are G protein-coupled receptors. Under physiological conditions, the concentrations of extracellular ATP are strictly controlled by extracellular ATPase. However, under pathological conditions, extracellular ATP, which is released from damaged cells, functions as a damage-associated molecular pattern and induces inflammation. In order to investigate the pathological roles of the ATP-P2R system in the oral mucosa, we examined the induction of inflammatory cytokines by P2R activation in the HSC-2 cell line, which is derived from human oral squamous cell carcinoma. HSC-2 cells constitutively expressed the mRNAs of P2X4-6 and all P2YRs. ATP significantly up-regulated the expression of IL-6 and IL-8 mRNAs in HSC-2 cells. IL-6 and IL-8 concentrations were also increased in the culture supernatant of ATP-stimulated HSC-2 cells. ADP induced the production of IL-6 and IL-8 by HSC-2 cells. On the other hand, these inflammatory cytokines were not induced by UTP or UDP, which are selective agonists to P2Y2, 4, and 6. These results suggest that the activation of P2Rs induces inflammatory responses in the oral mucosa.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-70 黄色ブドウ球菌はプロテイン A による IgG 複合体形成を介して破骨細胞の分化を亢進する

---

○蒲原 麻菜<sup>1</sup>, 徐 祥赫<sup>1,2</sup>, 久木田敏夫<sup>2</sup>, 久木田明子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>佐賀大 医 微生物

<sup>2</sup>九大 院歯 分子口腔解剖

---

【目的】黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) は骨破壊を伴う骨髄炎の原因菌であり、病原因子であるプロテイン A (SpA) は IgG に結合する性質をもっているが、骨吸収における役割は明らかではない。最近、IgG 複合体による破骨細胞分化の促進作用が報告されており、本研究は *S. aureus* の SpA による破骨細胞の分化・骨吸収への作用について明らかにすることを目的とした。【方法】*S. aureus* は臨床分離株 UOEH6, SpA 保菌株 209P 及び SpA 自然変異株 2PF-18 を使用し、マウスマクロファージ細胞 RAW-D, あるいは骨髄マクロファージ (BMM) を RANKL で刺激した破骨細胞前駆細胞を用いた。FCR ブロッキングは CD16/32 抗体を用いた。破骨細胞形成の評価として、TRAP 染色, RTqPCR によるカテプシン K (Ctsk) などの破骨細胞関連因子の mRNA を解析した。【結果及び結論】RANKL 刺激した RAW-D 細胞に *S. aureus* を添加すると MoI の上昇と共に、TRAP 陽性の破骨細胞が形成された。さらに RANKL 刺激した RAW-D や BMM に *S. aureus* をマウス血清で前処理し添加すると、TRAP 陽性の破骨細胞形成が 2~10 倍に、Ctsk の mRNA の発現量が顕著に亢進した。また、RAW-D 及び BMM の *S. aureus* による破骨細胞の形成促進は CD16/32 抗体により阻害され、Fc 受容体の関与が考えられた。次に、SpA は単独では顕著な破骨細胞形成はみられなかったが、RANKL で刺激した BMM に TLR2 のリガンドである Pam3CSK4 を同時に添加したところ、破骨細胞形成及び Ctsk の mRNA の発現量が亢進した。さらに、SpA 保菌株及び欠損株を使用したところ、保菌株は欠損株と比較し TRAP 陽性の破骨細胞形成が顕著に亢進した。次に NFATc1 の阻害剤である FK506 を加えたところ、TRAP 陽性の破骨細胞形成が減弱した。以上より、*S. aureus* は菌体上の SpA と IgG の複合体及び Fc 受容体を介し、破骨細胞の形成を亢進する可能性が示唆され、また NFATc1 の活性化が関与することが考えられた。(学会外共同研究者 川崎医療福祉大学 山田作夫) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## *Staphylococcus aureus* enhance the differentiation of osteoclasts via formation of IgG complex with protein A

---

○Kamohara A<sup>1</sup>, Xu X<sup>1,2</sup>, Kukita T<sup>2</sup>, Kukita A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Fac Med Saga Univ

<sup>2</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is a causative microorganism of osteomyelitis associated with bone destruction. In the study, we analyzed whether addition of *S. aureus* induces osteoclast differentiation in vitro and a virulence factor protein a of *S. aureus* contributes to its function. Addition of *S. aureus* to RANKL-pretreated mouse macrophage RAW-D cells or bone marrow macrophages markedly enhanced the formation of TRAP-positive multinucleated osteoclasts (MNCs), and expression of osteoclast marker cathepsin K mRNA. The formation of TRAP-positive MNCs was inhibited by addition of antibody against Fc receptor. Protein a alone did not induce the formation of TRAP-positive MNCs, whereas protein a together with a TLR2 ligand Pam3CSK4 significantly induced the expression of cathepsin K mRNA. In addition, *S. aureus* protein a-positive strain induced significantly high number of TRAP-positive MNCs in comparison with that induced by protein a-deficient *S. aureus* strain. Furthermore, addition of a NFATc1 inhibitor FK506 to the culture stimulated with *S. aureus* inhibited the formation of TRAP-positive MNCs. The results suggest that *S. aureus* promotes osteoclast differentiation through the mechanism protein a and Fc receptor is involved. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-71 カイコ感染モデルを用いた *Porphyromonas gulae* FimA の病原性解析

---

○吉田 翔<sup>1</sup>, 稲葉 裕明<sup>2</sup>, 仲野 道代<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡大病院 小児歯

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 小児歯

---

【目的】動物由来歯周病菌 *Porphyromonas gulae* は、ヒト以外の動物から分離される *Porphyromonas* 属の新種として発見された。伴侶動物を飼育する歯周病患者の病変部プラークからは *P. gulae* が多く検出され、歯肉の炎症や骨吸収が見られる。*P. gulae* の線毛は本菌の様々な病原性の発揮に関与していると考えられている。我々はこれまで、線毛サブユニット fimA 遺伝子の塩基配列の違いに基づき3つの遺伝子多型 (A/B/C型) に分類し、そのうちC型 fimA をもつ *P. gulae* と歯周炎発症との臨床的相関を報告した。しかし、fimA 型の相違と本菌の傷害性との関連については十分な検討が加えられていない。本研究では、カイコ感染モデルを用いて fimA 遺伝子の異なる *P. gulae* の病原性発現を評価した。【方法】5令のカイコに fimA 遺伝子型の異なる *P. gulae* の生菌またはリコンビナント線毛 (rFimA) を腹腔内投与後、経時的に生存数を記録し、 Kaplan-Meier 法により生存率曲線を作成した。さらに各遺伝子型に対応する抗線毛血清を用いて *P. gulae* の病原性に対する効果を判定した。【結果】C型 fimA 保有株による感染は、他の fimA 型保有株と比べ著しく生存率が低下し、rFimA 刺激でも同様の結果が得られた。また、抗線毛血清は生存率を改善し、特にC型 fimA 保有株感染による生存率低下を顕著に改善した。【考察】C型 fimA 保有 *P. gulae* 株の感染は宿主に対する傷害性発揮に関与し、同菌の線毛遺伝子多型と傷害性との関連性が示された。本研究から、線毛をターゲットとした創薬により歯周炎を予防する可能性が示唆された。

会員外共同研究者：大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学分野 野村良太、仲野和彦

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Protective effects of antibodies against *Porphyromonas gulae* toxicity in silkworm larvae

---

○Yoshida S<sup>1</sup>, Inaba H<sup>2</sup>, Nakano M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr, Okayama Univ Hosp

<sup>2</sup>Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

**Purpose:** *Porphyromonas gulae* possesses fimbriae that have been classified into three genotypes (A, B, C) based on the diversity of fimA genes encoding FimA. Previously, *P. gulae* strain with type C fimbriae was shown to have more virulent as compared to those with other types. However, the interaction between *P. gulae* toxicity and fimA type in vivo model remains unknown. In the present study, we examined the effects of antibodies on the toxicity of *P. gulae* infection in silkworm larvae. **Material & Methods:** *P. gulae* strains ATCC 51700 (fimA type A), DO40 (fimA type B), and DO49 (fimA type C) were used. Silkworm larvae with/without FimA antibodies were injected with a bacterial suspension or recombinant FimA (rFimA), and survival rates were noted every 12 h. **Results & Conclusion:** Survival rate of silkworm larvae decreased by *P. gulae* infection or rFimA stimulation. FimA antibodies treatment showed a significant inhibitory effect on DO49 infection, resulting a increased rate of silkworm survival. These results suggest that the drug design targeting fimbriae of *P. gulae* may be useful for prevention and/or attenuation of periodontitis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-72 泡状陽イオン界面活性剤の殺菌力と洗浄効果の解明

---

○重村 侑哉, 王 宝禮

大歯大 細菌

【目的】陽イオン界面活性剤である塩化セチルピリジニウムは *Candida albicans* に対して殺菌性が強いことは知られているが、起泡性及び泡の安定性が劣るため、これまで義歯洗浄剤など使用されてこなかった。そこで、塩化セチルピリジニウムを配合しながらも起泡性及び泡の安定性に優れた泡状陽イオン界面活性剤の開発に至り、*Candida albicans* の殺菌効果、付着物除去効果について検討した。【方法】*Candida albicans* 培養液に急速硬化性常温重合アクリルレジン（レジン片）を泡状陽イオン界面活性剤に埋没させて洗浄を行い、クロムアガーカンジダ寒天培地へ接種しコロニー形成を確認した。次に付着物除去効果判定としてレジン板に汚れ剤（手洗いチェッカー）を塗布後、乾燥させ、泡状陽イオン界面活性剤でブラッシングし、操作前後をブラックライト照射下で観察した。また、レジン板に煙草のヤニを付着させ、泡状陽イオン界面活性剤で洗浄を行い、洗浄前後の色変化 ( $\Delta E$ ) を以下の算式の通り洗浄率として評価した。【結果と考察】陽イオン界面活性剤の中から特に界面活性作用の大きいと思われる、分子構造がシンプルである塩化セチルピリジニウムと増粘性を持ったマクロゴールとヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いて、泡状陽イオン界面活性剤の開発に至った。本実験系から、泡状陽イオン界面活性剤が *Candida albicans* の殺菌効果、付着物除去効果が確認できた。界面活性剤の発泡性は、起泡性と泡の安定性によって決定される。起泡性は、起泡する際の仕事量が表面張力×表面積で表されるが、界面活性作用の大きい成分であれば、表面張力を大きく低下させ、安易に起泡させることができる。できた泡の安定性は、泡膜に阻害物がないこと、界面活性剤の分子構造が大きいものは阻害されやすいと考えられる。本研究から、殺菌性・付着物除去効果の点からも泡状陽イオン界面活性剤を用いた洗浄剤は新規性があると考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The study of the sterilizing power and the detergency on the fabricated foamy cationic surfactant

---

○Shigemura Y, Wang P

Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ

Cetylpyridinium chloride, well-known cationic surfactant, shows a strong bactericidal effect for *Candida albicans*. Nevertheless, the poor foamability and foam stability have hindered the application of this small molecule for denture cleaner. Recently, we have fabricated a foamy cationic surfactant containing cetylpyridinium chloride and it shows superior foamability and foam stability. In the present study, we evaluated whether the developed foamy cationic surfactant induces the bactericidal effect and the removal effect of attachment. Colony formation was evaluated to detect the bactericidal effect of the foamy cationic surfactant after cleaning rapid curing room temperature polymerization acrylic resin immersed in the surfactant and the culture media with *Candida albicans*. To investigate the removal effect of attachment, detachment of dirt agent after cleaning with foamy cationic surfactant was evaluated by using the black light; detachment of Tobacco by using colorimetric change. A line of our results indicate that the foamy cationic surfactant shows the remarkable bactericidal effect for *Candida albicans* and the removal effect for attachment. There seems to be the novelty in the denture cleaner using the fabricated foamy cationic surfactant in view of the bactericidal effect and the removal effect for attachment.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-73 小児プラークにおける口腔レンサ球菌定着量と齲蝕罹患率の関連

○蒔苗 剛<sup>1</sup>, 下山 佑<sup>2</sup>, 木村 重信<sup>3</sup>, 石河 太知<sup>2</sup>, 古玉 芳豊<sup>2</sup>, 佐々木 実<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 歯 小児・障害者

<sup>2</sup>岩医大 歯 分子微生物

<sup>3</sup>関西女子短大 歯科衛生

【目的】我々はこれまでに菌種特異的 PCR 法 (c-PCR) および定量的リアルタイム PCR 法 (q-PCR) を用いて, *Streptococcus mutans* 陽性-*S. sobrinus* 陰性のプラークを持つ小児集団が *S. mutans*<sup>high</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> 群と *S. mutans*<sup>low</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> 群に群分けできること, さらに *S. mutans*<sup>high</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> 群の小児の齲蝕罹患率 (df 歯率) は *S. mutans*<sup>low</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> 群と比較して有意に高いことを明らかにしてきた。そこで本研究では, ミュータンスレンサ球菌 (MS) 以外の口腔レンサ球菌の定着/定着量と MS の定着/定着量, 齲蝕罹患率との関連性について検討した。【方法】インフォームド・コンセントの得られた小児患者 96 名を被験者とし, 口腔内診査後, 歯肉縁上プラークを採取した。サンプルより DNA を精製し, MS および他の 5 菌種の口腔レンサ球菌種について c-PCR および q-PCR による定性的および定量的解析を行った。【結果】調べた 5 菌種の口腔レンサ球菌種のうちでは, *S. anginosus* が *S. mutans* とともに検出される頻度が高かった。しかし定着量からの検討では, *S. anginosus* の定着量は齲蝕罹患率と有意の相関性は認められなかったことから, *S. anginosus* は *S. mutans* 陽性のプラークに頻度高く定着しているが, MS による小児齲蝕の発症には関連しないことが示唆された。【まとめ】小児プラーク中の MS の定量解析に加え他の口腔レンサ球菌の定量解析を行うことにより, MS の定着と小児齲蝕の関連性の詳細を明らかにする効果的な手段となる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Quantification of oral streptococcal species in children's plaques and its relationship to the caries prevalence

○Makinae T<sup>1</sup>, Shimoyama Y<sup>2</sup>, Kimura S<sup>3</sup>, Ishikawa T<sup>2</sup>, Kodama Y<sup>2</sup>, Sasaki M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Hygiene, Kansai Women's Coll

Using species-specific conventional PCR (c-PCR) and real-time quantitative PCR (q-PCR), we have reported that the children group with *Streptococcus mutans* (+)-*S. sobrinus* (-) plaques was divided into two groups based on the quantitative level of *S. mutans*, *S. mutans*<sup>high</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> group and *S. mutans*<sup>low</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> group. Moreover, *S. mutans*<sup>high</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> group showed significantly higher dft score than that in *S. mutans*<sup>low</sup>-*S. sobrinus*<sup>-</sup> group. In this study, we assessed the effect of other oral streptococcal colonization on the enhance possession of mutans streptococci (MS) in children's plaques. After oral examination, plaque samples were collected from 96 children with informed consent. The bacterial DNA was purified, and MS and 5 other oral streptococci were detected by c-PCRs and quantified by q-PCRs. Among the 5 non-MS microbes tested, *S. anginosus* was detected frequently in the *S. mutans*<sup>-</sup> plaque samples. However, the quantification of *S. anginosus* was not related to the dft score, suggesting that *S. anginosus* could colonize preferentially on the *S. mutans*<sup>+/-</sup> plaques in children, and might not be related to MS-induced childhood caries. Consequently, quantification of MS and other oral streptococci in children's plaques could be an efficient method to clarify the relationship between MS colonization and childhood caries.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-74 非結核性抗酸菌 (non-tuberculous mycobacteria, NTM) の薬剤排出能に関する検討

---

○小崎 弘貴, 中山 真彰, 橘 理人, 大原 直也

岡大 院医歯薬 口腔微生物

---

**【目的】** 近年, 非結核性抗酸菌による NTM 症が増加しており, 問題になっている. NTM 症に対しては抗菌化学療法が一般的であるが, 多剤耐性を示す株も多く, また感受性試験結果と臨床効果との乖離例の報告も少なくない. NTM では複数薬剤への耐性例が散見されることから, 耐性機構として薬剤排出ポンプに着目し, 症例数の最も多い *Mycobacterium avium* を用いて薬剤排出能の評価, 比較を行うことを目的として研究を行った.

**【方法】** *M. avium* 標準株 1 株, *M. avium* 臨床分離株 9 株, そして *M. intracellulare* 臨床分離株 1 株の合計 11 株を供試した. 臨床分離株 10 株の中で 6 株は病態進行の早い患者由来株 (progressive) であり, 4 株は病態の安定した患者由来株 (stable) であった. 菌株を液体培地に継代した供試菌液を OD<sub>590</sub> = 1.0 に調整し, 培地を 0.4% グルコース溶液に置換した. 薬剤取込み実験では, 菌液に ethidium bromide (EtBr) を加えて 4 時間吸光光度計で蛍光測定を行なった. また薬剤排出実験では, 菌液に EtBr を 4 時間共存させて菌体内に蓄積させた後に, 培地を 0.4% グルコース溶液に置換し, その後 4 時間吸光光度計で蛍光測定を行った. 排出ポンプ関与の評価には, 各種排出ポンプ阻害薬を併用した.

**【結果と考察】** progressive 株と stable 株の間で, 薬剤の取込みと排出に明瞭な差は認めなかった. しかし, 標準株に比べて取込みと排出が共に弱い株が 2 株, また排出のみ強い株が 2 株存在した. これらの結果は薬剤耐性株の中に排出能が異なるものが一定数存在する可能性を示唆するものであり, 今後は多くの菌株を検討するとともに, 特徴的な菌株に対してはより詳細な検討が必要と考えられた.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Evaluation of drug efflux activity in non-tuberculous mycobacteria (NTM)

---

○Kosaki H, Nakayama M, Tachibana M, Ohara N

Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

**Purpose:** Chemotherapy is the standard therapeutic strategy for NTM infections. However, antimicrobial resistance is common and may be associated with poor outcomes. Since transport-related genes significantly affect antimicrobial resistance, we evaluated drug efflux activity of NTM clinical isolates.

**Materials & Methods:** We used 10 clinical isolates of *Mycobacterium avium* complex (6 from progressive patients and other 4 from stable patients). *M. avium* strain 104 was used as a reference strain. Strains were grown in 7H9-ADC-Tween80 medium and adjusted to an OD<sub>590</sub> of 1.0. For monitoring influx, the medium was replaced with 0.4% glucose. Then EtBr was added to the bacterial suspensions and its fluorescence was measured. For monitoring efflux experiment, EtBr was added to the cultures. Four hours later, bacterial cells were washed and its fluorescence was measured. In addition, efflux pump inhibitors were used to evaluate their efflux ability.

**Results & Discussion:** There was not any obvious difference between progressive and stable group. However, 2 strains showed with little pharmacokinetic changes and other 2 strains showed high efflux activity. Our data suggests that there is a possibility that some of the multiple drug-resistant NTM strains are due to low activities of both influx and efflux.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-75 MPC ポリマーによる口腔細菌の抑制効果

---

○藤原奈津美<sup>1</sup>, 湯本 浩通<sup>2</sup>, 弘田 克彦<sup>3</sup>, 村上 圭史<sup>4</sup>, 尾崎 和美<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健支援

<sup>2</sup>徳大 院医歯薬 保存

<sup>3</sup>高知学園短期大 医療衛生 歯科衛生

<sup>4</sup>徳大 院医歯薬 口腔微生物

---

**【目的】** 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) ポリマーは、ヒト細胞膜成分と類似した構造を持った新規バイオマテリアルで、微生物・タンパク質・細胞の付着を阻害する。これまでに、MPC ポリマーでコーティングしたハイドロキシアパタイト板や口腔上皮細胞に対する口腔細菌 (*Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum*) の付着抑制効果とバイオフィルム形成 (*S. mutans*) 抑制効果を報告してきたが、実際のヒト口腔内における効果は明らかにされていない。そこで、本研究では MPC ポリマー水溶液の含嗽による口腔内への細菌抑制効果を臨床試験により検討した。**【方法】** 健康成人 20 人を対象とした。被験者は 5% MPC ポリマーで含嗽し、含嗽前および 5 時間後の口腔内の含嗽液に含まれる細菌数を測定し、コントロール (PBS) と比較した。細菌数測定は、細菌カウンタ、血液寒天培地上でのコロニー形成能による評価及びリアルタイム PCR 法により評価した。**【結果と考察】** 細菌カウンタおよびコロニー形成能による評価において、5% MPC ポリマー水溶液による含嗽後 5 時間後での口腔内細菌数の増加率は、対照群と比較して有意に抑制されていた。さらに、リアルタイム PCR 法により総菌数および *Fusobacterium nucleatum* の DNA 量も対照群と比較して有意に抑制されていることを確認した。以上より、抗菌作用を有しない MPC ポリマーは細菌付着を阻害することによりヒト口腔細菌抑制効果を示すことが明らかとなり、口腔細菌のコントロールに応用できる可能性が示された。(会員外共同研究者: 三宅 洋一郎, 宮本 幸治, 中江 弘美, 田中 沙弥)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Suppression of oral bacteria by 2-methacryloyloxyethyl-phosphorylcholine-polymer

---

○Fujiwara N<sup>1</sup>, Yumoto H<sup>2</sup>, Hirota K<sup>3</sup>, Murakami K<sup>4</sup>, Ozaki K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

<sup>2</sup>Dept Conserv Dent, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

<sup>3</sup>Dept Med Hygiene, Dent Hygiene Course, Kochi Gakuen Coll

<sup>4</sup>Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

**【Aim】** 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)-polymer, which mimics human cell membrane, reduces protein adsorption, bacterial adhesion and inhibits cell-cell attachment. We previously reported that MPC-polymer treatment markedly inhibited both the adhesion and biofilm formation of oral bacteria. However, the in vivo effect of MPC-polymer in human oral cavity is still unclear. We, hence, performed a clinical trial of MPC-polymer in the human oral cavity. **【Materials and Methods】** Gargle solution containing 5% MPC-polymer was used in 20 healthy subjects. We evaluated the number of oral bacteria before intervention and 5 h after the intervention. PBS was used as a control. The number of bacteria was counted by a culture method on the sheep blood agar and a bacterial counter (Panasonic healthcare, Japan), and DNA amount of bacteria was examined by real-time PCR. **【Results and Conclusion】** The increase of total bacteria after the treatment with MPC-polymer was significantly suppressed, compared to the control group. The increase of DNA amounts of total bacteria and *Fusobacterium nucleatum* were also significantly suppressed. In summary, we demonstrated that MPC-polymer suppresses the oral bacteria by inhibition of bacterial adhesion. These findings suggest that MPC-polymer can be used for controlling oral bacteria.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-76 BCG ThyA, ThyX 変異株の解析

---

○竜門亜矢子, 中山 真彰, 橋 理人, 小崎 弘貴, 大原 直也

岡大 院医歯薬 口腔微生物

**【目的】** 結核症は3大感染症のひとつであり, 治療困難な多剤耐性結核菌の増加に警鐘が鳴らされている。多くの細菌はチミジル酸合成酵素として古典的な ThyA もしくは近年発見された ThyX のどちらかを持つ。一方, 結核菌は ThyA と ThyX の両方を併せ持ち, どちらかを欠損させても致死とならない。一昨年の本学会で ThyX が ThyA とともに抗結核剤であるパラアミノサリチル酸に対する耐性に関与することを報告した。今回, ThyX の発現量により *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin* (BCG) の増殖速度が変化することが示されたので報告する。

**【方法】** 1. BCG Tokyo 株を親株とし, ThyA あるいは ThyX の欠損株 ( $\Delta$ ThyA,  $\Delta$ ThyX), およびそれぞれの強発現株 (pThyX, pThyA) を作製した。2. 親株, 強発現株, 欠損株の計5株を 7H9-ADC-Tween80 液体培地あるいは 7H10-ADC 寒天平板培地で培養し, 増殖速度を確認した。3. 7H10-ADC 寒天平板培地にて培養後, 菌を回収し RNA を抽出した。抽出した RNA を用いて, RNA-Seq 法およびリアルタイム RT-PCR 法を行った。

**【結果と考察】** pThyX は 7H10-ADC 寒天平板培地上における増殖速度が顕著に促進した。RNA-Seq 法およびリアルタイム RT-PCR 法による解析の結果, pThyX では親株と比べ, DfrA, GcvT, および MetE 遺伝子の顕著な発現の上昇が認められた。FolD, MetH, PurU, および Fmt の発現は抑制されていた。以上のことから, テトラヒドロ葉酸—5, 10 メチレンテトラヒドロ葉酸—テトラヒドロ葉酸の代謝経路は促進され, 5, 10 メチレンテトラヒドロ葉酸に続く他の代謝経路が抑制されることが, pThyX の増殖速度の増加の一因となった可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Analysis of *thyA*- or *thyX*-overexpression mutant

---

○Ryumon A, Nakayama M, Tachibana M, Kosaki H, Ohara N

Dept Oral Microorganism, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

**【Purpose】** Tuberculosis is one of the world's three major infectious diseases, and alarms are sounding for an increased incidence of multidrug-resistant tuberculosis. Many bacteria have either ThyA as classical thymidylate synthase or ThyX recently discovered. However, acid-fast bacteria have both ThyA and ThyX. We have reported that both ThyX and ThyA were associated with resistance to para-aminosalicylic acid one of the second line anti-tuberculosis drug at previous conference. Here we report that growth rate of *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin* (BCG) depends on expression level of ThyX.

**【Materials & Methods】** 1. *thyA*- or *thyX*-deficient mutant ( $\delta$ ThyA and  $\delta$ ThyX) and *thyA*- or *thyX*-overexpression mutant (pThyA and pThyX) were constructed in BCG Tokyo. 2. Their growth rates in 7H9-ADC-Tween80 medium and on 7H10-ADC agar were measured. 3. RNA-seq and real-time RT-PCR were performed.

**【Results & Conclusion】** The growth of pThyX on 7H10-ADC agar was higher than that of parent strain (BCG Tokyo). RNA-Seq and real-time RT-PCR analysis showed that expression of DfrA, GcvT and MetE genes were remarkably increased in pThyX, while FolD, MetH, PurU, and Fmt genes were decreased. These results suggested that alteration of part of folate metabolisms might contribute to the growth rate of pThyX

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-77 *Streptococcus sanguinis* のノンコーディング csRNA は IV 型線毛 *pilT* 遺伝子の発現を負に制御し、バイオフィーム形成を抑制する**

---

○大田 千明<sup>1</sup>, 森崎 弘史<sup>2</sup>, 有本 隆文<sup>2</sup>, 深町はるか<sup>2</sup>, 片岡 嗣雄<sup>2</sup>, 鈴木 規元<sup>1</sup>, 増田 宜子<sup>3</sup>, 宮崎 隆<sup>1</sup>, 桑田 啓貴<sup>2</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 歯内治療

<sup>2</sup>昭大 歯 口腔微生物

<sup>3</sup>明海大 歯 機能保存回復

---

【目的】細菌には二成分制御系と呼ばれる環境適応に関わる情報伝達システムがあり, その1種である CiaRH システムはレンサ球菌属において特に重要な働きをされていると考えられている. 近年, この CiaRH の制御下にある一連の低分子 RNA (cia-dependent small RNA; csRNA) が発見された. csRNA は主に mRNA と結合して遺伝子発現を制御すると考えられているが, その制御機構の詳細は不明である. そこで本研究では *Streptococcus sanguinis* の csRNA の1つである csRNA1-1 の機能解析を行った. 【方法】*S. sanguinis* の変異株は薬剤耐性遺伝子カセットを用いた相同組換えにより作製した. 変異型 csRNA 発現株はシャトルベクターを用いて作製した. 遺伝子発現量の変化はリアルタイム RT-PCR と, ルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイによって解析した. csRNA と標的 mRNA との結合はゲルシフトアッセイ (EMSA) で評価した. バイオフィーム形成能は 1% ショ糖含有 BHI 培地で培養した際のプラスチック表面への付着率で評価した. 【結果と考察】データベース検索によって csRNA1-1 の標的となることが予測された IV 型線毛オペロンの *pilT* について, その遺伝子発現と csRNA1-1 との関係を検討したところ, csRNA1-1 欠損株で *pilT* の発現が有意に上昇した. また, EMSA の結果から csRNA1-1 が *pilT* mRNA と結合することが明らかとなった. さらに, csRNA1-1 欠損株のバイオフィーム形成能は有意に上昇した. 以上の結果は, csRNA1-1 が *pilT* mRNA と結合することでその発現を抑制し, バイオフィーム形成などの *S. sanguinis* の病原性制御に重要な役割を果たす可能性を示唆した.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## ***Streptococcus sanguinis* non-coding csRNAs negatively regulate the expression of type IV pilus retraction ATPase *pilT* and biofilm formation**

---

○Ota C<sup>1</sup>, Morisaki H<sup>2</sup>, Arimoto T<sup>2</sup>, Fukamachi H<sup>2</sup>, Kataoka H<sup>2</sup>, Suzuki N<sup>1</sup>, Masuda Y<sup>3</sup>, Miyazaki T<sup>1</sup>, Kuwata H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Endodontol, Dept Conserv Dent, Showa Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Microbiol Immunol, Showa Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Div Endod Oper Dent, Dept Restor Biomater Sci, Meikai Univ Sch Dent

---

The CiaRH two-component regulatory system has been implicated in streptococcal adaptive response to environmental changes. Recently, cia-dependent small RNAs (csRNAs), a group of non-coding RNAs controlled by CiaRH system, were found. Although csRNAs seem to regulate the expression of target genes by binding to complementary sequences within the target mRNA, precise regulatory mechanisms remain unknown. In this study, we performed functional analyses of csRNA1-1, one of the csRNAs, in *Streptococcus sanguinis*. *S. sanguinis* mutants were created by homologous recombination. Gene expression was measured by real-time RT-PCR and luciferase reporter assay. Interaction of RNA molecules was examined by electrophoretic mobility shift assay (EMSA). Biofilm-forming ability was assessed using 1% sucrose-containing medium. Using a computational search tool, *pilT*, a constituent of type IV pili, was predicted as a target for csRNA1-1. A significant increase in expression of *pilT* in the csRNA1-1 deletion mutant was observed with real-time RT-PCR analysis and luciferase assay. Interaction between csRNA1-1 and *pilT* mRNA was shown with EMSA. Biofilm-forming ability of csRNA1-1 deletion mutant increased significantly compared to wild-type strain. These results suggest that csRNA1-1 negatively regulates the expression of *pilT* mRNA via base-pairing, and contributes to the regulation of virulence properties, including biofilm formation, in *S. sanguinis*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-78 Myricetin 類縁体を用いたバイオフィルム感染症の制御法の開発

---

○有田 (森岡) 健一<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>2</sup>, 成田 由香<sup>2</sup>, 田崎 園子<sup>2</sup>, 池崎晶二郎<sup>2</sup>, 安松香奈江<sup>2</sup>, 長 環<sup>2</sup>, 田中 芳彦<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 先端科学セ

<sup>2</sup>福歯大 感染生物

---

細菌が形成するバイオフィルムは、細菌の周りを自身で産生したアミロイド線維や細胞外多糖、細胞外核酸などによって囲まれており、これにより抗生物質や宿主免疫に耐性になるため慢性感染症の原因となっている。我々は、フラボノイドの一種である Myricetin (Myr) がグラム陰性菌である大腸菌のバイオフィルム形成だけでなくグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成を抑制できることを報告している。本研究では、8種類のフラボノイドを用いて、大腸菌とミュータンスレンサ球菌においてバイオフィルム形成を抑制できるか検証した。まず8種類のフラボノイドを選択し、大腸菌 K-12 株のバイオフィルム形成に与える影響を調べた。その結果、我々が以前に報告しているフラボノイドである Myr より効率的にバイオフィルム形成を抑制できるフラボノイド A を見出した。透過型電子顕微鏡により細胞外構造体の産生を観察したところ、フラボノイド A を添加した方がより低濃度で、大腸菌のバイオフィルム形成に重要な細胞外アミロイド線維“curli”の産生が抑制されていることが示された。また、フラボノイド A 添加時における curli の産生に関わる遺伝子及びタンパク質の発現を確認したところ、フラボノイド A の添加により curli の産生に必須な RpoS より上流の制御因子の機能を阻害している可能性が示唆された。さらにこれらの化合物の中にミュータンスレンサ球菌 UA159 株のバイオフィルム形成を抑制できる化合物も見出した。以上より、フラボノイドを用いることでバイオフィルム感染症の予防に有益であることが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Regulation of biofilm related infections using Myricetin derivatives

---

○Arita-Morioka K<sup>1</sup>, Nagao J<sup>2</sup>, Narita Y<sup>2</sup>, Tasaki S<sup>2</sup>, Ikezaki S<sup>2</sup>, Yasumatsu K<sup>2</sup>, Cho T<sup>2</sup>, Tanaka Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Adv Sci Res Cent, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

---

Biofilms are complex communities of microorganisms that are embedded in a self-produced matrix of extracellular polymeric substances. Since cells embedded in biofilms acquire increased tolerance against antimicrobial agents and host immune systems. Thus, biofilm-associated infectious diseases tend to become chronic. We reported Myricetin (Myr), a kind of flavonoid widely distributed in plants, inhibited *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* biofilm formation. In this study, we demonstrated 8 kinds of flavonoids for biofilm inhibition in *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans*. First, 8 kinds of flavonoids were selected to investigate the influence of *Escherichia coli* K-12 strain for biofilm formation. As a result, we found flavonoid A can inhibit biofilm formation more effectively than Myr. Transmission electron microscopy demonstrated that the flavonoid A inhibited the production of curli at low concentration than Myr. Real time PCR and Western blotting analysis indicate that these flavonoids inhibited expression levels of curli related genes and proteins. In addition, flavonoid also reduce biofilm formation in *Streptococcus mutans* UA159 strain. These result suggest that flavonoids have a potential for anti-biofilm drugs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-79 唾液マイクロバイオームに対する IgA の認識

---

○影山 伸哉, 竹下 徹, 朝川美加李, 柴田 幸江, 山下 喜久  
九大 院歯 口腔予防

【目的】口腔には膨大な数の細菌が複雑な微生物生態系を構築し生息しており, う蝕や歯周病のみならず肺炎や肥満といった全身の健康状態にも影響を与えることが報告されている. 一方で, その細菌種構成や恒常性がどのように制御されているかについては不明である. そこで我々は IgA が口腔マイクロバイオーム (細菌叢) の制御に及ぼす可能性について検討を行った.

【方法】本研究では健康な 26 歳から 61 歳の成人男女 8 名に対し, 唾液採取を行った. それぞれの唾液検体に含まれる口腔細菌を, Allophycocyanin (APC) で蛍光標識された抗 IgA 抗体によって染色し, セルソーターを用いて IgA が結合した細菌 (IgA +細菌) と IgA が結合していない細菌 (IgA-細菌) に分離した. 分離した細菌から DNA を抽出した後, 細菌共通配列であるプライマー 8F, 338R を用いて 16S rRNA 領域 (V1-V2 領域) の遺伝子を網羅的に増幅した. 増幅断片の塩基配列を次世代シーケンサー Ion PGM を用いて解読し, IgA +細菌と IgA-細菌の同定を行った.

【結果】各検体における IgA +細菌の割合は平均  $83.8 \pm 2.8\%$  であり, ほとんどの細菌に IgA が結合していることが明らかとなった. 一方で, IgA 結合指数を用いて主要な細菌種の IgA 結合度を比較したところ, 各検体の細菌構成や唾液中の IgA 濃度に関わらず *Fusobacterium periodonticum* や *Lautropia mirabilis* にはほとんどの対象者で IgA が結合していなかった.

【結論】本研究より, 健康な成人の口腔マイクロバイオームにおける IgA の結合特異性が明らかとなり, IgA が口腔マイクロバイオームの制御に影響を与える可能性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## IgA-recognition against salivary microbiome

---

○Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Shibata Y, Yamashita Y  
Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Numerous bacteria inhabit and construct a complex but stable ecosystem in the oral cavity, and are involved in the progression of dental caries and periodontitis, as well as systemic disorder such as pneumonia. However, the regulation of their homeostasis remains unclear. In this study, we focused on immunoglobulin A (IgA) secreted into saliva, and investigated the relationship between IgA and oral microbiome. Stimulated saliva was collected from 8 healthy individuals (26-61 years old). Their salivary bacteria were stained with APC-labelled anti-human IgA, and sorted into IgA-negative bacteria and IgA-positive bacteria by cell sorter. The bacterial DNA was extracted from each pre- and post sorting sample, and their bacterial composition was determined by 16S rRNA gene sequencing analysis using the next generation sequencer, Ion PGM. Most of the salivary bacteria ( $83.8 \pm 2.8\%$ ) were bound by IgA, whereas 3 OTUs corresponding to *Fusobacterium periodonticum*, *Lautropia mirabilis*, and *Veillonella atypica* were characteristically uncoated with IgA in saliva of the most individuals, regardless of the concentration of IgA, age, and sex. These results revealed the specificity of IgA-recognition against oral microbiome in healthy adults and suggested that IgA regulated the homeostasis of oral microbiome.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-80** *Streptococcus pneumoniae* のコリン結合タンパク質 CbpJ は肺炎発症における病原因子として働く

---

○後藤 花奈, 山口 雅也, 広瀬雄二郎, 住友 倫子, 中田 匡宜, 川端 重忠

阪大 院歯 口腔細菌

---

*Streptococcus pneumoniae* は mitis 群レンサ球菌に属し、健常な小児の上咽頭から主に検出される。一方、肺炎や中耳炎、菌血症、髄膜炎などの主な原因菌である。コリン結合リピートを有する本菌の菌体表層タンパク質は、細胞壁に含まれるコリンとの結合により、菌体表層に局在する。これまで、複数種のコリン結合タンパク質 (Cbp) の生物学的機能が報告されてきたが、病態発症への関与について不明な点が多い。本研究では、ゲノムデータベースより機能未知のコリン結合タンパク質 CbpJ を選出し、*S. pneumoniae* の病原性に果たす役割を検討した。

コンピテンス刺激ペプチドを用いた形質転換により、*S. pneumoniae* TIGR4 株の *cbpJ* 遺伝子をスペクチノマイシン耐性遺伝子と置換し、*cbpJ* 欠失株を作製した。肺炎モデルとして、野生株もしくは *cbpJ* 欠失株を ICR マウス (6 週齢, メス) に経鼻感染させ、感染後 14 日間のマウス生存率を比較したところ、*cbpJ* 欠失株感染マウスは、野生株感染マウスと比較して有意に高い生存率を示した。また、感染 24 時間後の肺胞洗浄液における菌数を比較した結果、*cbpJ* 欠失株感染マウスでは、野生株感染マウスと比較して、肺胞洗浄液中の菌数は減少した。さらに、経鼻感染 24 時間後にマウスの全肺を摘出し、HE 染色による組織像を観察した。野生株感染マウスの肺組織像では、肺胞構造の破壊や、多量の炎症性細胞の浸潤が認められた。一方、*cbpJ* 欠失株感染マウスの肺組織像では、肺胞構造が保たれており、炎症性細胞の浸潤が少なかった。

以上の結果から、*S. pneumoniae* の CbpJ は肺炎発症に寄与する病原因子であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **The choline binding protein CbpJ of *Streptococcus pneumoniae* contributes to pathogenicity of pneumonia**

---

○Goto K, Yamaguchi M, Hirose Y, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S

Dept Oral and Mol Microbiol, Grad Sch Dent, Osaka Univ

---

*Streptococcus pneumoniae*, belonging to the mitis group of streptococci, mainly colonizes on the nasopharynx of healthy children and is known to be a major cause of pneumonia, bacteremia, and meningitis. Several different pneumococcal choline-binding proteins (cbps) are localized on cell surfaces and act as virulence factors, though the roles of some remain unknown. We selected CbpJ, a functionally unknown choline-binding protein, from the genome database and investigated whether it contributes to the bacterial virulence of *S. pneumoniae*.

To investigate the role of CbpJ, a *cbpJ* deletion mutant of *S. pneumoniae* was constructed. We intranasally infected ICR mice (female, 6 weeks old) with TIGR4 wild-type and *cbpJ* mutant strains, and recorded survival up to 14 days after infection. *cbpJ* mutant strain-infected mice showed a significantly higher survival rate as compared to the wild-type-infected group. Furthermore, at 24 hours after infection, mutant strain-infected mice showed a significantly lower bacterial burden in bronchoalveolar lavage fluid. In addition, histological examinations of extirpated lungs showed that the wild-type strain induced extensive inflammatory cell infiltration and structural destruction, as compared to moderate inflammation caused by the *cbpJ* mutant strain.

These results indicate that CbpJ functions as an *S. pneumoniae* virulence factor.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-81 *emm12* 型 A 群レンサ球菌のタンパク質コード領域における一塩基多型の分布

○柴崎 真樹<sup>1</sup>, 渡辺 孝康<sup>2</sup>, 中川 一路<sup>3</sup>, 春日井昇平<sup>1</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 インプラント・口腔再生

<sup>2</sup>東大 院農 食の安全セ 食品病原微生物

<sup>3</sup>京大 院医 微生物感染症

【背景・目的】A 群レンサ球菌(以下 GAS)は, ヒトにおいて咽頭炎や皮膚炎, そして時に劇症型感染症といった幅広い臨床型を特徴とする重要な病原細菌である. 本菌では, 菌体表面 M タンパクをコードする *emm* 遺伝子の塩基配列による分類法が流行と相関し, 有用とされてきた. その一方で, 近年 GAS ゲノム上の二成分制御遺伝子に生じた一塩基多型(SNP)により, 非劇症型と考えられてきた *emm89* 型株において病原性を増した一部の群が流行を起こしたとの報告がある. 本研究では, 劇症型が多く報告される *emm* 型の一つである *emm12* 型に着目し, 劇症型株と非劇症型株のゲノム上に生じている変異を抽出・比較し, 劇症型に寄与する変異の探索を行った. 【方法】公共データベースより *emm12* 型 196 株のショットガンゲノム配列, および参照株として HKU360 株の完全ゲノム配列を取得した. 各株のショットガン配列を参照株ゲノムに対しマッピングし, タンパク質コード領域 (CDS) における SNP を抽出した. その中から, 劇症型株に特異的な SNP, あるいは非劇症型株より劇症型株で保有率が高い SNP を同定し, これらの SNP がアミノ酸置換を伴うものであるかを調べた. 【結果】合計 33,272 箇所の塩基において 196 株のいずれかで SNP が検出された. 参照株の 1,923 個の CDS のうち 184 個の, 3,443 箇所の塩基で, SNP 保有率が非劇症型株より劇症型株において高かった. このうち 39 個の CDS はファージ関連タンパク質をコードしていた. さらに, その 39 個のうち 8 個は  $\phi315.2$  上に存在していて, いずれも非同義置換を伴う SNP を含むとともに, 一つの CDS には劇症型株に特異的な SNP が 2 個あった. 【考察】 $\phi315.2$  上にはスーパー抗原である *ssa* 病原遺伝子をコードする CDS が存在する. 今回,  $\phi315.2$  上に SNP が劇症型株特有に見られ, このことが非同義置換性にアミノ酸配列の改変を生じさせることで  $\phi315.2$  上の病原性関連遺伝子の発現に影響を及ぼしている可能性が示唆された. 【利益相反】利益相反状態にはありません.

## Distribution of single nucleotide polymorphisms in protein-coding regions of *emm12* *Streptococcus pyogenes*

○Shibasaki M<sup>1</sup>, Watanabe T<sup>2</sup>, Nakagawa I<sup>3</sup>, Kasugai S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Implantol Regen Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Cent for Food Safety, Grad Sch Agric Life Sci, Univ of Tokyo

<sup>3</sup>Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med

Group A *Streptococcus* (GAS), a human pathogen, causes a variety of diseases. The *emm* gene has been used as a standard for typing GAS as it correlates with prevalence. However, a certain lineage of *emm89*, thought to be less prevalent, showed an upsurge in prevalence due to single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the coding sequences (CDSs) of two-component systems. In this study, we compared the SNPs among invasive and non-invasive strains of *emm12* GAS. We downloaded shotgun genomes of 196 strains, and a reference complete genome of HKU360. We performed mapping and extracted SNPs in the CDSs. We identified SNPs which are, specific to invasive strains, or more prevalent among invasive than non-invasive strains. We determined 33,272 polymorphic sites. SNPs at 3,443 sites in 184 of 1,923 CDSs were more frequent among invasive than non-invasive strains. Of these 184, 39 CDSs were phage-related, including 8 on a prophage  $\phi315.2$  where all included non-synonymous SNPs. One of these 8 CDSs harbored 2 SNPs specific to invasive strains. The prophage  $\phi315.2$  includes a CDS encoding the superantigen *ssa*. Our finding suggested that non-synonymous SNPs in  $\phi315.2$  may have influenced the expression of virulence related genes this prophage carries.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-82 自己溶菌に伴い放出される肺炎球菌の菌体内病原因子の同定と分子解析

---

○永井 康介<sup>1</sup>, 土門 久哲<sup>1,2</sup>, 前川 知樹<sup>1,2</sup>, 山口 雅也<sup>3</sup>, 川端 重忠<sup>3</sup>, 寺尾 豊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物

<sup>2</sup>新潟大 院医歯 高口機教研セ

<sup>3</sup>阪大 院歯 口腔細菌

---

**【目的】**肺炎球菌性肺炎が重症化すると、肺組織が傷害を受けることが報告されている。当研究室では、肺炎球菌が自己溶菌して菌体内毒素である Pneumolysin (Ply) を漏出することで、肺組織傷害を引き起こすことを明らかにした。しかしながら、Ply 以外にも多くの因子が、肺炎球菌から自己溶菌依存的に漏出され、肺炎球菌性肺炎の重症化に関与する可能性が推察される。本研究では、肺炎球菌から漏出する菌体内病原因子を検索した。**【方法と結果】**はじめに、自己溶菌により放出される病原因子として、肺炎球菌の染色体 DNA を考えた。肺炎球菌野生株 (D39 株) 培養上清中の DNA を定量した後、エタノール沈殿にて抽出した。得られた DNA を野生型マウス (WT) および、TLR3, TLR7 および TLR9 いずれにも不応性のマウス (3d) から採取した腹腔マクロファージ培養培地に添加し、一定時間後の上清中の炎症性サイトカイン濃度を ELISA 法にて定量した。その結果、添加群では WT および 3d 腹腔由来マクロファージにおける、炎症性サイトカイン産生量が有意に増加した。この結果から、炎症を誘導する因子は DNA ではないことが明らかとなった。次に、漏出した DNA に結合しているタンパク質が炎症を誘導しているのではないかと推察した。抽出した DNA をポリアクリルアミドゲルにて電気泳動を行い、得られたバンドを質量分析法で同定したところ、Elongation factor Tu, Chaperone protein DnaK および Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase と決定された。これらのタンパク質のリコンビナント体を作製し、腹腔マクロファージ培養培地に添加したところ、炎症性サイトカイン産生量が増加した。**【考察】**肺炎球菌の自己溶菌により、菌体内の各種タンパク質が DNA に結合した状態で放出され、宿主の免疫細胞に作用することで、炎症反応を誘導している可能性が示唆された。今後は、本研究にて同定したタンパク質が作用する受容体を検索する予定である。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Investigation of intracellular pathogenic factor released by of *Streptococcus pneumoniae*

---

○Nagai K<sup>1</sup>, Domon H<sup>1,2</sup>, Maekawa T<sup>1,2</sup>, Yamaguchi M<sup>3</sup>, Kawabata S<sup>3</sup>, Terao Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

---

**Objectives:** *Streptococcus pneumoniae* is a leading cause of bacterial pneumonia. Our previous study demonstrated that *S. pneumoniae* autolysis-dependently releases pneumolysin (Ply), a potent intracellular toxin, which subsequently leads to lung injury. We hypothesized that pneumococcal autolysis induces the leakage of additional intracellular virulent factors which could mediate the pathogenicity of *S. pneumoniae*.

**Methods and Results:** First, we collected and purified the fraction of pneumococcal DNA and its associate proteins which were released from *S. pneumoniae* autolysis by using pneumococcal culture supernatant. And then, we separated the fraction by SDS-PAGE and subjected to mass spectrometry. The LC-MS/MS analysis identified elongation factor Tu (Tuf), Chaperone protein DnaK (DnaK), and Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) as these DNA-associate proteins. ELISA assay showed that recombinant (r)Tuf, rDnaK, and rGAPDH induced significantly higher levels of IL-6 in mouse peritoneal macrophages as compared with untreated cells. **Discussion:** These findings suggested that *S. pneumoniae* excessively induces host inflammation by the leakage of intracellular proteins. Further investigations will be needed to identify receptors for these proteins.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

### **P1-83 糖鎖関連酵素阻害剤が *Tannerella forsythia* の糖蛋白質に及ぼす影響**

---

○堀江 俊, 猪俣 恵, 引頭 毅, 村上 幸孝

朝日大 歯 口腔微生物

【目的】我々は現在までに歯周病原細菌の1つである *Tannerella forsythia* (*Tf*) の主要外膜蛋白質 OmpA 様蛋白質に O 結合型の GlcNAc とシアル酸を有していること, またその糖鎖がレクチンを介した宿主細胞への付着に寄与することを明らかにしてきた。しかしながら, *Tf* において OmpA 様蛋白質をはじめとする蛋白質の糖鎖修飾が本菌の性質に及ぼす影響については明らかにされていない。本研究では, 糖鎖関連酵素阻害剤が *Tf* の増殖および菌体蛋白質にどのような影響を及ぼすかについて調べることとした。【材料と方法】菌株は *Tf* ATCC 43037 株 (WT), *Tf* OmpA 様蛋白質欠損株  $\Delta 1331$  を用いた。増殖への影響は, TSB 培地に GlcNAcase 阻害剤である PUGNAc と Thiamet G, GlcNAc 転移酵素阻害剤である BADGP と OSMI-1, シアル酸転移酵素阻害剤である Lithocholyglycine, Soyasaponin I および 3-Fax-Peracetyl Neu5Ac, シアリダーゼ阻害剤である NADNA と Oseltamivir acid をそれぞれ添加し, 吸光度 OD<sub>600</sub> を測定することで解析した。また増殖した WT 菌体を超音波破碎し, SDS-PAGE による展開後, CBB 染色した。また糖鎖修飾への影響を検討するのに Pro-Q Emerald 染色を行った。【結果および考察】いずれの阻害剤も, WT および  $\Delta 1331$  の増殖に影響を及ぼさなかった。また GlcNAc 修飾酵素阻害剤では, OmpA 様蛋白質のバンドと 90 kDa のバンドを消失させたものがあつた。シアル酸修飾酵素阻害では, 泳動像に影響を及ぼさなかった。以上の結果から, 糖鎖関連酵素阻害剤は *Tf* の菌体増殖に関与しないが, 糖蛋白質の変化には関与することが考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### **Influence of glyco-enzyme inhibitors on glycoproteins of *Tannerella forsythia***

---

○Horie T, Inomata M, Into T, Murakami Y

Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent

*Tannerella forsythia* (*Tf*) possesses OmpA-like protein as a major outer membrane protein. We have previously reported that OmpA-like protein of *Tf* is glycosylated with O-GlcNAc and sialic acid. However, influence of glyco-enzyme inhibitors on glycoprotein including OmpA-like protein is unclear. In this study, we examined influence of glyco-enzyme inhibitors on bacterial growth and glycosylations of cellular proteins. *Tf* ATCC 43037 (wild type) and OmpA-like protein deficient mutant  $\Delta 1331$  were cultured in sTSB containing glyco-enzyme inhibitor involved in O-GlcNAc and sialic acid modification. Bacterial growth was monitored by measuring OD<sub>600</sub>. Whole-cell lysates were prepared and separated by SDS-PAGE. All of inhibitors showed no effect on bacterial growth. When O-GlcNAcylation inhibitors were added, OmpA-like protein (40-kDa band) and 90-kDa band disappeared. In contrast, sialylation inhibitors showed little effect. These findings suggest that glyco-enzyme inhibitors may affect glycosylation of cellular proteins of *Tf*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-84 EBVによる歯周病の発症・進展機序の解明 —EBVのLMP1はNF- $\kappa$ Bを活性化し歯肉上皮細胞からのIL-8産生を誘導する—

---

○渡辺 典久<sup>1,2</sup>, 小池 亮<sup>2,3</sup>, 早田真由美<sup>2,4</sup>, 金子 忠良<sup>3</sup>, 佐藤 秀一<sup>1</sup>, 今井 健一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 保存 III

<sup>2</sup>日大 歯 細菌

<sup>3</sup>日大 歯 口腔外科

<sup>4</sup>日大 歯 摂食嚥下

---

【目的】我々は歯周病変部からEBVが検出されること、歯周病原菌が潜伏EBVを再活性化することを報告してきた。しかし、EBVがどのように病態形成に関与しているのかに関しては世界的に報告がない。最近、EBVが歯肉上皮細胞にも感染すること、EBVの膜蛋白遺伝子 Latent membrane protein(LMP)や再活性化因子 BZLF1等の発現と歯周病の進行度とが関連していることが報告された。そこで今回、LMPの発現は炎症性サイトカインを誘導することで、歯周病の進展に関与しているのではないかと推察し実験を行った。【結果】LMP1の導入により、IL-1 $\beta$ 、IL-8及びTNF- $\alpha$ のmRNA発現上昇が認められた。特にIL-8mRNAの発現は顕著で、LMP1は導入量、及び時間依存的に大量のIL-8産生を誘導した。また、LMP1はNF- $\kappa$ Bの活性化すること、変異型I $\kappa$ B $\alpha$ がLMP1誘導性IL-8産生を抑制することが認められた。のTRAFとTRADD結合領域はNF- $\kappa$ Bの活性化に関与しているが、両部位を変異させた $\Delta$ LMP1の発現においては、IL-8の産生が認められなかった。【考察】我々は、EBVが歯肉線維芽細胞からIL-6とIL-8を誘導することを報告しているが、LMP1により歯肉上皮から産生される炎症性サイトカインも歯周病の進展に関与していることが示唆された。最近、ウイルスの関与を含めた新しい歯周病の病因論：modern periodontitis pathogenesis modelが提唱されている。EBV関与機構の解明は、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周病発症機序の解明に繋がる可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## EBV-LMP1 promotes production of IL-8 through NF- $\kappa$ B signaling in gingival epithelial cells: its potential implication in periodontitis progression

---

○Watanabe N<sup>1,2</sup>, Koike R<sup>2,3</sup>, Hayata M<sup>2,4</sup>, Kaneko T<sup>3</sup>, Sato S<sup>1</sup>, Imai K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral, Nihon Univ Sch Dent

<sup>4</sup>Dept Dysphagia, Nihon Univ Sch Dent

---

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease that causes the destruction of periodontal tissues and alveolar bone, is among the most prevalent infectious diseases in the world. Recently, a positive association has been reported between periodontitis and EBV infection. We reported that EBV DNA was more frequently detected in patients with deeper probing depths sites than in those with shallow probing depths sites or healthy control. However, despite the important it has not been understood that molecular mechanisms how EBV affects pathogeny and progression of periodontal disease. Since recently study reported that oral epithelial cells of patients with chronic periodontal disease are detected EBV-encoded latent membrane protein1 (LMP1), we investigated effects of LMP1 on the expression of IL-8 in human oral epithelial cells. We found that expression of LMP1 could markedly induce production of IL-8 in Ca9-22 cells. Dominant negative I $\kappa$ B $\alpha$  inhibited LMP1-induced NF- $\kappa$ B activity and IL-8 production. Thus, NF- $\kappa$ B confers a potent regulatory role in LMP1-induced production of IL-8 in Ca9-22 cells. In addition, both the TRAF-binding CTAR1 and TRADD-interacting CTAR2 domains of LMP1 were necessary for LMP1-induced production of IL-8 in the cells. These results suggested that EBV LMP1 contributes to progression of periodontal diseases. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-85 インプラント細菌汚染モデルを用いた除染効果の検討

---

○安松香奈江<sup>1,2</sup>, 成田 由香<sup>1</sup>, 長 環<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>1</sup>, 有田 健一<sup>1</sup>, 田崎 園子<sup>1</sup>,  
池崎晶二郎<sup>1</sup>, 城戸 寛史<sup>2</sup>, 田中 芳彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物化学 感染生物

<sup>2</sup>福歯大 咬合修復 口腔インプラント

---

インプラント治療は予知性の高い欠損補綴の手段として確立されており、長期的に高い成功率が認められている。一方でインプラント周囲炎の有病率をメタ分析で調べたところ、埋入されたインプラント本数の12.4%~43.3%がインプラント周囲炎に罹患していたとの報告がある (Zitsmannら, 2008年)。インプラント周囲炎は、歯周病原細菌により引き起こされる炎症性病変とされており、インプラント周囲粘膜の発赤、腫脹、ならびにインプラント周囲骨の破壊を特徴とする慢性感染症である。インプラント周囲炎に罹患しているインプラント体からは、慢性歯周炎の活動部位から高頻度に検出されるRed Complexに加え、その他の慢性歯周炎に関わるグラム陰性桿菌の検出が報告されている。これまでインプラント周囲炎の治療法は、非外科的療法と外科的療法に大別され多くの報告がなされているが、どの方法が有用であるかは明らかになっていない。いずれにしても、汚染したインプラント体表面に付着した歯石や細菌性プラークの除去が最も重要であると考えられている。我々はまずTiプレートに培養した歯周病原細菌を付着させ、表面の細菌量を測定する実験モデルを作製した。次にその実験モデルを用いて、歯周病原細菌が付着したTiプレートおよびZrO<sub>2</sub>プレート表面に対して、臨床で高頻度に使用されるエアアブレーション、Er-YAGレーザー照射、チタンブラシ刷掃を行い、in-vitroにおける除染効果について比較検討を行ったので概要を報告する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Basic study on decontamination effectiveness using implant bacterial contamination model

---

○Yasamatsu K<sup>1,2</sup>, Narita Y<sup>1</sup>, Cho T<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1</sup>, Arita K<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Ikezaki S<sup>1</sup>, Kido H<sup>2</sup>,  
Tanaka Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll

---

Dental implants have become well-established as highly reliable prosthetic devices for missing teeth, and they have demonstrated an excellent long-term success rate. However, a meta-analysis of the prevalence of peri-implant disease found that peri-implantitis occurs in 12.4% to 43.3% of the total number of installed implants (Zitsmann et al, 2008). Peri-implantitis is defined as an inflammatory lesion caused by a peri-implant, periodontopathic bacterial infection. Peri-implantitis is a chronic infection similar to chronic periodontitis, and is characterized by redness of the peri-implant mucosa, swelling, and destruction of peri-implant bone. Many modes of therapy for peri-implantitis have been reported, but it is still unclear which measures are effective. Therefore, we created a titanium surface infection model for studying bactericidal efficacy in vitro by coating titanium and zirconia plates with cultured periodontopathic bacteria, and then performed either air abrasion, Er-YAG laser irradiation, or brushing with a titanium brush. We report our findings herein.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-86 *Porphyromonas* 属内における CRISPR と免疫対象の関係

○渡辺 孝康<sup>1</sup>, 柴崎 真樹<sup>2</sup>, 中川 一路<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東大 院農 食の安全セ 食品病原微生物

<sup>2</sup>医科歯科大 院医歯 インプラント・口腔再生

<sup>3</sup>京大 院医 微生物感染症

【背景・目的】歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* では、プラスミドやプロファージについてこれまでのゲノム解析からの報告がない。本菌のゲノム上には細菌の獲得免疫を担う clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) が存在し、この領域のスペーサー配列が免疫対象の配列となる。しかし我々の先行研究では、本菌のスペーサーの大部分はデータベース上に相対する配列が存在しないため推定できないが、一部の推定された配列については主として *P. gingivalis* 自身のゲノム上にあり、同領域が本来の外來性の核酸の排除機構として機能しているのかは不明である。今回、*Porphyromonas* 属細菌 36 種から CRISPR 領域を抽出して免疫対象の推定を行った。【方法】*P. gingivalis* 51 株のゲノム配列を新規に取得し、既存の *P. gingivalis* 13 株および *Porphyromonas* 属細菌 35 種のゲノムデータと合わせて CRISPR 領域を抽出した。全スペーサーを、公共の塩基配列データベースおよび本研究で使用したゲノムに対する配列類似性検索に供した。【結果】既存の 4 種類と新規 14 種類の CRISPR を同定し、うち 15 種類の近傍には CRISPR 関連遺伝子群の存在を確認した。計 6,896 個のスペーサーのうち、*Porphyromonas* 属以外のゲノムを免疫対象とするものは 74 個とごく少数だったが、*Porphyromonas* 属ゲノムを対象とするものは 1,720 個あり、全体のおよそ 4 分の 1 を占めた。その中には、スペーサーの存在するゲノム自身を対象とするものと、種内の他のゲノムや他の種のゲノムを対象とするものが混在していた。【考察】*P. gingivalis* では接合伝達や自然形質転換により非自己 DNA が菌体内に侵入することが知られている。侵入した非自己 DNA が自己 DNA との間で組換えを生じ、種内の多様化につながるとすれば、本属の CRISPR は外來性遺伝子の排除だけでなく、非自己 DNA の侵入を制限するという別の機能でゲノム構造を維持していると考えられる。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Relationships between CRISPR and its immune targets in the genus *Porphyromonas*

○Watanabe T<sup>1</sup>, Shibasaki M<sup>2</sup>, Nakagawa I<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Cent Food Safety, Grad Sch Agric Life Sci, Univ of Tokyo

<sup>2</sup>Div Oral Implantol Regen Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med

For a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*, there have been no reports about plasmids and bacteriophages, whereas clustered interspaced short palindromic repeat (CRISPR) is on its genomes and remembers immune targets as spacers. However, in our previous study, potential targets were not found for most of *P. gingivalis* spacers, but the identified targets were mainly located in their own genomes although their roles are unknown. Here we newly sequenced 51 *P. gingivalis* genomes to identify CRISPR arrays and their targets, with genomes of 13 *P. gingivalis* and other 35 *Porphyromonas* species. We identified previously known 4 and novel 14 CRISPR types and their associated genes for 15 types. Among 6,896 spacers, those with targets in the genomes other than the genus *Porphyromonas* were 74 in number. Meanwhile, those with targets in the genus *Porphyromonas* were 1,720 and accounted for almost a quarter of all. The latter included those with targets in the own genomes, in other genomes of the same species, and in the genomes of other species. Considering that introduction of exogenous DNA would be involved in *P. gingivalis* diversification, CRISPR arrays in the genus *Porphyromonas* may interfere such exogenous DNA to avoid recombination between genome and it. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

## P1-87 口唇口蓋裂患者におけるデンタルプラーク細菌叢のメタトランスクリプトーム解析

○船橋 健太<sup>1</sup>, 渡辺 孝康<sup>2</sup>, 芝 多佳彦<sup>3</sup>, 村本 慶子<sup>1</sup>, 小川 卓也<sup>1</sup>, 中川 一路<sup>4</sup>,  
竹内 康雄<sup>3</sup>, 和泉 雄一<sup>3</sup>, 森山 啓司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正

<sup>2</sup>東大 院農 食の安全セ 食品病原微生物

<sup>3</sup>医科歯科大 院医歯 歯周病

<sup>4</sup>京大 院医 微生物感染症

【目的】口唇裂・口蓋裂は、我が国において500人に1人の割合で発症するとされる比較的頻度の高い先天性疾患である。口唇裂・口蓋裂患者は、幼少期より口腔衛生指導を受ける機会が多いに関わらず、う蝕罹患率が高いとの報告がなされているが、その原因は未だ明らかになっていない。そこで、本研究では、口唇裂・口蓋裂患者における高いう蝕罹患率の原因が口腔細菌叢の細菌組成ならびに細菌遺伝子組成の違いにあるとの仮説を立て、高速シーケンサーを用いて細菌叢のメタトランスクリプトーム解析を行った。【方法】被検者として、本学矯正歯科外来を受診している患者から、非症候群性の口唇口蓋裂患者7名（CLP群）、エッジワイズ装置未装着の健常患者4名（対照群）を抽出した（男児6名、女児5名、年齢7歳～15歳、平均10.7歳）。被検者の全歯面からデンタルプラークを採取し、高速シーケンサーを用いて取得した16S rRNAの塩基配列より細菌組成を、またmRNAの塩基配列より細菌遺伝子組成に関する解析を行った。【結果】細菌叢の細菌組成を解析したところ、CLP群からは127菌種、対照群からは111菌種が検出された。内訳として、CLP群においては一部の細菌種に存在率の高い菌種を認めたものの、大多数の菌種で対照群との間に類似した傾向を認めた。また、細菌遺伝子組成においても、CLP群と対照群で類似した傾向を示した。【考察】本研究では、健常者と比較し口唇口蓋裂患者の口腔細菌叢においては、細菌組成や細菌遺伝子組成に関する明確な違いは認められなかった。今後、鼻腔細菌叢を含めたより広範な解析が必要であると考えられる。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Metatranscriptomic analysis of dental plaque microbiota in cleft lip and palate patients

○Funahashi K<sup>1</sup>, Watanabe T<sup>2</sup>, Shiba T<sup>3</sup>, Muramoto K<sup>1</sup>, Ogawa T<sup>1</sup>, Nakagawa I<sup>4</sup>, Takeuchi Y<sup>3</sup>,  
Izumi Y<sup>3</sup>, Moriyama K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Maxillofac Ortho, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Cent Food Safety, Grad Sch Agric Life Sci, Univ of Tokyo

<sup>3</sup>Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med

Cleft lip and/or palate is one of the most common congenital malformations in the orofacial region, of which incidence is reported to be one per 500 live births in the Japanese. Individuals with cleft anomaly generally have higher prevalence of caries than those without it. However, the causal factors are still unknown. Here, we carried out a metatranscriptomic analysis of dental plaque microbiota in those with and without cleft lip and palate (CLP). The subjects were recruited from orthodontic patients who visited our Dental Hospital. Dental plaque was collected from each subject, and total RNA in the plaque was extracted to determine its nucleotide sequences using a high-throughput sequencer. Then, the composition of bacteria and their genes were examined. From 16S rRNA sequence, we identified 111 and 127 bacterial species in those with and without CLP, respectively. In the composition, the abundances were different in several bacterial species between the two groups. In addition, gene composition based on mRNA was similar. Overall, the composition of bacteria and their genes in those with and without CLP was likely similar. However, nasal bacteria may affect oral bacterial microbiota, and further study will be required to investigate their interrelationships. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P1-88 乳酸濃度および pH の変動が *Veillonella atypica* の亜硝酸産生能に及ぼす影響**

---

○Dimas Prasetianto Wicaksono, 鷲尾 純平, 高橋 信博  
東北大 院歯 口腔生化

---

**Effect of lactate and pH on nitrite producing activity of *Veillonella atypica***

---

○Dimas Prasetianto W, Washio J, Takahashi N  
Dept Oral Ecol and Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

**Purpose:**

*Veillonella* species is one of the major bacteria in the oral cavity, and known to possess the ability of nitrite production from nitrate. Nitrate is abundant in human saliva and diet, especially green and yellow vegetables such as spinach, and converted to nitrite by oral bacteria, including *Veillonella*. Nitrite is known as antimicrobial reagent and utilized as a food preservative. The previous study showed an inhibitory effect on the growth of *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*, suggesting that nitrite can contribute to preventing oral diseases. However, there is a little information on the metabolic property of nitrite production, such as suitable environmental conditions for nitrite production. Therefore, this study aimed to clarify the effect of environmental factors such as lactate concentration and pH on the nitrite producing activity of *Veillonella* species.

**Materials and methods:**

*Veillonella atypica* ATCC 17744 was used throughout this study. This bacterium was cultured anaerobically in the medium containing 0.3% tryptone, 0.5% yeast extract, 1.26% sodium lactate. In the logarithmic phase, bacterial cells were harvested, washed thrice by 2 mM potassium phosphate buffer (PPB) (pH 7) containing 75 mM KCl, 75 mM NaCl and 5 mM MgCl<sub>2</sub> and re-suspended in the same buffer under anaerobic conditions. The reaction mixture for nitrite producing activity contained bacterial cell suspension (final optimal density at 660 nm = 1), 1 mM KNO<sub>3</sub> and 0–50 mM sodium lactate in 40 mM PPB at pH 5 or 7. After incubation aerobically at 37°C for 30 min, the reaction mixture was centrifuged, and the amount of nitrite in the supernatant was measured with Griess reagent kit. The experiments were run in triplicate.

**Results and conclusions:**

*Veillonella atypica* produced no nitrite in the absence of lactate. The nitrite producing activity was detected in the presence of ≥1 mM lactate at pH 5 and pH 7. Moreover, the nitrite production was 2–6.3 times higher at pH 5 than pH 7 ( $p < 0.05$  by t-test). These results indicate that lactate and acidic conditions enhance the nitrite producing activity of *Veillonella atypica*. It is suggested that in the oral cavity, *Veillonella* species can produce nitrite from dietary and salivary nitrate when foods are supplied to the oral cavity and the environment is acidified by lactate formation through carbohydrate metabolism by acid producing bacteria such as *streptococci*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P1-89 口腔接触アレルギーにおける粘膜局所での CD8<sup>+</sup> T 細胞の不活化**

---

○Hirunwidchayarat Worawalun, 古澤 慧美, Kang Siwen, 大野 建州, 永井 重徳,  
東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

---

**Site-specific inactivation of CD8<sup>+</sup> T cells in allergic contact stomatitis**

---

○Hirunwidchayarat W, Furusawa E, Kang S, Ohno T, Nagai S, Azuma M

Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ

---

**[Purpose]** Allergic contact stomatitis is a T cell-mediated, delayed-type hypersensitivity generated by contact exposure of an allergen to the oral mucosa. The oral mucosa and skin are covered by stratified squamous epithelium and develop diverse contact allergies, but the differences in immunopathology have not been clarified. In this study, we compared hapten-induced contact hypersensitivity (CH) of the buccal mucosa (BM) and the ear skin (ES) CH, and observed several characteristics of BM CH. **[Methods]** DNFB was painted onto the shaved abdominal skin on days 0 and 1 for sensitization and then DNFB was topically applied onto either ES or BM on day 5 for challenge. Histological and flow cytometric analyses of local tissues were performed. **[Results and Discussion]** BM-challenge induced more rapid and more severe inflammation than the ES challenge, with abundant granulocytes and CD8<sup>+</sup>T cell infiltration and epithelium damages during 12 to 24h. However, these inflammatory responses diminished quickly at 36 h. BM tissues contained much higher ratios of CD8<sup>+</sup>T cells within T cells and most are CD62L<sup>-</sup>CD44<sup>lo-hi</sup> memory-type cells. BM-recruiting CD8<sup>+</sup>T cells showed impaired IFN- $\gamma$  (a critical effector cytokine), greater PD-1 (an immune checkpoint receptor), and comparable Ki-67 (a proliferation marker) expression. These results suggest that the recruiting-proliferating CD8<sup>+</sup>T cells could not differentiate into effector T cells and turned to exhausted cells at the local site. This finding may explain the rapid recovery of the BM from severe inflammation. Preferentially greater expression of B7-H1 (PD-1 ligand) was observed in the BM epithelium. Preferentially greater expression of B7-H1 (PD-1 ligand) was observed in the BM epithelium and infiltrating T cells close to the epithelial layer highly expressed PD-1. Transfer of sensitized T cells into B7-H1/PD-1 double knockout mice further accelerated CH as compared with the transferred wild type mice, suggesting the occurrence of PD-1:B7-H1-mediated immune regulation at the local site. Our results may facilitate the understanding of the unique features of contact allergies in the oral mucosa.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-90 口腔カンジダ症に対して T 細胞応答を誘導する抗原探索

---

○田崎 園子<sup>1,2</sup>, 長 環<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>1</sup>, 成田 由香<sup>1</sup>, 橋本麻利江<sup>1</sup>, 池崎晶二郎<sup>1</sup>,  
有田 (森岡) 健一<sup>1</sup>, 安松香奈江<sup>1</sup>, 小島 寛<sup>2</sup>, 田中 芳彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物

<sup>2</sup>福歯大 成長発達 障害者

---

口腔カンジダ症は、超高齢化社会に突入した現代日本の歯科臨床において最も一般的に遭遇する真菌感染症である。原因となる *Candida albicans* (*C. albicans*) は主に口腔・皮膚・腸管に存在する常在真菌である。口腔カンジダ症の治療は現在、抗真菌薬による薬物療法が一般的である。しかし、抗真菌薬に対する耐性菌の出現や、有病者の増加による他の薬物の不利益な相互作用の発生など、効率的な治療にはいくつかの問題点が指摘されている。すなわち、*C. albicans* に対する新しい治療戦略を構築することが求められ、そのためには宿主の免疫系と *C. albicans* との相互作用を深く理解することが必要である。*C. albicans* はこれまでに Th17 細胞との関連が示唆されており、Th17 細胞を欠く患者では、その病態が悪化することが知られているが、その免疫機構の詳細については、まだ知られていない。本研究の目的は、口腔カンジダ症における T 細胞誘導の責任抗原を調べることである。そこで我々は、野生型マウス (C57BL/6) のリンパ節から単離した CD4<sup>+</sup>T 細胞による *C. albicans* 由来成分に対するサイトカイン発現を *in vitro* にて評価した。その結果、我々はいくつかの *C. albicans* 由来成分が CD4<sup>+</sup>T 細胞を Th17 細胞に分化誘導することを見出したので報告する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Identification of the major T cell component of *Candida albicans* in oral candidiasis

---

○Tasaki S<sup>1,2</sup>, Cho T<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1</sup>, Narita Y<sup>1</sup>, Hashimoto M<sup>1</sup>, Ikezaki S<sup>1</sup>, Arita-Morioka K<sup>1</sup>,  
Yasumatu K<sup>1</sup>, Kojima H<sup>2</sup>, Tanaka Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Sect Dent for the Disability, Dept Oral Growth and Dev, Fukuoka Dent Coll

---

Oral candidiasis is caused by *Candida albicans* which is a normal commensal of the oral cavity, skin, and gastrointestinal tract. Treatment for oral candidiasis is currently only drug therapy with antifungal drugs. However, the increased drug-resistant strains cause a major obstacle to efficient treatment. Therefore, it is necessary to deeply understand interactions between the host immune system and *C. albicans* to construct novel therapeutic strategies. The aim of this study is to investigate the mechanism of T cell induction in oral candidiasis. We evaluated the cytokine expression by CD4<sup>+</sup> T cells isolated from lymph nodes of wild type mice (C57BL/6) after immunization with *C. albicans* components to evaluate the immune response *in vitro*. We found that some *C. albicans* components induced Th17 differentiation. We hope to discuss about the induction of T cell response in the regulation for oral candidiasis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-91 マウスにおける *P. gingivalis* 及び *A. actinomycetemcomitans* 外膜ヴェシクルの複合的経鼻免疫による粘膜ワクチン効果

---

○平山 悟, 泉福 英信, 中尾 龍馬

感染研 細菌 1

【目的】 グラム陰性細菌は、細胞外へ外膜ヴェシクル(Outer membrane vesicle; OMV)と呼ばれるナノサイズの小胞を放出する。OMV は種々の細胞構成要素を含有し、構造安定性も高いため、新規ワクチン抗原として応用が期待されている。本研究では、主要な歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の OMV をマウスに経鼻免疫し、抗体産生を評価した。【方法】 OMV は定常期初期の細菌の培養上清から精製し、6 及び 9 週令のマウスに経鼻免疫した。11 週令のマウスより血液や唾液、鼻腔洗浄液を採取し、抗体産生量を whole-cell ELISA によって評価した。【結果と考察】 両 OMV の複合免疫によって、各細菌特異的な抗体産生を同時に誘導できることが明らかになった。特に、Pg-OMV 単独投与では少なかった Pg 特異的な抗体の産生量が、Aa-OMV を併用するとその投与量依存的に増大し、1 µg(タンパク質当量)で最大となった。加えて、Pg-OMV 単独投与では、IgG1 が産生される一方で IgG2a はほとんど産生されなかったが、Aa-OMV との併用によりどちらも顕著に産生された。これらの特長から、Pg-OMV 単独投与では乏しい Pg 特異的な抗体の産生を Aa-OMV との併用で増強することができ、複合系の優位性が示唆された。一方で、Aa-OMV は単独でもその投与量に依存して Aa 特異的な抗体産生を誘導し、高いセルフアジュバント活性を有することが明らかになった。以上から、異なる細菌に由来する OMV を複合的に用いた粘膜ワクチン法により、同時に 2 つの主要な歯周病細菌の感染を予防できる可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Mucosal vaccine effect in mice by intranasal coadministration with outer membrane vesicles of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans*

---

○Hirayama S, Senpuku H, Nakao R

Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis

Gram-negative bacteria commonly produce structurally stable and spherical nanostructures, so-called outer membrane vesicles (OMVs). Because OMVs include a variety of bacterial components, OMV is expected to apply for a novel vaccine antigen. We herein examined OMVs derived from two major periodontopathic bacteria, *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) in the context of the mucosal immunological properties in mice. While Pg-OMV alone failed to efficiently elicit Pg-specific antibodies, Aa-OMV alone consistently elicited Aa-specific antibodies in mice, suggested that Aa-OMV had stronger self-adjunctivity. Coadministration with Pg-OMV and Aa-OMV significantly improved the production of Pg-specific IgG in serum as well as SIgA at mucosal surfaces (oral and nasal cavities), as compared to the case vaccinated with Pg-OMV alone. Analysis of IgG subclass in serum revealed that coadministration with Pg-OMV and Aa-OMV induced significantly higher levels of both Pg-specific IgG1 and IgG2a, as compared to the case of Pg-OMVs alone, in which we detected a low level of Pg-specific IgG1, but not IgG2a at all in serum samples. Taken together, we suggest that the combination of Pg-OMVs and Aa-OMVs would be applicable for development of novel mucosal vaccine that elicits protective immunity against two different periodontopathic bacteria at once.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-92 樹状細胞とマクロファージへの *Candida albicans* の IL-1 $\beta$ 産生誘導**

---

○長谷部 晃, 佐伯 歩, 柴田健一郎

北大 院菌 口腔分子微生物

*Candida albicans* (Ca) は二形性常在真菌であり, 口腔カンジダ症などの原因病原体である. IL-1 $\beta$  はインフラマソームの活性化により成熟型となり分泌される炎症性サイトカインである. 本研究では, Ca がマクロファージ (M $\phi$ ) ならびに樹状細胞 (DC) に IL-1 $\beta$  産生を誘導するメカニズムを調べた.

細胞は, マウス由来の DC (XS106) ならびに M $\phi$  (J774.1) を用いた. Ca はウリジン要求性の CAI4 株, 正常な栄養要求性の pACT1-GFP 株を用いた (アバディーン大学・Dr Brown より分与). 両細胞を LPS でプライミング後に CAI4 あるいは pACT1-GFP で刺激すると, pACT1-GFP は XS106 ならびに J774.1 に IL-1 $\beta$  産生を誘導した. 一方, CAI4 は XS106 には誘導活性を示したが, J774.1 には示さなかった. 細胞表面の TLR2 ならびに TLR4 は, 程度の差はあるが両細胞ともにどちらも発現していた. また, pro-IL-1 $\beta$  の mRNA 発現は, LPS によるプライミングによるものであった. 両細胞への両株の IL-1 $\beta$  産生誘導活性は caspase-1 依存的であり, Ca 刺激は細胞死を誘導した. 両細胞刺激時の両 Ca 株の形態変化は, pACT1-GFP は酵母型から菌糸型に変化し, CAI4 は酵母型のままであった. XS106 では, Ca が酵母型でも菌糸型でも IL-1 $\beta$  産生が誘導されたが, J774.1 では酵母型のままで IL-1 $\beta$  産生が誘導されず, 菌糸型に誘導することで IL-1 $\beta$  産生が誘導された. さらに, 両 Ca 株死菌体刺激で, XS106 では Ca の形態に無関係に IL-1 $\beta$  産生が誘導され, J774.1 では両 Ca 株共に IL-1 $\beta$  産生を誘導しなかった. XS106 ならびに J774.1 の IL-1 $\beta$  産生誘導には, Ca の直接的な接触が重要であった. 以上のことから, DC では Ca の形態・生死に関わらず Ca と接触していれば IL-1 $\beta$  の産生が誘導されるが, M $\phi$  では Ca と接触しているだけでなく, Ca が生きていて菌糸型に変化することが必要であることがわかった.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **IL-1 $\beta$ -induced production-inducing activity of *Candida albicans* toward dendritic cells and macrophages**

---

○Hasebe A, Saeki A, Shibata K

Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

*Candida albicans* (Ca) is one of fungi which possesses the ability to perform a dimorphic switch from a yeast to hyphae. In this study, we examined the activity of Ca to induce IL-1 $\beta$  production by macrophages (M $\phi$ ) and dendritic cells (DC). The cells used were XS106 and J774.1 as DC and M $\phi$ , respectively. CAI4 and pACT1-GFP strains of Ca were kind gifts from Dr A. J. Brown (Univ Aberdeen, UK). CAI4 is a uridine auxotrophic and auxotrophy of pACT1-GFP is normal. XS106 and J774.1 were primed for 4 h with LPS and then stimulated for 16 h with both strains. pACT1-GFP induced IL-1 $\beta$  production by both XS106 and J774.1, whereas CAI4 induced IL-1 $\beta$  production by XS106, but not by J774.1. The IL-1 $\beta$  production-inducing activities of pACT1-GFP and CAI4 toward XS106 and J774.1 were caspase-1 dependent and they induced cell death in both XS106 and J774.1. Induction of pro-IL-1 $\beta$  mRNA expression was not dependent on Ca stimulation but LPS priming. It was found that IL-1 $\beta$  production by DC in response to Ca was independent of the morphology and as well as the viability, whereas the production by M $\phi$  was dependent on morphological change from yeast to hyphal form.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-93 mild heat stress 下の *Candida albicans* バイオフィームと宿主免疫応答の解析**

---

○長 環, 池崎晶二郎, 田崎 園子, 安松佳奈恵, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一,  
永尾 潤一, 田中 芳彦

福歯大 口腔歯 機能生物

ヒトの皮膚・粘膜に常在する *Candida albicans* は, インプラントやカテーテル等の体内留置医療器具に高い親和性を示しバイオフィームを形成しやすい. そのため集中治療時や要介護時に日和見感染症を起こすハイリスク真菌として臨床上注意を払われる. 本来バイオフィームは薬剤が効きにくい. 我々は温熱療法のような外部からの熱刺激を想定した mild heat stress (39C) 下で, *C. albicans* のバイオフィーム形成に対する抗真菌薬の効果と作用機序の異なる3種で比較検討し, 中でも細胞壁合成阻害薬による増殖阻止濃度は mild heat stress 下で有意に下がることを示した (Cho T et al. 2012). この結果は発熱性, 非発熱性カンジダ症を含めた抗真菌薬投与時の効果的な薬剤治療法を示唆している. 現在我々は *C. albicans* による常在から発症に変化するメカニズムを微生物側と宿主側の双方向から解析を試みている. mild heat stress 下でバイオフィームを形成した *C. albicans* で特徴的に発現変動を示す遺伝子をマイクロアレイ法や RT-PCR 法で選出した. さらにこれらの遺伝子発現と相関する菌体由来成分の T 細胞分化誘導能の検討を行っているので報告する.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Host immune responses induced by molecules from *Candida albicans* biofilm formed under mild heat stress**

---

○Cho T, Ikezaki S, Tasaki S, Yasumatsu K, Narita Y, Arita-Morioka K, Nagao J,  
Tanaka Y

Dept Func Biosci, Fukuoka Dent Coll

The commensal fungus *Candida albicans* forms complex biofilms on medical implants and intravascular catheters. The formation of *C. albicans* biofilm is associated with infections at both the mucosal and systemic sites. Exogenous mild heat stress has been widely used as a physical therapy for treatment of muscle injury and malignant tumors. On the other hand, endogenous mild heat stress (39C) that occurs during bacterial infections induced optimized cytokine expression and pathogen elimination. We tested in vitro efficacy of continuous mild heat stress on the antifungal susceptibility of this organism biofilm formation (Cho T et al. 2012). The results suggested that mild heat stress would be valuable for increasing the effectiveness of low concentration of antifungal agents against *C. albicans* biofilm formation. On the other hand, we focus on the mechanism of mucocutaneous immunity to both *C. albicans* commonly being on the mucosal surfaces and *C. albicans* causing disease. Here, we report whether some molecules from *C. albicans* biofilm formed under mild heat stress drive as epitopes recognized by Th17 cell TCRs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-94 *Porphyromonas gingivalis* LPS の生合成に関わる 4 つの糖転移酵素遺伝子の発見

---

○庄子 幹郎, 佐藤 啓子, 雪竹 英治, 内藤真理子, 中山 浩次

長大 院医歯薬 微生物

---

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* は、O 多糖の組成の異なる 2 種類の LPS 分子を有している。それぞれ A-LPS および O-LPS と呼ばれている。A-LPS はジンジパインを含む様々な病原タンパク質を細胞表面にアンカーする役割を有している。したがって、A-LPS 生合成機構を解明することは重要である。現在、2 つの LPS の生合成機構の詳細については不明な点が多い。【方法】 LPS の生合成に関与する遺伝子を同定するために糖転移酵素をコードする遺伝子に着目し、これらの変異株の性状解析を行った。【結果】 *gtfC* および *gtfF* 変異株はスムーズ型 LPS を有するものの A-LPS は欠損していた。また、*gtfD* 変異株は A-LPS 生合成が減弱すること、*gtfE* 変異株はラフ型 LPS を有していた。GtfD および GtfE タンパク質間には類似性があるので、*gtfC gtfD* 二重変異株を構築した。この変異体はラフ型 LPS を有していた。さらに、GtfD タンパク質は Rhamnosyltransferase として知られる大腸菌 WbbL タンパク質の機能的ホモログであることを見出した。【考察】 GtfE タンパク質は O-LPS および A-LPS の両方の合成に必須であること、GtfC および GtfD タンパク質は、2 種類の LPS を合成するためにそれぞれ特異的に機能していることを示唆した。さらに、GtfF タンパク質は A-LPS 合成に必須であるが、菌株特異的である可能性を見出した。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Discovery of four genes encoding glycosyltransferase involved in the lipopolysaccharide synthesis of *Porphyromonas gingivalis*

---

○Shoji M, Sato K, Yukitake H, Naito M, Nakayama K

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

*Porphyromonas gingivalis* can synthesize two different types of LPS molecules, designated as O-polysaccharide-containing LPS (O-LPS) and anionic (A<sup>-</sup>) polysaccharide-containing LPS (A-LPS). As A-LPS can anchor various virulent proteins to the cell surface, elucidating the mechanism of A-LPS synthesis is important. To identify the genes involved in LPS synthesis, we focused on uncharacterized genes encoding glycosyltransferase, and characterized these mutants. We found that deficiency in the genes *gtfC* and *gtfF* resulted in A-LPS deficiency. In addition, a *gtfD* gene deficient mutant exhibited partially abnormal A-LPS synthesis, and a *gtfE* gene deficient mutant exhibited rough-type LPS. We then constructed a *gtfC* and *gtfD* double mutant, since there is much similarity between the two proteins; this mutant possessed rough-type LPS. Furthermore, cross-complementation analyses revealed that the GtfD protein is a functional homolog of the *Escherichia coli* WbbL protein, which is a rhamnosyltransferase. These results suggested that the GtfE protein is essential for the synthesis of both O-LPS and A-LPS, and that GtfC and GtfD proteins may work together to synthesize the two kinds of LPS. In addition, the GtfF protein was determined to be essential for A-LPS synthesis, although this may be achieved in a strain-specific manner.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-95 実験的歯周炎モデルマウスを用いた病態を惹起する菌体成分の同定

---

○成田 由香, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 池崎晶二郎, 田崎 園子, 安松香奈江,  
長 環, 田中 芳彦

福歯大 機能生物 感染生物

---

歯周病は口腔細菌により引き起こされる慢性感染症であり, 発症と進行には免疫応答が関与する. 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関与する. 歯周病患者の口腔内にはヘルパー T 細胞が多く存在することが知られており, 歯周病原細菌そのものがヘルパー T 細胞を分化する抗原であることが示唆されている. これまでに歯周病原細菌のコンポーネントを単発的に用いてヘルパー T 細胞の分化への影響を検討した報告はあるものの, 歯周病原細菌の抗原性に着目して包括的に解析した研究は見当たらない. そこで, 重度歯周炎に関連する Red Complex に属する歯周病原細菌 *Tannerella forsythia* ならびに *Treponema denticola* を対象とし, 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. 骨髄由来樹状細胞を抗原提示細胞とし, 抗原として分画した各種菌体成分を用いて, 歯周病細菌感染マウスより単離した CD4<sup>+</sup>T 細胞を *in vitro* でヘルパー T 細胞への分化誘導を行い, 主要な抗原部位を有する菌体成分の探索を行ったので報告する.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Identification of pathogen's components inducing T cell response in experimental periodontitis model mice

---

○Narita Y, Nagao J, Arita-Morioka K, Ikezaki S, Tasaki S, Yasumatsu K, Cho T,  
Tanaka Y

Div Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll

---

Periodontal diseases are chronic infections caused by oral pathogenic bacteria, and immune response contributes to their onset and progression. CD4<sup>+</sup> T cells knockout mice are resistant to periodontal infections, and immune response of T cells contribute to its clinical condition. It is known that CD4<sup>+</sup> T helper cells exist in the oral cavity of periodontal disease patients, and periodontal pathogens themselves are considered as antigens in CD4<sup>+</sup> T helper cell differentiation. However, there is a little known about periodontal pathogen's components inducing immune response of T helper cells. Therefore, we conducted a comprehensive analysis how Red complex bacteria, such as *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola*, associated with severe periodontitis affected T helper cell differentiation. We divided Red complex bacteria into several components to explore periodontal pathogen's epitopes in T helper cell differentiation. Indeed, we used bone marrow-derived dendritic cells as an antigen presenting cell while using fractionated bacterial components as antigens, and stimulated naive T cells isolated from wild-type mice to differentiate into T helper cell subsets *in vitro*. We identified periodontal pathogen's candidates for inducing immune response of T helper cells. We hope to discuss about the induction of T cell response for periodontal diseases.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-96 歯原性角化嚢胞の起源についての考察 —メラノサイトの発現—

---

○磯村まどか<sup>1</sup>, 佐藤 伸明<sup>1</sup>, 本田 由馬<sup>1</sup>, 加藤 郁郎<sup>1</sup>, 小森 敦夫<sup>1</sup>, 河合 遼子<sup>1,2</sup>,  
吉田 和加<sup>1,2</sup>, 杉田 好彦<sup>1,2</sup>, 久保 勝俊<sup>1,2</sup>, 前田 初彦<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 口腔病理

<sup>2</sup>愛院大 未来口腔医療研究セ

---

【目的】歯原性角化嚢胞(OKC)はWHO2017の改定により角化嚢胞性歯原性腫瘍から歯原性角化嚢胞に改称された顎骨内病変である。OKCは再発をきたすことや、症候群性に発生することなど他の歯原性嚢胞性疾患とは異なる特徴が知られているが、その起源や発生機序の詳細は明らかとなっていない。そこで本研究ではメラノサイトの発現を検索して、OKCの起源について考察した。

【方法】基底細胞母斑症候群を伴うもの(BCNS)22症例と伴わない非症候群性のもの(SPO)88症例を含むOKC110症例を対象とした。また、すべての症例を0~29歳の若年者群(J群)と30~70歳の中高齢者群(A群)に分類した。免疫染色にはMelan-A, HMB45, EGFR, Gli2, Mib1抗体を用いた。また特殊染色としてシュモール反応染色を行った。【結果】EGFR, Gli2およびMib1においては殆ど全ての症例で陽性像が認められた。シュモール反応, Melan-A, HMB45染色の陽性率において有意差は認められなかったものの、SPOと比較してBCNSで高率に認められた。また、これらの染色においてJ群とA群を比較すると、J群で有意に高率に陽性像が確認された。【結論】メラニン沈着やメラノサイトがKCOTのA群と比較してJ群において優位に高率に認められた。このことから、J群のOKCの上皮組織はメラノサイトを有する神経堤由来の細胞であると考えられ、A群では歯の萌出後のマラッセの上皮遺残といったメラノサイトを含まない上皮細胞が由来となることが示唆された。また、BCNSにおいてメラニン沈着やメラノサイト陽性率が高率であったことから遺伝子変異の関与が示唆された。さらに、EGFR, Gli2およびMib1の免疫染色から、OKCの上皮は増殖活性が高いと考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## A consideration on the origin of odontogenic keratocyst—Existence of melanocytes in odontogenic keratocyst—

---

○Isomura M<sup>1</sup>, Sato N<sup>1</sup>, Honda Y<sup>1</sup>, Kato I<sup>1</sup>, Komori A<sup>1</sup>, Kawai R<sup>1,2</sup>, Yoshida W<sup>1,2</sup>, Sugita Y<sup>1,2</sup>,  
Kubo K<sup>1,2</sup>, Maeda H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Pathol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Res Inst Adv Oral Sci, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

---

Odontogenic keratocyst (OKC) is one of the commonest odontogenic cyst in the jaw bone. OKC is classified as a cyst, while it has clinical features like tumor. The purpose of this study was to reveal the origin of odontogenic keratocyst. One hundred and ten OKC were used, and 88 cases showed sporadic type (SPO), and 22 cases involved basal cell nevus syndrome (BCNS). All samples were divided into 54 cases of juvenile group (0-29 years old) and 56 cases of advanced group (30-70 years old). We researched these OKC with Melan-A, HMB45, EGFR, Gli2, Mib1 Immunohistochemical and Schmorl's reaction staining. The positive rate of Schmorl's reaction, Melan-A and HMB45 staining were significantly higher in J group than A group. These rates were also higher in BCNS than SPO. It was conceivable that the origin of OKC in juvenile was different from elder one. It means that the tumor epithelial in juvenile arose from neural crest cell with melanocytes, and elder one arose from odontogenic epithelial cell without melanocyte like epithelial rest of Malassez. And genetic alterations seemed to be involved in the distribution of melanin pigmentation and melanocytes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-97 ラットの皮下組織内に埋入した吸収性縫合糸 Vicryl に対し出現するマクロファージ

○中安 喜一<sup>1,2</sup>, 松田紗衣佳<sup>2</sup>, 森山 敬太<sup>2</sup>, 正村 正仁<sup>1,2</sup>, 辻極 秀次<sup>3</sup>, 中野 敬介<sup>4</sup>,  
長塚 仁<sup>4</sup>, 大須賀直人<sup>1,2</sup>, 川上 敏行<sup>5</sup>

<sup>1</sup>松歯大 院 口腔健康分析, <sup>2</sup>松歯大 歯 小児歯, <sup>3</sup>岡山理大 理 組織病態

<sup>4</sup>岡大 院医歯薬 口腔病理病態, <sup>5</sup>松歯大 院 病態解析

【目的】吸収性縫合糸 Vicryl (V) は生体内局所で吸収・消失するとされているが、時として肉芽腫形成が報告されている。そこで今回、ラット皮下組織における反応を追究した。【材料と方法】実験には Wister 系ラットを用い全身麻酔下において背部皮下組織内に束状の V を埋入した。その後、最長 6 か月まで埋入部に増殖した組織を病理組織学的に検討した。【結果】2 週例では、埋入部には核が円形または楕円形のマクロファージ (MΦ) が集簇していた。MΦ の集塊はほぼ円形または複数の円が重なった形を呈していた。この集塊の中央部には多くの白く抜けた大きさも形も様々な空隙があった。さらに異物巨細胞が MΦ の集塊の中に散見された。これらの細胞の集塊の周囲には線維芽細胞と膠原線維が薄い被膜を形成していた。1 か月例における埋入部の MΦ の集塊の外形は 2 週例とほとんど変わらず、中央部には白く抜けた大きさも形も様々な空隙もあった。異物巨細胞は 2 週例よりも増加していた。MΦ の集塊の周囲の線維性被膜は、2 週例のものあまり変化していなかった。3 か月例における埋入部には細胞質が淡明化した MΦ が集簇していた。MΦ の集塊の中に異物巨細胞が多少あった。さらに MΦ の集塊の中には線維芽細胞が入り込み、その一部は塊を形成していた。6 か月例では埋入部に形と大きさが不定形の MΦ の集塊が小さくなっていった。その集塊の周囲には線維芽細胞の増殖と膠原線維形成があり、一部では瘤状に癩痕化していた。【考察】吸収性縫合糸の生体に対する挙動や組織反応の詳細は明らかにされていない部分がある。吸収性縫合糸 V に対しては MΦ 主体の肉芽組織の増殖があった。これは生体内で一部が貪食によって処理される為、MΦ や異物巨細胞が出現するものと推察された。これらの細胞の出現や一部での癩痕形成の反応は、臨床で少なくともその異物巨細胞の出現や癩痕の報告例と合致する。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Macrophages appearing to bioabsorbable suture thread Vicryl embedded in the rat subcutaneous tissue

○Nakayasu Y<sup>1,2</sup>, Matsuda S<sup>2</sup>, Moriyama K<sup>2</sup>, Shoumura M<sup>1,2</sup>, Tsujigiwa H<sup>3</sup>, Nakano K<sup>4</sup>,  
Nagatsuka H<sup>4</sup>, Osuga N<sup>1,2</sup>, Kawakami T<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Oral Health Anal, Matsumoto Dent Univ Grad Sch, <sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Histopathol, Okayama Univ Sci, <sup>4</sup>Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>5</sup>Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch

We examined the subcutaneous tissue reactions in rats to bioabsorbable suture thread using histopathological methods. Using Wister rats, Vicryl, a bioabsorbable suture thread, was embedded into the subcutaneous tissue and histopathological examination was carried out till 6 months. Histopathological examination showed proliferation of granulation tissues. The majority of cells in the granulation tissues were macrophages and giant cells. The macrophage had the nucleus, round and/or oval in shape. Macrophages made a lump, and there was foreign body giant cells. Fibroblasts were also observed surrounding the proliferating granulation tissues to the embedded bioabsorbable suture thread. The results suggest that the embedded bioabsorbable suture thread is not only fabricated to undergo absorption but also for phagocytosis by macrophages and foreign body giant cells. The form of the macrophage changed over time. Furthermore, the foreign body giant cells were gradually disappeared. Then, the fibroblasts gradually increased and got in the lump of the macrophage. There was the increase of the macrophages based granulation tissue for V. Finally, the tissues were changed to scar in some cases. This tissue reaction is consistent with the reported clinical cases of foreign body giant cell appeared.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-98 KIR3DL2/HLA クラス I の結合で誘導される T 細胞分化が骨破壊に及ぼす影響について

---

○矢原 寛子<sup>1</sup>, コールンバーガーサイモン<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 分子情報伝達

<sup>2</sup>カーディフ大 感染免疫

【目的】骨髄炎をはじめとする骨疾患には、HLA (Human Leucocyte Antigen) class I と、免疫細胞における KIR3DL2 (HLA と結合する受容体) の発現が関与している。これまで我々は、各種骨疾患において、炎症性サイトカインを産生する Th17 細胞で KIR3DL2 の産生が高まることを証明し (Hatano, 2016, *Arthritis Rheumatol*), KIR3DL2 と HLA class I の結合を阻害する抗体が免疫細胞の IL-17 産生を抑制することを証明した (Hatano, 2015, *J Immunol*)。現在我々は、両者の結合が T 細胞分化を誘導し骨破壊に影響を及ぼすという仮説を有しており、その実験的検証を行った。

【方法】KIR3DL2 や特定の HLA class I を遺伝子導入した細胞株を樹立し、両者の結合強度を測定する実験系を構築した。また、KIR3DL2 の分子構造解析を行った。

【結果】KIR3DL2 と特定の HLA class I の結合が Th17 細胞の分化を促進することを示した。また、KIR3DL2 が疾患に関係する HLA class I により強く結合することを明らかにした。更に、KIR3DL2 の D0 ドメインに HLA class I への結合部位が存在し、D0 ドメインを特異的に阻害すると炎症状態が抑制されることも明らかにした。

【結論】KIR3DL2 と HLA class I の相互作用が T 細胞の活性化に重要な役割を果たし、骨破壊の病態に中心的役割を果たしていることを証明した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## KIR3DL2 binding to HLA class I licences pathogenic T cell differentiation in bone diseases

---

○Yahara H<sup>1</sup>, Kollnberger S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Inst Infect Immunol, Cardiff Univ

**Purpose:** Bone diseases such as osteomyelitis is associated with HLA class I and with increased numbers of CD4<sup>+</sup> T cells expressing KIR3DL2. We found that KIR3DL2 expression is enriched on a subset of Th17 cells (Hatano, 2016, *Arthritis Rheumatol*) and that inhibiting KIR3DL2 binding to HLA class I inhibits IL-17 production (Hatano, 2015, *J Immunol*). We hypothesise that HLA class I binding to KIR3DL2 promotes T cell differentiation and that targeting this interaction could be therapeutically beneficial.

**Methods:** We developed KIR3DL2 expressing cell lines, HLA class I tetramers, KIR3DL2Fc Fusion proteins and KIR3DL2CD3ε expressing Jurkat T reporter cells which produce IL-2 when stimulated.

**Results:** We show that cellular activation induces KIR3DL2 and KIR3DL2 binding to specific HLA class I promotes Th17 differentiation. We also studied the molecular structure of KIR3DL2. KIR3DL2 binds more strongly to disease-related HLA class I. Mutagenesis of key contact residues of KIR3DL2 abolished or enhanced binding to HLA class I.

**Conclusion:** Our results suggest both a general role for KIR3DL2/HLA class I interactions in determining the fate of activated T cells and a central role in the differentiation of pathogenic Th17 in bone disease.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-99 Fam20C 過剰発現マウスにおける骨組織の変化について

---

○廣瀬 勝俊<sup>1</sup>, 宇佐美 悠<sup>1</sup>, 佐藤 淳<sup>1</sup>, 社領 美紀<sup>1</sup>, 大家 香織<sup>1</sup>, 小守 壽文<sup>2</sup>,  
豊澤 悟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔病理

<sup>2</sup>長大 院医歯薬 細胞生物

---

【背景】Fam20C は, S-X-E/pS モチーフを有する多くの分泌蛋白質のリン酸化を行う Golgi キナーゼである。骨組織では, Fam20C は骨芽細胞や骨細胞に高発現し, S-X-E/pS モチーフを有する骨基質蛋白質をリン酸化する事が報告されている。Fam20C 欠失マウスを用いた研究では全身の低リン血症による影響により, 局所の骨組織における Fam20C の役割を検討することは困難である。本研究では, 骨組織における Fam20C によるリン酸化の意義を検討するため, 骨芽細胞が Fam20C を過剰発現する遺伝子改変マウス (Fam20C-Tg) を作製し, 骨組織の変化を解析した。【方法】I 型コラーゲンプロモーター (2.3kb) の下流に Fam20C cDNA を繋いで, 骨芽細胞が Fam20C を過剰発現する Fam20C-Tg を作製した。Fam20C-Tg から採取した長管骨や頭蓋骨を用いて, 形態学的解析や細胞培養により解析を行った。【結果と考察】長管骨の pQCT 解析では, Fam20C-Tg の海綿骨の骨量と骨密度の低下が認められたが, 皮質骨の骨量と骨密度に有意な変化を認めなかった。形態学的解析では, Fam20C-Tg の海綿骨は骨細管構造に乏しく, 皮質骨では不規則な層板構造と骨細管構造の乱れが認められた。長管骨における遺伝子発現解析により, Fam20C-Tg の I 型コラーゲン mRNA 発現は低下しており, この発現低下が Fam20C-Tg の骨形成抑制に関与すると考えられた。頭蓋骨の初代骨芽細胞培養による石灰化実験では, Fam20C-Tg マウス由来のものが野生型より石灰化レベルが亢進していたが, I 型コラーゲン mRNA 発現に有意な変化はなかった。以上から, 骨組織における Fam20C によるリン酸化は, 骨形成の石灰化過程に重要であることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The role of Fam20C in bone formation

---

○Hirose K<sup>1</sup>, Usami Y<sup>1</sup>, Sato S<sup>1</sup>, Sharyo M<sup>1</sup>, Oya K<sup>1</sup>, Komori T<sup>2</sup>, Toyosawa T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

【Background】Family with sequence similarity 20-C (Fam20C) is an evolutionary-conserved molecule that is highly expressed in mineralized tissues. Recent studies identified Fam20C as Golgi-localized protein kinase, which phosphorylates secretory proteins with S-X-E/pS motifs, including non-collagenous extracellular matrix proteins. However, the role of Fam20C and phospho-proteins phosphorylated by Fam20C on bone formation is still unclear. In this study, we investigated the role of Fam20C on bone formation using osteoblast-specific Fam20C transgenic mice (Fam20C-Tg). 【Materials and methods】We generated the transgenic mice that Fam20C expression is driven by a 2.3-kb pro- $\alpha 1$  (I) collagen promoter, which is active in osteoblasts. Skeletal samples of Fam20-Tg were analyzed in vivo and in vitro. 【Results and Discussion】pQCT analyses revealed Fam20C-Tg had lesser trabecular bone volume and density, compared to those of WT. Histological analyses showed Fam20C-Tg had abnormal canalicular structure and lamellar pattern in the bone. In tibiae of Fam20C-Tg, type I collagen mRNA level was significantly decreased than those in WT. In vitro mineralization assay, the primary osteoblasts isolated from Fam20C-Tg increased induction of mineralization, compared to those of WT. These results indicate that Fam20C plays an important role in bone formation and mineralization by phosphorylation of bone matrix proteins.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-100 LPS 長期刺激によるヒト歯肉上皮細胞での老化およびオートファジー遺伝子の発現解析

○高井 理衣<sup>1</sup>, 虎谷 斉子<sup>2</sup>, 植原 治<sup>2</sup>, 大西 綾<sup>3</sup>, 吉田 光希<sup>3</sup>, 佐藤 惇<sup>3</sup>,  
西村 学子<sup>3</sup>, 安彦 善裕<sup>3</sup>, 太田 亨<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 健康科学研

<sup>2</sup>北医療大 歯 保健衛生

<sup>3</sup>北医療大 歯 臨床口腔病理

【目的】歯周炎の病態解明のため、Lipopolysaccharide (LPS)を培養液に添加し、細胞の反応を観察する研究がこれまで多数報告されてきた。これら LPS 添加の実験系は、通常 24 時間程の短期刺激によるものが多く、歯周炎の多くが慢性的な感染によることを考慮すると長期間の刺激が望ましい。しかし、LPS を添加し長期培養を行うと細胞毒性が生じるため、細胞の生理的反応を観察することは困難である。最近我々は、LPS の間歇的刺激により 1ヶ月以上の長期培養を行う実験系を確立し、細胞の DNA メチル化変化について報告した。本研究では、歯周炎の病態に関わる歯周組織の遺伝子発現の全容を解明するため、長期培養の行える同実験系を用いて、*Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) 由来 LPS を長期添加し、ヒト歯肉上皮細胞(HGEPs) 遺伝子発現の網羅的解析を行った。【方法】HGEPs (CELLnTEC) を *P. g* 由来 LPS (1 µg/ml, ATCC33277, WAKO) で 3 日毎に刺激しながら 1ヶ月間培養した。コントロールには LPS の代わりに滅菌水を用いた。その後 DNA と total RNA を抽出し、DNA Microarray (Agilent technology) にて遺伝子発現のプロファイリング解析を行った。さらに、Pathway 解析 (Filgen) にて遺伝子の機能予測とネットワーク解析を行った。また、重要と思われる一部の遺伝子において Methylation-specific PCR (MSP) にて DNA メチル化解析を行った。【結果と考察】Microarray において、LPS により 2 倍以上の発現上昇がみられたのは 865 遺伝子、2 倍以上低下していたのは 777 遺伝子であった。Pathway 解析では、免疫や炎症の他、老化やオートファジーに関する 9 つの遺伝子ネットワークが見いだされた。中でも、特に興味深い老化やオートファジー遺伝子について DNA メチル化解析したところ高メチル化が認められた。以上から、LPS 長期刺激により免疫応答、炎症反応以外にも、老化やオートファジー遺伝子の DNA メチル化を介した遺伝子発現変化が生じることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Gene expression of senescence autophagy by long-term stimulation of LPS in human gingival epithelial cells

○Takai R<sup>1</sup>, Toraya S<sup>2</sup>, Uehara O<sup>2</sup>, Ohnishi A<sup>3</sup>, Yoshida K<sup>3</sup>, Sato J<sup>3</sup>, Nishimura M<sup>3</sup>,  
Abiko Y<sup>3</sup>, Ohta T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Res Inst Health Sci, Health Sci Univ Hokkaido

<sup>2</sup>Div Dis Control Mol Epidemiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

<sup>3</sup>Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

**Purpose:** Recently, we have established the long-term culture system with intermittent stimulation of Lipopolysaccharide (LPS), and we reported on epigenetic change of cells. In this study, in order to elucidate the full expression of gene expression of human gingival epithelial cells (HGEPs) in periodontitis, we analyzed gene expression and DNA methylation in HGEPs in long-term stimulation of LPS derived from *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*). **Materials & Methods:** The culture of HGEPs was repeated, alternating 3 days with *P. g* LPS (1 µg/ml, ATCC33277, WAKO) and 3 days without LPS for 1 month. Total RNA was extracted from the cells and we analyzed the microarray, pathway and quantitative real time PCR. DNA was extracted from the cells and analyzed by Methylation Specific PCR. **Results & Conclusion:** We found 865 upregulated genes and 777 downregulated genes caused by LPS in microarray. And, we identified nine gene networks on immunity, inflammation, senescence and autophagy in pathway. DNA of senescence and autophagy genes were methylated by MSP. These results suggest that long-term stimulation of LPS changed gene expressions of senescence and autophagy via DNA methylation. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-101 骨髄由来細胞の歯根膜ポリープにおける局所特有の線維芽細胞への移動と分化

---

○松田紗衣佳<sup>1,2</sup>, 正村 正仁<sup>1,2</sup>, 大須賀直人<sup>1,2</sup>, 辻極 秀次<sup>3</sup>, 中野 敬介<sup>4</sup>, 川上 敏行<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 小児歯, <sup>2</sup>松歯大 院

<sup>3</sup>岡山理大 理 生命科学, <sup>4</sup>岡大 院医歯薬

---

【目的】日常の歯科臨床において、齲蝕による髓床底穿孔は、根管治療時にしばしば遭遇する。穿孔が大きい場合には同部に肉芽組織が増殖し、ポリープを形成するが、その細胞がどこから供給されているか明確にされていない。そこで、当該の歯根膜部にみられる肉芽組織の構成細胞が当該部での細胞増殖ばかりでなく、骨髄の未分化間葉細胞の移動によることを明らかにした。【方法】実験には GFP 骨髄移植マウスモデルを使用した。マウスの上顎第一臼歯の髓床底部を穿孔した。m\_CT と病理組織学的に検討するとともに、GFP について免疫組織化学的にその動態を追究するとともに、GFP-S100A4, GFP-Runx2, GFP-CD31 について蛍光二重染色により検討した。

【結果と考察】m\_CT によって歯槽骨の吸収と歯根膜腔の拡大が生じていた。病理組織学的に、当該部には、若干の円形細胞と血管を伴う線維芽細胞が主体の肉芽組織が増殖していた。2 週では細胞間橋が明瞭な有棘細胞が増殖した肉芽の最表層に認められた。4 週以降では穿孔部より髓腔内に盛り上がった肉芽の最表層は、比較的きれいな重層扁平上皮で覆われていた。GFP の免疫染色では、当該部の肉芽組織内に GFP 陽性細胞が多数みられ、その細胞種の同定を行うために、蛍光免疫二重染色を行った結果、GFP-Runx2, GFP-S100 の蛍光免疫二重染色において、紡錘形の細胞に GFP と Runx2 両陽性であった。GFP-CD31 の蛍光二重染色では、形態学的に明瞭な血管において、GFP と CD31 両陽性の血管内皮細胞が認められた。このことから、線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞、血管が移植骨髄細胞由来であることがわかった。よって、歯根膜部に生じたポリープの増殖本態の肉芽組織は、骨髄由来の未分化間葉細胞が移動・分化すること、また同部の線維芽細胞はそれぞれの組織に特化した細胞に分化することを明らかにした。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Bone marrow derived cell migration and differentiation into locally specialized fibroblasts in the periodontal polyp

---

○Matsuda S<sup>1,2</sup>, Shoumura M<sup>1,2</sup>, Osuga N<sup>1,2</sup>, Tsujigiwa H<sup>3</sup>, Nakano K<sup>4</sup>, Kawakami T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Matsumoto Dent Univ Grad Sch

<sup>3</sup>Fac Sci, Okayama Sci Univ, <sup>4</sup>Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Perforation of floor of the dental pulp is often encountered during root canal treatment in routine clinical practice of dental caries. Granulation tissue consists of proliferating cells however their origin is not clear. Hence, this study utilized GFP bone marrow transplantation mouse model. The floor of the pulp chamber in maxillary first molar was perforated. Morphological assessment was carried out by micro CT and microscopy and GFP cell mechanism was further assessed by immunohistochemistry using double fluorescent staining with GFP-S100A4; GFP-Runx2 and GFP-CD31. Histopathological examination showed proliferation of fibroblasts with some round cells and blood vessels in the granulation tissue. Double immunofluorescent staining of GFP and Runx2 revealed that both proteins were expressed in spindle-shaped cells. Double immunofluorescent staining of GFP and CD31 revealed that both proteins expressed in vascular endothelial cells in morphologically distinct vessels. The results suggest that fibroblasts, periodontal ligament fibroblasts and blood vessels in granulation tissue were derived from transplanted-bone marrow cells. Thus, essential growth of granulation tissue in periodontal polyp was caused by the migration of undifferentiated mesenchymal cells derived from bone marrow, which differentiated into locally specialised fibroblasts.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-102 腫瘍溶解アデノウイルスと 5-FU との併用効果の検討

---

○金山 純<sup>1,2</sup>, 松田-柳川 彩<sup>1</sup>, 北村 哲也<sup>1</sup>, 北川 善政<sup>2</sup>, 東野 史裕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 口腔病理病態

<sup>2</sup>北大 院歯 口腔診断内科

---

【背景】現在、がんに対する一般的な治療法として用いられている化学療法は、現在までに優れた治療効果をもたらしてきたが、抗がん剤等に対して抵抗性を示す症例も多く報告されている。また、高濃度の抗がん剤は様々な副作用を引き起こすため、現状よりも低濃度での使用が望まれる。そのため、高濃度の抗がん剤と同様の効果を得るには、他の補助療法が必要とされている。一方、腫瘍細胞で選択的に増殖し細胞を溶解する腫瘍溶解ウイルスによるがん治療法は、高い治療効果と細胞選択性による副作用の低さが期待される。我々は、AU-rich element (ARE)を持つ mRNA の安定化システムに着目し、ARE-mRNA が安定化されているがん細胞で選択的に増殖できる腫瘍溶解アデノウイルスを開発した。本研究では、がん細胞に対する腫瘍溶解アデノウイルスと抗がん剤 5-FU との併用療法の効果を検討した。【材料と方法】HeLa 等のがん細胞を用いて、5-FU 処理により、ARE-mRNA を核外輸送・安定化する RNA 結合タンパク HuR の細胞質への局在をウエスタン法により検討した。腫瘍溶解アデノウイルス単独、5-FU 単独もしくは両者併用でがん細胞を処理し、XTT アッセイで解析することにより細胞死を検討した。【結果】腫瘍溶解アデノウイルスあるいは 5-FU 単独処理よりも、併用処理の方が、がん細胞死活性が高かった。また、5-FU 存在下で、HuR の細胞質局在が認められ、ARE-mRNA の安定化に寄与する可能性が示唆された。【結語】腫瘍溶解アデノウイルスは 5-FU と併用することにより、より高い腫瘍細胞溶解効果を持つことが示された。これは、5-FU 処理によって、HuR タンパクが細胞質に核外輸送され、ARE-mRNA が安定化し、腫瘍溶解アデノウイルスがより増殖したことによると考えられる。以上より、腫瘍溶解アデノウイルスと 5-FU との併用療法は有効ながん治療法になりうることを示している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Combination effect of oncolytic adenovirus with 5-FU

---

○Kanayama J<sup>1,2</sup>, Matuda-Yanagawa A<sup>1</sup>, Kitamura T<sup>1</sup>, Kitagawa Y<sup>2</sup>, Higashino F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

【Background】Chemotherapy has been used as a general treatment for cancer till date, but there are many cases indicating the resistance with various side effects. Therefore, another adjuvant settings are required to get the effective anticancer agent. In this study, we examined the combination effect an oncolytic adenovirus with anticancer agent 5-FU on cancer cell. 【Materials and Method】We treated HeLa by anticancer drug 5-FU to examine localization of cytoplasmic RNA-binding protein HuR which causes ARE-mRNA stabilization by Western blot. We had treated a cancer cell by an oncolytic adenovirus alone, 5-FU alone or both combination and examined cell death by analyzing it by XTT assay. 【Result】Our results showed that, combination therapy causes cancer cell more death compare to oncolytic adenovirus or 5-FU alone. In addition, 5-FU threated cancer showed the cytoplasm exportation of HuR and possibility to contribute to stabilization of ARE-mRNA. 【Conclusion】The oncolytic adenovirus was shown to have a higher neoplastic cell death effect in combination with 5-FU. Cytoplasmic exportation of HuR causes ARE-mRNA to stabilize by multiplying more tumor dissolution adenoviruses. Therefore, combination therapy oncolytic adenovirus with 5-FU might be an effective cancer cure.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-103 口腔扁平上皮癌において GLI-KRT17 連関は腫瘍細胞の増殖を促進する

---

○三上友理恵<sup>1</sup>, 藤井 慎介<sup>2</sup>, 永田 健吾<sup>2</sup>, 和田 裕子<sup>2</sup>, 長谷川佳那<sup>2</sup>, 安部みさき<sup>2</sup>,  
吉本 怜子<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>1</sup>, 清島 保<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御

<sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理

---

【目的】近年, Keratin 17 (KRT17) が口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) の腫瘍マーカーとして有用であると報告されているが, OSCC における KRT17 の機能は明らかにされていない。また, sonic hedgehog 経路の転写因子である GLI-1 と KRT17 がユーイング肉腫において腫瘍形成の過程で相互作用することが報告されたが, 上皮組織の悪性腫瘍ではその関連について明らかでない。そこで本研究は, OSCC における KRT17 の機能解析ならびに GLI を介した KRT17 の発現機構について明らかにすることを目的とした。【材料と方法】OSCC 生検病理組織標本 78 症例において, KRT17, GLI-1, GLI-2 および Cleaved caspase-3 の発現を免疫組織化学的に検討した。また, OSCC 細胞株において KRT17, GLI-1 および GLI-2 を高発現する HSC-2 細胞株における small interfering RNA (siRNA) および特異的阻害剤を用いた機能抑制実験を行い, GLI-KRT17 連関がアポトーシスに与える影響について検討した。【結果】OSCC 生検病理組織標本を用いて KRT17 の発現を検討したところ, 全ての症例において腫瘍部では KRT17 は高発現するが, 非腫瘍部では発現しなかった。HSC-2 細胞株において siRNA を用いて KRT17 をノックダウンすると, HSC-2 細胞株の残存細胞数が減少し, Cleaved caspase-3 陽性細胞数が増加した。また, HSC-2 細胞株において GLI-1 および GLI-2 をノックダウンすると, HSC-2 細胞の残存細胞数が減少し, GLI-1 および GLI-2 の特異的阻害剤による機能抑制により, アポトーシスが誘導された。この機能抑制による細胞数の減少は, KRT17 の過剰発現により部分的に回復した。さらに OSCC 生検病理組織標本において, 免疫組織化学的に KRT17 陽性腫瘍細胞における GLI-1 および GLI-2 の発現頻度は KRT17 陰性腫瘍細胞のこれらの発現頻度より高かった。【結論】KRT17 は OSCC において GLI-1 および GLI-2 により発現制御され, 抗アポトーシス作用を介して腫瘍細胞の増殖を促進する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Keratin17 expression, regulated by GLI, promotes tumor cell growth through the anti-apoptotic function in oral squamous cell carcinoma

---

○Mikami Y<sup>1</sup>, Fujii S<sup>2</sup>, Nagata K<sup>2</sup>, Wada H<sup>2</sup>, Hasegawa K<sup>2</sup>, Abe M<sup>2</sup>, Yoshimoto R<sup>2</sup>,  
Nakamura S<sup>1</sup>, Kiyoshima T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

**Purpose:** Keratin17 (KRT17) has been suggested as a potential diagnostic marker of squamous cell carcinoma including oral squamous cell carcinoma (OSCC). The current study was conducted to clarify the function of KRT17 and its expression mechanism in OSCC. **Methods:** Immunohistochemical analyses were carried out to examine the expression of KRT17, GLI-1, GLI-2 or cleaved caspase-3 in OSCCs. The expression of KRT17, GLI-1 or GLI-2 was investigated among OSCC cell lines, and effects of loss-of-function of KRT17 or GLI, using siRNA or inhibitor, on the cell growth of the OSCC cell line HSC-2 particularly with respect to apoptosis, were examined. **Results:** Immunohistochemical analyses of tissue specimens obtained from 78 OSCC patients revealed that KRT17 was not observed in non-tumor regions but was strongly expressed in tumor regions. Knockdown of KRT17 increased the number of cleaved caspase-3-positive cells, leading to reduction of the cell number. Loss-of-function of GLI-1 or GLI-2 also increased the apoptotic cell numbers. This inhibitory effect on cell growth was partially rescued by exogenous KRT17 expression. In the KRT17-positive regions in OSCCs, GLI-1 or GLI-2 was frequently detected. **Conclusions:** KRT17 promotes tumor cell growth through its anti-apoptotic effect as a result of the KRT17 overexpression by GLIs in OSCC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-104 腫瘍胞巣全体もしくは浸潤先端における E-cadherin および N-cadherin の発現程度を用いた口腔扁平上皮癌患者の予後予測

---

○本田 由<sup>1,2</sup>, 藤田 修一<sup>2</sup>, 池田 通<sup>3</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 麻酔

<sup>2</sup>長大 院医歯薬 口腔病理

<sup>3</sup>医科歯科大 院医歯 口腔病理

---

【目的】 上皮間葉転換(EMT)は口腔扁平上皮癌を含む癌の浸潤・転移において重要な現象である。特に、上皮細胞間接着分子 E-cadherin から間葉系細胞接着分子 N-cadherin への細胞表面マーカーの移行は cadherin switch と呼ばれ、癌細胞における EMT の有用な指標として注目されている。今回我々は、口腔扁平上皮癌における cadherin switch を免疫組織化学的に検討し、臨床情報と併せて統計解析することで口腔扁平上皮癌患者の新たな予後予測モデルの構築を試みた。【方法】 旧長崎大学歯学部附属病院口腔外科において 1983 年から 2002 年の間に口腔扁平上皮癌と診断された未治療患者の生検もしくは手術切除標本 76 症例を使用した。使用した症例のうち男性は 51 例、女性は 25 例、平均年齢は 64.8 歳であった。病理組織学的診断は 63 例が高分化型、8 例が中等度分化型、5 例が低分化型扁平上皮癌であった。患者は 2005 年まで経過観察され、経過観察期間中に 56 人が死亡した。各症例の病理組織切片に対して E-cadherin および N-cadherin 抗体を用いて免疫組織化学染色を施し、腫瘍胞巣全体もしくは浸潤先端における腫瘍細胞に対して各 cadherin の発現を評価した。【結果】 腫瘍胞巣全体における発現評価では、10 症例で E-cadherin が陰性化し、53 症例で N-cadherin が陽性化していた。浸潤先端における発現評価では、62 症例で E-cadherin が陰性化し、39 症例で N-cadherin が陽性化していた。患者の臨床情報と合わせてロジスティック回帰分析を行ったところ、N-cadherin 陽性かつ年齢 70 歳以上というモデルに当てはまる患者は有意に予後が悪く、また、腫瘍胞巣全体における評価法を用いた場合が最も効果的な予後予測モデルであることが見出された。【結論】 cadherin switch の指標として広く用いられている E-cadherin のみならず、N-cadherin も口腔扁平上皮癌患者の予後予測に重要な因子であること、および、浸潤先端に比べて評価しやすい腫瘍胞巣全体での評価が有用であることが示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Prognostic prediction of oral squamous cell carcinoma by E-cadherin and N-cadherin expression

---

○Honda Y<sup>1,2</sup>, Fujita S<sup>2</sup>, Ikeda T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Physiol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>2</sup>Dept Oral Pathol Bone Metab, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>3</sup>Div Oral Pathol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

In carcinoma cells, the expression of E-cadherin and that of N-cadherin is reciprocally regulated and decrease in E-cadherin with increase in N-cadherin is called cadherin switch, which is a significant process in the invasion and metastasis of carcinoma including oral squamous cell carcinoma (OSCC). Immunohistochemical detection of the cadherin switch is expected to provide a valuable information for patients' prognosis. However, expression profiles of E-cadherin and N-cadherin are thought to vary even in the same specimen and they should be adequately evaluated. Cadherin switch was immunohistochemically analyzed using seventy-six biopsy and/or initial surgical specimens from OSCC cases in the whole tumor nests or at the invasive front. In the whole tumor nests, the expression of E-cadherin was detected in 87%, whereas 18% was positive at the invasive front. The expression of N-cadherin was detected in 70% in the whole tumor nests, whereas 51% was positive at the invasive front. A logistic regression analysis showed that a model using the expression of N-cadherin in the whole tumor nests with a cut-off point of 70 years old was the best fit model. These results suggest that the expression of N-cadherin was one of the reliable markers for prognostic predictions in OSCC patients.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-105 高転移性腫瘍由来エクソソーム miRNA による血管内皮の薬剤耐性誘導

---

○森本 真弘<sup>1,2</sup>, 間石 奈湖<sup>1</sup>, 樋田 京子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 遺制研 血管生物

<sup>2</sup>北大 院歯 口腔診断内科

---

腫瘍血管新生阻害療法の重要なコンセプトは、血管内皮細胞は遺伝学的に安定で耐性を獲得しにくいというものであった。しかし、近年、われわれは腫瘍血管内皮細胞には染色体異常があり、ABC transporter, P-glycoprotein (P-gp) の発現亢進を介して抗がん剤 Paclitaxel に対する耐性を示すことを報告した。さらに、腫瘍血管内皮細胞が 5-FU に対しても耐性を持つことを見出したが、5-FU は P-gp の排出基質ではないことから、異なる薬剤耐性メカニズムがあると考えた。低転移性腫瘍由来血管内皮細胞に比べ、高転移性腫瘍由来血管内皮細胞で P-gp の発現が高いことから、本研究ではそれらの腫瘍微小環境の違い、特に高転移性腫瘍細胞由来因子に着目し、血管内皮細胞の薬剤耐性メカニズムを解析した。正常皮膚由来血管内皮細胞 (HMVEC) に高転移性腫瘍細胞の培養上清を処理すると、IL-6 の発現亢進、Stat3, Akt の活性化を介して 5-FU に対する薬剤耐性を示した。そこで、腫瘍細胞培養上清中に含まれるエクソソームに着目し、miRNA array 解析を行った。低転移性腫瘍と比較して、高転移性腫瘍が分泌するエクソソーム中に多く含まれる miR-X を同定した。高転移性腫瘍細胞エクソソームを HMVEC に処理すると、エンドサイトーシスを介して miR-X が取り込まれ、IL-6 の発現亢進、Stat3, Akt の活性化が認められた。さらに、miR-X 導入により、HMVEC は 5-FU に対して耐性を示した。がん患者血清中のエクソソームに含まれる miR-X レベルは、健常者と比較して有意に高値であった。以上の結果より、miR-X は高転移性の腫瘍細胞が分泌するエクソソームにより血管内皮細胞に運搬され、血管内皮細胞の薬剤耐性獲得に寄与していることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Induction of drug resistance in vascular endothelial cells by highly metastatic tumor-derived exosome miRNA

---

○Morimoto M<sup>1,2</sup>, Maishi N<sup>1</sup>, Hida K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Vascular Biol, IGM, Hokkaido Univ

<sup>2</sup>Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

An important concept of anti-angiogenic therapy was that tumor endothelial cells were genetically stable and difficult to acquire tolerance. However, we have reported that tumor endothelial cells have chromosomal abnormalities and show resistance to paclitaxel via up-regulation of ABC transporter, P-glycoprotein (P-gp). In addition, we found that tumor endothelial cells are also resistant to 5-FU and considered that different mechanisms existed. In this study, we focused on tumor cell-derived factors as the mechanisms of drug resistance of endothelial cells. Treatment of culture supernatant of highly metastatic tumor cells induced resistance to 5-FU in human dermal microvascular endothelial cell (HMVEC) via up-regulation of IL-6 and activation of Stat3, Akt. To address the contribution of exosome miRNA for phenotypic change, miRNA array analysis was performed. As a result, we identified miR-X that is more abundant in highly metastatic tumor exosomes compared with in low metastatic tumor exosomes. miR-X was transported by exosomes, resulting in up-regulation of IL-6 and activation of Stat3, Akt. Furthermore, HMVEC became resistant to 5-FU by miR-X transfection. The level of exosome miR-X in serum of cancer patients was significantly higher. These results suggested that exosome miR-X secreted from highly metastatic tumor cells cause drug resistance in endothelial cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-106 多能性幹細胞におけるユビキチンプロテアソーム経路による未分化性維持機構**

---

○常松 貴明, 工藤 保誠, 山田安希子, 新垣理恵子, 石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

これまでの我々の解析から, 多分化能と自己複製能を有する多能性幹細胞では多くの細胞周期調節因子のユビキチン分解に関わる APC/C<sup>Cdh1</sup>ユビキチンリガーゼの活性が低下しており, 基質タンパクの蓄積がみられることを見出していたが, その意義は不明な点が多い. 本研究では, 我々が最近同定した APC/C<sup>Cdh1</sup>ユビキチンリガーゼの新規基質タンパクが体細胞とは異なり, 多能性幹細胞では蓄積しており, レチノイン酸による分化誘導に伴い, そのタンパクレベルが減少することを新たに見出した. さらに体細胞ではその新規基質タンパクは G1 期にユビキチン分解されており, 間期における発現が抑制されていることから, 未分化状態におけるその蓄積の意義を解析した. 新規基質タンパクの siRNA による発現抑制は多能性マーカーの発現低下を引き起こし, 逆に三胚葉いずれの分化マーカーの発現上昇を誘導した. さらに, その非分解型変異体の過剰発現はレチノイン酸による分化誘導を阻害した. 以上より, 新規の APC/C<sup>Cdh1</sup>ユビキチンリガーゼの基質タンパクが多能性幹細胞の未分化性維持に重要な役割を果たす可能性が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Ubiquitin proteasome pathway maintain undifferentiated state in pluripotent stem cells**

---

○Tsunematsu T, Kudo Y, Yamada A, Arakami R, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Grad Sch Biomed Sci Tokushima Univ

---

We previously found that the protein level of several cell cycle regulated was high through downregulating the activity of APC/C<sup>Cdh1</sup> ubiquitin ligase in pluripotent stem cells. However, its significance was still unclear. We recently found novel substrate of APC/C<sup>Cdh1</sup> and its expression level was also high in pluripotent stem cells. On the other hand, its protein level fluctuated across the cell cycle, as high in mitosis and low during mitotic exit and G1 phase in somatic cells. Interestingly, its protein level, but not the mRNA level, decreased during retinoic acid (RA)-induced cell differentiation in pluripotent stem cells. In pluripotent stem cells, its knockdown induced downregulation of pluripotent markers and upregulation of several differentiation markers. Furthermore, ectopic expression of its non-degradable mutant inhibited RA-induced cell differentiation. In conclusion, the novel substrate of APC/C<sup>Cdh1</sup> maintain pluripotent state in pluripotent stem cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-107 レーザー照射による矯正痛の制御

---

○土屋 隆子<sup>1</sup>, 長谷川尚哉<sup>1</sup>, 須田 直人<sup>1</sup>, 安達 一典<sup>2</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 矯正

<sup>2</sup>明海大 歯 薬理

【目的】 歯の移動に伴う疼痛に対するレーザー照射の有効性には統一した見解が無く、客観的な鎮痛効果の検討が求められてきた。そこで本研究では、口腔内疼痛の定量評価が可能なモデルを用いて、歯の移動に伴う疼痛へのCO<sub>2</sub>レーザー照射の有効性とその至適な照射条件を検討した。

【材料および方法】 ラットにコイルスプリングで継続的な実験的矯正力を右側上顎第一臼歯 (M1) に負荷し、装着1日後の両側 M1 に刺激を与え左右の開口反射誘発閾値 (TH) を評価した。その後、レーザーを右側 M1 領域に照射し、30 分間隔で 60 分間 TH 測定を行い鎮痛効果の検討を行った (D1 群)。またレーザー照射の作用持続時間を検討する目的で、D0 群では実験的矯正力負荷直後に右側 M1 領域へレーザー照射 (30 秒) を与え、翌日に TH を評価した。Control 群では、開口反射活性自体に対するレーザー照射の影響を確認するために、実験的矯正力を負荷せずレーザー照射 (30, 600 秒) のみを行い TH を評価した。なお、各個体のレーザー照射前左側 TH を用いてデータを標準化し比較した。また、顎二腹筋の筋活動 (潜時, 持続時間, AUC) の評価も行った。

【結果】 レーザー照射は、control 群における左右の TH に有意差は認めなかった。D1 群における実験的矯正力負荷は、左側 TH と比較して右側 TH を有意 ( $p < 0.05$ ) に減少させた。D1 群のレーザー照射 (30, 600 秒) は、照射後 30 〇 60 分の間に右側 TH が有意 ( $p < 0.05$ ) に増加した。いずれの群においても、開口反射に伴う筋活動性は刺激強度依存的に上昇し、レーザー照射はそれらに影響を与えなかった。【考察】 実験的矯正力に対する CO<sub>2</sub>レーザー照射の鎮痛効果は照射後 30 分以降に生じ、疼痛発現前に照射した場合には少なくとも一日間は持続する鎮痛効果が得られること認められた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Attenuate tooth movement-related pain by laser irradiation

---

○Tsuchiya T<sup>1</sup>, Hasegawa N<sup>1</sup>, Suda N<sup>1</sup>, Adachi K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Orthodontol, Meikai Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

The aims of this study were 1) to determine whether the CO<sub>2</sub> laser irradiation attenuate orthodontic pain by using jaw-opening reflex (JOR) model and 2) to evaluate the optimal irradiation protocol. General anesthetized rats were applied continuous orthodontic force to only right maxillary first molar (M1). On following day, electric stimulation-induced JOR threshold (TH) was evaluated. After measuring TH, laser irradiation was applied right side M1 region then TH was determined again for subsequent 60 min with 30 min interval (D1 group). Laser irradiation (30 s) was also applied immediately after orthodontic force application in other animals, and TH was evaluated on next day (D0 group). Another set of animals received only laser irradiation (30 and 600 s) before JOR excitability evaluation (control group). TH was standardized with that of left side in each animal. Laser irradiation did not alter TH in control group. In D1 group, application of orthodontic force significantly decreased right side TH, whereas laser irradiation (30 and 600 s) significantly increased right side TH. In D0 group, right side TH was also significantly increased. Taken together, CO<sub>2</sub> laser irradiation is applicable for attenuating orthodontic pain and the analgesic effect of CO<sub>2</sub> laser irradiation is not transient.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-108 骨吸収抑制薬が若齢マウスの成長と歯の発育に及ぼす影響

○井澤 基樹<sup>1,2</sup>, 唐川亜希子<sup>2</sup>, 坂井 信裕<sup>2</sup>, 茶谷 昌宏<sup>2</sup>, 栗谷 未来<sup>2,3</sup>, 古賀 貴子<sup>2</sup>,  
高見 正道<sup>2</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 小児歯

<sup>2</sup>昭大 歯 歯科薬理

<sup>3</sup>昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者

【目的】骨吸収抑制薬は小児の骨疾患治療にも用いられているが、それが成長に及ぼす影響を及ぼすか不明である。本研究では、異なる作用機序をもつ2種類の骨吸収抑制薬、すなわち破骨細胞分化誘導因子 RANKL に結合して破骨細胞分化を阻害する抗体製剤デノスマブと、破骨細胞の骨吸収機能を阻害するビスホスホネートが若齢マウスの成長（体重・身長）、骨および歯に及ぼす影響について解明することを目的とした。【方法】デノスマブはマウスの RANKL には結合しないため、本研究ではデノスマブと同じ作用機序をもつ抗マウス RANKL 抗体を用いた。またビスホスホネートにはゾレドロネートを用いた。これらを1週齢マウスの腹腔に(1)7回または(2)1回投与し、8週齢の時に成長、骨および歯を解析した。【結果】抗 RANKL 抗体投与群では、上記(1)(2)の実験群の成長や歯に異常は認められず、(2)の実験群で骨量の増加が認められた。一方、ゾレドロネート投与群でも(1)(2)の実験群で骨量増加が認められた。また、同群では著しい成長抑制と歯根の伸長抑制による臼歯の萌出不全が生じていた。【考察】抗 RANKL 抗体投与群およびゾレドロネート投与群はいずれも骨吸収抑制作用を示したが、成長（体重・体長）や歯の発育に対する作用は異なることが判明した。すなわち、抗 RANKL 抗体はマウスの成長に影響を及ぼさなかったのに対して、ゾレドロネート投与群は成長を強く抑制した。さらに本研究でゾレドロネートに臼歯の歯根伸長を抑制する作用が認められた。以上より、ビスホスホネートは抗 RANKL 抗体よりも小児に対する有害作用が大きいと推察され、この薬剤が小児の成長や歯の発育に及ぼす影響について、今後さらに詳細な解析が必要といえる。（非会員共同研究者：昭和大学歯学部 小児成育歯科学講座 島田幸恵、佐藤昌史、井上美津子）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Effects of anti-bone-resorptive drugs on the growth and tooth development of young mice

○Isawa M<sup>1,2</sup>, Karakawa A<sup>2</sup>, Sakai N<sup>2</sup>, Chatani M<sup>2</sup>, Kuritani M<sup>2,3</sup>, Koga T<sup>2</sup>, Takami M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Showa Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Person with Disabilities, Showa Univ Grad Sch Dent

(Aim) Anti-bone-resorptive drugs such as denosumab and bisphosphonates are used for treatment of bone disease in adults, as well as pediatric osteoporosis and juvenile arthritis in young patients. However, the precise effects of these agents in children and adolescents are unknown. Using young mice, we analyzed the effects of OYC1, an anti-mouse RANKL antibody equivalent to denosumab, on bone function, as well as those of zoledronate, a bisphosphonate, on body growth, bone mass, and tooth development. (Methods) OYC1 (2.5 ug/kg) and zoledronate (0.08-3.0 mg/kg) were separately injected in an intraperitoneal manner into 1-week-old mice once or once a week for 7 weeks. After 8 weeks, body growth (length, weight) was determined, and tooth and femur structure were analyzed by micro-computed tomography. (Results) Apparent increases in the femur bone were observed in both the OYC1 and zoledronate-treated groups. Growth in the OYC1-treated group was normal, while that in the zoledronate-treated group was significantly less as compared to the control group. Eruption impairment was also observed in the zoledronate-treated group. (Conclusion) Our results indicate that zoledronate has more severe effects on young patients as compared to the anti-RANKL antibody denosumab.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-109 破骨細胞分化を制御する新規 Rab タンパク質の同定と機能解析

---

○山口 優<sup>1</sup>, 坂井 詠子<sup>1</sup>, 岡元 邦彰<sup>2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>3</sup>, 岡部 幸司<sup>3</sup>, 筑波 隆幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>3</sup>福歯大 細胞生理

---

**【目的】** Rab タンパク質は細胞内小胞輸送を制御する分子スイッチである。Rab1-43 は典型的な低分子量 GTPase であるが<sup>3</sup>, Rab44 は Rab ドメイン以外にも EF ハンドドメイン, コイルドコイルドメインを持つ高分子量 GTPase であり, これまでのところ解析及び報告がされていない。本研究では Rab44 は破骨細胞分化とともに発現上昇する新規遺伝子として同定し, その機能解析を行った。**【方法】** 破骨細胞分化に対する影響を Rab44 ノックダウン細胞及び過剰発現細胞を用いて検討した。TRAP 染色, リアルタイム PCR, ウェスタンブロットティング, 骨吸収能解析, 免疫蛍光染色, 細胞内カルシウムイオン測定を行った。**【結果と考察】** Rab44 mRNA レベルはマクロファージ系細胞に RANKL 添加後上昇した。Rab44 をノックダウンした破骨細胞ではコントロール細胞より多核化・巨大化を示した。さらに, Rab44 抑制破骨細胞ではその機能の亢進が認められた。逆に Rab44 を過剰発現させると破骨細胞分化が阻害された。従って, Rab44 は破骨細胞分化を負に制御することが示された。Rab44 を発現した細胞ではその局在はゴルジ体および後期エンドソーム・リソソームにあり, 初期エンドソームの肥大化を引き起こした。Rab44 発現細胞では破骨細胞分化のシグナルの NFATc1 の顕著な低下が認められた。さらに詳細な解析により, Rab44 は RANKL 刺激による Ca<sup>2+</sup> oscillation の変化とリソソームからの Ca<sup>2+</sup> 流入の顕著な変化をもたらすことがわかった。以上のことから, Rab44 は Ca<sup>2+</sup>-NFATc1 経路を介して破骨細胞の分化を抑制していることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### A novel Rab protein regulating osteoclast differentiation

---

○Yamaguchi Y<sup>1</sup>, Sakai E<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>2</sup>, Kajiya H<sup>3</sup>, Okabe K<sup>3</sup>, Tsukuba T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

<sup>2</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>3</sup>Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll

---

Rab proteins are molecular switches that control intracellular vesicular trafficking. Among these, although Rab 1-43 are the conventional small GTPase, Rab44 is an atypical Rab GTPase that contains some additional domains such as the EF-hand and coiled-coil domains as well as Rab GTPase domain. To date, there have been no studies done concerning Rab44. In this study, we identified Rab44 as an up-regulated gene during osteoclast differentiation. Knockdown of Rab44 by small interfering RNA enhanced RANKL-induced osteoclast differentiation of the murine monocytic cell line, RAW-D. Conversely, overexpression of Rab44 prevented osteoclast differentiation. Rab44 was localized in the Golgi complex and lysosomes, and Rab44 overexpression caused an enlargement of early endosomes. A series of deletion mutant studies of Rab44 showed that the coiled-coil domain and lipidation sites of Rab44 is important for regulation of osteoclast differentiation. Functionally, Rab44 affected nuclear factor of activated T-cells c1 (NFATc1) signaling in RANKL-stimulated macrophages. Moreover, Rab44 depletion caused an elevation in intracellular calcium transients upon RANKL stimulation, and particularly regulated lysosomal calcium influx. Thus, these results suggest that Rab44 negatively regulates osteoclast differentiation by modulating intracellular calcium levels followed by NFATc1 activation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-110 抗 RANKL 抗体とゾレドロネートがマウスの LPS 誘導性炎症性骨破壊に及ぼす影響

---

○栗谷 未来<sup>1,2</sup>, 坂井 信裕<sup>1</sup>, 唐川亜希子<sup>1</sup>, 茶谷 昌宏<sup>1</sup>, 伊澤 基樹<sup>1,3</sup>, 古賀 貴子<sup>1</sup>, 高見 正道<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 院歯 歯科薬理

<sup>2</sup>昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者

<sup>3</sup>昭大 歯 小児成育歯

---

【緒言】障がい者は自己による口腔管理が困難であるため歯周病の発症リスクが高く、患者によっては炎症性歯槽骨破壊が進行し、歯を喪失する恐れがある。従って、薬物等を用いた局所的な骨破壊抑制方法の開発は極めて重要である。本研究では、異なる作用機序をもつ2種類の骨吸収抑制薬、すなわち破骨細胞分化誘導因子 RANKL の働きを阻害する抗 RANKL 抗体と、破骨細胞の骨吸収機能を阻害するビスホスホネート製剤を用いて、これらの薬物が細菌誘導性の炎症性骨破壊に及ぼす影響について解析した。【方法】8週齢の雄マウスの頭頂骨縫合部に菌体成分である LPS (25 mg/kg) を投与し、5日目に頭頂骨を摘出後、破骨細胞特異的酵素活性を利用した染色 (TRAP 染色) と  $\mu$ CT による頭頂骨および大腿骨の骨形態解析を行った。このとき、LPS と同時に抗マウス RANKL 抗体 (3 mg/kg) およびビスホスホネート製剤であるゾレドロネート (0.2 mg/kg) を投与し、その効果を評価した。なお、LPS および薬物の投与には局所滞留性を高めるため、コラーゲンゲルを基材として用いた。【結果】LPS 投与群では頭頂骨における破骨細胞の増加と骨吸収窩の形成が認められた。一方、LPS と同時に抗マウス RANKL 抗体またはゾレドロネートを投与した実験群では、LPS による破骨細胞の増加と骨吸収窩の形成が有意に抑制された。また、大腿骨は LPS による骨破壊や骨吸収抑制薬による骨量増加は認められず、作用が局所的であることが示唆された。【考察】以上の結果は、デノスマブのような抗 RANKL 抗体薬およびビスホスホネートが歯周病による局所的な感染性歯槽骨破壊を抑制可能であることを示唆する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effects of anti-RANKL antibody and zoledronate on inflammatory bone destruction induced by LPS in mice

---

○Kuritani M<sup>1,2</sup>, Sakai N<sup>1</sup>, Karakawa A<sup>1</sup>, Chatani M<sup>1</sup>, Isawa M<sup>1,3</sup>, Koga T<sup>1</sup>, Takami M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pharmacol, Showa Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Persons with Disabilities, Showa Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Pediatr Dent, Showa Univ Sch Dent

---

【Aim】Oral self-care is often difficult for handicapped individuals, increasing the risk of tooth loss from inflammatory alveolar-bone destruction induced by periodontitis. To examine possible treatment methods for periodontal disease, we examined the effects of two different types of anti-bone-resorptive drugs, an anti-RANKL antibody and bisphosphonate (zoledronate), on inflammatory bone destruction induced by the bacterial constituent LPS. 【Methods】LPS with or without these drugs embedded using collagen gel was injected into the calvaria area of mice. After 5 days, calvaria were extracted and subjected to TRAP staining to detect osteoclasts, as well as micro-computed tomography analysis to evaluate bone resorption. 【Results】Increased bone resorption and osteoclast numbers were observed on calvaria samples from mice that received LPS alone. However, when the anti-RANKL antibody or zoledronate was included, those were suppressed. On the other hand, when the same experiment was performed with mouse femurs, no significant effects by LPS or the drugs were observed. 【Discussion】These results suggest that an anti-RANKL antibody and zoledronate may be useful for treatment of inflammatory bone destruction induced by bacterial infection, including periodontitis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-111 ラット歯髄組織由来の培養上清はマクロファージの増殖抑制により破骨細胞数を減少させる

---

○森 寛典<sup>1,2</sup>, 浜村 和紀<sup>1</sup>, 楊 承諭<sup>1,2</sup>, 浜島 康祐<sup>1,2</sup>, 石塚 恭子<sup>1</sup>, 大谷 憲司<sup>4</sup>,  
本田 雅規<sup>3</sup>, 後藤 滋巳<sup>2</sup>, 戸荊 彰史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 薬理, <sup>2</sup>愛院大 歯 矯正

<sup>3</sup>愛院大 歯 口腔解剖, <sup>4</sup>株式会社セルテクノロジー

---

【目的】歯髄は、歯および歯周組織の恒常性維持に重要な役割をしていることが知られている。また、臨床の場合では、歯髄が失活すると、その根尖部に骨吸収が生じることがある。しかし、この歯髄が破骨細胞形成に及ぼす影響についてはほとんど報告されていない。そこで本研究では、ラット歯髄組織由来の培養上清が破骨細胞形成に与える影響を検討した。【材料および方法】8週齢のWistar系雄性ラットより歯髄組織および骨髄細胞を採取した。その骨髄細胞由来のマクロファージにM-CSFおよびRANKLを添加して、破骨細胞へ分化誘導を行った。歯髄組織を3日間培養した培養上清(以下CM)をマクロファージの破骨細胞分化誘導開始時に添加した。CMによる破骨細胞分化誘導への影響をM-CSF, RANKL, CM添加3日後の破骨細胞数で評価した。また、CMによるマクロファージへの影響をM-CSF, CM添加3日後の細胞形態および細胞数で評価した。【結果】RANKL添加群と比較して、RANKLおよびCM添加群では破骨細胞数の有意な減少が認められた。また、CMによるマクロファージへの影響を検討した結果、CMの添加により細胞突起の消失および細胞数の有意な減少が認められた。一方で、死細胞数には変化が認められなかった。【結論】ラット歯髄組織由来培養上清が破骨細胞前駆細胞であるマクロファージの増殖を抑制し、その結果、破骨細胞数の減少につながることを示された。このことより、ラット歯髄組織由来培養上清は、破骨細胞数の抑制を介して骨粗鬆症などの骨吸収関連疾患への治療に応用できる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Conditioned medium from rat dental pulp attenuates the number of osteoclasts via suppression of proliferation in macrophages

---

○Mori H<sup>1,2</sup>, Hamamura K<sup>1</sup>, Yo S<sup>1,2</sup>, Hamajima K<sup>1,2</sup>, Ishizuka K<sup>1</sup>, Otani K<sup>4</sup>, Honda M<sup>3</sup>,  
Goto S<sup>2</sup>, Togari A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Adv Cell Technol and Engineering Ltd

---

**Purpose:** The dental pulp is known to play important roles in homeostasis of teeth and periodontal tissue. In clinical practice, bone resorption around the root apex is occasionally observed in nonvital teeth. However, little is known that the dental pulp affects osteoclastogenesis. In this study, we investigated potential effects of the conditioned medium (CM) from the rat dental pulp in osteoclastogenesis. **Material & Methods:** We isolated the dental pulp and bone marrow cells from Wistar male rats. To evaluate effects of CM in osteoclastogenesis and macrophages, the macrophages from the bone marrow cells were treated with CM, which cultured the dental pulp for 3 days, in the presence and absence of RANKL. **Results & Conclusion:** CM significantly reduced the number of osteoclasts and abolished cell process in macrophages. Furthermore, CM significantly reduced the number of macrophages. No difference was observed in the number of dead cells by CM. These results showed that CM from the dental pulp suppresses proliferation of macrophages and attenuates the number of osteoclasts. Correctively, CM from the dental pulp may provide a novel therapeutic possibility for osteoporosis through osteoclast regulation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-112 *Mmp* 遺伝子を標的とし、高転移性癌細胞の生存と転移を抑制する

---

○奥舎 有加<sup>1</sup>, 江口 傑徳<sup>1</sup>, 十川 千春<sup>1</sup>, 中野 敬介<sup>2</sup>, 岡元 邦彰<sup>1</sup>, 小崎 健一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 口腔病理

---

原発巣に限局する癌の治癒率は改善されてきてはいるものの、遠隔転移を生じた症例の多くは予後不良である。この問題を解決するために、我々は癌浸潤・転移の機構研究および制御方法の開発を行っている。本研究では、新たな癌浸潤・転移関連因子探索のために、マウス大腸癌細胞株 colon26 由来高転移性亜株 LuM1 および低転移性亜株 NM11 を用いて、遺伝子発現アレイ解析を行い、高転移性亜株 LuM1 において高発現する 479 遺伝子をスクリーニングした後、さらに顕著に高発現していた *Mmp3* を選出した。タンパク質としては、*Mmp3* は全長触媒型だけでなく、触媒二量体や非触媒 PEX ドメインとして発現することが、ザイモグラフィおよびウェスタンブロット解析で明らかとなった。マウスへの LuM1 細胞同種移植に続く免疫組織化学的解析により、*Mmp3* は腫瘍実質辺縁部とそこから連続した間質および転移巣に強く発現し、皮下移植部腫瘍と転移腫瘍において細胞質および核内への局在が示された。siRNA 用いたノックダウン実験により、上記 *Mmp3* アイソフォームの大部分の発現抑制を確認した。この *Mmp3* ノックダウンにより、LuM1 の細胞増殖能、*in vitro* 浸潤能および *in vivo* 転移能が低下した。同様に LuM1 で高発現を認めた *Mmp9* のノックダウンによっても、浸潤・転移が抑制された。本研究により、*Mmp3* および *Mmp9* が癌浸潤・転移促進因子であり、これらを標的とすることで癌浸潤・転移を抑制できることが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Targeting *Mmp* inhibits viability and metastasis of high-metastatic cancer cells

---

○Okusha Y<sup>1</sup>, Eguchi T<sup>1</sup>, Sogawa C<sup>1</sup>, Nakano K<sup>2</sup>, Okamoto K<sup>1</sup>, Kozaki K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>2</sup>Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Cancer metastasis remains an important unsolved problem. Matrix metalloproteinases (MMPs) have been shown to promote cancer cell transformation, migration, invasion, and metastasis through alteration of the extracellular microenvironment, and alter intracellular signaling and genome status. In addition, recent studies have shown intracellular and intranuclear localization, as well as roles of MMPs. In the present study, we examined gene expression signatures of high- and low-metastatic mouse colon cancer cells, and found that *Mmp3* was expressed at the highest level in the high-metastatic cells. Profound nuclear localization of Mmps was found in primary explant sites as well as in areas of metastasis in lungs. In addition to the native 50-kDa *Mmp3*, a short 25-kDa PEX domain and active *Mmp3* dimer were found in metastatic cancer cells, indicating novel roles for these forms. Knockdown of *Mmp3* attenuated cancer cell viability, migration, and invasion *in vitro*, along with metastasis in an *in vivo* transplantation model, as well as cancer cell migration and invasion. These findings suggest that Mmps including intracellular, short, and dimerized forms are involved with malignant progression of cancer, thus they may be suitable as biomarkers and therapeutic targets.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-113 ストレスによる GPR30 過剰発現は Akt-WNK1 の過敏反応を惹起し、KCC2 を不活化させることで、GABA 抑制機能を低下させる**

---

○塚原 飛央<sup>1</sup>, 古川みなみ<sup>1,2</sup>, 富田 和男<sup>1</sup>, 岩井 治樹<sup>3</sup>, 高 裕子<sup>1,5</sup>, 藺村 貴弘<sup>4</sup>, 佐藤 友昭<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 応用薬理, <sup>2</sup>鹿大 院医歯 矯正, <sup>3</sup>鹿大 院医歯 機能形態

<sup>4</sup>朝日大 歯 解剖, <sup>5</sup>鹿大 院医歯 歯科保存

---

K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>共輸送体 2 (KCC2)は、GABA が抑制的に作用するために必須である。KCC2 の活動性の低下は難治性アロデニア、統合失調症や鬱病などのストレス脆弱性疾患で多数報告されているため、その制御機構の解明は急務といえる。我々は、G 蛋白共役型エストロゲン受容体(GPR30)と KCC2 の発現が逆相関することを明らかにしてきた。本研究では、GPR30 による KCC2 の制御機構を明らかにすることを目的とする。8 週齢の C57BL/6J マウスの卵巣を摘出し、1 日 1 回、胃管チューブ挿入によりストレス負荷及び薬物投与を 21 日間行った。形態学と行動薬理学的手法を用いて解析を行った。ストレスにより GPR30、リン酸化(p) Akt ならびに KCCs のマスターレギュレーターである pWNK1 の過剰発現が生じた。同時に pKCC2 の減少が認められた。これらのタンパクの発現変化は、GPR30 の作動薬である G1 ならびに  $\alpha$ E2 を投与することにより阻止された。また、GPR30 の選択的拮抗薬である G15 を併用することにより G1、 $\alpha$ E2 の作用は完全に消失した。次に、GPR30/KCC2 比が意味するところを行動試験により解析した。例外なく、GPR30/KCC2 が高いグループでは、認知機能、注意力の低下ならびに情動異常を認めた。一方、GPR30/KCC2 の低いグループは正常な行動を示した。全ての実験において GPR30 と pAkt、pWNK1 の発現量の増減が連動していたことから、ストレス負荷により過剰発現した GPR30 が pAkt-pWNK1 の過敏反応を惹起し、KCC2 を不活化させると考えられる。ゆえに、GPR30 の過剰発現をその作動薬で阻止することにより、KCC2 の不活化を防げることが GABA の抑性機能の保持につながる事が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## **Stress induced overexpression of GPR30 evoke hyperactivity of Akt-WNK1 signaling which lead a decline in GABAergic inhibitory signal via inactivation of KCC2**

---

○Tsukahara T<sup>1</sup>, Furukawa M<sup>1,2</sup>, Tomato K<sup>1</sup>, Iwai H<sup>3</sup>, Takashi Y<sup>1,5</sup>, Sonomura T<sup>4</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Oral Anat, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Dept Anat, Asahi Univ Sch Dent

<sup>5</sup>Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> co-transporter 2 (KCC2) is necessary for GABAergic inhibition. Loss of active KCC2 is found in stress related diseases. Therefore, regulating KCC2 is an emerging problem. We showed before that G-protein-coupled-estrogen-receptor (GPR30) and KCC2 expression patterns were inversely correlated. In this study, we aimed to elusive the unknown regulation of KCC2 via GPR30. Eight-week-old C57BL/6J mice were ovariectomized and followed by gastric tube insertion stress, once a day for continuing 21-days. Pharmacological morphology and behavior analysis were used to quantify each experiment. Stress induced overexpression of GPR30, pAkt and pWNK1, the master regulator of KCCs. In contrast, stress decreased active KCC2. GPR30 agonist G1 and none-feminizing estrogen 17 $\alpha$ -estradiol ( $\alpha$ E2) inhibited all the alterations of the protein expression. GPR30 antagonist G15 completely diminished the effect of  $\alpha$ E2 and G1. Subsequently, several behavior tests were conducted to confirm the meaning of GPR30/KCC2 ratio. Surprisingly, without exceptions, low GPR30/KCC2 mice showed normal cognition and emotional behavior than high GPR30/KCC2 mice. Taken together, increase of GPR30 by stress leads to hypersensitive activation of Akt-WNK1 signal, contributing to inactivation of KCC2. Hence, it is suggested that inhibiting GPR30 overexpression by GPR30 agonist administration prevents GABAergic inhibitory deficits by rescuing KCC2 activity inhibition.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-114 母子分離ストレスは雄性マウスにおいて GABA スイッチの時期を遅らせ、発達性障害様行動異常を誘発する

---

○古川みなみ<sup>1,2</sup>, 塚原 飛央<sup>1</sup>, 富田 和男<sup>1</sup>, 高 裕子<sup>1,3</sup>, 佐藤 友昭<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 応用薬理

<sup>2</sup>鹿大 院医歯 矯正

<sup>3</sup>鹿大 院医歯 歯科保存

---

【目的】近年、育児放棄などの親子関係の破綻が増加しており、重要な社会問題となっている。このような幼少期ストレスは発達性障害などの発症に関与することが報告されているが、その原因は不明である。幼少期、中枢神経の主要な抑制物質である GABA ( $\gamma$ アミノ酪酸) による機能は興奮性から抑制性へ変化する。これを GABA スイッチといい、正常神経回路の構築に必須である。これらのことから、我々は育児放棄などの幼少期ストレスが GABA 機能に影響を与え正常な発達が出来ず発達性障害につながると考えた。本研究は、育児放棄モデルを用い GABA スイッチに与える影響を各種イメージング法にて解析して、行動解析を介して高次機能への影響を明らかにすることを目的とする。【方法】C57BL/6J 新生児マウスを対照群と実験群に分け、実験群には生後 1~21 日まで 1 日 3 時間の母子分離を行った。生後 7, 14, 35 日に脳を摘出し、免疫染色にて GABA が抑制性に働くために必要な  $K^+$ -Cl<sup>-</sup> 共輸送体 2 (KCC2) の形態学的定量化を行った。また、Ca<sup>2+</sup> イメージング法にて GABA スイッチの時期を解析した。思春期相当の生後 35 日から、オープンフィールド試験、新奇物体認識試験、高架十字迷路試験などの行動解析を行った。【結果と考察】生後 7, 14 日において、実験群で GABA スイッチに必要な KCC2 が減少しており、GABA スイッチの時期は遅れていた。また免疫染色の結果により、実験群は生後 35 日でも KCC2 が減少しており、GABA スイッチ終了後も抑制系機能の異常が示唆された。行動解析の結果、実験群において認知機能の低下、注意力の欠陥、多動といった ADHD 様の所見を認めた。これらより、正常に脳機能が発達しないことで行動異常を起し、育児放棄が発達性障害の発症につながると示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Maternal separation delayed the timing of GABA switch and induced the behavior disorders in male mice

---

○Furukawa M<sup>1,2</sup>, Tsukahara T<sup>1</sup>, Tomita K<sup>1</sup>, Takashi Y<sup>1,3</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Child neglect is an emerging social problem. Although it is reported that early life stress leads to psychiatric disorder, the cause is unclear. Early in life, the function of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid), an inhibitory neurotransmitter, changes from excitability to inhibitory (GABA switch). This GABA switch is mainly mediated by the up-regulation of KCC2 (K-Cl-cotransporter). Moreover, the precise timing of GABA switch is indispensable for constructing normal neural circuits. Therefore, the purpose of this study is to examine the influence of early life stress on higher brain functions. Neonatal C57BL/6J male mice were divided into control group and experimental group. Experimental group was subjected to maternal separation for 3 hours a day from postnatal day 1 (P1) to P21. Then both groups were weaned at P22. We analyzed KCC2 expression at hippocampus. Next, we analyzed the timing of GABA switch by Ca<sup>2+</sup> imaging method. Behavioral analyzes were conducted from P35. KCC2 was decreased at P7, P14 and P35 and the timing of GABA switch was delayed in experimental group. We also found cognition and attention defects in experimental group by behavioral analyzes. Taken together, maternal separation inhibited the expression of KCC2 for a long lasting period and delayed the timing of GABA switch.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P1-115 機械刺激を受けた歯根膜細胞が産生する Wnt5a の神経突起伸長効果**

---

○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実

東北大 院歯 歯科薬理

歯根膜は歯の植立作用および緩圧作用などを担うとともに、存在する痛覚受容器（自由神経終末）、固有受容器（伸展受容器であるルフィニ神経終末）が歯根膜痛、咀嚼圧を感知し様々な食べ物の性状を識別し咬合力を調節している。このように歯根膜に存在する神経は感圧において重要な働きをしている。しかし、歯根膜に負荷される機械刺激による神経の構造と機能の制御は明らかになっていない。この機構を解明するために、我々は、機械刺激依存的に歯根膜細胞から産生される分泌性神経軸索伸長因子の経時的変動を研究した。

ラット歯根膜より樹立した歯根膜初代培養細胞（rPDL 細胞）をシリコンチャンバーに播種し、周期的な機械刺激（0.5 Hz, 15%）を 0 時間から 72 時間まで負荷した。PDL 細胞より分泌性因子が産生されているかを明らかにするために、マウス初代培養三叉神経節（mTG）細胞に伸展後の rPDL 培地を添加したところ、神経突起の伸長、分岐数の増加が見られた。RT-PCR 法により nerve growth factor (NGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrophin-4 (NT-4), Wnt5a の発現を確認した。Real-time PCR 法により定量的解析を行った結果、機械刺激により NGF などの神経栄養因子の発現量は変化しなかったが、機械刺激負荷時間依存的に有意に Wnt5a の発現量は増加した。

これらの結果は、機械的に刺激された歯根膜細胞が、Wnt5a 等の分泌性軸索ガイダンスタンパク質の産生を増強させることによりニューロンの軸索伸長を調節している可能性を強く示唆する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Effects of Wnt5A, released by periodontal ligament cells loaded with mechanical stimulation, on neurite elongation**

---

○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M

Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent

The periodontal ligaments (PDLs), located at the interface between tooth and alveolar bones, are responsible for tooth planting and pressure absorbing actions. Neurons in the interface, such as Ruffini endings and free nerve endings, play a pivotal role in pressure sensing. However, the regulatory mechanism of nerve architecture by the PDL cells is not clear. To elucidate the mechanism, we measured the time-dependent changes of amounts of neurotrophic factors and axon guidance proteins produced by the PDL cells during mechanical stimuli.

We established primary PDL cell lines derived from rat (rPDL). The rPDL cells were seeded on silicon chamber, and loaded with periodic mechanical stimulation (0.5 Hz, 15%). The qPCR analysis revealed that the expression of Wnt5a in rPDL cells was increased in a stimulation period-dependent manner, while the expression of neurotrophic factors was constant. To analyze biological function of released factors, the supernatant media of the PDL cells with or without mechanical stimulation were added in the primary mouse trigeminal ganglion (mTG) cells. The supernatant of the mechanical-stimulated PDL cells enhanced the neuronal elongation in the mTG cells.

These results suggest that the mechanically stimulated PDL cells regulate the neuronal axon extension partly through the increase of Wnt5a secretion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P1-116 皮膚ケラチノサイトのカテプシン E を介した神経障害性疼痛の慢性化メカニズムの解明**

---

○張 競, 林 良憲, 中西 博  
九大 院歯 口腔機能分子

---

**Cathepsin E in the epidermal keratinocytes of hindpaw contributes to the chronic phase of neuropathic pain**

---

○Zhang J, Hayashi Y, Nakanishi H

Scet Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Purpose Neuropathic pain is a chronic pain condition caused by damage or dysfunction of the central and/or peripheral nervous system. The mechanisms of neuropathic pain are complicated and remain unclear. We herein show the evidence that cathepsin E (CatE), an intracellular aspartic proteinase of pepsin superfamily, in the epidermal keratinocytes of hindpaw can modulate the chronic phase of neuropathic pain and provide a new strategy for treatment. Method and Result Spinal nerve injury (SNI) was conducted on wild-type (WT) and cathepsin E-deficient (*CatE*<sup>-/-</sup>) mice (8-10 weeks, C57BL/6 background). All mice were tested for mechanical hypersensitivity of the hindpaw after SNI. Both WT and *CatE*<sup>-/-</sup> mice showed significant reduction in paw withdrawal threshold (PWT) to the same extent up to 3 days after SNI. However, in the case of *CatE*<sup>-/-</sup> mice, PWT was gradually recovered from day 5 after SNI, and showed a completely recovery from day 9. CatE protein in WT mice after SNI was significantly increased in the ipsilateral side of skin which was innervated injured spinal nerve. Whereas CatE protein levels in the ipsilateral side of spinal dorsal horn was comparable to that in the contralateral side. Enzymatically activated mature-type of CatE in the skin was observed in the spinous and granule layer of keratinocytes at the chronic phase of neuropathic pain, but not at the early phase. Keratinocyte specific restoration of CatE gene abrogated recovery of chronic phase of neuropathic pain in *CatE*<sup>-/-</sup> mice. Gene silencing of CatE by siRNA in hindpaw of WT mice following SNI significantly reversed the ongoing pain. Conclusion These observations suggest that CatE in the epidermal keratinocytes plays an important role in maintaining the chronic phase of neuropathic pain. Thus, inhibition of CatE expression may represent a new useful strategy for treating the ongoing pain.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-117 インテグリン $\beta 1$ サブユニットは EGF や FGF10 による顎下腺原基の分枝形態形成と細胞内情報伝達を修飾する

---

○足立 圭亮<sup>1</sup>, 小山 典子<sup>2</sup>, 村松 泰徳<sup>1</sup>, 柏俣 正典<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔外科

<sup>2</sup>朝日大 歯 歯科薬理

---

【目的】胎生期の唾液腺は上皮組織と間葉組織で構成されており、発達にともなって上皮が形態変化することで器官形成が進行する。胎生期マウスの唾液腺は無血清培地に浮かべたポリカーボネート膜に静置することで器官培養を行うことができる。培養中の唾液腺は生体内と同様に器官形成が進行して導管系が構築される。これらの現象は分枝形態形成と呼ばれ、すべての外分泌腺、腎臓や肺など、様々な器官形成を制御する重要なメカニズムである。分枝形態形成は器官を構成している上皮と間葉の組織間相互作用(上皮-間葉相互作用)で制御されていると考えられており、これらの制御因子には細胞成長因子や細胞接着因子などが関わっていると報告されている。本研究では、分枝形態形成における細胞接着因子の1つである integrin、特に integrin $\beta 1$  subunit の役割を明らかにするために詳細な検討を行った。【方法】胎生13日 ICR 系マウスから顎下腺原基を採取し、抗 integrin $\beta 1$  中和抗体(1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を添加した DMEM/F12 無血清培地に浮かべたポリカーボネート膜上で器官培養を行い、抗 integrin $\beta 1$  抗体で抑制される分枝形態形成について調べた。また、抗 integrin $\beta 1$  抗体の上皮への直接的な作用を確認するために、間葉を除いた上皮のみをマトリゲル中で三次元培養を行い、分枝形態形成に対する効果を確認した。さらに、分枝形態形成を制御しているとされる ERK1/2 と AKT のリン酸化状態をイムノプロット法によって解析した。【結果と考察】抗 integrin $\beta 1$  抗体は顎下腺の分枝形態形成を有意に抑制し、さらに EGF による cleft formation を有意に抑制した。しかし、FGF10 による stalk elongation の抑制は認められなかった。EGF による ERK1/2 と AKT のリン酸化の亢進は抗 integrin $\beta 1$  抗体により抑制された。以上の結果より、integrin $\beta 1$  はマウス顎下腺分枝形態形成、特に cleft formation に重要な役割を果たしていることが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Integrin $\beta 1$ subunit modifies branching morphogenesis and signal transduction in SMG rudiments stimulated by EGF or FGF10

---

○Adachi K<sup>1</sup>, Koyama N<sup>2</sup>, Muramatsu Y<sup>1</sup>, Kashimata M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

---

<Introduction> Branching morphogenesis (BrM) is a dramatic developmental process for formation of many organs including salivary glands. In this study, we demonstrated the role of integrin  $\beta 1$  subunit in BrM of developing mouse SMG rudiments. <Material and Methods> E13 (embryonic day 13) SMG rudiments of mice were cultured on a membrane filter on DMEM/F12 medium with or without neutralizing antibody for integrin  $\beta 1$  (anti-integrin  $\beta 1$  subunit antibody). After 24 and 48 hr, the number of endpieces of rudiments were counted. Moreover, the epithelium of rudiment was separated and cultured with Matrigel with or without the antibody. In addition, the phosphorylated ERK1/2 and AKT were analyzed by an immunoblotting using the phospho-specific antibodies. <Result and Discussion> BrM of SMG was significantly suppressed by the anti-integrin  $\beta 1$  subunit antibody. Cleft formation induced by EGF was significantly suppressed by the antibody in the epithelium of rudiment. However, the stalk elongation induced by FGF10 was not suppressed. Phosphorylation of ERK1/2 and AKT which stimulated by EGF were suppressed in the presence of anti-integrin  $\beta 1$  subunit antibody of the cultured systems. These results suggest that integrin  $\beta 1$  have critical role for BrM, especially for cleft formation, of mouse SMG rudiment. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-118 ストア作動性カルシウム流入による歯原性上皮細胞のマイグレーションと遺伝子発現の制御

○村田 佳織<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>3</sup>, 高橋亜友美<sup>2</sup>, 齊藤 正人<sup>2</sup>, 谷村 明彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理

<sup>2</sup>北医療大 歯 小児歯

<sup>3</sup>日歯大新潟 生化

【目的】カルシウムイオンは、細胞の増殖・分化、細胞移動などの様々な細胞の機能調節に関与する重要なセカンドメッセンジャーである。非興奮性細胞の主要なカルシウム流入機構であるストア作動性カルシウム流入 (SOCE) の制御分子である Stim1 や Orai1 の遺伝子異常がエナメル質形成不全を起こすことから、SOCE が重要な役割を担っている可能性がある。本研究は歯原性上皮細胞の分化におけるカルシウム応答の役割を明らかにするために、長時間ライブセルイメージング解析を行った。【材料と方法】ウイルスベクターを使って、カルシウムセンサータンパク質を歯原性上皮細胞 (SF2 細胞) および歯髄幹細胞 (DPSC) に導入し、センサータンパク質安定発現細胞を得た。それらの細胞を使って、共焦点レーザー顕微鏡あるいは全反射顕微鏡を用いたライブセルイメージング観察を行った。また次世代シーケンサーを用いて、SOCE で発現が制御される遺伝子の網羅的解析をおこなった。【結果と考察】SF2 細胞は培養条件下で自発的に間欠的な細胞内カルシウム濃度の上昇をおこした。全反射照明装置を用いた解析で、SOCE を阻害する  $\text{LaCl}_3$  が、細胞内カルシウム濃度の低下と共に、マイグレーションを強く抑制することが明らかになった。SF2 細胞の自発的カルシウム応答と細胞の運動性は、DPSC との共培養によって増加する傾向が認められた。網羅的遺伝子解析の結果、SF2 と DPSC の共培養によって TGF- $\beta$  関連遺伝子などの発現が増加することや、SOCE が細胞の運動性に関連する遺伝子の発現に関与する可能性が示唆された。今後、定量 PCR 等を用いて網羅的遺伝子解析の結果を確認すると共に、SOCE による遺伝子発現調節のメカニズムを解析する予定である。【結論】SOCE は細胞のマイグレーションを制御することによって歯胚の形成過程において重要な役割を担っている可能性が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Regulation of cell migration and gene expression by the store-operated calcium entry in dental epithelial cells

○Murata K<sup>1</sup>, Morita T<sup>3</sup>, Takahashi A<sup>2</sup>, Saitoh M<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

<sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

<sup>3</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

Change in intracellular calcium concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) is a key signal for regulation of a wide range of biological processes, including cell differentiation and migration. Recent studies have shown that amelogenesis imperfecta is caused by the deficiency of store-operated calcium entry (SOCE), the main calcium influx mechanisms in non-excitable cells. These findings suggest important roles of SOCE on amelogenesis. To examine the roles of SOCE, we visualized calcium responses in dental epithelial cell and pulp stem cell using genetically encoded calcium indicators. Rat dental epithelial cells (SF2) showed intermittent rises in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in the long time live-cell-imaging in a cell culture condition. SOCE inhibitor ( $\text{LaCl}_3$ ) reduced the intermittent rises in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  and inhibited the cell migration. The frequency of the calcium responses was increased by co-culture of SF2 cells with pulp stem cells. Comprehensive gene expression analyses suggest the enhanced expression of TGF- $\beta$  related genes with the co-culture, and the reduced expression of cell migration-related genes by  $\text{LaCl}_3$ . These results suggest that SOCE regulates the tooth development through the effect on the cell migrations. We are trying to clarify mechanisms for the co-culture- and SOCE-mediated gene expression.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-119 NaCl による *Staphylococcus aureus* を含む複合菌バイオフィーム形成の誘導

---

○泉福 英信

感染研 細菌 I

---

【目的】 歯表面では、*Streptococcus* を中心に多くの微生物による複合菌バイオフィームを形成している。特に高齢者になると口腔バイオフィームにおいて、*Staphylococcus aureus* や *Candida albicans* のような日和見菌が検出されるようになる。この日和見菌がどのようなメカニズムで歯表面にて複合菌バイオフィーム形成をしているのか明らかになっていない。そこで、*S. aureus* と口腔 streptococci のモデル菌として *Streptococcus mutans* を用いて複合菌バイオフィーム形成の誘導について検討を行った。*S. aureus* は高塩濃度環境で増殖することができる。NaCl のバイオフィーム形成への影響についても併せて検討を行った。【方法】 使用菌株：*S. mutans* UA159, *S. aureus* Cowan I, バイオフィーム形成実験条件：ヒト唾液コート 96 穴培養プレート, 培地：Tryptic Soy Broth without dextrose + 0.25% glucose, 16 時間, 37°C, NaCl を 1.1M から希釈し加え 5% CO<sub>2</sub> 含好気培養を行った。バイオフィームを 0.5% サフラニンによる 15 分間染色, DW にて 2 回洗浄, A<sub>492</sub> による吸収値にて形成量を評価した。生菌および死菌を Syto 9/PI により染色し, 共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。【結果】 0.09M~0.21M の NaCl 濃度は, 濃度依存的に *S. aureus* 単独のバイオフィーム形成量を上昇させた。さらに, *S. mutans* と *S. aureus* との混合菌バイオフィーム形成量を *S. aureus* 単独よりも高く上昇させた。この混合菌バイオフィーム形成量の上昇に伴い, 死菌が多く観察された。【考察】 0.09M~0.21M の濃度 {唾液塩濃度(0.03M)以上} の NaCl は, *S. mutans* UA159 と *S. aureus* との混合菌バイオフィーム形成量を死菌の増加と共に上昇させた。このことから, ある一定の NaCl 濃度は死菌を誘導することで混合菌バイオフィーム形成量を上昇させることが考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Induction of biofilm formation composed of multiple bacteria species by NaCl

---

○Senpuku H

Dept Bact I, Nat Inst Infect Dis

---

[Objective] Biofilm formation by multiple bacterial species is principally formed by *Streptococcus* and other bacteria on the tooth surface. Opportunistic pathogens such as *Staphylococcus aureus* are also detected in oral biofilm from elderly. However, the mechanism is not clear how opportunistic pathogens form the biofilm on the tooth surface. In this study, biofilm formation using multiple species was investigated in *S. aureus* and *Streptococcus mutans* which is a model bacteria for oral biofilm. [Materials and Methods] *S. mutans* UA159 and *S. aureus* Cowan I were used for the biofilm formation assay. Biofilm formation assay was performed in hu saliva-coated 96 well microtiter plate using TSB with 0.25% glucose with diluted concentration of 1.1M NaCl at 37°C for 16 hours. Live and dead cells are also observed by staining with syto 9 and PI in confocal microscope. [Results] 0.09M-0.21M NaCl induced single biofilm formation of *S. aureus* and enhanced multiple biofilm using *S. aureus* and *S. mutans* in dose-dependent manner as compared with single biofilm. A lot of dead cells were observed in the enhanced biofilm. [Discussion] It was considered that 0.09M-0.21M NaCl induced dead cell-dependent multiple biofilm using *S. aureus* and *S. mutans*.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

## P1-120 DNA アフィニティ沈降法を用いたマウスうま味(アミノ酸)受容体 T1R1 遺伝子の転写調節機構の解析

○豊野 孝<sup>1</sup>, 平田 祐基<sup>2</sup>, 片岡 真司<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>1</sup>, 瀬田 祐司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 歯 解剖

<sup>2</sup>九歯大 口腔再建リハ

うま味(アミノ酸)は, T1R1 および T1R3 受容体によって受容される。しかしながら, T1R1 の転写調節機構の詳細は明らかになっていない。これらの受容体は味蕾のみならず, 消化管および脳など多様な組織においても発現が認められており, 生体において一種の化学センサーとして機能していると推測されている。そして, これらの組織では共通した T1R1 遺伝子の転写調節機構が存在すると推測される。これまでの研究により, マウス T1R1 遺伝子の upstream 領域には, 2カ所の転写の活性化に関わる DNA 配列(配列 1, 2)の存在が明らかになっている。しかしながら, これらの転写活性化配列の DNA に結合する転写因子に関しては明らかになっていない。そこで本研究では, マウス T1R1 遺伝子上流領域の転写活性化 DNA 配列への結合タンパク質の同定を, タマビジンを使用した DNA アフィニティ沈降法(DAPA 法)により試みた。T1R1 を発現している筋芽細胞株 C2C12 から, 核タンパク質の抽出を行った。その核タンパク質をビオチン標識した配列 1, 2 の DNA と反応させた。この DNA とタンパク質の複合体を, タマビジン標識磁性ビーズに結合させ, 磁力により DNA-タンパク質複合体を回収した。次に複合体に含まれるタンパク質の解析を, 電気泳動法および質量分析法により行った。配列 2 の DNA に結合する 60kDa のタンパク質を質量分析法により解析したところ, 転写因子 Tbx3 アイソフォーム 1 または 2 であることが明らかになった。一方, 配列 1 の DNA に特異的に結合するタンパク質は検出されなかった。Tbx3 はヒトをはじめとする多くの真核生物の発生に必須の転写因子であるが, うま味(アミノ酸)受容体 T1R1 との関係は明らかになっていない。そこで今後は, T1R1 遺伝子の転写調節における Tbx3 の機能解析を行っていく予定である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Promoter analysis for mouse T1R1 amino acids (umami) receptor gene in C2C12 cells

○Toyono T<sup>1</sup>, Hirata Y<sup>2</sup>, Kataoka S<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>1</sup>, Seta Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Oral Reconstruct Rehabil, Dept Oral Funct, Kyushu Dent Univ

The heterodimer of T1R1 and T1R3 have a role in the detection of amino acids (umami) in taste tissue. These receptors were also expressed throughout diverse organ systems, including digestive organs, muscle tissues, etc. and inferred to detect extracellular amino acids. Previously, we identified the two cis-regulatory elements (CRE1 and CRE2) in the upstream region of mouse T1R1 gene. However, what kinds of the transcription factors bind to these sequences and involved in the transcriptional regulation of mouse T1R1 gene have not been elucidated. In this study, we examined the transcription factors bind to these cis-regulatory sequences by the improved DNA affinity precipitation assay (DAPA) and MALDI-TOF MS. DAPAs were performed using nuclear extract from 3 days differentiated C2C12 cells and the biotinylated double stranded DNAs corresponding to these cis-regulatory sequences. DNA-protein complexes were recovered with Tamavidin-2 REV magnetic beads. These proteins were denatured and analyzed by SDS-PAGE. The two specific proteins were detected as 30- and 60-kDa bands by use of the CRE2 DNA. MALDI-TOF MS analysis identified the 30- and 60-kDa proteins as fructose-bisphosphate aldolase A and T-box transcription factor Tbx3, respectively. These results show that Tbx3 may play a role in the transcriptional regulation of T1R1 gene.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-121 イメージング質量分析を用いたマウス骨の解析

---

○南崎 朋子, 吉子 裕二

広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物

【目的】MALDI-TOFMS イメージングシステムは、生体組織の凍結切片から得られたMSスペクトルをイメージングし、特定の生体内分子の組織分布やイメージングによるオミックス情報などを提供する。しかし、硬組織を対象としたMSイメージについては報告が少ない。そこで今回私たちは、マウスの骨について、複数の方法（固定・脱灰等）でサンプルを調整し、MSイメージングによる生体分子の検出を試みた。【方法】8週齢マウス大腿骨を採取し、固定および脱灰処理等について複数の組み合わせを検討した。各処理後、ドライアイス/ヘキサンで凍結し、10 $\mu$ m厚で薄切した。切片を乾燥後、マトリックス（DBA, CHCA）を塗布し、島津社のiMScopeにて遠位部を解析した（ポジティブモード/ネガティブモード、レーザー径10 $\mu$ m、サンプル電圧3.5kV、解析範囲 $m/z$  100-1000）。【結果】PFA/EDTAを用いた一般的な固定・脱灰標本は、MS分析において生体由来のピークが検出されにくく、得られる情報は限定された。いくつかの処理により、成長板や骨髄において萎縮や変性を認めたが、全ての切片から生体由来のMSスペクトルが検出された。未固定・非脱灰切片では、他の切片で検出されないピークを多数認め、 $m/z$  700以上のスペクトルについてもピーク強度の高いシグナルが確認された。平均強度で解析すると、酸を用いた脱灰により検出感度は低下した。階層的クラスタ解析を行うと、組織特異的な分布を示す $m/z$ のクラスタが得られた。MS解析で得られたプレカーサーイオンについてMS/MS解析を行い、MassBankでプロダクトイオンを検索したところ、複数の候補分子がピックアップされた。【考察】硬組織においても、目的に応じた固定・脱灰処理を組み合わせることによって、MSイメージングによる生体分子の解析が可能と考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Imaging and mapping of mouse bone using MALDI-imaging mass spectrometry

---

○Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

Matrix-assisted laser desorption/ionization-imaging mass spectrometry (MALDI-IMS) is an advanced method to analyze the distribution of biomolecules on tissue cryosections without any probes. In bones, however, hydroxyapatite crystals make it difficult to determine the distribution of biomolecules, and there is limited information regarding the use of this method to analyze bone tissues. To determine whether MALDI-IMS analysis of bone tissues can facilitate comprehensive mapping of biomolecules in mouse bone, we dissected femurs from 8-week-old male mice and characterized the quality of multiple fixation and decalcification methods for preparation of the samples. A matrix solution was sprayed on the bone tissue cryosections. Images were acquired using an iMScope at  $m/z$  100-1000. Hematoxylin-eosin, Alcian blue, Azan, and periodic acid-Schiff staining of adjacent sections was used to evaluate histological and histochemical features. Among the various pretreatment, sections from trichloroacetic acid-treated samples were most suitable to examine both histology and comprehensive MS images. However, histotypic MS signals were detected in all sections. In addition to the MS images, several proteins were identified as candidate metabolites. These results indicate successful detection of biomolecules in bone using MALDI-IMS and IMS appears to be a powerful tool to determine the distribution of biomolecules in bone tissues.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P1-122 オートクレーブ滅菌象牙質骨補填材顆粒に残留する有機成分の解析

---

○奥野公巳郎<sup>1,2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 田中 雅士<sup>1</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 神谷 真子<sup>2,3</sup>,  
河野 哲<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 歯内療法

<sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>朝日大 営 化学

近年、歯周病や根尖病変、あるいは腫瘍による骨欠損等、歯科領域において、自家骨移植に代わる骨再生療法の需要が高まっている。我々は、象牙質が骨に類似した組織であり、矯正治療の為の便宜的な抜去歯や抜去後の智歯などが活用できることに注目した。また、抜歯後凍結保存された歯を骨補填材として利用することを想定し、操作性への考慮から、象牙質を顆粒状に加工した後オートクレーブ滅菌を行って応用する方法を考案した。そして、あらかじめ幹細胞と滅菌象牙質顆粒とを共培養し、幹細胞の産生分泌する細胞外基質成分を含むハイブリッド材料の作製を試みた。その結果、滅菌象牙質顆粒がヒト骨髄由来幹細胞やヒト歯髄由来幹細胞の増殖と骨芽細胞様細胞への分化を促進することや、ハイブリッド材料に含まれる幹細胞が実験動物への埋植4週間後も生存し骨芽細胞様細胞に分化することを報告してきた。そこで今回はこれらの効果を発揮する成分を探索するため、滅菌象牙質からタンパク質試料を抽出し検討を行った。滅菌後の象牙質から溶出したタンパク質を、新鮮象牙質を比較対照にSDS-PAGEにて検討したところ、滅菌象牙質ではタンパク質の溶出量が半減し低分子化がみられたが、新鮮象牙質と同等の泳動パターンがみられた。また、象牙質顆粒浸漬培地から、新鮮象牙質を用いた場合よりも溶出量は減少しているものの、シアル酸が検出され、滅菌象牙質顆粒には新鮮象牙質顆粒と同等のムコ多糖が検出されたことから、これらの多糖類も骨補填材としての作用に寄与していると考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Evaluation of organic components remaining in the autoclave-sterilized dentin particles

---

○Okuno K<sup>1,2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Tanaka M<sup>1</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Kamiya M<sup>2,3</sup>, Kawano S<sup>1</sup>,  
Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Endodont, Asahi Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin

We focused on the dentin as a bone substitute material since the tissue is similar to bone and that extracted teeth could be utilized. We prepared the dentin particles by autoclave sterilization after processing. Thereafter, sterilized dentin particles were co-cultured with stem cells and a hybrid material containing cells, dentin and extracellular matrix components were prepared. We have already reported that sterilized dentin particles promoted proliferation and differentiation into osteoblast-like cells of human bone marrow-derived stem cells (hBMSCs) and human dental pulp derived stem cells (hDPSCs). Moreover, stem cells in these materials survived 4 weeks after implantation in experimental animals and differentiated into osteoblast-like cells. To investigate these effects, protein samples extracted from sterilized dentin were evaluated by SDS-PAGE. Although the eluted proteins were decreased in sterilized dentin particles than in fresh ones, an electrophoresis pattern of proteins from sterilized dentin particles was similar to that of fresh ones. Sialic acid was also detected in the dentin particles immersion medium. In addition, mucopolysaccharides were detected in sterile dentin particles similarly to fresh ones. We considered that these polysaccharides could contribute in part of the promoting effects of dentin particles on the proliferation and differentiation of stem cells into osteoblast-like cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P1-123 Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>局所投与によるラット歯槽骨破壊作用について

○鈴木 恵子<sup>1,2</sup>, 有本 隆文<sup>3</sup>, 長岡 正博<sup>1</sup>, 桑田 啓貴<sup>3</sup>, 篠田 壽<sup>4</sup>

<sup>1</sup>奥羽大 歯 歯科薬理

<sup>2</sup>昭大 歯 歯科薬理

<sup>3</sup>昭大 歯 口腔微生物

<sup>4</sup>東北大 院歯 環境歯学研セ

【目的】 Toll-like receptor (TLR) 2 遺伝子欠損マウスを用いた研究から、合成トリアシルリポペプチドである Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>が、TLR 2 を介してマウス頭蓋冠に炎症性骨吸収を起こすことを見出し報告した。そこで本研究では、Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>局所投与によるラット歯槽骨吸収像を観察することで、歯槽骨破壊におけるグラム陽性菌由来の菌体成分の関与について検討した。【方法】 雄性 SD 系ラット (7 週齢) の上顎左側臼歯部口蓋側に Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> (15 mg/kg, 30  $\mu$ L) または *Streptococcus mutans* 109c (*S. mutans* 109c,  $3 \times 10^9$  CFU, 20  $\mu$ L) を 1 日おきに 2 回投与した。右側同部位には生理食塩液を投与して対照群とした。投与後、経時的に麻酔下 In vivo X-ray CT でスキャン画像を取得した。さらに投与後 9 日目にカルセインラベルし、10 日目にラットを屠殺後、骨組織を採取して組織学的検討を行った。【結果と考察】 1) In vivo X-ray CT 画像の 3 次元立体構築により、Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> または *S. mutans* 109c のいずれを投与した場合でも、1 回目の投与後 7 日目から歯槽骨が吸収されることが確認された。2) Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> または *S. mutans* 109c 投与後 10 日目に採取した骨組織から作製した非脱灰切片での蛍光観察から、投与部位局所で骨破壊が生じることが明らかとなった。3) Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> または *S. mutans* 109c 投与ラットから採取した骨組織の脱灰切片において骨吸収部位に、対照群に比して有意に多数の TRAP 陽性多核細胞が認められた。以上の結果から、グラム陽性菌細胞壁と類似の構造をもち TLR2 を介して作用する Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> をラットに投与した場合、歯槽骨破壊が生じること、さらに歯周病での歯槽骨破壊には、従来から歯周病原性が認められているグラム陰性菌だけでなく、グラム陽性菌も関与している可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>, a synthetic tri-acylated lipopeptide, induces maxillary alveolar bone loss in normal rats

○Suzuki K<sup>1,2</sup>, Arimoto T<sup>3</sup>, Nagaoka M<sup>1</sup>, Kuwata H<sup>3</sup>, Shinoda H<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Microbiol & Immunol, Showa Univ Sch Dent

<sup>4</sup>Cent for Environ Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

We have previously reported that Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>, a synthetic tri-acylated lipopeptide, induced calvarial osteolysis through Toll-like receptor (TLR) 2 ligation in mice. To study the involvement of lipopeptide, a component of gram-positive bacteria, in the pathogenesis of periodontitis-associated inflammatory osteolysis; we investigated whether Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> and *Streptococcus mutans* 109c (*S. mutans* 109c), a gram-positive oral bacterium, caused osteolysis in rat alveolar bone. Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> (15 mg/kg, 30  $\mu$ L) or *S. mutans* 109c ( $3 \times 10^9$  CFU, 20  $\mu$ L) was injected mesial side of maxillary first molar of normal male rats (SD, 7-week-old), twice at an interval of one day. In vivo X-ray CT analyses showed the increase in the distance between the cement-enamel junction and alveolar bone within 7 days of first Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>/*S. mutans* 109c injection, which is consistent with an increase in the TRAP-positive osteoclast numbers observed in the histopathologic analysis. These findings demonstrate an important role of tri-acylated lipopeptide, a component of gram-positive bacteria, as well as that of gram-negative bacteria, may be a periodontal pathogen which causes alveolar bone destruction.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## PS-1 Lipopolysaccharide が誘発する摂食抑制行動における PLC-related catalytically inactive protein の役割

---

○白輪地聡美, 山脇 洋輔, 兼松 隆

広大院医歯薬保 細胞分子薬理

---

【背景】末梢炎症は中枢へと波及し、摂食抑制、抑うつ気分などの中枢神経症状を引き起こす。我々は、Phospholipase C (PLC) のホモログである PLC-related catalytically inactive protein (PRIP) の欠損 (KO) マウスが炎症に対して脆弱性を示すことを見出した。本研究では、脳内炎症と PRIP の関わりを明らかとすることを目的に実験を行った。【材料と方法】野生型 (WT) と KO マウス (9~11 週齢, 雄性) に lipopolysaccharide (LPS; 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) を腹腔内投与し、24 時間の摂餌量を測定した。MACS システムを用いて視床下部からミクログリアの単離を行った。初代培養ミクログリアは、生後 48 時間以内の WT および KO マウスから得た全脳を用いて調整した。タンパク質の活性化や発現は western blot 法で、遺伝子発現は半定量的 PCR 法とリアルタイム PCR 法で解析した。【結果および考察】LPS 投与マウスの摂餌量は、WT に比べて KO マウスで有意に低下していた。摂食中枢である視床下部において、摂食行動に関連する STAT3 の活性化は、KO マウスで有意に高かった。また、視床下部での炎症性サイトカイン遺伝子 (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) および、ミクログリアの活性化マーカーである Iba1 の発現は KO マウスにおいて有意に高かった。視床下部から単離したミクログリアにおいてもこれらのサイトカインは WT よりも高い発現を示した。KO マウス由来の初代培養ミクログリアは WT 由来のものに比べて、LPS 刺激による AKT, IKK $\alpha/\beta$  の活性化が亢進しており、アストロサイトとの共培養条件下において、炎症性サイトカイン遺伝子の有意な発現上昇を示した。以上より、PRIP は、ミクログリアにおける AKT-IKK $\alpha/\beta$  シグナルを介して、アストロサイトと協調して脳内炎症を抑制的に制御する分子であることが明らかとなった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Role of PLC-related catalytically inactive protein in LPS-induced anorexia

---

○Shirawachi S, Yamawaki Y, Kanematsu T

Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, Dept Cell Mol Pharmacol

---

Neuro-inflammation impairs the function of central nervous system (CNS), including anorexia. We found that PLC-related catalytically inactive protein (PRIP) knockout (KO) mice showed higher sensitivity to inflammation. Here, we investigated the involvement of PRIP in neuro-inflammation-induced anorexia. Wild-type (WT) and Prip-KO mice were intraperitoneally administrated with lipopolysaccharide (LPS, 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). The amount of daily food intake was less in Prip-KO mice than WT mice. The level of phosphorylated STAT3 in the hypothalamus was increased in Prip-KO mice, and this corresponded with anorexia. The levels of pro-inflammatory cytokines and Iba1, a marker of microglial activation, were upregulated in the hypothalamus of Prip-KO mice. Furthermore, microglia isolated from the hypothalamus of Prip-KO mice showed higher expression of pro-inflammatory cytokines than those in WT microglia, suggesting neuro-inflammatory response is altered in Prip-KO hypothalamic microglia. The levels of phosphorylated AKT and IKK $\alpha/\beta$  were greater in LPS (10  $\text{ng}/\text{mL}$ )-stimulated Prip-KO primary microglia than WT microglia. In a co-culture experiment of microglia and astrocytes, mRNA expression of pro-inflammatory cytokines was higher in Prip-KO mice than WT mice, indicating that PRIP suppresses AKT-IKK $\alpha/\beta$  signaling pathway. Collectively, PRIP regulates glial communication followed by neuro-inflammatory response in CNS.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

### PS-3 GDF5 との結合を介した CCN2 の軟骨分化促進作用

---

○井田すみれ<sup>1,2</sup>, 青山絵理子<sup>2</sup>, 久保田 聡<sup>2,3</sup>, 滝川 正春<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡大 歯

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯先端研セ

<sup>3</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化

---

CCN2 は多種多様な生理活性因子や細胞構成因子と結合する性質を持つことで知られる分泌タンパク質である。これらの結合を介して CCN2 が骨、軟骨などの間葉系の細胞、組織において様々な作用を発揮することが知られている。我々は以前に表面プラズモン解析法を用いてさまざまな CCN2 結合タンパク質の結合を解析したところ、CCN2 が growth and differentiation factor 5 (GDF5) と結合することを見いだした。GDF5 は BMP14 あるいは cartilage-derived morphogenetic protein 1 (CDMP1) と呼ばれ、骨、軟骨の細胞分化、器官形成に寄与していることや GDF5 遺伝子の変異が変形性関節症 (OA) の進行を促進することが示されている。そこでまず、GDF5 と CCN2 の結合を固相化結合実験によって確認した。CCN2 を固相化した ELISA プレートに段階的に希釈した GDF5 を添加すると濃度依存的に GDF5 の結合が増加した。また、CCN2 を含む CCN family タンパク質は IGFBP, VWC, TSP1 および CT ドメインの四つの特徴的なドメインを有しているが、これらのどのドメインが GDF5 との結合に関わっているのかを同じく固相化結合実験法で調べたところ、TSP1 ドメインの関与を示す結果が得られた。さらに CCN2 が GDF5 と結合することで軟骨における GDF5 の活性にどのような影響を及ぼすのかという点についてヒト軟骨様細胞株 HCS-2/8 を用いて検討した。CCN2 と GDF5 はいずれも単独で aggrecan の発現を上昇させることが報告されているが、これらを共添加すると、それぞれ単独で刺激した群に比べて aggrecan の発現を促進することが分かった。これらのことから CCN2 は GDF5 と結合することでその作用を促進している可能性が考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The binding of CCN2 with GDF5 modulates effect of GDF5 on chondrocytes

---

○Ida S<sup>1,2</sup>, Aoyama E<sup>2</sup>, Kubota S<sup>2,3</sup>, Takigawa M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Okayama Univ Dent Sch

<sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>3</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

CCN2 is a secretory protein which is known to bind with various factors. These bindings mediate that CCN2 enhances growth and differentiation of mesenchymal tissues and cells such as bone and cartilage. We previously examined the affinity of CCN2 to several growth factors by surface plasmon assay and indicated that growth and differentiation factor 5 (GDF5) was one of CCN2 binding proteins. GDF5 called as BMP14 or CDMP1 promotes differentiation and formation of bone and cartilage. Also, mutations in GDF5 gene was reported to cause development of OA. First, the binding of CCN2 to GDF5 was confirmed by solid-phase binding assay. To identify the domain of CCN2 mediating the binding with GDF5, recombinant four module proteins of CCN2 were tested to bind with GDF5 in same assay. The result showed that TSP1 was involved in the binding of CCN2 with GDF5. Next, we assessed the effect of the binding on the differentiation of chondrocytes using a chondrocytic cell line HCS-2/8 was used to assess. Co-stimulation of CCN2 and GDF5 enhanced aggrecan expression more than each of them alone. These results show the possibility that the binding of CCN2 with GDF5 increases the positive effect of GDF5 on chondrocyte differentiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-4 口腔扁平上皮癌における Periostin スプライシングバリエーションの新たな役割

---

○梅田 将旭, 常松 貴明, 山田安希子, 新垣理恵子, 工藤 保誠, 石丸 直澄  
徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

Periostin は癌細胞のみならず, 正常組織や腫瘍間質中の線維芽細胞から分泌される細胞外マトリックスの構成要素であり, 種々の癌でその発現と悪性度との相関が報告されている. 我々は, これまでに口腔扁平上皮癌の浸潤に関わる新規因子として Periostin を同定し, 癌細胞の浸潤, 血管・リンパ管新生を介して転移に関与することを報告してきた. 最近, 我々は EMT (Epithelial Mesenchymal Transition) を起こし, 高浸潤能を獲得した口腔扁平上皮癌細胞株において Periostin が高発現していることを見出した. さらに, EMT を起こしていない細胞株においても TGF $\beta$  刺激により, その発現が誘導されることを明らかにした. また, Periostin には 9 つのスプライシングバリエーション (Isoform) が存在することが最近明らかにされたが, その役割はほとんど報告されていない. そこで, 口腔扁平上皮癌細胞における Periostin のスプライシングバリエーションの発現パターンを解析したところ, Isoform 3 及び 6 が特異的に発現することを見出した. さらに, 各スプライシングバリエーションの発現ベクターを作成して口腔扁平上皮癌細胞株に遺伝子導入し, 浸潤能を検討したところ, Isoform 3 及び 6 は浸潤を促進した. Isoform 3 はこれまでに浸潤を促進する因子として報告されてきた Periostin に相当するが, Isoform 6 が浸潤を促進するという新たな知見を得た. 加えて Isoform 3 とは異なり, Isoform 6 は ERK の活性化を誘導することを見出した. 従って, Isoform 6 は Isoform 3 とは異なるシグナルを介して浸潤能を亢進させる可能性が示唆され, 現在その詳細について解析中である.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Novel role of Periostin splicing variants in oral squamous cell carcinoma

---

○Umeda M, Tsunematsu T, Yamada A, Arakaki R, Kudo Y, Ishimaru N  
Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Periostin is a component of extracellular matrix produced by normal and cancer associated fibroblast. Several reports showed the correlation between Periostin overexpression and malignant behaviors. Previously, we identified Periostin as a novel tumor invasion regulating factor in oral squamous cell carcinoma (OSCC). Moreover, we found that Periostin promoted metastasis via accelerating invasion, lymphangiogenesis and angiogenesis. Recently, we found that some OSCC cell lines with EMT (Epithelial Mesenchymal Transition) phenotype with Periostin overexpression. Moreover, Periostin expression was induced by TGF $\beta$  in OSCC cell lines without EMT phenotype. Recently, it has been shown that nine splicing variants of Periostin, but their roles remain unclear. Therefore, here we investigated the expression pattern of these splicing variants. We found that Periostin exclusively expressed Isoform 3 and 6. Moreover, Overexpression of Isoform 3 and 6 promoted invasion of OSCC cell lines. It is well known that Isoform 3, but not Isoform 6 is conventional type of Periostin variant and promotes invasion. Interestingly, Isoform 6 promoted invasion via activating ERK signal. Therefore, now we are investigating the detailed mechanism of Isoform 6 in the development of OSCC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**PS-5 抗癌剤治療による腫瘍血管内皮細胞の薬剤耐性獲得機構**


---

○武田 遼<sup>1,2</sup>, 森本 真弘<sup>2</sup>, 間石 奈湖<sup>2</sup>, 樋田 京子<sup>2</sup><sup>1</sup>北大 歯<sup>2</sup>北大 遺制研 血管生物

薬剤耐性は、抗癌剤治療が成績不良となる際の大きな要因である。また最近では、抗癌剤により癌細胞において薬剤排出を担う ABC transporter のひとつ、ABCB1/MDR1 の発現が亢進することも報告されている。これまで、我々は腫瘍血管を構成する血管内皮細胞にも、ABCB1 発現亢進を伴う薬剤耐性をもつものがあることを報告した。しかし、抗癌剤治療が腫瘍血管内皮細胞の薬剤耐性に及ぼす影響については不明である。本研究では、抗癌剤治療における腫瘍血管内皮細胞の薬剤耐性獲得メカニズムについて検討した。はじめに、抗癌剤治療前後における ABCB1 発現を、ヒト手術摘出組織標本を用いて組織免疫染色にて解析した。癌細胞では ABCB1 発現レベルに有意な差は見られなかったが、腫瘍血管において抗癌剤治療後で ABCB1 発現亢進が認められた。また、腫瘍血管 ABCB1 陽性率は全生存率低下と関連しており、腫瘍血管の耐性も治療成績を左右する可能性が示された。次に、腫瘍血管の ABCB1 発現亢進機序として、抗癌剤処理後の癌細胞において発現が亢進するサイトカインに着目した。PCR array 解析により、IL-8 が選出された。IL-8 処理により、血管内皮細胞の MDR1 発現が上昇した。また、担癌マウスに抗癌剤を投与すると、in vivo 腫瘍組織における IL-8 の発現亢進ならびにマウス血中 IL-8 量が増加した。さらに、癌微小環境により誘導される腫瘍随伴マクロファージ (TAM) も IL-8 を多く分泌することが知られているので、抗 CD206 抗体を用いた免疫染色により可視化した。抗癌剤治療群では非治療群と比較して、より多くの TAM が検出された。以上より、抗癌剤治療が癌細胞の IL-8 発現亢進ならびに TAM を誘導し、IL-8 が腫瘍血管内皮細胞の ABCB1 発現を亢進させるという、抗癌剤が及ぼす新たな薬剤耐性機構が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

**The mechanism of acquiring drug resistance in tumor endothelial cells after anti-cancer therapy**


---

○Takeda R<sup>1,2</sup>, Morimoto M<sup>2</sup>, Maishi N<sup>2</sup>, Hida K<sup>2</sup><sup>1</sup>Hokkaido Univ Sch Dent<sup>2</sup>Dept Vascular Biol IGM. Hokkaido Univ

Drug resistance is a major cause of poor outcome in chemotherapy. Recently, it has been reported that chemotherapy sometimes induces ABCB1/MDR1, one of the ABC transporters in cancer cells. We have reported that tumor endothelial cells (TECs) show drug resistance with upregulation of ABCB1. However, the effect of chemotherapy on drug resistance in TECs is unknown. In this study, we examined the mechanism of acquiring drug resistance in TECs during chemotherapy. First, we analyzed ABCB1 expressions in human clinical samples during chemotherapy. There was no difference in ABCB1 expressions in cancer cells, but the ratio of ABCB1 positive blood vessels increased after chemotherapy. High ABCB1 expression in tumor vessels correlated with poor prognosis. We focused on cytokines which were upregulated in cancer cells by anti-cancer drug treatment to address the mechanism of ABCB1 induction in tumor vessels. IL-8 was selected by PCR array analysis. IL-8 treatment upregulated MDR1 in endothelial cells. Administration of anti-cancer drug increased IL-8 levels in in vivo tumor tissues and plasma of tumor-bearing mice. Moreover, the number of tumor-associated macrophage (TAMs), known to secrete IL-8, increased by anti-cancer drug treatment. Collectively, it was suggested that chemotherapy induced drug resistance in TECs, as the new mechanism.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## PS-6 アルツハイマー病モデルマウスの抜歯後の行動変化ならびに組織学的解析

---

○関 遥, Dhar Ashis, 岩井 治樹, 倉本恵梨子, 山中 淳之, 後藤 哲哉  
鹿大 院医歯 機能形態

【目的】 歯の喪失がアルツハイマー病 (AD) を含む認知症の症状の進行に影響することが知られているが、どのようなメカニズムで生じるかは明らかでない。本研究ではアミロイドβの凝集やタウの沈着が生じ始める生後 12 か月齢の AD モデルマウスを使い、抜歯後の行動変化を解析し、また、行動変化をもたらした脳の組織変化について検索を行った。【方法】 実験動物として、家族性 AD で見出されたヒトの変異型プレセニリン 1・タウ・アミロイドβ前駆体の 3 遺伝子を導入した 3xTg AD マウスを使用した。12 か月齢の雌性マウスの両側上顎臼歯を麻酔下で抜去し、粉末食で 1 か月飼育した。対照として非抜歯の 3xTg AD マウス、野生型 BL/6 マウスを用いた。行動実験として、オープンフィールド試験などを行った。行動解析後、マウスを固定し凍結切片を作製した。行動変化に関わるとされる脳領域、海馬、扁桃体、梨状様皮質についてアミロイドβ、ヒト型タウならびにリン酸化タウの発現を免疫組織化学的に調べた。【結果と考察】 抜歯後の 3xTg AD マウスのオープンフィールド試験では、すくみ行動の時間が、コントロールと比較して有意に増加した。組織学的には、AD の病理所見である、アミロイドβの免疫陽性反応が梨状様皮質を含む大脳皮質全体、海馬 CA1 領域、扁桃体に認められた。ヒト型タウの免疫陽性反応は海馬 CA1 領域、扁桃体に認められた。3xTg AD マウスの抜歯群、非抜歯群での差異は認められなかった。野生型 BL/6 マウスではいずれの免疫反応も観察されなかった。以上の結果より、AD の初期症状を示すマウスに対して抜歯を行うと、組織学的には、1 か月では脳内で AD の病態の変化は認められなかったが、行動実験では野生型に比べて抜歯により明確な行動異常を示すことが明らかとなった。この行動異常には情動機能に関連の深い扁桃体や梨状様皮質が関与していると考えられる。会員外共同研究者：松本信英, 原 博満 (鹿大)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Behavioral change and histological analysis after tooth extraction of Alzheimer's disease model mice

---

○Seki H, Dhar A, Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A, Goto T

Dept Oral Anat and Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

【Introduction】 It is known that the loss of teeth affects the development of dementia which includes Alzheimer's disease (AD), however, its mechanism has not been revealed. Thus, in this study, we investigated behavioral changes of AD model mice after teeth extractions, and observed chemoarchitecture of brain regions that could be the cause of behavioral changes. 【Method】 Twelve-months-old female 3xTg AD mice (the Psen1 mutation, APP-swe and tauP301L transgenes) and C57BL/6 mice were anesthetized and bilateral maxillary molars were removed, and those mice were fed with powdered food for one month. In addition, untreated 3xTg AD mice were used as control. After behavioral tests, mice were fixed and brains were removed for immunohistochemical analysis. 【Results & discussion】 In the open-field test, duration of freezing behavior of 3xTg AD mice with extraction of teeth was significantly increased than those of controls. Histologically, intense immunoreactivities for human tau and amyloid beta were observed in the hippocampus (CA1) and amygdala of 3xTg AD mice with and without teeth extractions, but not of C57BL/6 mice. These results suggest that AD model mice showed more behavioral abnormalities than C57BL/6 mice by teeth extraction.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-7 マウス下顎骨発生過程では破骨細胞は石灰化に先行して出現する

---

○青山 直樹<sup>1</sup>, 中村 恵<sup>2</sup>, 笹野 泰之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大 歯 4年

<sup>2</sup>東北大 院歯 顎口腔形態創建

【緒言】これまで骨発生に関して様々な研究がなされてきた。その多くは骨形成に焦点を置いたもので、骨発生における骨芽細胞の役割についての報告はあるが、骨吸収を担う破骨細胞に着目した研究は少なく、骨発生過程における破骨細胞の役割のみならず、その出現時期についても未だ不明である。一般的に、破骨細胞は石灰化した骨のみを分解吸収すると言われていた。そこで我々は、骨発生における破骨細胞の出現は、骨の石灰化開始と同時あるいはそれ以降であると仮説し、本研究を計画した。本研究では、マウスの下顎骨を用いて骨発生過程を経時的に観察し、石灰化の進行と破骨細胞の出現にどのような関連があるのかを調べた。【方法】胎生 13・14・15・16・17・18 日齢の C57BL/6 系マウスの下顎を摘出して試料とし、4%パラホルムアルデヒドで固定後にパラフィン包埋した。非脱灰の連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色を施して下顎の骨発生過程を組織学的に検討した。さらに、破骨細胞の有無や局在を調べるために酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を、石灰化した骨を検知するためにフォン・コッサ染色を施し、組織学的に検討した。【結果】胎生 13 日では、将来の骨形成部位に間葉細胞の凝集が見られたが、骨の基質は見られず、破骨細胞も認められなかった。胎生 14 日ではメッケル軟骨の外側に石灰化していない骨基質 (類骨) が見られ、類骨の周囲に TRAP 陽性細胞が認められた。胎生 15 日では、一部石灰化した骨が見られ、骨の周囲に多核の TRAP 陽性細胞が認められた。胎生 16 日以降は、石灰化した骨の周囲に多核の TRAP 陽性細胞が多数認められた。【結論】マウスの下顎骨発生における破骨細胞の出現は、下顎骨の石灰化開始より早い。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Osteoclasts appear before calcification begins during mouse mandibular bone development

---

○Aoyama N<sup>1</sup>, Nakamura M<sup>2</sup>, Sasano Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tohoku Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent

**Introduction:** Numbers of studies have shown contribution of osteoblasts to osteogenesis. In contrast, it has not been known when and how osteoclasts appear and participate in bone development. We hypothesized that osteoclasts appear after calcification of bone begins during development since osteoclasts have been reported to resorb only calcified bone. Therefore, we investigated osteoclast development in the course of bone calcification in developing mouse mandibles. **Methods:** Mandibles of C57BL/6 mice at embryonic days 13–18 (E13–E18) were excised, fixed and embedded in paraffin without decalcification. Serial sections were cut and processed for histology. Some sections were processed for tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) to localize osteoclasts and von Kossa stain to identify calcification in bone. **Results:** Mesenchymal cell condensation was seen in the putative osteogenic region but neither bone matrix nor osteoclast was identified at E13. The uncalcified bone matrix or osteoid was seen close to Meckel's cartilage and cells positive with TRAP were identified around osteoid. Calcified bone appeared in E15 and multinucleated cells positive with TRAP was identified around the calcified bone matrix. The TRAP-positive multinucleated cells were increasingly seen around calcified bone from E16 through E18. **Conclusion:** Osteoclasts appear before calcification begins during mouse mandibular bone development. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-8 マウスの歯胚形成過程における低酸素負荷の影響

---

○木部 琴乃<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>2</sup>, 片岡 真司<sup>2</sup>, 豊野 孝<sup>2</sup>, 瀬田 祐司<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九歯大 学生

<sup>2</sup>九歯大 解剖

---

【目的】先天異常は胎生期における遺伝要因と環境要因の複合作用により発症する。環境要因の一つとして母体の低酸素状態が挙げられる。母体の低酸素状態は喫煙、不整脈、睡眠時無呼吸症候群、高地居住、薬物摂取等により惹起され得るが、低酸素環境が胎生期の歯胚形成に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで本研究では妊娠マウスに低酸素負荷を与え、胎仔の歯胚に生じる表現型について解析を試みた。【方法】不整脈を誘発して母体と胎仔に低酸素状態を引き起こすフェニトイン (PHT) を胎齢 15 日と 16 日の妊娠マウスに 1 日 1 回腹腔内投与し、胎齢 17 日に胎仔を摘出して解析した。組織学的解析として H&E 染色を行い、低酸素負荷マーカーである *Hif1a*, *VEGFa*, *Hypoxyprobe* を用いて組織内の低酸素高感受性細胞を検出した。分子生物学的解析として、*Hif1a*, *VEGFa*, *GAPDH* プライマーを用いて Real-time PCR 解析を行った。また酸素濃度調節機能付き飼育装置を用いて胎齢後期の妊娠マウスを 10% 酸素濃度下で飼育し、硬組織形態形成に与える影響を解析した。【結果】母体に PHT を投与した胎仔の歯髓内に血管拡張と鬱血が観察され、隣接する象牙芽細胞が消失している例が見られた。組織学的解析により *Hif1a*, *VEGFa*, *Hypoxyprobe* は切歯の象牙芽細胞においていずれも陽性を呈した。Real-time PCR 解析の結果、*Hif1a* および *VEGFa* は PHT 投与群で有意に高い発現量を示した。また胎生期に 10% 酸素濃度下で飼育された群では切歯と臼歯の双方で硬組織の形態形成異常が観察された。【考察】胎生期の低酸素負荷によって歯胚内に血管拡張が誘導され、組織構築が乱れて部分的な硬組織形成不全症を呈する可能性が示唆された。非会員共同研究者：新崎央、有川千尋、有松彩、武内桃子、富永拓也 (九歯大・学生)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The effect of hypoxic stress during mouse tooth development

---

○Kibe K<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Kataoka S<sup>2</sup>, Toyono T<sup>2</sup>, Seta Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>6th year student, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

---

Congenital anomalies are caused by gene-environmental interaction during embryonic development. Hypoxic stress, which can be induced by smoking, arrhythmia, sleep apnea syndrome, living at high altitudes and uptake of medicine, is known as one of environmental factors during pregnancy. Since the effect of hypoxic stress in tooth development has not been fully understood, we established an experimental model and analyzed dental phenotypes. Pregnant wild-type mice were intraperitoneally injected with phenytoin, an anti-epileptic drug and a known arrhythmia inducer, at embryonic day (E) 15 and 16 and then dissected for sampling at E17 for histological and molecular analyses. In phenytoin-treated tooth germs, ectopic congestion in the pulp and disappearance of neighboring odontoblasts were observed and hypoxic markers *Hif1a*, *VEGFa* and *Hypoxyprobe* were immunopositive in odontoblasts. Quantitative RT-PCR analysis using cDNA derived from E17 tooth germs revealed that *Hif1a* and *VEGFa* were significantly up-regulated in phenytoin-treated group than non-treated. Our data suggest that ectopic congestion can occur in tooth germs under hypoxic stress during pregnancy and it may affect proper tissue organization leading to partial congenital dentinogenesis imperfecta in mice.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**PS-9 歯の発生過程における DMP-1, DSP, FAM20C の局在**


---

○小野 亜美<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup>, 中村 浩彰<sup>3</sup><sup>1</sup>松歯大<sup>2</sup>北医療大 歯<sup>3</sup>松歯大 口腔解剖

---

【目的】象牙質には非コラーゲン性タンパク質として象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP-1), 象牙質シアロタンパク質 (DSP), 象牙質リンタンパク質 (DPP) などの陰性荷電を持つタンパク質が存在している。また, FAM20C は石灰化組織でみられるリン酸化酵素であり, FAM20C による DMP-1 や DPP のリン酸化は象牙質形成不全に関連すると考えられる。本研究では, DMP-1, DSP, FAM20C の役割を明らかにするために, ラット臼歯の発生過程におけるこれらタンパク質の局在を検討した。【方法】胎生 (E) 15, 17 日, 生後 (P) 2, 28 日齢のラット上顎を 4%パラホルムアルデヒドにて固定後, 通法に従いパラフィン切片を作製し, DMP-1, DSP, FAM20C の局在を免疫組織化学的に検討した。【結果と考察】蕾状期 (E15) および帽状期 (E17) の歯胚内部において DMP-1, DSP, FAM20C の局在はほとんど認められなかった。象牙質形成が開始した鐘状期歯胚 (P2) では, 象牙質基質および象牙芽細胞で DSP 局在がみられたが, DMP-1 の陽性反応は認められなかった。一方, FAM20C 局在は象牙芽細胞とエナメル芽細胞に認められた。P28 になると, DMP-1 局在は象牙芽細胞と管周象牙質に局限し, FAM20C は象牙芽細胞のゴルジ野に局在した。また, DSP 局在は象牙質基質にわずかにみられた。以上の結果から, DSP 局在は分化直後の象牙芽細胞から認められるが, DMP-1 はやや遅れて発現することが明らかになった。また, FAM20C 局在は象牙芽細胞において基質形成開始後から継続的に認められたことから, DMP-1 や象牙質シアロリンタンパク質のリン酸化に関与するものと考えられた。さらに DMP-1 と DSP は, 陰性荷電でカルシウムイオンを引き寄せることにより, 象牙質の石灰化に重要な役割を担うことが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

**Immunohistochemical localization of DMP-1, DSP, FAM20C during Tooth Development**


---

○Ono A<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>2</sup>, Nakamura H<sup>3</sup><sup>1</sup>Matsumoto Dent Univ<sup>2</sup>Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent<sup>3</sup>Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

---

Dentin matrix protein 1 (DMP-1) and dentin sialoprotein (DSP), derived from dentin sialophosphoprotein (DSPP), are major non-collagenous matrix proteins in dentin. FAM20C is a kinase which is highly expressed in mineralized tissues. The failure of phosphorylation in DMP-1 and DSPP is considered to lead to dentinogenesis imperfecta. In order to clarify the role of DMP-1, DSP and FAM20C during dentinogenesis, we examined their immunohistochemical localization during tooth development. Rat maxillae were fixed at embryonic days (E) 15, 17 and postnatal days (P) 2, 28. These samples were embedded in paraffin and sectioned. Immunohistochemical stainings for DMP-1, DSP and FAM20C were carried out. At the bud (E15) and the cap (E17) stages, DMP-1, DSP and FAM20C were hardly found in tooth germs. At the bell (P2) stage, immunoreactivity for DSP was detected in dentin. FAM20C was seen in odontoblasts and ameloblasts. At P28, reactivity for DMP-1 was positive in odontoblasts and peritubular dentin. FAM20C was detected in the Golgi area of odontoblasts. These results suggest that DSP is expressed in odontoblasts earlier than DMP-1. FAM20C might be involved in the phosphorylation of DMP-1 and DSPP. These negatively charged proteins could play an important role in dentin mineralization by reserving calcium ions. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-10 う蝕ならびに歯周病を抑制する口腔内細菌の探索

---

○池本梨央南, 壘屋 有希, 永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江,  
田崎 園子, 池崎晶二郎, 長 環, 田中 芳彦

福歯大 機能生物 感染生物

---

口腔内には 700 種類以上の細菌が常在し, お互いに均衡を保ちながら細菌叢を形成している。しかしながら, 様々な環境要因により細菌叢のバランスが崩れると病原細菌が優位になり, う蝕や歯周病などの口腔疾患を発症する。口腔細菌叢の形成や環境因子による変遷において, 細菌は共存する細菌間で様々な共生や拮抗の関係を形成している。拮抗現象の一つとして, ある種の細菌は増殖阻害物質を産生することで, 自己増殖のために優位な生存環境をつくると考えられる。このような口腔細菌叢中の共生や拮抗の関係を解明し, 口腔細菌叢をコントロールすることは疾患予防の観点から非常に重要となる。本研究では, ヒト口腔常在菌の中から, う蝕原性菌や歯周病原性菌の増殖を抑制する細菌を探索し同定することを目的とする。本発表では, これまでに得られている菌垢や唾液サンプルからスクリーニングした結果を示したい。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Screening of a candidate oral bacteria to prevent dental caries and periodontal disease

---

○Ikemoto R, Tatamiya Y, Nagao J, Narita Y, Arita-Morioka K, Yasumatsu K, Tasaki S,  
Ikezaki S, Cho T, Tanaka Y

Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

---

The oral cavity has well-balanced microbiota consisting of more than 700 bacterial species. Many evidences demonstrated that a disturbance of the balance of microbiota influenced by several environmental conditions, for example host immunity, nutritions, temperature, and pH causes oral disease such as dental caries and periodontal disease. It has been known that some bacteria in the oral cavity produces an inhibitory compounds to compete other bacteria and grow dominantly in the oral cavity. Understanding the competing relationship among oral bacteria and controlling oral microbiota are important to prevent oral disease. In this study, we screened a candidate oral bacteria to produce the competing substances to inhibit the growth of the bacteria associated with dental caries and periodontal disease.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-11 飲料物の飲み口に付着する細菌の量および構成の解析

---

○佐野 拓人<sup>1</sup>, 平吹 有香<sup>1</sup>, 涌井 杏奈<sup>1</sup>, 曾田 彩花<sup>1</sup>, 安彦 友希<sup>2</sup>, 八巻 恵子<sup>2</sup>,  
真柳 弦<sup>2</sup>, 鷺尾 純平<sup>2</sup>, 高橋 信博<sup>2</sup>, 佐藤 拓一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 医保健 検査技術科学

<sup>2</sup>東北大 院菌 口腔生化

---

**【目的】**日本では、乳児用液体ミルクの規格基準がなく、普及が遅れている。将来的に液体ミルクの規格基準を得るために、安全性を立証するデータは不可欠である。本研究では、その第1歩として、飲み残し後のペットボトル飲料物の細菌増殖について着目し、その細菌量および構成について解析した。**【方法】**20代の健常男女4名を被験者とし、インフォームドコンセントを得た。ペットボトル（お茶）を直接飲んでもらい、直後および1日放置後にその口の部位を綿棒で擦過し、緩衝液に懸濁したものを試料として、37℃で1週間、嫌気培養した。次いで、1日放置後の飲料物についても同様に処理・培養を行った。得られた各コロニーから genomic DNA を抽出し、16S rRNA シークエンス解析により細菌種の同定を行った。**【結果・考察】**ペットボトルの口から、直後は平均  $2.2 \times 10^4$  CFU/mL、1日放置後は  $8.6 \times 10^3$  CFU/mL、1日放置後の飲料物から  $2.2 \times 10^6$  CFU/mL の細菌が得られた。飲み口部分の直後の主な細菌構成は、*Streptococcus* (53 株, 39.6%) の他、*Actinomyces* (18 株, 13.4%), *Gemella* (7 株, 5.2%), *Propionibacterium* (7 株, 5.2%), *Veillonella* (6 株, 4.5%), *Neisseria* (6 株, 4.5%) であった。直後の飲み口部分の細菌構成は、文献的に報告がある唾液の構成と類似していた。1日放置後の飲み口部分と飲料物の細菌構成は全て *Streptococcus* であり、直後に優位に検出された菌種の残存が示唆された。飲料物の飲み方や保管方法についても、配慮が必要であると思われた。今後、乳児を対象とした液体ミルクの飲み残し後の微生物増殖について検討する予定である。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Quantification and composition of remaining bacteria in plastic bottles after drinking

---

○Sano H<sup>1</sup>, Hirabuki Y<sup>1</sup>, Wakui A<sup>1</sup>, Aida A<sup>1</sup>, Abiko Y<sup>2</sup>, Yamaki K<sup>2</sup>, Mayanagi G<sup>2</sup>,  
Washio J<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Sch Health Sci

<sup>2</sup>Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

**Objectives:** It is necessary to form the standards of liquid baby formula in Japan. As a first step, bacteria at the mouth of plastic bottles after drinking were analyzed quantitatively and qualitatively. **Methods:** Four healthy subjects were asked to drink non-sugar tea in a plastic bottle. Both immediately after and one-day after drinking, the mouth of plastic bottles was wiped with cotton swabs. After suspended in a buffer, samples were cultured anaerobically. Genomic DNA were extracted from individual colonies, and bacterial species were identified by 16S rRNA gene sequencing. **Results and Conclusion:** The mean amounts of bacteria (CFU/mL) were  $2.2 \times 10^4$  and  $8.6 \times 10^3$  from the mouth of plastic bottles immediately after and one-day after drinking, respectively. While,  $2.2 \times 10^6$  was recovered from drinks of one-day after drinking. *Streptococcus* (39.6%) were predominant in the mouth of plastic bottles, followed by *Actinomyces* (13.4%), *Gemella* (5.2%) and *Propionibacterium* (5.2%). The composition was similar to that of the saliva reported previously. In contrast, only *Streptococcus* were detected one-day after drinking, suggesting that the predominant species, from the mouth of plastic bottles, predominantly survived in a drink one-day after drinking. How to drink and keep drinks should be considered when drinking with plastic bottles.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-12 ATP 拭取り検査によるスマートフォンの汚染状況について

---

○田中 雄祐<sup>1</sup>, 池澤 叡輔<sup>1</sup>, 吉田 愛<sup>1</sup>, 葛城 啓彰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 2年生

<sup>2</sup>日歯大新潟 微生物

【緒言】スマートフォンは近年急速に普及しているがその使用状況から見て、スマートフォン表面のタッチパネルは手指および唾液等で汚染されているものと考えられる。スマートフォンの汚染状況について ATP 拭取り法により検討を行うと共にスマートフォンの使用状況に関するアンケート調査を行った。【方法】対象者は、学園祭に参加した学生で協力の得られた本学学生 78 名（男性 39 名、女性 39 名）とした。汚染状況検査は、LuciPac™ A3 Surface およびルミテスター PD-30 (Kikkoman, co.) を用いて拭取り法にて行った。汚染状況調査に当たり、協力を得られた被験者にアンケート調査を行い性別、機種、カバーフィルムの有無、フォルダの有無、清掃状況、使用年数について無記名で回答を得た。【結果】スマートフォン表面の汚染状況は 33~46696(RLU)の範囲であり、各個人で汚染状況にはかなりの違いがあった。性別では男性 4094±5134(RLU)、女性 4120±8582(RLU)であり、男女間で有意差はなかった。カバーフィルムの有無では、フィルム有 3346±5026(RLU)、フィルム無 6326±11476(RLU)であった。スマートフォンの使用状況調査では、カバーフィルム有 (78%)、ケースあり (85%)、清掃習慣無し (78%) であった。【考察】スマートフォン汚染状況に関する使用者の意識は高くなく、清掃習慣のある者の割合も低い。カバーフィルムやケースを使用している者が大部分であり、これらの使用によりスマートフォンの破損防止と共に汚染対策に役立っているものと考えられた。しかし、使用頻度により汚染状況にも個人差が大きく、医療現場でもスマートフォンを始めとしたタッチパネル機器は今後汎用されると考えられるため普段からこれらの機器に対する汚染対策意識を持つことが院内感染防止などに重要であるものと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The extent of contamination of smartphone by ATP method

---

○Tanaka U<sup>1</sup>, Ikezawa E<sup>1</sup>, Yoshida A<sup>1</sup>, Katsuragi H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata

**Introduction:** In recent years, smartphones were became popular. For the usage, there were extents of contamination of smartphone by finger or saliva. So, we checked the contamination and questionaries survey of smartphones. **Methods:** Subjects were 78 students of Nippon Dental University (39 male, 39 female). Contamination investigation was tested by LuciPac™ A3 Surface and lumitester PD-30 (Kikkoman co.) Questionaries' survey about usage of smartphone was done for informed consent collaborators with no name. **Results:** The range of contaminations were 33 to 46696(RLU), and there was no differences between male 4094±5134 (RLU) and female 4120±8582 (RLU). there was no differences between smartphone with cover film: 3346±5026 (RLU) and none: 6326±11476 (RLU), too. A large part of collaborators had cover film (78%), smartphone case (85%), and no habit to clear (78%). **Conclusion:** There were a few attention about the extents of contamination of smartphone. Cover films were useful for the protection of smartphones by breach or contaminations, but the situation of contamination was quietly different of individuals. So, it was important that we have the conscious for contaminations on smartphones.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## PS-13 舌下免疫療法による食物アレルギー予防効果の解析

---

○秋山なつみ<sup>1</sup>, 桃北 萌子<sup>1</sup>, 宍戸 香<sup>1,2</sup>, 黒石 智誠<sup>1</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大学 院歯 口腔分子制御

<sup>2</sup>東北大学 院歯 顎口腔矯正

---

【背景】舌下免疫療法 (sublingual immunotherapy, SLIT) は舌下粘膜から抗原を吸収させることにより減感作さらには免疫寛容を誘導し, アレルギー性疾患の根治を目指す免疫療法であり, 本邦ではアレルギー性鼻炎に対する治療法として用いられている. 食物アレルギーに対する効果も期待されているが, その効果や安全性に関して不明な点も多い. 本研究では, 卵白アルブミン (OVA) に対する食物アレルギーマウスモデルを用いて, 食物アレルギーに対する SLIT の予防効果を検討した. 【方法】SLIT は, PBS に溶解した OVA および sodium carboxymethyl cellulose (CMC) を BALB/cA マウスの舌下に投与することにより行った. マウスに OVA +水酸化アルミニウムゲル混合溶液を腹腔内投与することにより, OVA 感作を行った. その後, OVA の胃内投与 (週3回, 計9回) によりアレルギーを惹起し, 投与90分後における下痢発症もしくはアナフィラキシーショックを観察した. また, 最終投与の90分後に血清および空腸を採取した. 血清中免疫グロブリン濃度, OVA 特異抗体価および mouse mast cell protease-1 (mMCP-1) 濃度は ELISA 法により測定した. 空腸における mRNA 発現量は定量 RT-PCR 法により測定した. 【結果と考察】SLIT は OVA 濃度および SLIT 回数に依存して OVA 食物アレルギーを予防した. OVA-SLIT 群では, コントロールである CMC-SLIT 群に比較して, OVA 胃内投与による下痢発症率が有意に低下し, 生存率も上昇した. また, 血清中の IgE 濃度, IgG1 濃度, OVA 特異抗体価および mMCP-1 濃度の有意な低下も認められた. さらに, 空腸組織における Th2 型サイトカイン (IL-4 および IL-13) mRNA 発現量の有意な減少も認められた. 以上の結果から, SLIT による食物アレルギーの予防効果が明らかとなった.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## Sublingual immunotherapy prevents food allergy in mice

---

○Akiyama N<sup>1</sup>, Momokita M<sup>1</sup>, Shishido K<sup>1,2</sup>, Kuroishi T<sup>1</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Sublingual immunotherapy (SLIT) is an allergen-specific immunotherapy, by which allergens are absorbed from the sublingual mucosa. SLIT is currently prescribed for allergic rhinitis in Japan. Although SLIT is considered to be effective for other type I allergies, such as food allergies, the underlying mechanisms have not yet been clarified. In the present study, we investigated the preventive effects of SLIT in a murine food allergy model induced by ovalbumin (OVA). OVA in PBS containing carboxymethyl cellulose (CMC) was applied under the tongues of BALB/cA mice. Mice were sensitized by an intraperitoneal injection of OVA with ALUM, and then challenged intragastrically with OVA. Diarrhea and anaphylaxis were assessed 90 min after the challenge. Serum and the jejunum were collected 90 min after the last challenge. SLIT before sensitization prevented OVA-food allergy in OVA dose- and SLIT time-dependent manners. The incidence of diarrhea was significantly lower in OVA-SLIT mice than in control CMC-SLIT mice. IgE, IgG1, and mouse mast cell protease-1 concentrations and OVA-specific antibody titers in serum were significantly decreased in OVA-SLIT mice. The expression levels of Th2 cytokines (IL-4 and IL-13) in the jejunum were also significantly decreased. These results indicate that SLIT exerts preventive effects against food allergies.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-1 一口量に関わる要因について

---

○塩澤 光一, 奥村 敏

鶴大 歯 生理

【目的】肥満と大きく関わるヒトの一口量を決めている要因について成人被験者で調べた。【方法】実験は 61 名の成人被験者（男性 39 名, 女性 22 名, 平均 23.3 歳）で行った。2 種の食品（魚肉ソーセージ: FS, パン: B）を咀嚼試料に用いた。一口量は, 予め測定した試料の重量から 1 回の咬断で残った試料の重量を引いて求めた。各被験者の咀嚼能率はグルコメーターで測定した。各被験者の歯列弓の大きさ（幅: 左右第一大臼歯中心窩間の距離, 長さ: 中心窩を結んだ線に切歯点から垂線を引いた長さ）をパラフィンワックス咬合印象から計測した。各被験者の体重と身長から BMI を計算した。【結果および考察】咀嚼能率と一口量の間には有意な相関は認められなかった。しかしながら, BMI と一口量との間には有意な正の相関が認められた。この結果は, 一口量は肥満と大きく関わっていることを示している。どちらの食品 (FS, B) の一口量でも, 歯列弓の大きさ（幅および長さ）との間に有意な正の相関が認められた。これらの結果は, 一口量はそのヒトの歯列弓の大きさと密接に関わっており, また, そのヒトの舌の大きさが一口量を決めている要因であることを示唆させる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Actual factors related to the natural bite size of food

---

○Shiozawa K, Okumura S

Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Obese people were thought to exhibit a different eating behavior, such as the natural bite size (BS) to normal weight people. But, actual factors related to the BS has not been well elucidated. Therefore, we investigate the relationship between the BS and individual chewing behavior or physical factors (BS; masticatory performance, MP; lower dental arch size) in 61 adult subjects (39 males; 22 females; mean age, 23.3 yrs.). Fish sausage (FS) and bread (B) were used for test food. The BS for each food was evaluated by subtracting the weight of remaining portion after first bite from the original weight. The MP was measured by the gluco-sensor. Body mass index (BMI) was calculated to estimate the degree of obesity. There was no significantly correlation between the BS and the MP. Significant positive correlation between the BMI and the BS for each test food. In addition, significant positive correlation between the lower dental arch size and the BS for each test food were obtained. These results indicate that the BS is closely related by the lower dental arch size, and suggest that the BS may be decided by the individual size of the tongue.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-2 歯胚発生過程における血管形成制御因子の発現状況および局在の検討

---

○春原 正隆, 佐藤 巖

日歯大 生命歯 解剖 1

---

目的：歯の発生は、上皮と間葉組織間の相互作用により開始され、種々の成長因子によって制御されている。しかしながら、歯胚における血管形成のメカニズムに関しては未だ解明されていない。本研究において、我々は歯胚発生過程における初期の血管形成に関与する種々の制御因子について検討を行った。方法：血管形成に関与する制御因子の発現および局在に関し、in situ ハイブリダイゼーション法および免疫染色法を用いて、胎生 11.5 日から胎生 18.5 日のマウス歯胚において解析を行った。結果：血管形成に関与する制御因子は特に歯乳頭、間葉組織、エナメル器においてその発現が認められ、時期特異的な発現パターンが認められた。結論：本研究において、血管形成に関与する可能性のある制御因子の時期特異的な発現および局在が胎生期マウス歯胚において確認された。\*本研究は、日本学術振興会科研費助成番号 22592052 および 26462800 によってサポートされております。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Expression and localization of the regulators of blood vessel formation in tooth germ development

---

○Sunohara M, Sato I

Dept Anat, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ

---

**Objective:** Tooth development is occurred through interactions between epithelial and mesenchymal tissues and regulated by various growth factors. However, little is known about the formation of blood vessels in tooth germ. In this study, we investigated the regulators involved in initial formation of blood vessels during tooth development. **Methods:** Expression and localization of the regulators of blood vessels formation studied via in situ hybridization and immunohistochemical staining in developing tooth germ from E11.5 to E18.5. **Results:** The localizations of the regulators were observed especially in the dental papilla, tooth mesenchyme and enamel organ by using in situ hybridization technique and immunohistochemical analysis. And also the stage-specific expression patterns of them were confirmed. **Conclusions:** This study presents the key regulators may have involved in formation of blood vessels at the different stages of tooth germ development. \*This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Numbers 22592052, 26462800.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-3 口蓋溝の形態と大小口蓋動脈・神経分布について

---

○三輪 容子, 春原 正隆, 佐藤 巖

日歯大 生命歯 解剖 1

ヒト中顔面に存在する硬口蓋は、上顎骨の口蓋突起と口蓋骨で構成され口蓋骨水平板が後部 1/3 をしめる。血管供給は口蓋骨水平板の後外側と上顎骨とで形成される大口蓋管を通過して分布する大口蓋動脈と、さらに分岐した小口蓋動脈より行われる。硬口蓋には口蓋溝とよばれる骨構造物が存在し大口蓋神経が貫通し口蓋全体に分布する。一般に上顎内部にも骨内溝は存在しており顎動脈が翼口蓋部で分岐し上顎結節の歯槽孔から侵入する後上歯槽動脈が通過するものがある。歯科インプラント埋入術では埋入部位や骨移植のための自家骨の採取部位を決定するためにも形態や骨密度、血管や神経分布の把握が重要である。血管や神経およびリンパ管を破損した場合は骨新生の成功率は著しく低下することが報告されていることから形態的特色の理解は重要である。本研究では 16 体ヒト標本 (59-94 歳) を用いた。口蓋部の骨性形態と動脈および神経の分布について検討するため、歯科用コーンビーム CT (CBCT) による撮影を行った。さらに肉眼解剖による形態観察を行い細部は実体顕微鏡 (LEICA MZ16) を用いて詳細な吻合や分枝について観察を行った。さらに口蓋溝を通過する動脈の同じ領域で、大小口蓋動脈・神経、他の神経や血管との関連性を調べた。その結果、硬口蓋における骨性溝は臼歯領域でみられ、その形態にそって神経・血管が分布した。血管と神経の分布は特異的なパターンに分類できた。上顎骨における血管と神経の供給および分布の特異性が観察されたことから、本研究の成果は安全な頭頸部外科処置のための有用なデータであると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Morphology of palatine sulcus and distribution of greater and lesser palatine artery, nerves

---

○Miwa Y, Sunohara M, Sato I

Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

The hard palate composed of maxilla and palatine bone that greater palatine canal formed by the border of both bone. In the morphological features of upper jaw, there is an intraosseous lateral branch of the superior alveolar artery and nerve. In the dental implant, the morphological features of maxillary bone are also important in the extraction of autogenous bone for bone grafting and formation of the scaffold from the maxilla. The form of the bone influence the distribution of blood vessels and nerves were unknown in human. Therefore we observed morphological information of greater and lesser palatine arteries and nerves run through from sphenopalatine foramen to incisive canal, and also try to investigate the morphological structure of the palatine using CBCT apparatus. A total of 16 cadavers preserved in this study. We also observed the arrangement of nerves from greater palatine and lesser palatine, nasopalatine nerve, other related nerve and blood vessels at same region in the palatine. In the molar tooth region of bony palatine process, blood vessel, a nerve exists in the views with the CBCT image. These characterizing specific feature of supply and arrangement in palatine can provide useful data for head and neck surgical treatments.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-4 イヌ科フォークヘッド・ボックス遺伝子 I3 (FoxI3) のフレームシフト変異はトリボスフェニック型大白歯進化におけるメタコニッドの回転を否定する

○子安 和弘, 池田やよい

愛院大 歯 解剖

哺乳類大白歯咬頭の相同に関する最初の仮説は 1883 年に E. D. Cope によって提案され, H. F. Osborn によって発展・展開された。この説は進化の過程で爬虫類・原始哺乳類の三結節性歯の咬頭位置の回転によって哺乳類大白歯の複雑な咬頭配列が生じたとするものであり, コープ・オズボーンの三結節説 (Tritubercular theory) と呼ばれている (大泰司, 1986)。三結節説では, 下顎のトリゴニッドを形成するメタコニッドが爬虫類・原始哺乳類の咬頭 *c* と相同であるとされ, これが「下顎においては爬虫類・原始哺乳類の咬頭 *a* および咬頭 *c* は主咬頭 *b* に対して舌側に回転した」とする根拠となっている (酒井, 1986)。今回我々は, イヌ (*Canis lupus familiaris*) の第 17 番染色体上に存在するフォークヘッド遺伝子 I3 (FoxI3) におきたフレームシフト変異によって, 転写因子である FoxI3 タンパクの産生不足が生じて歯を含む外胚葉性器官の形態形成不全をおこした個体の歯と頭蓋の形態変異を調査した。材料のヘアレスドッグ頭蓋標本は愛知学院大学歯科資料展示室において保管されているものである。今回観察したこれらの頭蓋標本において, 歯の欠損・乳歯と永久歯における形態異常・側頭骨岩様部鼓室胞の形態形成不全が観察された。これら一連の症候性表現型は, ヒトにおける低汗型外胚葉異形成症 (HED) ならびに小耳症 (Microtia) と共通したものである。変異した上・下顎の大白歯表現型は, 全般的に未分化かつ原始的形態を呈しているものと考えられた。こうした FoxI3 を含むホメオティック遺伝子の機能不全は, これらの転写因子タンパクが哺乳類大白歯の進化において重要な役割を持ち, また, コープ・オズボーン以来の咬頭の相同性に対する説明に誤りが含まれていることを示唆していると考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Frameshift mutation of the canid fork-head box I3 (FoxI3) gene denies the Cope-Osborn metaconid rotation in the tribosphenic molar evolution

○Koyasu K, Ikeda Y

Dept Anat, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ

Cope-Osborn theory suggests that mammals with three cusped molars occurs from the reptilian single conical tooth type teeth, and complicated cusps of mammalian molars arise from these three cusped teeth. We investigated the effect of frameshift mutation in forkhead I3 gene (FoxI3) on the chromosome 17 of *Canis lupus familiaris*. The morphological variations of the teeth and cranium were investigated. The materials of hairless dogs were experimental animals developed at the Ministry of Agriculture and Fisheries Animal Health Research Institute from the 1980s to the 1990s, and abnormalities were found in coat, teeth, and sebaceous glands in heterozygotes by an autosomal dominant gene (Goto et al. 1987). From the cranium of these individuals observed this time, morphological abnormalities in teeth defect, deciduous and permanent teeth and morphogenetic dysfunction of tympanic vesicles in the temporal bones were observed. These series of symptoms are common to hypohidrotic ectodermal dysplasia and microtia in humans. It was considered that the morphology of the defected molars on the upper and lower jaws generally represented the undifferentiated and primitive type in morphology. Such dysfunction of homeotic genes including FoxI3 suggests that these transcription factor proteins play an important role in the evolution of mammalian molars.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

## P2-5 強制的開口モデルによる心臓リモデリングとベータ遮断薬による抑制効果

○八木澤由佳<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 梅木 大輔<sup>1</sup>, 石川美佐緒<sup>3</sup>, 川村 直矢<sup>4</sup>, 伊藤 愛子<sup>1</sup>,  
吹田 憲治<sup>2</sup>, 中村 芳樹<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理

<sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 I, <sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病

【目的】口腔内に装置を用いて強制的に開口状態にした場合、全身特に自律神経系に影響を及ぼすと考えられる。しかしながら、その分子レベルでの詳細なメカニズムについての研究は不十分である。一方、交感神経活動の亢進は心臓リモデリングを誘発して心疾患発症の原因になることが報告されている。本研究では「強制的開口が慢性的に交感神経活動を亢進し心臓リモデリングを誘導する」という仮説をたて、マウス開口モデル、及びベータアドレナリン受容体遮断薬を用いてその検証を行った。【方法】16週齢の雄性 C57BL/6 マウスを 1) コントロール群 (Control 群), 2) 開口群 (Bite-opening; BO 群) (下顎切歯に開口装置を装着), 3) ベータアドレナリン受容体遮断薬投与群 (プロプラノロール投与群; Pro 群) (給水ボトルの水に 1g/L の濃度で溶解して経口投与), 4) BO + Pro 群の 4 群に分けた。2週間後に心臓を摘出し、BO 負荷及び Pro 投与が心肥大と線維化に及ぼす影響をそれぞれ、心筋重量/脛骨長比 (mg/mm), ならびに Masson-trichrome 染色により評価した。【結果】心筋重量/脛骨長比に関しては、4 群間で有意差は見られなかった ( $P = NS$ , *not significant*)。一方、心臓線維化に関しては、Control 群に比較して BO 群では有意な増加傾向が見られ (Control vs. BO:  $0.9 \pm 0.14\%$  vs.  $2.7 \pm 0.70\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 6-10$ ), その増加は Pro の併用投与で有意に抑制された (BO vs. BO + Pro:  $2.7 \pm 0.70\%$  vs.  $1.1 \pm 0.26\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 6-10$ )。【結論】以上の結果は、強制的な開口が慢性的に交感神経活動を亢進し、心臓の線維化を誘導することを示唆している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Cardiac remodeling caused by enforced bite-opening and its inhibition by co-administration with beta blocker

○Yagisawa Y<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Umeki D<sup>1</sup>, Ishikawa M<sup>3</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>, Ito A<sup>1</sup>, Suita K<sup>2</sup>,  
Nakamura Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Enforced bite-opening (BO) has abnormalities in the autonomic nervous system. However, the mechanism has not been clearly elucidated yet. On the other hand, chronic activation of sympathetic tone is known to induce the development of cardiac remodeling and heart failure. We thus hypothesized that BO-mediated increase of sympathetic tone might induce cardiac remodeling, and tested this hypothesis using a BO mouse model which was developed by cementing a suitable appliance onto the mandibular incisor. Mice were divided into four groups: 1) Control, 2) BO (increase in the vertical dimension), 3) propranolol (Pro) (via the drinking water containing 1g/L), and 4) Pro + BO. After 2 weeks of each treatment, we examined cardiac hypertrophy as exemplified by the heart weight/tibial length ratio (mg/mm) and cardiac fibrosis area by Masson-trichrome staining. No significant changes were observed in the heart weight/tibial length ratio (mg/mm). Conversely, the fibrosis area in the BO-group was significantly greater than that in the Control-group (Control vs. BO:  $0.9 \pm 0.14\%$  vs.  $2.7 \pm 0.70\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 6-10$ ) but this increase was suppressed by the co-treatment with propranolol. These results suggest that BO treatment might induce cardiac fibrosis through the BO-mediated activation of sympathetic tone.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-7 TLE3による骨格筋組織幹細胞 サテライト細胞の増殖・分化制御機構

---

○古株彰一郎<sup>1</sup>, 中富 千尋<sup>1</sup>, 松原 琢磨<sup>1</sup>, 自見英治郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化学

<sup>2</sup>九大 院歯 OBT セ

サルコペニアなどの骨格筋疾患は運動機能障害だけでなく摂食嚥下障害の大きな原因の一つである。よって超高齢社会のわが国では骨格筋の機能を維持・回復させるために詳細な骨格筋代謝メカニズムの解明が必要である。Transducin Like Enhancer of split 3 (TLE3)は発生や細胞の分化・増殖に関する転写共益因子で、これまでに我々は間葉系幹細胞の脂肪細胞分化や骨芽細胞分化を制御することを報告した。そして今回このTLE3がサテライト細胞の増殖や筋分化を制御する可能性を見出したので報告する。器官培養した骨格筋線維の免疫染色を行ったところ、MyoD陽性のサテライト細胞でTLE3の発現が確認された。siRNAを用いてTLE3をノックダウンしたサテライト細胞ではCyclinD1やCyclinD2の発現量が低下し増殖能が低下した。一方、TLE3をノックダウンした細胞では筋分化が亢進したがMyoDの発現量に変化はなかった。そこで筋分化能を有する線維芽細胞株10T1/2細胞を用いてTLE3のMyoD転写活性に対する作用を検討したところ、TLE3はMyoDと会合しMyoDの転写活性を強力に抑制することがわかった。この転写抑制にはTLE3のQドメインとSPドメインが必要であり、TLE3の過剰発現はMyoDの転写活性に必要なE proteinとMyoDの会合を阻害した。TLE3はE proteinが結合するMyoDのbHLHドメインと結合するため、TLE3の結合したMyoDはE proteinと結合できないことで標的遺伝子の転写を活性化することができないと考えられた。今後はin vivoで骨格筋代謝におけるTLE3の役割を明らかにしていきたい。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### TLE3 regulates proliferation and differentiation of muscle stem cells

---

○Kokabu S<sup>1</sup>, Nakatomi C<sup>1</sup>, Matsubara T<sup>1</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyusyu Dent Univ

<sup>2</sup>OBT Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Sarcopenia is characterized by an age-related loss of skeletal muscle mass and decline in muscle strength. In addition to impair motor function sarcopenia is one of the major cause of eating disability and dysphagi. Thus, there is an unmet and urgent need for strategies that will improve skeletal muscle mass and/or function in aging adults. Satellite cells are skeletal muscle stem cells that provide myonuclei for postnatal muscle growth, maintenance and repair/regeneration in adults. Here, we identified Transducing-like enhancer of split 3 (TLE3) one of the Groucho/TLE family members, as a novel regulator of MyoD, master regulator of myogenesis. TLE3 was expressed in activated and proliferative satellite cells. When TLE3 were knocked down in satellite cells, cell proliferation was decreased and myogenic differentiation was increased. Furthermore, through its Q and SP domains, TLE3 interferes with the function of MyoD by disrupting the association between the bHLH domain of MyoD and E proteins. Our findings indicate that TLE3 participates in skeletal muscle homeostasis through dampening satellite cell differentiation by controlling MyoD activity. Thus, TLE3 may play an important role in satellite cells physiology.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-8 ヒト中耳関連筋における CGRP の局在性について

---

○佐藤 巖, 三輪 容子, 春原 正隆

日歯大 生命歯 解剖 1

ヒト鼓膜張筋 (TTM) は鼓膜を緊張させ伝音感度を高める作用があり耳管を起始としツチ骨に停止する耳小骨筋の一つである。口蓋帆張筋 (TVPM) は、軟口蓋を挙上し口蓋帆を緊張させる作用があり咀嚼や嚥下運動に関与する。TTM および TVPM における血液血管系および毛細血管を介した血液供給の機能特性は、加齢によって変化するとされるがその詳細は不明である。また TTM および TVPM のリンパ管内皮細胞ではリンパ管および血管のネットワークを形成するが、ヒトでは十分検討されていない。PECAM (CD31) は、血管内皮細胞の重要なマーカーでもある。カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は血管誘導をコントロールするとされる。リンパ管ヒアルロン酸受容体-1 (D2-40) は、リンパ管内皮細胞のマーカーである。本研究では、61-103 歳 (平均 83.4 歳) の 14 人の献体標本から得た TTM および TVPM を用いて、抗 CD31 抗体、抗 CGRP 抗体、抗 CGRP 抗体を用いたホールマウント免疫組織学染色を行いその組織像を観察し、次の結果を得た。D2-40 および CD31 陽性反応はほぼ同じ領域で認めたが、D2-40 および CD31 の発現のレベルは、筋の表面および深部領域によって異なった反応を示した。さらに、高齢者の TTM および TVPM において血管の内側層および筋線維の周囲に CGRP の局在性を認めた。したがって、CD31, D2-40 陽性細胞および CGRP 局在性の違いは、毛細血管を介した血液供給の本筋の機能的特性を反映し、老化によっても血液を収集し得るネットワーク形成を維持する可能性がある。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Localization of CGRP in human middle ear related muscle

---

○Sato I, Miwa Y, Sunohara M

Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Tensor tympani muscle (TTM) and tensor veli palatine muscle (TVPM) are considered muscles of the middle ear, they are active during chewing and velopharyngeal movements inherent in the act of chewing and swallowing. Blood vascular systems in TTM and TVPM with functional property of blood supply via capillary are changed by aging. The lymphatic vessel hyaluronan receptor-1 (D2-40) and PECAM (CD31) were also an important marker of vascular endothelial cell. The presence of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-positive fibers indicate that vascular regulation. The lymphatic endothelial cells in TTM and TVPM forming a network of lymphatic capillaries and vessels in aging of these muscles remain unknown. In this study, TTM and TMVP from 14 human cadavers (mean, 83.4 years) were examined. D2-40 and CD31 positive reactions were almost in same regions in examined stages, however the level of these proteins differed between superficial and deep regions in human muscle. The localization of CGRP mainly inner layer of blood vessels and around muscle fibers in the elderly human TTM and TVPM. Therefore, different levels of protein of these markers localization in examined muscles may reflect the functional property of blood supply via capillary and collecting blood with network system by the aging.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-9 軟骨石灰化不全 (CCI) ラットの発症メカニズム—頭蓋底軟骨結合と下顎頭軟骨—

○永山 元彦<sup>1</sup>, 天野 均<sup>2</sup>, 江原 道子<sup>1</sup>, 中尾 寿奈<sup>1</sup>, 田沼 順一<sup>1</sup>, 渡辺 実<sup>3</sup>, 田中 政巳<sup>4</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔病理, <sup>2</sup>大歯大 薬理

<sup>3</sup>聖マリアンナ医大 院 実験動物飼育管理研究施設, <sup>4</sup>会津大短大 食物栄養

【目的】 聖マリアンナ医科大学の田中らにより全身の低成長や軟骨内骨化不全を示す SD ラット由来の自然発症型軟骨石灰化不全 (CCI) ラットが確立され、生後 2 週齢における頭蓋底軟骨結合と下顎頭軟骨について形態的・分子生物学的に SD ラットと比較したところ、CCI ラットでは、頭蓋底軟骨結合と下顎頭軟骨の軟骨内骨化の時期が異なり、両軟骨の成長板における石灰化軟骨の破骨細胞性吸収に差を認めず、両軟骨の *Ihh*, *Gli1*, *Smo* mRNA の過剰発現と軟骨細胞の過剰増殖や軟骨基質の異常がみられたので、これら分子間の関連遺伝子についての検索を目的とした。【方法】 生後 2 週齢の雌 CCI ラットと雌 SD ラット各 2~3 匹の膝関節部骨端部軟骨から得た total RNA を抽出、マイクロアレイ解析を行った。頭蓋底や下顎頭はホルマリン還流固定後、頭蓋底と下顎頭の矢状断方向でパラフィン切片を作製し、HE 染色、サフランニン染色を行った。【結果と考察】 CCI ラットでは、頭蓋底軟骨結合や下顎頭軟骨における軟骨幅の拡大および両軟骨における軟骨細胞の配列不整と軟骨基質の分布乱れを認めた。マイクロアレイ解析では、SD ラットと CCI ラット間で遺伝子クラスター発現に差があり、プロテオグリカンが 2 番目、ヘッジホッグシグナルが 14 番目に異常候補として挙がり、KEGG pathway によるヘッジホッグシグナルでは、*Smo* と *Gli* の異常が有意に検出された。プロテオグリカンの異常分子については検索中である。以上の結果から、CCI ラットの軟骨では共通したシグナルの異常による軟骨細胞の増殖とその基質調節の異常が生じた結果、関節軟骨における形態異常が生じることが示唆された。【結論】 CCI ラットは軟骨内骨化の遅延で頭蓋底軟骨結合と下顎頭軟骨の成熟に遅れを示すが、これには Indian hedgehog-PthrP シグナル異常による軟骨細胞の分化抑制と、プロテオグリカンの産生、制御異常が関係していると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Cartilage abnormality of cranial base and temporomandibular joint in cartilage calcification insufficient rat

○Nagayama M<sup>1</sup>, Amano H<sup>2</sup>, Ehara M<sup>1</sup>, Nakao J<sup>1</sup>, Tanuma J<sup>1</sup>, Watanabe M<sup>3</sup>, Tanaka M<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ

<sup>3</sup>Inst Anim Exp, St. Marianna Univ Grad Sch Med, <sup>4</sup>Junior Coll Div, Univ Aizu, Dept Food Nutr

**Purpose:** A cartilage calcification insufficient (CCI) rat derived from Sprague-Dawley (SD) rat, shows spontaneous skeletal dwarfism associated with abnormal endochondral ossification. We tried to further study for CCI rat cartilage tissue in the field of molecular level. **Materials & Methods:** After two weeks of birth, rats were sacrificed and extracted total RNA from knee joint and fixed heads in 10% buffered formalin. Samples were analyzed by histological procedures including HE and safranin staining and micro array analysis. **Results & conclusion:** CCI rats histologically showed abnormal cartilage in both cranial base synchondrosis and condylar cartilage. These cartilages showed wider and disorganized arrangement of their growth plates and articular cartilage with increasing all differentiated chondrocyte layers and extracellular matrix. Also microarray analysis was supportive for proteoglycan and hedgehog pathway abnormality, especially for *Smo* and *Gli1*. These data demonstrate that CCI rats affect their endochondral ossification due to excessive *Ihh* signaling and producing extracellular matrix.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-10 骨吸収抑制剤投与による骨関連細胞のストレスタンパク質発現の報告

---

○定岡 直<sup>1</sup>, 八上 公利<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 口腔衛生

<sup>2</sup>松歯大 院 健康増進口腔科学

---

【目的】骨吸収抑制薬は骨を吸収する役目を持つ破骨細胞の機能抑制により骨吸収を抑制することから、ページェット病や高カルシウム血症、悪性腫瘍の骨転移防止および骨粗鬆症による骨折予防の目的で臨床応用されている。近年、骨吸収抑制薬を投与中に行われた侵襲的歯科治療による感染を引き金として発症する骨吸収抑制薬関連顎骨壊死(MRONJ)が臨床的に注目されている。発症機序は骨吸収抑制薬により破骨細胞が古い骨を吸収せず、その上で侵襲的な歯科治療により感染を起こすことにより発症するとされる。しかしそれ以外のことについては明らかにされていない。本研究では破骨細胞前駆細胞に発現するNFκB活性化受容体(RANK)と骨芽細胞に発現するNFκB活性化受容体リガンド(RANKL)を特異的に阻害する骨吸収抑制薬と酸化ストレスにより活性化され細胞傷害性を持つフリーラジカルを発現するiNOS (inducible nitric oxide synthase)の亢進に参与するストレスタンパク質との関連性を調査した。

【方法】マウス骨芽細胞株:MC3T3-E cellとマウス由来マクロファージ様細胞:RAW264.7細胞を用いる。LPS単独投与とLPS+骨吸収抑制剤の複合投与し一定時間培養後におけるストレスタンパク質のmRNA発現量をTaqMan Assays Gene Expressionを用いて比較した。

【結果と考察】MC3T3-E cellとRAW264.7 cell共に複合投与時にストレスタンパク質の発現量が増強され、骨吸収抑制薬はストレスタンパク質の発現を引き起こす可能性を示唆した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Report of the stress caused by resorption of bone inhibitor administration protein expression of bone associated cells

---

○Sadaoka S<sup>1</sup>, Yagami K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Matsumoto Dent Univ Oral Hygiene

<sup>2</sup>Matsumoto Dent Univ Grad Sch Dent Independence, Oral-health promotion

---

In late years Medication Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ) which infection with the invasive dental treatment that a resorption of bone depressant drug is given, and was provided develops in as a trigger attracts attention clinically. The mechanism of pathogenesis does not absorb the bones that osteoclasts are old by a resorption of bone depressant drug, and, with that in mind, it is said that it develops by having infection by invasive dental treatment. However, it is uncertain about other things. We investigated association with stress protein associated with sthenia of iNOS which it was activated in this study by a resorption of bone depressant drug and oxidative stress to specifically inhibit RANK and RANKL, and developed a cytotoxic free radical. We gave an LPS single administration and the composition of the LPS + resorption of bone inhibitor and compared the mRNA expression level of the stress protein after the culture. An expression level of the stress protein was reinforced at compound administration, and the bone associated cells suggested likelihood to cause expression of the stress protein by a resorption of bone depressant drug.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-12 ヒストンメチル化酵素 G9a による破骨細胞分化制御への関与

---

○小松浩一郎<sup>1</sup>, 出野 尚<sup>1</sup>, 島田 明美<sup>1</sup>, 中島 和久<sup>1</sup>, 山下 照久<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>3</sup>,  
二藤 彰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 薬理

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

<sup>3</sup>松歯大 口腔生化

---

ヒストンメチル化酵素は遺伝子発現のエピジェネティックな制御に関わる。我々はヒストンメチル化酵素のひとつ G9a に注目し、*G9a<sup>flox/flox</sup>* マウスから分離培養した腱細胞や骨芽細胞を *in vitro* で *G9a* 欠損させて解析した結果、G9a や H3K9 メチル化は細胞分化を促進的に制御する可能性を見出した。一方、破骨細胞分化における G9a の関与は不明である。最近、我々は *in vitro* での *G9a* 欠損による骨髄細胞から破骨細胞への分化亢進を示唆する興味深い所見を得た。そこで今回は G9a が破骨細胞の分化を負に制御する仮説をたて、これを検証する。

*in vitro* で *G9a<sup>flox/flox</sup>* マウス骨髄細胞から *cre* 発現ベクターによって *G9a* 欠損させた後、MCSF と RANKL によって破骨細胞へ分化させたところ、G9a 遺伝子発現および H3K9me2 タンパクの顕著な減少を確認した。NFATc1 の遺伝子発現に影響はなかったが、TRAP および Ctsk の遺伝子発現の顕著な上昇が認められた。TRAP 染色陽性の多核細胞の数が増加した。更に *G9a* のレスキュー実験を行ったところ、TRAP および Ctsk の遺伝子発現にレスキュー効果が認められた。

最近、破骨細胞分化におけるエピジェネティックな制御として、Dnmt3a による DNA メチル化 (Nishikawa et al, 2015) やヒストン脱アセチル化酵素 Sirt6 (Park et al., 2017) が転写抑制因子 (MafB, IRF8) の働きを抑制して NFATc1 への負のフィードバックを減らすことによって破骨細胞の分化を促進することが示唆されている。一方、*G9a* 欠損は NFATc1 への影響はなく下流標的を促進することから、G9a は上記とは別の制御に関与する可能性が考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### A role of a histone methyltransferase G9a in osteoclast differentiation

---

○Komatsu K<sup>1</sup>, Ideno H<sup>1</sup>, Shimada A<sup>1</sup>, Nakashima K<sup>1</sup>, Yamashita T<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>3</sup>, Nifuji A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Mol Hard Tissue Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Oral Biochem Matsumoto Dent Univ

---

The epigenetic modifiers affect cell differentiation through transcriptional regulation. We have previously shown that a histone methyltransferase G9a is essential for proper differentiation and proliferation of tenocytes and osteoblasts based on *in vitro* and *in vivo* analysis. Here, we examined functions of G9a in osteoclast differentiation based on *in vitro* study.

We used bone marrow cells isolated from *G9a<sup>flox/flox</sup>* mice and examined the effects of *G9a* deletion on osteoclast differentiation by infection of *cre* expressing adenovirus. The number of TRAP positive multinuclear osteoclasts was increased after *G9a* deletion. The gene expressions of TRAP and Ctsk, but not NFATc1, were also increased in *G9a* KO osteoclasts. Moreover, infection of *G9a* expressing adenovirus in *G9a* KO cells reversed the effects on gene expression of TRAP and Ctsk.

It has been reported that DNA methylation by Dnmt3a and a histone deacetylase Sirt6 accelerate osteoclast differentiation by inhibition of the function of transcriptional repressors of NFATc1, such as MafB and IRF8. Here, we show that *G9a* deletion caused marked changes of gene expression in the downstream of NFATc1. Thus, it suggests that G9a may play a role in the downstream of NFATc1 during osteoclastogenesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-13** **curdlan-dectin-1** の相互作用により誘導される **syk** の分解を介した破骨細胞分化制御機構

---

○有吉 渉, 沖永 敏則, 西原 達次

九歯大 感染分子生物

これまで我々は、破骨細胞前駆細胞に発現している C-type レクチン受容体の 1 つ dectin-1 のリガンドである curdlan が、NFATc1 の発現抑制を介して、破骨細胞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。本研究では、curdlan による syk タンパクの分解機構について検討を行った。破骨細胞前駆細胞 RAW264.7 の dectn-1 過剰発現株を樹立し、curdlan を添加して培養を行ったところ、dectin-1 とともに syk タンパクの発現が著明に減少した。この現象は、遺伝子レベルでの発現抑制を伴わないことから、細胞内分解系による制御を想定した。まず、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、curdlan 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。さらに、オートファゴソームによるバルク分解系の誘導に、phosphatidylinositol 3-kinase の活性化が関与している可能性が示唆された。一方で、sucrose および methyl- $\beta$ -cyclodextrin の前処理で、curdlan 添加による dectin-1, syk の分解が部分的に回復した。このことから、分解系の誘導には、curdlan-dectin-1 複合体の内在化が必要で、この機構に clathrin, caveolin, もしくは脂質ラフトを介したエンドサイトーシスの関与が考えられた。以上の結果から、dectin-1 を介した curdlan による破骨細胞分化抑制に、curdlan-dectin-1 の内在化とオートファジー・リソソーム系の活性化が関与していることが明らかとなった。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Mechanisms involved in inhibition of osteoclast formation by curdlan-dectin-1 interaction mediated by syk protein degradation**

---

○Ariyoshi W, Okinaga T, Nishihara T

Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

Dectin-1, a lectin receptor for  $\beta$ -glucan, is found predominantly on cells of the myeloid lineage. In the previous study, we have demonstrated that the dectin-1 agonist curdlan inhibits osteoclast formation through down-regulation of syk expression in osteoclast progenitor cells. To clarify the molecular mechanisms of curdlan on osteoclastogenesis, we examined the syk expression in dectin-1 over expressing RAW264.7 cells (d-RAWs) and observed the time-dependent syk protein degradation in the presence of curdlan. Since curdlan treatment had no effect on mRNA expression of syk in d-RAWs, we speculated that posttranslational modifications regulate the syk degradation induced by curdlan. Pretreatment with the autophagy/lysosome inhibitor, bafilomycin A1 markedly blocked the syk degradation induced by curdlan. We also found that curdlan stimulation increased autophagy marker, LC3-II. These results suggested that autophagy plays an important role in osteoclastogenesis by regulating degradation of syk. Furthermore, present study revealed that activation of phosphoinositide 3-kinase and internalization of curdlan-dectin-1 complex are required for the curdlan-induced syk degradation in d-RAWs. Manipulating syk expression levels by curdlan in osteoclast progenitor cells might have beneficial therapeutic effects in patients with osteoporosis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-14 W9 ペプチド投与は OPG 遺伝子欠損マウスの歯槽骨喪失を改善する

---

○尾崎 友輝<sup>1</sup>, 小出 雅則<sup>2</sup>, 二宮 禎<sup>2</sup>, 中村美どり<sup>3</sup>, 吉成 伸夫<sup>1</sup>, 高橋 直之<sup>2</sup>,  
宇田川信之<sup>3</sup>

<sup>1</sup>松歯大 保存

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

<sup>3</sup>松歯大 口腔生化

---

**【目的】** TNF 受容体や RANK と相同性を有する W9 ペプチド (W9) は RANKL に結合して骨吸収抑制作用および骨形成促進作用を示す。我々は、RANKL のデコイ受容体である osteoprotegerin 遺伝子欠損マウス (OPGKO) が重度の歯槽骨喪失を呈することを報告した。今回、W9 投与は OPGKO の歯槽骨喪失を改善するかどうか検討した。**【方法と結果】** (1) 歯槽骨喪失が惹起される 12 週齢の OPGKO に対して W9 (10 mg/kg) を 3 回/日、5 日間皮下投与した。また、risedronate (RIS) (0.1 mg/kg) を 1 回/日、3 日間皮下投与した。投与開始後、6 日目に顎骨を採取し、歯槽骨の  $\mu$ CT 撮影に供した。W9 および RIS 投与は、OPGKO の歯槽骨喪失を強く抑制した。(2) 骨形態計測を行い、歯槽骨の破骨細胞数と骨芽細胞数を定量した。W9 および RIS 投与は破骨細胞数を有意に減少させた。また、W9 投与は骨芽細胞数を有意に増加させたが、RIS 投与は骨芽細胞数に影響を及ぼさなかった。(3) Osterix, ALP,  $\beta$ -catenin および Sclerostin の免疫染色を行い、骨芽細胞の分化を評価した。W9 投与は Osterix, ALP および  $\beta$ -カテニン陽性骨芽細胞を増加させた。一方、RIS 投与にそのような効果は認められなかった。W9 投与は Sclerostin 陽性骨細胞数に影響を及ぼさなかったが、RIS 投与は Sclerostin 陽性骨細胞数を増加させた。以上より、W9 は Sclerostin 発現を低く維持することにより、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを活性化させ、骨芽細胞分化を促進する可能性が示された。**【まとめ】** W9 は Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを誘導して骨芽細胞分化を促進させることが示唆された。W9 は歯槽骨吸収抑制と骨形成促進作用を伴う歯周病治療薬として有望である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Administration of W9 peptide to OPG-deficient mice improved alveolar bone loss

---

○Ozaki Y<sup>1</sup>, Koide M<sup>2</sup>, Ninomiya T<sup>2</sup>, Nakamura M<sup>3</sup>, Yoshinari N<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>,  
Udagawa N<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oper Dent, Endodont, Periodontol, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

---

WP9QY (W9) peptide binds to RANKL and blocks RANKL-induced osteoclastogenesis. W9 is also reported to stimulate bone formation in vivo. OPG-deficient (OPG<sup>-/-</sup>) mice exhibit severe alveolar bone loss with enhanced bone resorption. Here, we examined the effects of W9 administration on alveolar bone loss in OPG<sup>-/-</sup> mice. W9 or risedronate were injected into 12-week-old OPG<sup>-/-</sup> mice. W9 was administered three times a day at 10 mg/kg/dose body weight for the first 5 days. Risedronate was administered once a day at 0.1 mg/kg body weight for the first 3 days. Administration of W9 or risedronate significantly increased BV/TV in OPG<sup>-/-</sup> mice. Histomorphometric analysis confirmed that bone formation-related parameters in OPG<sup>-/-</sup> mice, such as osteoblast number was increased by W9 administration but not by risedronate administration. Interestingly, treatment with W9, but not risedronate, enhanced Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and induced alveolar bone formation in OPG<sup>-/-</sup> mice. Treatment with risedronate recovered sclerostin expression in OPG<sup>-/-</sup> mice, while W9 treatment further suppressed sclerostin expression. These results suggest that treatment of OPG<sup>-/-</sup> mice with W9 suppressed osteoclastogenesis by inhibiting RANKL signaling and enhanced osteoblastogenesis by attenuating sclerostin expression in the alveolar bone.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-15 オステオプロテゲリン欠損マウスに対するカテプシン K 阻害剤投与は、骨吸収抑制と共に骨形成促進作用を示す

---

○中村美どり<sup>1,2</sup>, 中道 裕子<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>2</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>, 高橋 直之<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 口腔生化

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

---

【目的】破骨細胞が分泌するカテプシン K の阻害剤 (オダナカティブ) は、骨基質の分解という破骨細胞の機能のみが標的となる。今までの治験結果から、ビスホスホネートと異なり、骨形成活性を抑制することなく、骨量を増加させることが示され臨床応用が期待されていたが、2016 年に副作用として脳卒中のリスクが確認され開発中止となった。我々は、高回転型骨粗鬆症を呈するオステオプロテゲリン (OPG) 遺伝子欠損マウスにカテプシン K 阻害剤を投与する実験を行った。

【方法と結果】OPG 欠損マウス (14 週齢) にカテプシン K 阻害剤を毎日 4 週間経口投与した。OPG 欠損マウスは、皮質骨における粗鬆化が著しく、皮質骨の海綿骨化が生じる。カテプシン K 阻害剤投与は、大腿骨皮質骨における骨量増加作用を示した。カテプシン K 阻害剤投与は、皮質骨粗鬆化面を減少させることから、粗鬆化面は骨形成に転じ、石灰化によって穴がふさがると考えられた。一方、OPG 欠損マウスの腰椎では、骨吸収、骨形成、石灰化の何れも著しく亢進した超高代謝回転を示し、骨量の著しい減少を呈す。カテプシン K 阻害剤投与では、二重標識面が長くなり、かつ標識間の間隔が広くなり、骨量の増加が認められた。また、骨形態計測の結果から、カテプシン K 阻害剤の投与では、破骨細胞面には有意差は認められず、骨芽細胞面は有意に減少しているが、骨形成速度を促進させ、骨量は増加していた。【考察】OPG 欠損マウスにビスホスホネートを投与した場合は、破骨細胞が減少し、同時に骨芽細胞も減少することで骨代謝回転が低下して骨量が増加した。今回のカテプシン K 阻害剤の投与実験では、破骨細胞の分化を阻害せず、骨形成を促進させることにより骨量を増加させると考えられた。以上の結果から、破骨細胞の存在が骨代謝回転を高く維持するために必要である可能性が考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Treatment of cathepsin K inhibitor in osteoprotegerin-deficient mice inhibits bone resorption and stimulates bone formation

---

○Nakamura M<sup>1,2</sup>, Nakamichi Y<sup>2</sup>, Mizoguchi T<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

Deficiency of osteoprotegerin (OPG), a soluble decoy receptor for RANKL, in mice induces severe osteoporosis caused by enhanced bone resorption, but also accelerates bone formation. We examined whether bone is coupled with bone resorption in OPG-deficient mice using bisphosphonate (resedronate) and cathepsin K inhibitor (L006235), inhibitors of bone resorption. Resedronate treatment of OPG-deficient mice inhibited bone resorption and increased the bone volume of femoral cortical portions. Histomorphometric analysis showed that bone formation-related parameters in OPG-deficient mice sharply decreased with suppression of bone resorption by daily injection of resedronate for 30 days. OPG-deficient mice exhibited high serum alkaline phosphatase activity and osteocalcin concentration. Similarly, daily oral treatment of cathepsin K inhibitor in OPG-deficient mice increased the femoral cortical bone volume. Moreover, cathepsin K inhibitor treatment significantly reduced the porous area/cortical area in OPG-deficient mice. Interestingly, treatment of cathepsin K inhibitor in OPG-deficient mice did not inhibit number of osteoclasts and stimulated bone formation. The double labeling study with tetracycline and calcein revealed that the width of double labels was increased in trabecular bones in the vertebrae of cathepsin K inhibitor treatment of OPG-deficient mice. These results suggest that the existence of osteoclasts in bone maintains the coupling of bone metabolism.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-16 破骨細胞のアクチンリング形成および破骨細胞性骨吸収を制御するアクチン結合分子 PPP1r18

---

○松原 琢磨<sup>1</sup>, 古株彰一郎<sup>1</sup>, 中富 千尋<sup>1</sup>, 自見英治郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化学

<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

[背景・目的] 破骨細胞は骨吸収をおこなう際にアクチンリングと呼ばれる特徴的な細胞骨格構造を形成し、骨基質に強固に接着する。チロシンキナーゼ Src 遺伝子欠損マウスの破骨細胞はアクチンリングを形成できないため、骨吸収不全による大理石骨病を呈する。この結果は破骨細胞における Src により制御されるアクチンリング形成は骨吸収活性に重要な役割を担っていることを示している。しかしながら、Src がアクチンリング形成を制御する分子メカニズムはあまり明らかになっていないため、我々は質量分析法にて Src と結合しアクチン制御に関与する可能性のある分子を検索した。その結果、生理機能がほとんど知られていないアクチン結合分子 PPP1r18 を見出した。そこで、本研究では PPP1r18 の破骨細胞における役割を検討した。[方法・結果] 4-8 週齢マウス脾臓細胞より破骨細胞を分化誘導し、PPP1r18 の発現量の変化をウエスタンブロット法により検索した結果、PPP1r18 の発現量は破骨細胞に伴って低下した。さらに、免疫蛍光染色の結果、PPP1r18 の局在はアクチンリングおよび Src の局在と一致していた。次に、PPP1r18 の破骨細胞における役割を検討するために shRNA により PPP1r18 をノックダウンした結果、破骨細胞のアクチンリング形成を促進した。一方、PPP1r18 を破骨細胞に過剰発現した結果、PPP1r18 はアクチンリング形成を抑制し、象牙切片上における骨吸収窩形成を抑制した。また、PPP1r18 の Protein phosphatase 1 (PP1) 結合部位を欠損させた変異体を破骨細胞に過剰発現すると、アクチンリング形成および骨吸収活性を抑制しなかった。[結論] アクチン制御分子 PPP1r18 は Src および PP1 との結合により破骨細胞のアクチンリング形成を制御する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Actin regulating protein PPP1r18 regulates actin ring in osteoclasts

---

○Matsubara T<sup>1</sup>, Kokabu S<sup>1</sup>, Nakatomi C<sup>1</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>OBT Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Osteoclasts are differentiated from hematopoietic stem cells, attached to bone matrix, and then resorb bone matrix. Osteoclasts in tyrosine kinase Src deficient mice that show osteopetrosis hardly resorb bone matrix because of disable to attachment to bone matrix. Src organizes actin accumulation and regulates actin ring formation for attachment. However molecular mechanisms how Src regulates actin ring formation in osteoclasts are not fully understood. We identified an actin binding protein PPP1r18 as Src binding protein by mass spectrum analysis. PPP1r18 was expressed and localized in actin ring with Src of osteoclasts. Moreover localization of PPP1r18 in Src deficient osteoclast was changed from general cytosol to actin ring constructed by Src overexpression with adenovirus system. These results suggest that PPP1r18 bind to Src and involved in actin ring formation. To reveal the role of PPP1r18 in osteoclasts, we down regulated PPP1r18 by shRNA. Downregulation of PPP1r18 expression promoted actin ring formation. On the other hand, overexpression of PPP1r18 inhibited actin ring formation and bone resorption. Mutation of protein phosphatase 1 (PP1) binding domain of PPP1r18 canceled inhibition of actin ring formation by PPP1r18. These results suggest that PPP1r18 negatively regulates actin ring formation and bone resorption.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-17 Pmepa1 は骨吸収中の破骨細胞で発現が誘導され、骨吸収を制御する**

---

○徐 祥赫<sup>1,2</sup>, 蒲原 麻菜<sup>1</sup>, 久木田敏夫<sup>2</sup>, 久木田明子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>佐賀大 医 微生物

<sup>2</sup>九大 院歯 分子口腔解剖

---

### **Pmepa1 is induced in active osteoclasts and involved in bone resorption**

---

○Xu X<sup>1,2</sup>, Kamohara A<sup>1</sup>, Kukita T<sup>2</sup>, Kukita A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Fac Med Saga Univ

<sup>2</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

**Background & Objective:** Pmepa1 also called Tmepai is an adaptor protein to E3 ubiquitin ligase Nedd4 which is involved in intracellular trafficking, cell survival and autophagy through interacting with several proteins including LC3. We identified Pmepa1 as a highly expressing gene in rat preosteoclasts by DNA microarray. In this study, we investigated the expression and role of Pmepa1 in mouse osteoclast differentiation and functions.

**Methods:** Osteoclasts were formed from mouse bone marrow macrophage (BMM) in the presence of RANKL and M-CSF. Pmepa1 knockout mice were generated by Crisper/Cas9 system. Silencing of gene expression was also performed by infection of osteoclasts with shRNA lentiviruses.

**Results:** Among Nedd4 adaptor proteins, only Pmepa1 was induced strongly by RANKL in mouse BMM. Pmepa1 was induced in preosteoclasts but decreased in osteoclasts formed from BMM. Surprisingly, the immunofluorescence staining of osteoclasts in bone tissue of adjuvant-induced arthritic rats revealed that Pmepa1 was expressed in osteoclasts on bone in vivo. We then examined the expression of Pmepa1 in osteoclasts cultured on dentin slices. In comparison with osteoclasts culturing on plastic dish, the expression of Pmepa1 was significantly increased in osteoclasts on dentin slice. Treatment of osteoclasts cultured on plastic dish with TGF- $\beta$ , osteopontin, Ca-ionophore A23187, increased the expression of Pmepa1. Conversely, the treatment with alendronate or bafilomycin A1 decreased the expression of Pmepa1 which was correlated with bone resorption activity. Bone resorption activity was decreased in Pmepa1 knockdown and Pmepa1-deficient osteoclasts. In addition, Pmepa1 knockdown impaired secretion of cathepsin K of osteoclasts. Moreover, deletion of Pmepa1 decreased proton secretion which was detected by the acid-sensitive fluorescence probe Rh-PM in osteoclasts. In osteoclasts, Pmepa1 was colocalized with early endosome marker EEA1, lysosome marker LAMP2 and autophagy-related protein LC3 which is involved in osteoclast bone resorption. Pmepa1 knockdown in osteoclasts decreased the expression of Nedd4 which is also involved in intracellular trafficking. Collectively, these results show that Pmepa1 is specifically induced in active osteoclasts, and enhance bone resorption by regulating lysosomal secretion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-18 骨芽細胞の SMS1 は骨芽細胞分化を制御する

---

○吉川 美弘, 堂前 英資, 鎌田 愛子, 池尾 隆  
大歯大 生化

[目的]スフィンゴ脂質は生体膜の構造維持にかかわる脂質と考えられてきたが, 近年の著しい科学技術の発展とともに, 多くのスフィンゴ脂質および代謝酵素が生体および細胞機能を制御することがわかってきた. 今回, 私たちは骨芽細胞におけるスフィンゴミエリン合成酵素 (SMS) に着目し, 骨芽細胞分化に及ぼす影響について検討した. [方法]ヒト骨肉腫細胞株 MG-63 から SMS1 と 2 を, マウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 から SMS2 を siRNA にてノックダウンし培養した. 培養 1 週間後, ALP 染色を行った. さらに SMS の骨への影響を調べるために SMS1 と 2 の KO マウスを用いて, 骨形態計測を行った. [結果]MG-63 から SMS1 をノックダウンすると骨芽細胞分化誘導による ALP 染色性を有意に減少させたが, SMS2 をノックダウンすると少し上昇しているようだが, 有意な差はみられなかった. MC3T3-E1 から SMS2 をノックダウンすると骨芽細胞分化誘導による ALP 染色性を減少させた. SMS1 の KO マウスの脛骨を用いた骨解析では雌ではあきらかな骨密度の差は見られないが, 雄では有意に減少していた. 一方, 雄雌とも SMS2 の KO マウスの脛骨を用いた骨解析では差が見られなかった. [結論]以上により, SMS2 は骨芽細胞の分化に影響を及ぼさないか, または影響が小さいが, SMS1 は骨芽細胞の分化を促進し, 骨密度を維持している可能性が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## SMS1 in osteoblast regulates osteoblast differentiation

---

○Yoshikawa Y, Domae E, Kamada A, Ikeo T

Div Biochem, Osaka Dent Univ

Numerous sphingolipids and its metabolic enzymes control the functions of organisms and cells. In the present study, the authors studied the effects of sphingomyelin synthase (SMS) on osteoblast differentiation. To examine the effects of sphingomyelin on osteoblast differentiation, we examined the effect of SMS 1 or 2 siRNA transfection of MG63 cells on ALP staining. In addition, to examine the effects of SMS on bone, we used mice in which the SMS1 and SMS2 genes had been knocked out, and evaluated by bone morphometry. When the SMS1 gene was knocked down from MG-63 cells, there was a significant reduction in ALP staining resulting from osteoblast differentiation induced by differentiation medium, but when SMS2 was knocked down, there appeared to be a slight increase in staining, but no significant differences were observed. In bone analysis performed using tibias from SMS1-KO mice, no obvious differences were seen in bone density in females, but there was a significant reduction in males. Conversely, in bone analysis using tibias from SMS2-KO mice, no differences were observed in either males or females. The above results suggest that SMS2 has little or no effect on osteoblast differentiation, while SMS1 may promote osteoblast differentiation and maintain bone density.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-19 Concentrated Growth Factors による骨代謝能への影響

---

○角田 隆太<sup>1</sup>, 前田 豊信<sup>2</sup>, 鈴木 厚子<sup>2</sup>, 櫻井 裕子<sup>3</sup>, 遊佐 淳子<sup>3</sup>, 加藤 靖正<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奥羽大 院歯 口外

<sup>2</sup>奥羽大 歯 口腔生化

<sup>3</sup>奥羽大 歯 口腔病理

---

【緒言】近年、患者自己血から遠心分離で濃縮血小板を作成し、骨の早期成熟と治癒期間の短縮・手術侵襲の軽減を目的として使用されている。Concentrated Growth Factors (CGF) は抗凝固剤を使用せず血液を1回の遠心分離で作製できるのが特徴であり、白血球・血小板由来の成長因子を含む完全自己血由来のフィブリンで“第二世代の濃縮血小板”と呼ばれている。線維間の結合が高いため、骨移植後遮断膜や新生骨再生など様々な用途に応用できるとされている。しかしながら機序・作用については不明点が多い。そこで本研究では、CGFの骨芽細胞分化に及ぼす影響およびオトガイ骨欠損部位へのCGF移植による組織変化について検討した。【材料(対象)・方法】生後8~10週齢のSD系ラット雄にて骨欠損モデルを作製し、H・E染色により組織学的観察を行った。ラットCGFは全身麻酔後、腔を開き心尖部から採血し速やかに遠心分離(870g, 13分)し作製した。作製したCGFをマウス骨芽細胞MC3T3-E1に作用させ、石灰化および各遺伝子発現量をRT-qPCRで、タンパク合成量をwestern blot法で測定した。【結果・結論】ラット骨欠損モデルにより調整したCGFの骨形成促進活性が確認された。そこで、骨芽細胞MC3T3-E1を用いて、骨系亢進作用の詳細について検討した。CGF刺激により骨分化マーカーの遺伝子発現は変化せず、石灰化の促進も観察出来なかった。また、MC3T3-E1細胞からのRANKL合成や線維芽細胞NIH3T3細胞からのosteoprotegerin (Opg: 内因性の破骨細胞分化阻害因子)合成にも影響を及ぼさなかったが、CGFはMC3T3-E1細胞からのOpg発現とタンパク質合成を有意に上昇させた。CGFは骨芽細胞からのOPG合成を上昇させることで、骨形成促進に働いている可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effect of concentrated growth factors on bone metabolism

---

○Sumida R<sup>1</sup>, Maeda T<sup>2</sup>, Suzuki A<sup>2</sup>, Sakurai Y<sup>3</sup>, Yusa J<sup>3</sup>, Kato Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Ohu Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Biochem, Ohu Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Div Oral Pathol, Ohu Univ Sch Dent

---

**Introduction** Concentrated platelets which are prepared by centrifugation from patient autologous blood are fibrin containing leukocyte and platelet-derived growth factors. The concentrated growth factor (CGF) which are termed as "second-generation platelet concentrated" have been frequently used to accelerate bone fracture healing. In this study, we determined the role of CGF on bone fracture healing using rat metal foramen bone defect model. **Methods** Whole blood was taken from heart of rats and centrifuged (870 g, 13 min) in glass test tube to collect CGF. In vivo assay, CGF was grafted where bone defects in rats. In vitro assay, MC3T3-E1 cells were cultured with CGF to test the effect of CGF on osteoblastic differentiation. **Result and Conclusion** Healing of bone defects were clearly accelerated in CGF-grafted group as compared with the control in vivo. RT-qPCR showed that gene expression of bone differentiation markers were not obviously changed by CGF treatment. In addition, calcification could not be accelerated by the treatment. However, CGF significantly increased production of osteoprotegerin(OPG) from MC3T3-E1 cells. These results suggested that CGF accelerated bone healing through upregulation of Opg production from osteoblasts to reduce osteoclastic activity.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-20 骨端板に侵入する毛細血管の形態に関する走査型電子顕微鏡観察

---

○山本 恒之, 長谷川智香, 本郷 裕美, 網塚 憲生

北大 院歯 硬組織発生

**【緒言】** 成長中の長骨の骨端板では, 毛細血管が軟骨基質を侵食しながら軟骨小腔へと入り込んでゆく。最新の免疫組織化学研究により, 毛細血管の侵入端を形成する内皮細胞は, それ以外の領域には見られない特有な機能を持つことが明らかとなった。侵入端の内皮細胞は, 機能に見合う特有な形態を備えていると推測されるものの, 形態についてはいまだ不明な点が多い。本研究は, オスミウムで浸軟処理したラット長骨骨端板を走査型電子顕微鏡により観察し, 毛細血管侵入端の形態を明らかにすることを目的とした。

**【材料と方法】** 8週齢雄性ラットをアルデヒド系固定液で灌流固定し, 大腿骨遠位端と脛骨近位端を摘出した。一部の標本は矢状方向に凍結切断し, Tanaka と Mitsushima (1984) の方法に従い, 20°Cで10-12日間, 0.1%オスミウム溶液で浸軟処理を施し走査型電顕用試料とした。一方, 他の標本はEDTA脱灰後, 通法により透過型電顕用試料とした。大腿骨, 脛骨ともに一次骨梁に直接する骨端板を観察した。

**【結果と考察】** 一次骨梁の毛細血管は有窓性であり, これにより内皮細胞を他の細胞から識別できた。軟骨小腔への侵入端は, 円蓋状や細長い錐体状などいろいろな形を示していた。さらに, これらの侵入端には, 内皮細胞に孔(直径0.5-2.0 $\mu\text{m}$ 程)が開く有孔型, 孔を持たない無孔型, 有孔型と無孔型とが共存しているもの, が認められた。しばしば侵入端には細胞残渣が含まれていた。毛細血管は先端の形態を変化させながら軟骨小腔内へと侵入し, 軟骨内骨化に重要な役割を果たすと考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Scanning electron microscopic study on morphology of capillaries invading epiphyseal cartilage plate

---

○Yamamoto T, Hasegawa T, Hongou H, Amizuka N

Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

**Introduction:** Vascular endothelial cells invade epiphyseal cartilage plate during bone development. Recent studies have demonstrated the bone-specific blood vessels that are not observed in other tissues. Therefore, these endothelial cells may develop unique ultrastructure enabling their function, however, the details of their morphology remains unclear. This study was designed to elucidate the morphology of invading region of vascular endothelial cells into the cartilage plate.

**Materials and Methods:** Eight week-old Wistar rats were perfused, and the distal end of femora and proximal end of tibiae were dissected out. For scanning electron microscopic observation, some specimens were freeze-cracked, and then macerated with 0.1% OsO<sub>4</sub> according to the method of Tanaka and Mitsushima (1984), while the other specimens were processed for transmission electron microscopic observation.

**Results and Discussion:** Invading regions of the capillary into the cartilage showed various structures, i. e., dome-like and corn-like forms. Furthermore, invading endothelial cells could be divided into three subtypes: a porous type possessing many pores (0.2-2.0 $\mu\text{m}$  in diameter) in capillary walls, a non-porous type, and a mixture type of porous and non-porous walls. From a morphological points of view, the subtypes of capillary walls may reflect their unique function on the cartilage invasion during endochondral ossification.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-21 RAR $\gamma$ シグナリングは成長板軟骨細胞分化・成熟を制御する

---

○内部 健太, 池亀 美華, 岡村 裕彦

岡大 院医歯薬 口腔形態

【目的】レチノイン酸レセプター (RAR) には  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  のサブタイプが存在し, レチノイド X 受容体と協調して多くの生物学的現象を制御する. 軟骨細胞においては RAR $\gamma$  が重要であることが分かっているが, その機能はまだ明らかにされていない. 本研究では, RAR $\gamma$  シグナルの軟骨内骨化に与える影響を検討することを目的とした. 【方法】レセプター特異的なアゴニストを用いて初代培養軟骨細胞, およびマウスの成長に与える影響を検討した. 遺伝子発現解析には定量 PCR ならびに RNA-seq を用いた. 動物実験では軟エックス線,  $\mu$ CT による解析に加え, 免疫組織化学等の組織学的検討を行った. 【結果】RAR $\gamma$  の成長版における発現を組織学的に確認した結果, 成長板軟骨の幅広い範囲で発現が確認され, 特に肥大軟骨層で強いシグナルを検出した. マウス軟骨細胞を用いた実験では, RAR $\gamma$  アゴニスト処理により細胞形態の変化が認められ, 軟骨分化マーカーの発現に影響を及ぼす事が明らかとなった. RNA-seq においても, MMP 等のマトリックスプロテアーゼの発現の亢進が確認された. マウスに同アゴニストを投与すると, 成長が阻害され成長板の構造に大きく変化が見られた. この影響は  $\beta$  カテニン欠損マウスでは軽減される事が確認された. RAR $\alpha$  および RAR $\beta$  アゴニストではこれらの影響はほとんど見られなかった. 【考察】成長板軟骨において, RAR $\gamma$  は軟骨マトリックス関連因子の発現を抑制し, 分解酵素の発現を亢進することが明らかとなった. 同時に石灰化関連因子の発現も亢進させる事から, 軟骨細胞成熟の促進および骨への置換の過程において重要な役割を担っていることが示唆された. また, メカニズムのひとつとして Wnt- $\beta$  カテニンシグナルを介していることが示唆された. 【結論】RAR $\gamma$  シグナルによって軟骨細胞の成熟, 骨への置換の過程が制御されることが明らかとなった.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## Ligand dependent RAR $\gamma$ signaling regulates chondrocyte maturation in growth plate

---

○Uchibe K, Ikegame M, Okamura H

Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Chondrocytes in the growth plate undergo maturation and hypertrophy, mineralization and promote endochondral bone formation. Previous studies have shown that the retinoic acid receptor gamma (RAR $\gamma$ ) functions as ligand-less form and maintains matrix homeostasis in growth plate. However, it is unclear that liganded RAR $\gamma$  also plays role in chondrogenesis. To address this question, we isolated mouse epiphyseal chondrocytes, treated them with a specific RAR $\gamma$  agonist and performed RNAseq. Interestingly, many genes up-regulated by the RAR $\gamma$  agonist did not harbor typical RAR/RXR binding sites, suggesting that they are indirectly impacted by cross-talk with other signaling pathways. Indeed, genes such as MMPs and VEGF are known to have binding sites for Lef/Tcf protein family members that act as gatekeepers for Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. To explore a possible relationship between RAR $\gamma$  and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, we administered the RAR $\gamma$  agonist to  $\beta$ -catenin conditional knockout mice and control littermates. RAR $\gamma$  treatment accelerated replacement of cartilage to bone, leading to growth plate closure in control mice, whereas mutants did not show clear phenotype. The results indicate that stimulation of liganded RAR $\gamma$  promotes maturation of growth plate chondrocytes, thus facilitating cartilage to bone transition. The findings also suggest that RAR $\gamma$  function is in part mediated by Wnt/ $\beta$ -catenin signaling.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-22 メッケル軟骨前半の消失における VEGF および MMP-9 の発現部位とその役割

---

○井上貴一郎

北大 院歯 口腔機能解剖

---

【目的】 VEGF や MMP-9 は、骨端軟骨における軟骨内骨化の研究から軟骨基質への血管侵入に対し重要な役割を演じることが明らかになっている。メッケル軟骨前半も軟骨内骨化様の吸収を示すが、長骨の発生初期と同様に軟骨膜に包まれている。しかしメッケル軟骨の軟骨膜の役割ならびにメッケル軟骨前半の吸収・消失現象を血管侵入の観点から十分に解析されていない。本研究では、軟骨膜を持つメッケル軟骨の軟骨内骨化様の消失メカニズムを理解するために VEGF と MMP-9 の発現部位とその役割について検討した。【方法】メッケル軟骨の吸収が始まっていない胎生 14 日 (E14) から、直径の半分から 2/3 程度吸収が進行した E16.5 のマウスを用い、各ステージにおける VEGF と MMP-9 の発現を中心に、軟骨内骨化のマーカー等について免疫組織化学的に顕微鏡および電顕的に検討した。また基質に侵入する破骨細胞が欠如する *c-fos* 欠損マウスも参考として血管侵入様相を検討した。【結果と考察】E14.5 では、メッケル軟骨下部に発生した膜性骨が、前方端に近い領域で軟骨と接し始め、E16.5 には全周に達し bone collar 様の構造を示した。この領域の薄くなった軟骨膜において VEGF および MMP-9 の発現が認められた。また E16 から E16.5 では、切歯歯胚に接する軟骨の外面と、同時に骨と接している上面と下面でも吸収が確認できる。このことは、両者は異なる吸収開始様式と考えられ、骨の接触に関連する吸収が本来の吸収様式の可能性がある。さらに E16.5 の吸収面では肥大軟骨細胞が VEGF を産生し、軟骨小腔に侵入した血管の位置で MMP-9 の発現が認められた。吸収面に続く未だ吸収されていない部位の軟骨膜で VEGF と MMP-9 の発現が認められ、軟骨膜が軟骨膜内そして軟骨基質への血管侵入に重要な役割を果たしていると考えられる。VEGF, MMP-9 の発現は *c-fos* 欠損マウスでも同様に確認され、軟骨膜の VEGF 産生が血管のメッケル軟骨基質内への侵入に関わると考えられる。【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The expression sites of VEGF and MMP-9 and their roles at the disappearance of the anterior half of Meckel's cartilage

---

○Inoue K

Dept Oral Funct Anat Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

VEGF and MMPs play a pivotal role in the vascular invasion into the cartilage matrix during endochondral ossification of epiphyseal cartilage. This study investigates the expression site of VEGF and MMP-9 in Meckel's cartilage covered with perichondrium and their roles. Using 14-16.5 day-old mice, VEGF, MMP-9, and the endochondral ossification marker of each stage were observed immunohistochemical light and electron microscopically. At E14.5, the contact between the membranous bone and cartilage begins near the anterior end of Meckel's cartilage. At E16.5, a bone-collar-like structure forms. VEGF and MMP-9 were expressed in the thinned perichondrium of this region. In E16 and E16.5, the resorption starts simultaneously on the upper and lower surfaces contacted with bone and on the outer surface contacted with incisor tooth germ. This suggests that in the case of mice, two styles coexist: resorption by contact with an incisor tooth germ and that associated with bone-collar-like structure. At E16.5, the hypertrophic chondrocytes produced VEGF on the resorption surface, and MMP-9 was expressed at the location of the blood vessels invading cartilage lacunae. VEGF and MMP-9 is expressed in the perichondrium, which seems crucial for the vascular invasion in Meckel's cartilage.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## P2-24 天然アパタイト結晶と生体硬組織におけるアパタイト結晶の比較

---

○三島 弘幸<sup>1</sup>, 見明 康雄<sup>2</sup>, 松本 由樹<sup>3</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 理工

<sup>2</sup>東歯大 組織・発生

<sup>3</sup>香川大 農

---

【目的】アパタイト結晶に、天然アパタイト結晶と生体アパタイト結晶がある。その違いを解析し、天然アパタイト結晶が生体の硬組織の結晶性の標準試料としての可能性を探ることを目的とした。【材料と方法】天然アパタイト結晶の材料は黄色(メキシコ)、ピンク色(コロンビア)、青色(ブラジル)、灰緑色(ブラジル)の4種である。生体硬組織としてヒトの歯のエナメル質や下顎骨を用いた。X線回折装置と顕微ラマン分光分析装置で結晶の解析を行った。EPMAを用いて成分の定性分析と定量分析を行った。またSEMやAFMで観察した。【結果と考察】EPMA分析では、天然アパタイト結晶からFが検出され、Fluorapatiteであった。X線回折法の結果でFluorapatiteであることが示された。色の違いは結晶構造、微量元素や組成比の変動による。顕微ラマン分光分析法においてHydroxyapatiteの $\text{PO}_4^{3-}$ のピーク値は4種類が報告されている。その4種のピークは天然アパタイト結晶や生体の下顎骨や歯のエナメル質アパタイト結晶の $\text{PO}_4^{3-}$ のピーク値においても確認できた。ただ、天然アパタイト結晶では $964\text{--}965\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1$ )のピークが生体の骨などの硬組織と比較し、より高いピークを示した。下顎骨では、緻密質や海綿質の部位によりアパタイト結晶性に差が認められた。海綿質では歯の周囲で結晶性が良く、緻密質では下顎底で結晶性が良かった。骨代替材料をインプラント後に、その周囲に形成される骨組織の結晶成熟度の比較対照試料としての使用できる可能性が示唆された。本研究は高知学園短期大学研究倫理審査委員会の審査を受け、承認されたものである(平成28年度第29号)。本研究はJSPS科研費基盤研究C(15K11034)の助成を受けた。香川大学寺林優先生及び東京都市大学ナノテクノロジー研究推進センターとの共同研究である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Comparative analysis of natural apatite crystal and biological apatite crystal

---

○Mishima H<sup>1</sup>, Miake Y<sup>2</sup>, Matsumoto Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med

<sup>2</sup>Dept Hist Dev, Tokyo Dent Coll

<sup>3</sup>Fac Agric, Kagawa Univ

---

Apatite crystals include both natural apatite crystals and biological apatite crystals. We analyzed the difference between natural apatite crystals and biological apatite crystals to investigate the possibility of using natural apatite crystals as a standard sample of crystallinity of biological hard tissues. The specimens were observed and analyzed using a light microscopy, a scanning electron microscopy (SEM), a microscopic laser Raman spectroscopy, an X-ray diffraction method, and an electron-probe microanalyzer (EPMA). By EPMA analysis, F was detected from natural apatite crystal samples and they were shown to be fluorapatite. Elements and element ratios differed depending on the color of the crystal. As a result of the X-ray diffraction method, they were shown to be fluorapatite. On the microscopic By Raman spectroscopic analysis method, the four peaks of the apatite were also confirmed in the natural apatite crystals, the enamel apatite crystals, and the mandible apatite crystals. In natural apatite crystals, the peak of  $964\text{--}965\text{ cm}^{-1}$  was higher than that of the biological hard tissue. In the mandible, the difference of apatite crystallinity was observed due to the site of cortical plate and trabecular bone.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-25 硬骨魚類ポリプテルスの顎歯エナメロイド形成におけるエナメルタンパク様タンパクの出現

○笹川 一郎<sup>1</sup>, 岡 俊哉<sup>2</sup>, 三上 正人<sup>3</sup>, 横須賀宏之<sup>4</sup>, 石山巳喜夫<sup>4</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 先端研セ, <sup>2</sup>日歯大新潟 生物

<sup>3</sup>日歯大新潟 微生物, <sup>4</sup>日歯大新潟 解剖 2

エナメロイド (cap enameloid) は硬骨魚類の歯の先端を覆う, エナメル質に類似する高石灰化組織である。エナメロイドはエナメル質と象牙質の特徴を部分的に合わせ持つので, 脊椎動物歯牙硬組織のバイオミネラリゼーション過程を解明するうえで重要な研究対象と言える。硬骨魚類の基幹的条鰭類に属するポリプテルスでは, 顎歯のカラーエナメル質とガノイン鱗のガノイン層からそれぞれにエナメルタンパク様タンパクの存在が報告されている [1, 2]。また, 最近, 同じ基幹的条鰭類スポットドガーのエナメロイドでは, エナメルタンパク様タンパクと考えられる免疫陽性反応が報告されている。しかし, ポリプテルスの顎歯エナメロイドにおけるエナメルタンパク様タンパクの存在は, 推定されてはいたが不明確であった [3]。今回, ポリプテルス (成魚) のエナメロイド形成期歯胚を材料に, 哺乳類アメロゲニンに対する抗体を用い, protein-A gold 法で電顕免疫組織化学を行い光顕と透過電顕で観察した。その結果, 石灰化期エナメロイド基質では陽性反応が認められた。しかし, 形成期と成熟期では反応は見られなかった。内エナメル上皮細胞中の顆粒にも反応が認められたので, 免疫反応陽性を示すタンパクは内エナメル上皮細胞によって分泌されると思われる。陽性反応はコラーゲン線維に結晶が集積する以前の石灰化期歯胚のエナメロイド基質に認められた。したがって, 上皮由来のエナメルタンパク様タンパクが石灰化期のエナメロイド基質に存在し, コラーゲン線維に沿う結晶の形成に関与することが示唆された。今回の結果はスポットドガーの顎歯エナメロイドにおける所見とよく似ている。 [1] Sasagawa, I. et al., (2012) Cell Tissue Res, 347, 369. [2] Zylberberg, I. et al., (1997) Aant Rec, 249, 86. [3] Meinke, D. (1982) Archs oral Biol, 27, 197.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Immunohistochemical detection of enamel matrix protein-like proteins in tooth enameloid of polypterus, *Polypterus senegalus*, an actinopterygian bony fish

○Sasagawa I<sup>1</sup>, Oka S<sup>2</sup>, Mikami M<sup>3</sup>, Yokosuka H<sup>4</sup>, Ishiyama M<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Adv Res Cent, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup>Dept Biol, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>3</sup>Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>4</sup>Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata

Cap enameloid is a well-mineralized tissue situated at the tip of the teeth in ray-finned bony fish (actinopterygians), and corresponds to mammalian tooth enamel. Enameloid is an interesting tissue for elucidating the biomineralization process of dental hard tissues in vertebrates. In the Polypteridae, basic actinopterygians, the enamel matrix protein (EMP)-like proteins have been observed in the collar enamel tissue of jaw teeth [1] and the ganoine layer of ganoid scales [2]. However, the localization of EMP-like proteins in cap enameloid is still obscure. In this study, transmission electron microscopy-based immunohistochemistry, protein A-gold method, using anti-mammalian amelogenin antibodies was performed in order to examine the localization of EMP-like proteins in the enameloid. Positive immunoreactivity for the antibodies was detected in the enameloid matrix during the mineralization stage. Contrarily, the immunoreactivity was negative during both the formation and maturation stages. The immunolabeling was found in the granules of the inner dental epithelial (IDE) cells facing the enameloid, suggesting that the EMP-like proteins are secreted by the IDE cells. It is conceivable that the ectodermal EMP-like proteins are involved in the mineralization of enameloid.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflicts of interest associated with this manuscript.

---

## P2-26 自発性に不死化したアカゲザル由来乳歯歯髄細胞の細胞特性解析

---

○小林 朋子<sup>1,2</sup>, 松井美紀子<sup>1</sup>, 鈴木 樹理<sup>3</sup>, 筒井 健夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 薬理

<sup>2</sup>医科歯科大 院医歯 歯周病

<sup>3</sup>京大 霊長類研 人類進化モデル研究セ

---

【目的】歯髄細胞の基礎研究において、ヒト以外の霊長目由来の歯髄培養細胞は有用であるが、未だ報告が少ない。当研究室ではオナガザル科マカカ属のアカゲザル (*Macaca mulatta*) の乳歯歯髄培養細胞より自発性不死化細胞を得たので、その細胞特性を不死化前の細胞と比較解析した。【方法】アカゲザル乳歯歯髄より得た歯髄細胞を継続培養し、不死化後の細胞の核型を G-band 法にて解析した。不死化前の細胞と不死化後の細胞の細胞倍加時間は増殖曲線より計算し、細胞周期解析にはフローサイトメトリー法を用いた。テロメア長はテロメア hybridization protection assay 法にて、テロメラーゼ活性は TRAP 法にて解析した。石灰化能と脂肪分化能はそれぞれ Alizarin red S 染色と Oil red O 染色より判定した。【結果】アカゲザルの乳歯歯髄細胞は、doubling level (DL) 約 40 と約 80 でクライシス状態を示したが、その後増殖を回復し、培養日数 1000 日以上 (DL300 以上) まで継代培養された。不死化後の核型はほぼ 4 倍体で、個々の細胞で染色体数のばらつきが顕著であった。不死化前と比較して、不死化後の細胞は倍加時間が短く、細胞周期解析では G<sub>2</sub>/M 期の割合が高かった。また不死化後の細胞は不死化前と比較してテロメア長が短く、テロメラーゼ活性が高かった。不死化前の細胞も不死化後の細胞も石灰化能と脂肪分化能を示した。【考察】アカゲザル乳歯歯髄細胞はクライシス中に増殖を停止する過程で変異を起こし、テロメラーゼ活性を得たために不死化したと考えられる。この細胞は不死化後も多分化能を有しており、ヒトの歯髄幹細胞研究のためにも有用なソースとなることが期待される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Characterization of spontaneously immortalized cells derived from primary dental pulp of rhesus macaque (*Macaca mulatta*)

---

○Kobayashi T<sup>1,2</sup>, Matsui M<sup>1</sup>, Suzuki J<sup>3</sup>, Tsutsui TW<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Div Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Cent Human Evolution Modeling Res, Primate Res Inst, Kyoto Univ

---

**Purpose:** We have obtained spontaneously immortalized cells derived from primary dental pulp of rhesus macaque. We compared characteristics of this immortalized rhesus macaque dental pulp cells (irmDPCs) with cells before immortalization (rmDPCs). **Materials & Methods:** Primary culture of dental pulp cells were maintained in culture for over 300 doubling levels (DL). rmDPCs exhibited two crisis period around DL40 and DL80, then recovered their proliferation afterward. The cells were characterized cells property on karyotype, doubling time, cell cycle, length of telomere, telomerase activity and differentiation potentials. **Results:** Karyotype of irmDPCs revealed variation of tetraploid. irmDPCs showed short doubling times and high percentage G<sub>2</sub>/M phase compared with rmDPCs. Short telomere length and high telomerase activity were detected in irmDPCs by telomere hybridization protection assay and TRAP assay, respectively. Mineralization and adipogenic differentiation were observed in rmDPCs and irmDPCs. **Conclusions:** The results indicate that rmDPCs were assumed to cause mutation during crisis and acquire telomerase activity, which induced immortalization. Multipotent irmDPCs were expected to be useful material source for research of human dental pulp stem cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-27 凍結保存歯胚を移植すると、歯根の伸長と歯の萌出が起こる

---

○中村 恵, 笹野 泰之

東北大 院歯 顎口腔形態創建

【緒言】移植医療では摘出臓器の長期的保存を目的とし冷凍保存が検討されてきたが、未だ研究段階で適応される範囲は限られている。歯の移植に関しても抜去歯を生活歯髄とともに保持する冷凍保存技術は確立されていない。凍結保存では凍結保護剤を用いて凍結に伴い形成される氷晶による組織損傷を防ぐことが必須であるが、歯では凍結保護剤が歯髄へ浸入する経路として根尖孔しか期待できないことが凍結保存を難しくしている。そこで我々は、歯冠部歯髄が外部に大きく開放し凍結保護剤の歯髄への浸透が期待できる歯根形成前の歯胚を凍結保存し移植歯として利用することを着想した。本研究では、マウスを用いて歯胚を凍結保存して移植し、移植歯の歯根伸長と萌出、移植歯と周囲組織の成長を検討した。【方法】生後8日齢のマウスの上顎右側第一臼歯を摘出してドナー歯とし、凍結保存なし・凍結保存1週・1ヶ月・3ヶ月の4つの移植群を用意した。凍結保存する歯胚は、10% DMSO (凍結保護剤) の含まれた凍結保存液に浸漬し、 $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  の速度で $-80^{\circ}\text{C}$ まで冷却後、液体窒素中に保存した。同じ日齢のマウスをレシピエントとし、上顎右側第一臼歯を抜歯してドナー歯を移植した。移植後1・2・3週で上顎を摘出し固定した。マイクロCTを用いて歯根長を計測し、移植群と生理的状態の対照群とで比較検討した。さらに実体顕微鏡下で移植歯の萌出レベルを評価後、摘出した上顎を脱灰後、パラフィン包埋して切片を作製し、組織学的に検討した。【結果】どの移植群においても移植歯の歯髄は生きており、歯根の伸長と歯の萌出が認められた。対照群と比較して、凍結保存1週と3ヶ月では歯根長は有意に短かったが、凍結保存なしと凍結保存1ヶ月では、対照群との間に有意差は認められなかった。【結論】凍結保存歯胚の移植では、歯髄は生きた状態で維持され、歯根伸長と歯の萌出が起こる。(会員外共同研究者: Li Xinghan (四川大学))

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Cryopreservation permits root elongation and eruption of transplanted teeth

---

○Nakamura M, Sasano Y

Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Cryopreservation of extracted teeth has been attempted for transplantation but biological properties of dental pulp are hardly maintained because of limited penetration of cryoprotective agents into the pulp cavity through the narrow apical foramen. We designed the transplantation experiment of cryopreserved tooth germs with a widely open apical foramen to overcome the difficulties in penetration of the agents. The achievement of root elongation and tooth eruption was evaluated to assess the outcome of the transplantation. The upper right first molar germs of 8-day-old donor mice were extracted and divided into four groups according to the cryopreservation period; no cryopreservation, 1 week, 1 month and 3 months. The cryopreservation was performed using liquid nitrogen and dimethylsulfoxide as a cryoprotective agent. The donor teeth were transplanted into the upper right first molar germ sockets of 8-day-old recipient mice. The upper left first molars of the recipient mice were used as a control. Maxillas with the transplanted teeth were resected and fixed at 0, 1, 2 or 3 weeks after transplantation. Root elongation was quantitatively evaluated with micro CT. Tooth eruption and periodontal tissue formation were examined histologically. The results suggests that cryopreservation permits root elongation and tooth eruption.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-28 ヒト歯髄細胞における炎症性メディエーター産生制御における HIF1 $\alpha$ の役割

---

○藤井真由子, 川島 伸之, 興地 隆史

医科歯科大 院医歯 歯髄生物

---

【目的】低酸素状態が生じることが想定される歯髄炎において、炎症性サイトカイン産生制御の実態は不明な点が多い。我々は lipopolysaccharide (LPS) がヒト歯髄細胞において、低酸素特異的転写調節因子である hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) の発現を誘導することを報告した。今回の研究目的は、LPS 刺激したヒト歯髄細胞からの炎症性サイトカイン産生における HIF-1 $\alpha$  の役割を解明することである。【方法】抜去歯より分離したヒト歯髄細胞 (倫理審査 #D2014-039) に、HIF-1 $\alpha$  発現ベクター (Addgene #18949)\* あるいは通常酸素下でも分解に抵抗性を示す変異 HIF-1 $\alpha$  発現ベクター (Addgene #18955)\* を歯髄細胞に強制発現させ、LPS (100 ng/ml) を添加した後、RT-rPCR にて炎症性サイトカイン発現を検討した。また、上記ベクターとともに NF $\kappa$ B 反応領域を組み込んだルシフェラーゼアッセイ用ベクターを歯髄細胞にトランスフェクションした後、LPS (100 ng/ml) を添加し、ルシフェラーゼ活性を測定した。\*: gifts from William Kaelin 【結果】HIF-1 $\alpha$  を強制発現させた歯髄細胞を LPS にて刺激した結果、NF $\kappa$ B シグナルの増強および IL1 $\beta$  および TNF $\alpha$  の mRNA 発現の亢進が認められた。通常酸素分圧で培養を行った場合、HIF-1 $\alpha$  と比較して変異 HIF-1 $\alpha$  の強制発現は、NF $\kappa$ B シグナルおよび炎症性サイトカイン mRNA 発現をより強く誘導した。HIF-1 $\alpha$  が炎症歯髄において、NF $\kappa$ B シグナルの増強を介して炎症性サイトカイン産生を促進する可能性が示唆された。【結論】ヒト歯髄細胞において HIF-1 $\alpha$  は、LPS 刺激で誘導された NF $\kappa$ B シグナルを増強し、炎症性サイトカインの発現を亢進させた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Hypoxia inducible factor 1 alpha augments the synthesis of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated human dental pulp cells

---

○Fujii M, Kawashima N, Okiji T

Dept Pulp Biol Endodont, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

<Purpose> Regulatory mechanisms of inflammatory cytokine synthesis under hypoxia, which is one of typical conditions of pulpal inflammation, is still unclear. We have reported that lipopolysaccharide (LPS) up-regulated the expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF1 $\alpha$ ) in human dental pulp cells (hDPCs). This study aimed to elucidate the role of HIF1 $\alpha$  in pro-inflammatory cytokine-expression in LPS-stimulated hDPCs. <Materials & Methods> hDPCs were obtained from extracted healthy human teeth (approved by the Ethical Committee of TMDU: #D2014-039). Enforced expression of HIF1 $\alpha$  was induced by transfection of HA-HIF1 $\alpha$ -pcDNA3 (Addgene #18949)\* and HA-HIF1 $\alpha$  P402A/P564A-pcDNA3 (resistant to degradation in normoxia: Addgene #18955)\* to hDPCs. mRNA expression of inflammatory cytokines was evaluated by RT-rPCR. A luciferase reporter vector containing an NF $\kappa$ B response element (NF $\kappa$ B-RE) was co-transfected to hDPCs with HIF1 $\alpha$  expression vector, and luciferase activity was measured following LPS stimulation. \*: gifts from William Kaelin <Results & Conclusion> Enforced expression of HIF1 $\alpha$  up-regulated the NF $\kappa$ B signaling and expression of *IL1 $\beta$*  and *TNF $\alpha$*  in LPS-stimulated hDPCs. Under normoxic condition, the upregulation was further enhanced in mutated HIF1 $\alpha$ -transfected hDPCs. We concluded that HIF1 $\alpha$  enhanced NF $\kappa$ B signaling and inflammatory cytokine expression in LPS-stimulated hDPCs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-29 ヒト歯髄組織創傷治癒過程における骨髄由来間葉系前駆細胞 fibrocyte の動態検索

---

○吉羽 永子<sup>1</sup>, 大倉 直人<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup>, 中村 浩彰<sup>3</sup>, 野村由一郎<sup>1</sup>, 吉羽 邦彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 う蝕

<sup>2</sup>北医療大 歯 組織

<sup>3</sup>松歯大 口腔解剖 II

---

【目的】 Fibrocyte は末梢血単核球分画中に存在する線維芽細胞に類似した細胞として 1994 年に見い出され、その後の研究により様々なサイトカイン/ケモカインや増殖因子を分泌することで創傷治癒、疾患病態に関わっていることが知られている。また in vitro において fibrocyte は M2 型マクロファージ関連分子 CD163 を発現することも報告されている。本研究ではヒト歯髄創傷治癒過程における fibrocyte の動態を明らかにするとともに、CD163 発現細胞との比較検討を行った。

【方法】 本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認を得て行われた。研究趣旨に同意を得た患者の矯正治療上必要拔牙と診断された智歯を用いた。臨床手技に従って浸潤麻酔後 MTA による直接覆髄を施し、1, 2, 5 週後に拔牙し凍結切片を作成した。Fibrocyte の同定には単一マーカーがないことから一般的に行われている CD45 (骨髄由来血球系細胞マーカー) と I 型コラーゲンの二重染色により同定した。【結果と考察】 健全歯髄組織では fibrocyte は観察されず、術後 1 週において fibrocyte は変性層下に認められた。術後 2 週になると MTA 下において毛細血管の新生と紡錘形細胞の遊走が認められ、同部位に fibrocyte の浸潤が観察された。5 週後、被蓋硬組織が形成されると fibrocyte はほとんど認められなかった。一方、CD163 陽性細胞は治癒過程では主としてシュワン細胞と共存して観察された。以上の結果から、ヒト歯髄組織では fibrocyte は創傷治癒初期に関与し、M2 型マクロファージとは異なる役割を果たしていることが示唆された。(会員外共同研究者：新潟大 う蝕 枝並直樹、遠間愛子、竹内亮介)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Detection of bone marrow-derived fibrocytes during wound healing of human dental pulp

---

○Yoshihara N<sup>1</sup>, Ohkura N<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>2</sup>, Nakamura H<sup>3</sup>, Noiri Y<sup>1</sup>, Yoshihara K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

---

Fibrocytes are a distinct population of fibroblast-like progenitor cells in peripheral blood that have been termed in 1994 (Bucala et al., 1994). Fibrocytes secrete various cytokines/chemokines and growth factors, which reflect their ability to contribute to the wound healing. The similarities between fibrocytes and M2 macrophages in their functions and marker expression might suggest a relationship between these cells. In this study, we examined the appearance of fibrocytes as well as the distribution of M2 macrophage-associated molecule, CD163, during the reparative process of MTA-capped human dental pulp tissue, using immunofluorescent detection methods. The combination of CD45 and intracellular type I collagen staining has been applied to identify fibrocytes. Fibrocytes were rare in normal dental pulp, whereas, they were identified beneath the degenerative layer at 7 days, and then accumulated under the MTA together with newly formed capillaries and fibroblast-like cells at 14 days after operation. In contrast, CD163-positive cells were associated with Schwann cells. Thus, the different distributions of fibrocytes and M2 macrophages suggest their different roles in the process of wound healing after pulp capping. (Collaborators: Edanami N, Tohma A, Takeuchi R)

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-30 ラット炎症惹起歯髄内の prostaglandin E 受容体に対する酸化亜鉛ユージノール練和物の作用

---

○深田 哲也<sup>1</sup>, 戸円 智幸<sup>1</sup>, 橋本 修一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 共同利用研究センター アイソトープ研究施設

<sup>2</sup>日歯大 生命歯

---

【目的】我々は、ラット実験的炎症惹起歯髄内において増加した prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> 含量が酸化亜鉛ユージノール練和物 (ZOE) を填塞することで抑制されることを報告してきた。しかしながら、PGE<sub>2</sub> の作用発現には細胞膜上に存在する PGE 受容体 (EP) との結合が必要である。今回、炎症惹起歯髄に填塞した ZOE の EP に対する作用を検討したので報告する。【方法】7 週齢雄性 wistar 系ラットの下顎切歯に麻酔下で深さ 5 mm の窩洞を形成し炎症惹起モデルとした。窩洞形成部に、ZOE (酸化亜鉛 4 g : ユージノール 1 mL) を填塞した群とコントロールとして酸化亜鉛水練和物 (酸化亜鉛 4 g : 生理食塩水 1 mL) を填塞した群を設定し、ZOE の EP に対する作用を比較した。填塞後、経時的に下顎切歯を摘出し、通法に従いパラフィン切片ならびに凍結切片を作成した。切片はそれぞれの受容体に特異的な抗体を用いて染色した。【結果と考察】ラット下顎切歯の象牙芽細胞には EP1 から EP4 のサブタイプのうち EP1 から EP3 の発現が認められ炎症の有無にかかわらず変化しなかった。これに対して、ラット炎症惹起歯髄では EP2 および EP3 陽性細胞が歯髄血管周辺に認められた。この新たに認められた EP2 および EP3 陽性細胞は、ZOE を填塞した歯髄では細胞数が減少していた。このことから ZOE 填塞は歯髄中の PGE<sub>2</sub> 含量を抑制するのみでなく、EP2 および EP3 を有する細胞の存在にも影響を与えていることが示唆された。【謝辞】本研究は JSPS 科研費 16K20468 の助成により行われた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The effects of zinc-oxide eugenol mixture on prostaglandin E receptors in inflamed pulps of rat mandibular incisors

---

○Fukada T<sup>1</sup>, Toen T<sup>1</sup>, Hashimoto S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Radioisotopes Res, Res Center for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

---

**Purpose;** We reported, that the contents of prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> were increased in inflamed pulps of rat mandibular incisors but decreased in zinc-oxide eugenol mixture (ZOE) treated pulps. PGE receptors, EP are needed for the effects of PGE<sub>2</sub>. In this study, we investigated the effect of ZOE on EP subtypes in inflamed pulps of rat mandibular incisors. **Methods;** Under anesthesia, mandibular incisors of 7 weeks rats were cut to the cervix dentis and dug by 5 mm. The cavities were filled up with ZOE (zinc-oxide 4 g : eugenol 1 mL) or zinc-oxide water mixture (ZOW, zinc-oxide 5 g : water 1 mL). EP subtypes in the pulp were histologically visualized with each anti EP subtype antibody. **Results and Discussion;** In ZOW- and ZOE-treated pulps, immunoreactivities of EP1, EP2 and EP3 were observed in odontoblasts. Whereas, EP2- or EP3- positive cells nearly emerged around blood vessels in ZOW treated pulps. The cells were reduced by ZOE treatment. Therefore, it was suggested that ZOE treatment not only inhibits an increment of PGE<sub>2</sub> by inflammatory stimuli, but also reduces recruits of EP2- or EP3- positive cells. **Acknowledgement;** This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 16K20468.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-31 水酸化カルシウム系糊材に対するラットの象牙質・歯髄複合体の反応

---

○森山 敬太<sup>1</sup>, 松田紗衣佳<sup>1</sup>, 正村 正仁<sup>1</sup>, 川上 敏行<sup>2</sup>, 大須賀直人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 小児歯

<sup>2</sup>松歯大 院 病態解析

歯髄切断法には主として水酸化カルシウムが使用され、その他の材料と比較し優れた硬組織誘導能を示すと考えられている。今回、根管治療後に使用する根管充填材の代表的なものであるヨードホルム加水酸化カルシウム糊材 (Vitapex<sup>®</sup>, ネオ試薬工業株式会社, 東京) を象牙質・歯髄複合体に応用したラットを用いた実験を行った。処置直後の状態確認のために m\_CT の撮影を行い、4 週間後に m\_CT の撮影による観察後、該当部を一塊として摘出し、病理組織学的に検討した。ヨードホルム加水酸化カルシウム糊材を直接的に歯髄に応用した象牙質の壁面には第三象牙質が厚く形成されており、形成された第三象牙質の象牙細管は不規則であった。象牙質橋と言える構造物も少数例確認されていたが、綺麗な『谷渡しの橋』ではなく、谷を埋めたような状態でその最上部に『連続部があるので橋として認識』できる状態で、その直下に第三象牙質が厚く形成されていた。なお、ヨードホルム加水酸化カルシウム糊材を直接応用したに歯髄部に壊死層は認められなかった。m\_CT 画像では、当該部は、第三象牙質の形成されている根管はで不透過像化しており、出来ていない根管は中心部に透過像が確認されるように見えるものがあった。病理組織学的に第三象牙質は、アザン染色において、原生象牙質と異なりアニリン青に濃染していた。さらに厚く形成された象牙質の内部には多数の細胞性封入体が確認された。Schmorl のチオニンピクリン酸染色では、原生象牙質の表面に厚い第三象牙質の形成があり、それはピクリン酸に濃染し、周囲象牙質と染色性が異なっていた。また、第三象牙質内には多くの細胞が封入されているのがアザン染色よりも明確に確認された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Reactions of the dentin-pulp complex to calcium hydroxide paste in rats

---

○Moriyama K<sup>1</sup>, Matsuda S<sup>1</sup>, Shoumura M<sup>1</sup>, Kawakami T<sup>2</sup>, Osuga N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch

Calcium hydroxide is mainly used for dental pulp capping and it is thought that it induces hard tissue formation far better than other materials. In this study, we performed animal experiment using calcium hydroxide paste, a root canal filling material (Vitapex<sup>®</sup>, Neo Dental Chemical Products Co., Tokyo), on dentin-pulp complex and observed at four weeks after the experiment. M\_CT of the experimental group showed that the hard tissue formation in the root canal was radiopaque. However in the part of root canal where no hard tissue was formed, a radiolucency was in the center. Histopathologically, the irregular dentin increased its thickness obliterating the root canal having a different Azan staining of aniline blue compared to primary dentin. Cellular inclusions were also trapped inside the thick newly formed dentin. Furthermore, with Schmorl's thionine picric acid staining, thick formed dentin was noted on the surface of the primary dentin. The newly formed dentin was densely stained with picric acid with different staining ability from the primary dentin. In addition, it was clearly confirmed that many cells were trapped in the newly formed dentin. The results suggest that the characteristics of the newly formed dentin is thought to be tertiary dentin.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-32 象牙質コラーゲン中の糖化最終産物ペントシジンの分布

---

○清水 真人, 三浦 治郎

阪大 院歯 総診

還元糖は生体中でタンパク質と容易に結合し、転位反応、酸化反応を経て不可逆的に糖化最終産物 (Advanced Glycation End products, 以下 AGEs) を生成する。加齢による AGEs の蓄積は動脈硬化や骨粗鬆症などの一因になることが知られている。象牙質は萌出完了後から代謝がほとんどないため、歯髄周囲における AGEs の量が多いといった分布に差があることは報告されてきたが、経年的増加はほとんどないと考えられてきた。当研究室では、抜去歯の象牙質中の AGEs の量は被験者の年齢や、う蝕時のエナメル質の喪失に伴う糖化ストレスの増加によって後天的に増加していることを見出した。糖化の経路は歯髄中の血液、歯肉溝滲出液、唾液などが挙げられる。糖化経路を解析するために、糖化ストレスと象牙質コラーゲン中の AGEs 分布の時間的な相関を解析をする必要がある。これまでのヒトの抜去歯用いた研究手法では、抜去直後における AGEs の分布をとらえることはできるが、被験者の血糖値など糖化ストレスの累積データを過去にさかのぼって取得することができないため、経時的な解析は困難である。そこで本研究では、2型糖尿病モデルラットを用いて糖化ストレスと糖化の分布状態の時間的な相関を蛍光性 AGEs であるペントシジンターゲットとして免疫化学的手法、高速液体クロマトグラフィーによる分析化学的手法を用いて解析した。その結果、糖尿病モデルラットの臼歯では健全なラットと比較して象牙前質から象牙質にかけてペントシジンの分布が拡散していく様子を示しており、また歯周組織においてもペントシジンの沈着がみられた。この結果から通常象牙質の糖化は歯髄中の血液より供給される糖によることが示唆された。歯周組織における糖化は骨小腔に多くみられ骨細管を経て供給される糖による糖化とみられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Distribution of pentosidine in dentin collagen

---

○Shimizu M, Miura J

Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

Reducing sugar binds to proteins under biological conditions, and through rearrangement and oxidation it reacts irreversibly to form advanced glycation end products (AGEs). As dentin collagen does not undergo extensive metabolism after eruption, it has been reported that the amount of AGEs in human dentin remains stable regardless of age. However, we have observed that the amount of AGEs differs significantly between dentin from patients of different ages or from dentin in dental caries. Analyzing the glycation process in dentin requires the calculation of the temporal correlation between glycation stress and dentin collagen. However, since it is not possible from the perspective of research ethics to acquire cumulative data on the distribution of AGEs in sound teeth or to continuously measure glucose levels in human blood, it is necessary to analyze or observe the distribution of AGEs over time in human extracted teeth. Therefore, we used type 2 diabetes model rats to analyze the temporal correlation of AGEs through the quantitation of pentosidine. The results indicated that in contrast to normal rats, the distribution of pentosidine spreads from the predentin to the enamel side in the molars of diabetes rats, and is also deposited in the periodontal tissues.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P2-33 三叉神経節ニューロンに対するグアヤコールの鎮痛作用**

○ 嶋田みゆき<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 佐藤 正樹<sup>2</sup>, 東川明日香<sup>1</sup>, 小島 佑貴<sup>1</sup>, 田崎 雅和<sup>1</sup>,  
澁川 義幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理

<sup>2</sup>東歯大 生物

グアヤコールは優れた鎮痛効果があることで知られ、歯内療法薬として利用されるが、その生理的効果については十分に解明されていない。演者らは感覚受容細胞である象牙芽細胞に対するグアヤコールの作用を生理学的に検討した結果、グアヤコールは象牙芽細胞の transient receptor potential vanilloid subfamily member-3 channels を活性化し、細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) を増加させる働きがあること、象牙芽細胞における低浸透圧刺激誘発性  $[Ca^{2+}]_i$  の増加を抑制しないことから象牙質痛に対するグアヤコールの鎮痛効果は期待できないと考えた。そこで、生後7日の Wistar rat から急性単離して得られた三叉神経節ニューロン (trigeminal ganglion neurons : TG) を用いて歯髄痛に対するグアヤコールの作用を検討した。TG を酵素処理して分離させた細胞に様々な刺激を加え、それにより誘発される  $[Ca^{2+}]_i$  の増加がグアヤコール投与の有無で変化するかをカルシウムイメージング法で解析した。細胞外  $Ca^{2+}$  存在下で TG 細胞に 10 nM ブラジキニンを加えると  $[Ca^{2+}]_i$  が増加した。その後、ブラジキニンと 0.9  $\mu$ M グアヤコールを同時投与すると、ブラジキニン誘発性  $[Ca^{2+}]_i$  増加は有意に減少した。次に、直径 2~3  $\mu$ m のガラス製マイクロピペットを取り付けたマニピュレータを用いて TG 細胞に 30 秒間の直接機械刺激を加えた場合の  $[Ca^{2+}]_i$  の変化を測定した。TG 細胞に直接機械刺激を加えると  $[Ca^{2+}]_i$  が増加した。その機械刺激誘発性  $[Ca^{2+}]_i$  増加は 0.9  $\mu$ M グアヤコールで抑制された。またこの抑制は 0.009  $\mu$ M グアヤコール投与下ではみられなかった。従って、グアヤコールは直接歯髄に作用し鎮痛効果を発揮する薬剤であり、その効果には濃度依存性があることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

**The analgesic effect of guaiacol to rat trigeminal ganglion neurons**

○ Shimada M<sup>1</sup>, Kimura M<sup>1</sup>, Sato M<sup>2</sup>, Higasikawa A<sup>1</sup>, Kojima Y<sup>1</sup>, Tazaki M<sup>1</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Biol, Tokyo Dent Coll

Guaiacol has high analgesic activity and used for endodontic treatment. In the present study, we investigated the effects of guaiacol on the bradykinin- or mechanical stimulation- induced intracellular free  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) response in the trigeminal ganglion (TG) neurons. TG neurons were acutely isolated from 7-days-old Wistar rat. After cells in TG were dissociated by enzymatic treatment, they were cultured for 48 h at 37°C and 5%  $CO_2$ . We measured  $[Ca^{2+}]_i$  by fura-2 fluorescence imaging. Applications of 10 nM bradykinin increased  $[Ca^{2+}]_i$  in TG neurons. The bradykinin-induced  $[Ca^{2+}]_i$  increases were significantly inhibited by 0.9  $\mu$ M guaiacol. When we applied direct mechanical stimulation for 30 seconds to TG cells by glass micropipette, we could observe increases  $[Ca^{2+}]_i$ . Mechanical stimulation-induced  $[Ca^{2+}]_i$  increases were not inhibited by application of 0.009  $\mu$ M guaiacol but were significantly inhibited at 0.9  $\mu$ M guaiacol. These results suggested that guaiacol have a remarkable inhibitory effect on  $[Ca^{2+}]_i$  responses in the TG neurons while the effect is dependent on the concentration of guaiacol.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-34 歯の形成過程における AMP-activated protein kinase (AMPK) の発現と機能

---

○依田 浩子<sup>1</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup>, 原田 英光<sup>2</sup>, 大島 勇人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態

<sup>2</sup>岩医大 解剖 発生生物

---

**【目的】** AMP-activated protein kinase (AMPK) は低エネルギーセンサーとして作用し、細胞内エネルギー代謝調節に重要な役割を果たしている。歯の形成過程では、エナメル芽細胞および象牙芽細胞は基質形成に伴いダイナミックに形態的・機能的変化を示すことより、細胞内で活発なエネルギー代謝が行われていると予想される。そこで本研究では、マウス歯の形成過程における AMPK の発現様式と機能を明らかにすることを目的とした。**【方法】** マウス上顎切歯ならびに上顎臼歯について AMPK の局在を免疫組織学的に検索した。さらに、マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT-9a)、歯髄初代培養細胞、下顎切歯・臼歯歯胚を用いた *in vitro* 培養系にて、AMPK activator/inhibitor 添加による細胞分化ならびにエナメル質・象牙質形成への影響を検討した。**【結果と考察】** エナメル質形成過程では形成期・成熟期エナメル芽細胞に AMPK が発現していた。一方、歯髄では象牙芽細胞下層が AMPK 強陽性を示し、特に分化した象牙芽細胞は活性化型 pAMPK (Thr172) を強発現していた。In vitro 系にて mHAT-9a 細胞では AMPK activator によりグルコース輸送体 (GLUT) を始めとする糖代謝関連分子の遺伝子発現が上昇し、AKT シグナル経路の活性化が確認された。さらに、歯胚器官培養では AMPK activator によりエナメル質および象牙質形成が促進され、AMPK inhibitor で抑制された。以上より、エナメル芽細胞および象牙芽細胞による基質形成維持には AMPK を介するエネルギー代謝の亢進が必要であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Expression and function of AMP-activated protein kinase (AMPK) in odontogenesis

---

○Ida-Yonemochi Hi<sup>1</sup>, Otsu K<sup>2</sup>, Harada H<sup>2</sup>, Ohshima H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent

---

AMP-activated protein kinase (AMPK) is a low energy sensor and plays an important role in regulation of energy metabolism within cells. During tooth development, ameloblast- and odontoblast-lineage cells show dynamic morphological changes, and active energy metabolism are expected to occur within the cells. This study aimed to elucidate the expression and function of AMPK in odontogenesis using immunohistochemistry and *in vitro* cell and organ culture experiments with the activator and inhibitor of AMPK. An intense AMPK-immunoreaction was observed in the ameloblasts during secretory and maturation stages. In the dental pulp, pAMPK (Thr172) was strongly immunopositive in the differentiated odontoblasts. The activation of AMPK promoted cell differentiation of the ameloblasts and odontoblasts *in vitro*, and the inhibition of AMPK disturbed enamel and dentin matrix formation in incisor and molar organ culture experiments. These findings suggest that the promotion of energy metabolism via AMPK in the ameloblast- and odontoblast-lineage cells is an essential event for enamel and dentin matrix formation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-35 鯨類における amelogenin 遺伝子の塩基配列の多様性

---

○石山巳喜夫<sup>1</sup>, 三上 正人<sup>2</sup>, 今井あかね<sup>3</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 解剖 2

<sup>2</sup>日歯大新潟 微生物

<sup>3</sup>日歯大新潟 短大 歯科衛生

---

[目的] 器官特異遺伝子の器官退化後の消長を観察する目的で、歯を失ってから 2,000 万年から 3,000 万年は経過していると目されている、ヒゲクジラ類の amelogenin (AMEL) 遺伝子の塩基配列の解読を行い、現在歯を発現しているハクジラ類との比較を行った。[材料と方法] 本研究には、日本鯨類研究所に保管されていた 4 種類のヒゲクジラ類の雌雄及び 3 種類のハクジラ類の雌雄の DNA を用いた。また、イシイルカの胎児の歯胚から抽出した mRNA を用い、逆転写酵素により cDNA を作成した。これらをテンプレートにして、PCR および RT-PCR を行い、イシイルカでは AMEL 遺伝子の全長をクローニングし、他のクジラ類は主に exon 5 と intron 5 および exon 6 の解読を試みた。[結果および考察] PCR の結果、すべてのヒゲクジラ類において AMEL 遺伝子の増幅に成功し、歯が退化後も遺伝子は保存されていることを確認した。なお、intron 5 を増幅した遺伝子のサイズは雄と雌で顕著に異なり、雌では 300 塩基のもの一本だけ増幅されるが、雄では 300 塩基のもの 800 塩基のもの二本が検出された。シーケンスの結果、Y 染色体上の intron 5 に 500 bp の挿入のあることが明らかになった。また、ハクジラ類の intron 5 では X、Y 共に 500 bp の挿入が認められた。なお、ヒゲクジラ類において exon 6 のシーケンスを詳細に比較した結果、X-AMEL はハクジラ類同様によく保存されているが、Y-AMEL においては欠失や挿入がみられ、遺伝子として機能してない可能性がうかがえる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## The variation of nucleotide sequence of amelogenin gene in several whales

---

○Ishiyama M<sup>1</sup>, Mikami M<sup>2</sup>, Imai A<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>3</sup>Dept Dent Hygien, Nippon Dent Univ Coll at Niigata

---

In order to understand the phylogenetic conservation of the organ-specific gene degenerated over ten million years ago, we compared the nucleotide sequence from exon 5 to exon 6 of amelogenin (AMEL) gene, one of the dental specific gene, in three paired baleen whales and three paired toothed whales. Consequently, we succeed in sequencing AMEL genes in all species used. Exon 5 consisted of 15 amino acid residues and exon 6 did 121 residues. This is common phenomenon in the whales used in this study but 20 amino acid residues in exon 6 deleted in whales compared to human X-AMEL. In addition, the sequence of intron 5 of X-AMEL and Y-AMEL were the same in toothed whales but some nucleotides were different between the two genes in baleen whales. Five hundred base pair insertions existed in the intron 5 of Y-AMEL in both baleen whales and toothed whales and X-AMEL in toothed whales. The sequences of exon 5 and 6 in X-AMEL of baleen whales were the same as toothed whales. However, there were several mutations in Y-AMEL between the two kinds of whale. Therefore, it is suggested that Y-AMEL in baleen whales are pseudogenes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no competing interests.

---

---

## P2-36 口腔ケア用具による荷重がもたらす口腔粘膜損傷の程度に関する検討

---

○明瀬 靖奈, 引地 尚子

九歯大 口腔保健

近年、口腔ケアは周術期患者や要介護高齢者に対し日常的に行われるようになった。しかし、病院・介護施設、在宅介護の現場では通常歯科医療従事者以外のものが口腔ケアを行っており、それらのものに対する指導も必ずしも十分ではない。口腔ケアでは通常スポンジブラシが推奨されている。しかし、代替品として、綿棒、ガーゼ等の使用も用いられる。口腔ケアが適切な方法で行われない場合、これらの口腔ケア用具が口腔粘膜に損傷を与える可能性も考えられる。そこで、口腔ケア用具を用いて不適切な口腔ケアを行うことを想定し、大きな荷重を加え過剰な回数のスワブを行った場合の口腔粘膜組織の損傷の程度を検討した。口腔粘膜のスワブ処置では、口腔ケア用具をラットの頬粘膜の奥に挿入し、外側に約 50g の荷重をかけた状態のまま、口唇側に引く操作を 30 回繰り返した。スワブの用具として、市販綿棒、単層ガーゼを被覆させた綿棒（以下ガーゼと略す）、タフトブラシ、カットしたスポンジブラシの 4 種類を用いた。損傷の判定は、複数のスライドの HE 染色像において相当の位置に確認できる場合に損傷ありとした。実験の結果、綿棒、ガーゼ、タフトブラシでは粘膜組織に損傷が生じることが示された。スポンジブラシでは損傷が生じなかった。また荷重を 30g に減少させると綿棒、ガーゼ、タフトブラシによる損傷の発生は減少した。以上より、口腔ケアにおいてはスポンジブラシを使用することが望ましいと考えられる。綿棒やガーゼを使用せざるを得ない場合は、同じ場所を過度な荷重で繰り返しスワブしないように注意する必要があると思われる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Examination of oral mucosal injury caused by the instruments for oral care

---

○Myose Y, Hikiji H

Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ

Oral care has been carried out for perioperative patients and elderly in need of care these days. However, oral care is usually performed by people who are not the specialists and are not well trained for oral care. Sponge brushes are recommended for oral care. However, cotton swabs, gauze, and brushes are also used as substitutes. These substitutes may damage oral mucosa, when oral care is not carried out properly. Therefore, we investigated the damage effects of the inappropriate use of these substitutes for oral care on the oral mucosa. Rat buccal mucosa was swabbed 30 times at 50 g load outwards using the oral care instruments. Instruments used were cotton swabs, cotton swabs covered with gauze (gauze), tuft brushes, and sponge brushes. The damage of oral mucosa was judged with HE stained images located at the appropriate position in the slides. Cotton swabs, gauze, and tuft brushes, but not sponge brushes damaged oral mucosa. Swabbing at 30 g load outwards decreased the damage of oral mucosa. Therefore, sponge brushes seem the best oral care instruments. It is important not to swab at the excessive load repeatedly, when the substitutes are used.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-37 歯肉および歯根膜由来間葉系幹細胞の分化能について

---

○高橋 智美, 牛島 夏未, 飯塚 正

北大 院歯 学術支援

[目的] 歯肉および歯根膜には、間葉系幹細胞が存在し、組織再生のソースとして非常に有効な候補と成り得ると考えられる。今回我々は、それらの骨組織および脂肪組織への誘導・分化能について検討を行った。[材料と方法] 実験には生後7週齢のWistar系Ratを使用した。上下顎骨を摘出し、間葉系幹細胞のマーカーとして抗STRO-1抗体、抗CD105抗体を用いて免疫染色を行い、歯周組織を中心に組織学的に観察した。また、歯肉組織および歯根膜組織を摘出し、分離培養して得られた細胞を使用して、同様に免疫染色を行った。さらに、それらの細胞を用いて分化誘導培地による培養を行い、骨芽細胞、脂肪細胞への分化特性を検討した。[結果と考察] 組織学的検索では、歯肉粘膜上皮下と歯根膜組織中にSTRO-1およびCD105陽性細胞が観察された。また、分離培養した細胞は免疫染色においてSTRO-1およびCD105に陽性を示した。骨芽細胞分化誘導培地による培養では、アルカリホスファターゼ染色およびアリザリンレッド染色で陽性を示し、骨芽細胞への分化の傾向が認められたが、歯肉由来細胞に比べて歯根膜由来細胞で、染色性が強い傾向がみられた。脂肪細胞分化誘導培地による培養では、歯肉由来細胞で多くの脂肪滴を持つ細胞が誘導されたのに対し、歯根膜由来細胞では少なく、脂肪滴も小さかった。以上のことから、歯周組織より得られた細胞は多分化能を示し幹細胞の機能を有するが、それらの由来組織により誘導・分化能の特性が異なる可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Differentiation potential of the mesenchymal stem cell in gingiva and periodontal ligament

---

○Takahashi T, Ushijima N, Iizuka T

Hokkaido Univ Fac Dent Med

**Purpose:** The objectives of this study was examined the localization of mesenchymal stem cells (MSCs) in gingiva and periodontal ligament, and evaluated multilineage differentiation capacity of these cells. **Materials & Methods:** In this study, we used 7-week-old male Wistar rats. Maxilla and mandible were resected for histological analysis, samples were immunostained with STRO-1 and CD105. Gingiva and periodontal ligament tissue were removed and treated with collagenase to isolate mesenchymal stem cell from gingiva (G-MSCs) and those from periodontal ligament (PDLSCs), respectively. These cells were incubated with osteogenic and adipogenic differentiation medium. **Result & Conclusion:** Histologically, several positive cells for STRO-1 and CD105 were observed in the rat gingiva and periodontal ligament. Both G-MSCs and PDLSCs were positive for stem cell markers STRO-1 and CD105 immunocytochemistry. In osteogenic differentiation, PDLSCs represented higher expression of ALP activity and alizarin red staining than G-MSCs. On the other hand, in adipogenic differentiation, G-MSCs induced more adipocytes compared with PDLSCs. These results suggest that MSCs have considerable variation of differentiation potential depending on the originating tissue.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-38 S-PRG フィラー溶出液がヒト歯肉線維芽細胞の Matrix metalloproteinase 産生に及ぼす影響

○井上 博<sup>1</sup>, 合田 征司<sup>2</sup>, 西川 泰央<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大歯大 生理

<sup>2</sup>神歯大 院歯 口腔科学

【目的】 S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6種類のイオン ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{BO}_3^{3-}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{SiO}_3^{2-}$ ) 徐放能を有する腐蝕抑制効果の高い材料として知られている。今回我々は、S-PRG フィラー溶出液がヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) の Matrix metalloproteinase (MMP)-1 と MMP-3 産生に及ぼす影響について検討した。【方法・結果】 S-PRG フィラーを MEM- $\alpha$  に懸濁して各種イオンを溶出させた。上清をろ過して作製した培養液を S-PRG フィラー溶出液 (S-PRG) とした。1) S-PRG を MEM- $\alpha$  で 11 段階に希釈した系列 (1, 1/2, 1/5, 1/10, 1/100, 1/200, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/5000, 1/10000) に 10% FBS を加えた溶液を作製した。各種濃度の S-PRG で 3 日間培養し、細胞増殖能を Cell Counting Kit-8 にて検討した。対照群は 10% FBS/MEM- $\alpha$  とした。その結果、1/100 以上に希釈した溶液においては対照群と同様の細胞増殖能を示した。2) HGF に希釈した S-PRG (1/100, 1/500, 1/1000, 1/5000, 1/10000) を加え、ウエスタンブロッティングにより培養上清中に分泌された MMP-1 と MMP-3 を検出した。その結果、S-PRG による MMP-1 と MMP-3 の産生が確認された。3) HGF に希釈した S-PRG (1/1000, 1/10000) を加え、ウエスタンブロッティングにより p38, ERK1/2, JNK についてリン酸化のタイムコースを検討した。その結果、JNK のリン酸化は刺激による増強が認められなかった。しかし、p38 と ERK1/2 では刺激によるリン酸化の増強が 1 分後から 30 分後まで認められた。【考察】 以上の結果から、S-PRG 刺激により MMP-1 と MMP-3 が産生されることを確認した。また、S-PRG 刺激による MMP-1 と MMP-3 の産生には p38 と ERK1/2 のリン酸化が関与している可能性が示唆された。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Effect of S-PRG filler eluate on Matrix metalloproteinase production of human gingival fibroblasts

○Inoue H<sup>1</sup>, Goda S<sup>2</sup>, Nishikawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Osaka Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

The S-PRG filler is known to have a high cariostatic effect material and to release 6 ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{BO}_3^{3-}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{SiO}_3^{2-}$ ). In this study, we examined the effect of S-PRG eluate on human gingival fibroblasts (HGF). The effect of various concentrations of S-PRG eluate (1, 1/2, 1/5, 1/10, 1/100, 1/200, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/5000 and 1/10000) on the proliferation of HGF was assessed. As a result, in the solution diluted to 1/100 or more showed a cell proliferation similar to the control group. S-PRG eluate (1/100, 1/500, 1/1000, 1/5000, 1/10000) was added to HGF and we detected MMP-1 and MMP-3 secreted into the culture supernatant by western blotting. As a result, production of MMP-1 and MMP-3 were enhanced by S-PRG eluate. We assessed the effects of S-PRG eluate (1/1000, 1/10000) induced phosphorylation of p38, ERK 1/2 and JNK in HGF by immunoblotting. Results of a time course study revealed that phosphorylation of p38 and ERK 1/2 occurred within 1 minute. However, phosphorylation of JNK was not enhanced by S-PRG eluate. These results suggested that phosphorylation of p38 and ERK 1/2 may be involved in the production of MMP-1 and MMP-3 by S-PRG eluate.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-39 メカニカルストレスが惹起する HSP70 によるマウス歯根膜の修復

---

○村岡 理奈<sup>1</sup>, 中野 敬介<sup>2</sup>, 山田 一尋<sup>1</sup>, 川上 敏行<sup>3</sup>

<sup>1</sup>松歯大 矯正

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 口腔病理病態

<sup>3</sup>松歯大 院 硬組織疾患病態解析

---

メカニカルストレスはタンパクの構造変化をもたらす種々の分子を誘導する。我々はこれまで各種組織において細胞傷害に対する回復反応に関与すると言われている HSP70 がマウス歯根膜においても同様に発現し、細胞傷害を受けた歯根膜組織の回復のごく初期から働いているということ報告した。今回我々は、歯根膜の回復機転を一定時間のみストレスを負荷した後のマウス歯根膜における HSP70 の発現推移を免疫組織化学的視点から追究した。実験動物には 8 週齢雄性マウス 40 匹を使用した。Waldo 法にてマウス上顎臼歯部歯周組織にメカニカルストレスを 3 時間負荷した。ストレス負荷の解除後、最長 1 週間後までのマウス上顎臼歯部歯周組織を経時的に摘出し標本作製を行い、免疫組織化学的検討を行った。メカニカルストレス解除直後すでに歯根膜における HSP70 の局在変化がみられ、牽引側にて発現が増強していた。これは我々の以前の報告と同様に HSP70 が歯根膜組織の細胞傷害に対し早期から回復反応に寄与しているという事である。ストレス解除から 20 分後には圧迫側にも HSP70 の発現があり、歯根膜面積の回復とともに経時的に発現増強がみられた。解除 3 時間後では圧迫側、牽引側ともに HSP70 の発現増強が認められ、さらに 3 日後では圧迫側での発現の方が強く、1 週間後では発現は減弱していたが同じ傾向を示した。HSP70 の発現時間軸を検討すると、歯根膜線維芽細胞のコラーゲンタンパク修復に働く HSP47 と同時期に発現していたことから、HSP70 もマウス歯根膜にてタンパク修復に機能すると考えられ、同様に骨形成系タンパクの発現時期に HSP70 の発現があったことから、骨形成におけるタンパク発現時に機能する分子シャペロンであることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## PDL recovery due to expression of HSP70 elicited by mechanical stress

---

○Muraoka R<sup>1</sup>, Nakano K<sup>2</sup>, Yamada K<sup>1</sup>, Kawakami T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Oral Pathol and Med, Okayama Univ Grad Sch Med Sci

<sup>3</sup>Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch Oral Med

---

**Objectives:** Heat shock proteins (HSPs) are induced by mechanical stress. It's important to examine the immunohistochemical profile change of the HSPs in the periodontal ligament (PDL) cells after receiving the mechanical stress. **Methods:** To provide a continuous mechanical stress on the periodontal ligament, separator was placed maxillary molars of mouse by Waldo method. Inserting periods were 3 hours, and the removed for the separator was released the mechanical stress to the PDL. After 1 hour and 24 hours, 3 days and 1 week, the periodontal tissues of the right maxillary molar region were examined. We examined the profile change of HSP70 immunohistochemically. **Results:** On 3 hours after removed stress, the HSP70 were strongly presented pressure and tension sides. There were the expression in the both pressure and tension sides in 24 hours later. But 3 days after removed stress, expression of HSP70 in the pressure side was stronger than tension side. **Conclusions:** These results suggest that the role of the HSP70 contributes to the recovery reaction to cell injury. HSP70 has been closely involved in the repair of tissue to maintain homeostasis of the PDL by the activation of PDL fibroblasts.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-40 プラットホームスイッチングインプラントモデルにおける type-XII コラーゲンの動態

○堤 貴司<sup>1</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>2</sup>, 後藤加寿子<sup>3</sup>, 岡部 幸司<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 咬合修復 有床義歯

<sup>2</sup>福歯大 細胞分子生物 細胞生理

<sup>3</sup>福歯大 医短大

【目的】プラットホームスイッチング (PS) は、インプラント埋入後早期に起こる歯槽骨頂の骨吸収を抑制する方法として知られているが、いまだ臨床的アウトカムが先行しており生物学的なメカニズムは不明な点が多い。本研究の目的は、プラットホーム周囲のコラーゲンの走行と発現および細胞間接合因子の発現を解析することにより、PS における軟組織形成のメカニズムを解明することである。【方法】直径 1 mm×長さ 4.7 mm のストレート形態 (NPS; None Platform Switched) のインプラントと、0.3 mm のくびれをもつ (PS; Platform Switched) インプラントを製作し、雄性 SD ラット 10 週齢の第一臼歯近心部歯槽骨に埋入した。2, 4 週後インプラント周囲の軟組織を採取し、PCR による遺伝子解析および標本作製後に各種染色を行い、病理学的解析を行った。【結果と考察】NPS インプラント体周囲組織、PS インプラント体周囲組織ともに線維芽細胞に富んだコラーゲン線維の走行が確認された。特に PS インプラントでは、コラーゲンの輪走線維の走行が確認できた。PCR および免疫染色の結果から PS インプラント周囲の軟組織では、type-XII コラーゲンの発現が有意に増加していたことが分かった。また、PS インプラント周囲の軟組織におけるコラーゲンの形成に関わる細胞接着因子 integrin $\alpha$ 1,  $\beta$ 1 および細胞間接合因子 connexin 43 の有意な発現増加を認めた。以上の結果から、PS インプラント周囲には、type-XII コラーゲンの発現が誘導され、コラーゲン線維の形成に integrin $\alpha$ 1,  $\beta$ 1, connexin 43 が関与し NPS インプラント周囲の軟組織と比較してより強固な軟組織形成が起こったことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Platform switched implants stabilized periodontal tissues via collagen XII

○Tsumumi T<sup>1</sup>, Kajiya H<sup>2</sup>, Goto K<sup>3</sup>, Okabe K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Removal Prosthodont, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll

<sup>3</sup>Dept Dent Hygie, Fukuoka Dent Coll

**Purpose:** Examining the effect of Platform switching (PS) implants on peri-implant soft tissue. **Materials & Methods:** Ten-week-old rats were divided into three groups: 1) sham group (rats received flap surgery only); 2) non platform switched (NPS) group (rats received submerged straight titanium implants); and 3) platform switched (PS) group (rats received submerged titanium implants with narrow section). At 2 and 4 weeks after implantation, the peri-implant soft tissue was harvested and the expression of collagen and cell adhesion molecules was analyzed using real-time PCR. Additionally, decalcified specimens were analyzed immunohistochemically for expression of collagen and cell adhesion molecules. **Results & Conclusion:** Expression of type XII collagen in the PS group was significantly higher than in the sham and NPS groups. There was no significant difference in type I collagen expression among the three groups. In the PS group, the expression of integrin  $\alpha$ 1,  $\beta$ 1, and connexin43 cell adhesion factor was significantly higher than in the other groups. Circularly oriented collagen fibers were observed in the platform section of the peri-implant soft tissue in the PS group. Our findings suggest that PS implant stabilized peri-implant soft tissue through forming toughly bounded collagen fibers via expression of type XII collagen.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-41 マウス歯周組織改造における骨髄間葉系細胞の移動と分化

---

○金子 圭子<sup>1</sup>, 辻極 秀次<sup>2</sup>, 松田紗衣佳<sup>3</sup>, 中野 敬介<sup>4</sup>, 村岡 理奈<sup>5</sup>, 長塚 仁<sup>4</sup>,  
川上 敏行<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 院 病態解析, <sup>2</sup>岡山理大 組織病態, <sup>3</sup>松歯大 小児歯

<sup>4</sup>岡大 院医歯薬 口腔病理, <sup>5</sup>松歯大 歯科矯正

---

【目的】 歯科矯正学的メカニカルストレスによるマウス歯周組織改造時の細胞動態について、病理組織学的視点から追究した。【方法】 ddY マウス 10 匹を使用し、Waldo 法によって上顎第一、第二臼歯間にラバーダムを挿入しストレスを 3 時間負荷した。負荷解除した直後から 1 週間後まで病理組織学的に検討し、当該部歯周組織の圧迫・牽引側における細胞数の経時的变化を測定した。ストレス負荷後に出現する細胞の種類を同定するため、GFP 骨髄移植マウス 10 匹を使用し、同等の方法で負荷し、解除した直後から 6 か月後まで免疫染色を施し、細胞の由来を特定、細胞分化の様相を明らかにした。なお、対照は無処置の同種歯根膜部を使用した。【結果】 ddY マウスを用いた実験系の病理組織学的組織像は、紡錘形の細胞が目立つ対照群と比べ、実験群では、円形の細胞が新たに出現していた。細胞数の経時的变化は、圧迫側と牽引側ともに対照群と比べ、明らかに増加していた。GFP 骨髄移植マウスを用いた実験系の免疫組織化学的組織像は、骨髄由来の未分化間葉系の GFP 陽性細胞が線維芽細胞、血管内皮細胞に類似した形態を呈していた。また、歯根膜線維芽細胞に特異的に出現する Runx2 と GFP 陽性細胞との蛍光免疫二重染色を行い、線維芽細胞だけでなく歯根膜線維芽細胞等に分化していることが明らかになった。【考察】 歯科矯正学的メカニカルストレスにより、未分化間葉系細胞が骨髄から歯周組織に移動した。移動した未分化間葉系細胞は、血管内皮細胞、歯根膜線維芽細胞等の歯周組織構成細胞へ分化していることが確認された。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Cytological migration and differentiation of BMDCs in the periodontal ligament remodeling

---

○Kaneko K<sup>1</sup>, Tsujigiwa H<sup>2</sup>, Matsuda S<sup>3</sup>, Nakano K<sup>4</sup>, Muraoka R<sup>5</sup>, Nagatsuka H<sup>4</sup>,  
Kawakami T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Hard Tissue Res, Matsumoto Dent Univ Grad Sch Oral Med

<sup>2</sup>Dept Life Sci, Fac Sci, Okayama Univ of Sci

<sup>3</sup>Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent

<sup>4</sup>Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

<sup>5</sup>Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ Sch Dent

---

<Purpose> The purpose of the study was to determine the cell dynamics in periodontal ligament in response to mechanical stress during orthodontic movement, using BMT-mouse model. <Material and Methods> Following Waldo's method, in 10 ddY mice, histopathological examination was carried out till 1 week. Furthermore, using GFP bone marrow transplantation mouse model till 6 months. Immunohistochemistry was carried out. <Results> Cell count on the tension side tremendously increased 3 days to 1 week, specimens, in both examination and control. Using GFP bone marrow transplantation mouse model, GFP positive cell count increased gradually over time in 6 months. GFP positive cells were also positive to Runx2 suggesting that fibroblasts differentiated into osteoclasts and tissue macrophages. <Discussion> Mechanical stress during orthodontic movement promoted the increase in the number of cells in the periodontal ligament on both tension and pressure sides. The increase in the number of cells in the periodontal ligament is believed to be due to the migration and cell division of undifferentiated mesenchymal cells. *Conflict of Interest:* The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-42 *Slackia exigua* はインプラント周囲炎の病的マーカーとなり得る

---

○内堀 聡史<sup>1</sup>, 續橋 治<sup>2</sup>, 小林 平<sup>1</sup>, 會田 雅啓<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 クラウンブリッジ

<sup>2</sup>日大松戸歯 微生物免疫

---

**【目的】** *Slackia exigua* は歯周病の病的指標となり得ることが近年の研究で報告されている。ヒト口腔から分離される *Slackia* 属菌は、*Slackia exigua* のみであり、以前は *Eubacterium exiguum* として分類されていた。本研究の目的は本菌の選択培地の開発を行い、健常者、慢性歯周炎患者、インプラント周囲炎患者の歯肉溝滲出液中の *Slackia exigua* の検出頻度を比較・検討することにより、インプラント周囲炎の病的マーカーとなり得るかを調査した。

**【材料と方法】** 供試菌株は *Slackia exigua* JCM 11022 と分離株、および代表的な口腔細菌を用いて通法に従い選択培地の開発を行った。菌種同定は 16SrDNA を基に設計した菌種特異的プライマーを用いた PCR 法にて行った。

**【結果と考察】** *Slackia exigua* 選択培地の組成を検討した結果、Tryptic soy 寒天培地に Yeast, ヘミン, ビタミン K1, L-cystein, 羊血液を加えたものを基礎培地とし、それに数種の抗菌薬を添加したものを選択培地とした。選択培地における *Slackia exigua* の回収率は平均 90% 以上と良好であった。健常者、慢性歯周炎患者、およびインプラント周囲炎患者における歯肉溝滲出液中の *Slackia exigua* の検出比率は CDC 血液平板を用いて算定した総菌数に対して、それぞれ 0.02%, 0.56%, および 1.6% であった。以上の結果より、本研究で開発した選択培地は *Slackia exigua* の分離・定量に有用であると考えられた。さらにインプラント周囲炎患者において本菌が高頻度で検出されたことから、*Slackia exigua* はインプラント周囲炎の病的マーカーとなり得ることが示唆された。本研究は JSPS 科研費 17K17384 の助成を受けたものです。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Usefulness of *Slackia exigua* as clinical indicators of peri-implantitis

---

○Uchibori S<sup>1</sup>, Tsuzukibashi O<sup>2</sup>, Kobayashi T<sup>1</sup>, Aida M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Crown Bridge Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

<sup>2</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

**Objectives:** Recently, *Slackia exigua* has been reported to be associated with clinical indicators of periodontal disease. Among genus *Slackia*, *Slackia exigua* (formerly *Eubacterium exiguum*) is isolated from human oral cavity. The purpose of this study was to develop selective media for the isolation of *Slackia exigua*, and to investigate whether *Slackia exigua* is useful as clinical indicators of peri-implantitis.

**Methods:** To develop the selective medium, following the selections of the base medium and antibiotics, the growth recoveries of *Slackia exigua* strains were examined. And then, the proportion of *Slackia exigua* in gingival crevicular fluid (GCF) collected from healthy persons (HP), chronic periodontitis patients (CP) and peri-implantitis (PI) patients was examined. The colonies on the selective medium were subcultured to confirm by PCR analysis using the primers designed in this study.

**Results and conclusions:** The growth recoveries of *Slackia exigua* strains on the selective medium were extremely satisfactory. *Slackia exigua* in GCFs of HP, CP, and PI were detected at 0.02%, 0.56%, and 1.6% to total bacteria number, respectively. The selective medium was useful for the isolation of *Slackia exigua*. Moreover, it was indicated that *Slackia exigua* is useful as clinical indicators of peri-implantitis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-43 インターフェロン誘導性ケモカインの Maus 扁平上皮癌細胞に対する抗腫瘍作用

---

○森 一将<sup>1</sup>, 廣井 美紀<sup>2</sup>, 嶋田 淳<sup>1</sup>, 大森 喜弘<sup>2</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科 1

<sup>2</sup>明海大 歯 微生物

---

**【目的】** インターフェロン (IFN) 誘導性ケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 は活性化 T 細胞, NK 細胞の走化性作用, 血管新生抑制作用を有するケモカインである. 我々は以前ヒト口腔扁平上皮癌ならびに白板症における CXCL9 の発現, 浸潤リンパ球について免疫組織化学的検討を行ない, 腫瘍組織に CXCL9 陽性所見を認め, またケモカイン受容体である CXCR3 陽性細胞の浸潤も認めた. しかし発現している CXCL9 や浸潤リンパ球が抗腫瘍的に働いているのかについては未だ解明されていない. 本研究は口腔前癌病変から早期浸潤癌に至る過程における IFN 誘導性ケモカインの役割を検討する一環として Maus 扁平上皮癌細胞株 (SCCVII) に上記ケモカインを過剰発現させた安定発現細胞株を構築し, ノド Maus へ移植し腫瘍形成に及ぼすこれらケモカインの役割について検討した. **【結果】** 1. IFN 誘導性ケモカイン安定発現細胞株をノド Maus の背部皮下に接種し, 経日的に腫瘍の増殖を観察した. その結果, Empty Vector 導入株と比較してケモカイン安定発現細胞株, 特に CXCL9 及び CXCL11 安定発現細胞株で顕著な腫瘍形成の抑制が認められた. 2. この腫瘍形成の抑制機構を検討する目的で腫瘍組織から Total RNA を調整し, 血管内皮細胞マーカーである CD31 ならびに NK 細胞のマーカーで Perforin の遺伝子発現をリアルタイム PCR を用いて検討した結果, CXCL11 発現細胞株では CD31 の発現の抑制傾向が認められ, また Perforin の発現は有意に上昇していた. **【考察】** ノド Maus は T 細胞が欠損していることから, CXCL11 は浸潤した NK 細胞による細胞傷害作用, および血管内皮細胞の増殖抑制作用により腫瘍の増殖を抑制したものと考えられる. 今後, 免疫組織化学的に免疫担当細胞の浸潤, 血管新生の抑制について詳細に解析する予定である.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Anti-tumor effects of interferon-inducible chemokines against mouse squamous cell carcinoma cells in mice

---

○Mori K<sup>1</sup>, Hiroi M<sup>2</sup>, Shimada J<sup>1</sup>, Ohmori Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Maxillac Surg, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Microbiol and Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch Dent

---

**Background:** IFN-induced chemokines CXCL9, CXCL10, and CXCL11 have chemotactic effects on activated T cells and NK cells, as well as inhibit angiogenesis. We previously reported that the expression of CXCL9 and CXCR3 in human oral squamous cell carcinomas and leukoplakias by immunohistochemistry. However, whether these IFN-inducible chemokines and infiltrated lymphocytes have anti-tumor effects has remained unknown. In the present study, to elucidate the role of these IFN-inducible chemokines in diseased tissue, we constructed stable cell lines expressing these IFN-inducible chemokines in a mouse squamous cell carcinoma cell line (SCCVII) and transplanted the cells into nude mice to examine the anti-tumor effects of these chemokines. **Results:** 1. Marked inhibition of tumor growth was observed in CXCL9- and CXCL11-expressing cell lines. 2. To elucidate the mechanism underlying the observed anti-tumor effects, the expression of CD31 and perforin, markers for endothelial cells and NK cells, respectively, were examined by quantitative RT-PCR. Although decreased expression of CD31 was observed in tumor tissues with transplanted CXCL11-expressing SCCVII cells, a significant increase in perforin gene expression was observed in these same tissues. **Conclusion:** These results suggest that CXCL11 inhibits tumor growth through the cytotoxic activity of infiltrating NK cells and their inhibitory effects on endothelial cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-44 ニコチンは p44/42 MAPK シグナルを介して上皮細胞癌の増殖促進を誘導する

---

○西岡 貴志<sup>1,2</sup>, 多田 浩之<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔診断

<sup>2</sup>東北大 院歯 インターフェイスプロジェクト支援

<sup>3</sup>東北大 院歯 口腔分子制御

---

【目的】タバコの煙の中には4000種類以上の化学物質が含まれ、そのうち数百種類以上が発がん物質を含む有害物質である。タバコの構成主成分の一つであるニコチンは、習慣性があり、喫煙者の血流に高濃度で存在するが、これまで直接的に発がんに影響することは証明されていない。しかし、ニコチン刺激により口腔がん細胞の増殖が促進され、がんの発症と進行に重要な因子である上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) を活性化していることを過去の本学会において発表を行った。今回その下流シグナルの p44/42 MAPK (ERK1/2) のリン酸化を検証し、新たな知見を得たため報告する。【方法】血清による影響を極力除外するため、ニコチン刺激 24 時間前に血清飢餓状態 (0.5% FBS 添加) にし、培養した口腔扁平上皮がん細胞 (HSC-2) の培養液中にニコチンを加えた後、細胞を回収し、ウェスタンブロット法にて解析を行った。【結果】ニコチン刺激により ERK1/2 のリン酸化が認められた。さらに、このシグナルを抑制する阻害薬を用いて処理を行ったところ、ニコチン刺激における抑制効果が確認された。【考察】ニコチン刺激による EGFR の活性化はこれまで明らかとなっていたが、今回、同刺激により下流の ERK1/2 のリン酸化も示され、この経路を介したシグナル伝達を示された。これによりニコチン刺激が活性化する本シグナル経路は、口腔がん細胞における細胞増殖作用に関与することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Nicotine exposure induces the proliferation through the p44/42 MAPK signaling in the epithelial cell carcinoma

---

○Nishioka T<sup>1,2</sup>, Tada H<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Res Unit Interface Oral Health Sci, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Tobacco smoke contains more than 4000 compounds of chemical substances, hundreds or more of which are hazardous substances containing carcinogens. Nicotine, one of the main constituents of tobacco, is addictive and exists in high concentrations in the bloodstream of smokers, but it has not been proven to directly affect carcinogenesis. However, we demonstrated the nicotine stimulation promotes proliferation of oral cancer cells and activates the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), an important factor in the onset and progression of cancer, at this conference in the past. Studies suggested that the nicotine was upregulate the phosphorylation of p44/42 MAPK (ERK1/2), which is downstream of EGFR. These finding are suggested that the nicotine stimulate correlate with cell growth or proliferation signals of oral cancer cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-45 マウス B16 メラノーマ細胞では、酸性細胞外 pH によって誘導される MMP-9 mRNA の発現は、PLD1 を介す**

---

○前田 豊信, 鈴木 厚子, 加藤 靖正

奥羽大 歯 口腔機能分子生物

---

**【目的】**腫瘍細胞は、好氣的解糖を介してエネルギーを生成することが知られており、この際の、乳酸産生に起因して、酸性細胞外 pH (pHe) が低下する。以前我々は、pHe の低下が PLD の活性化とマトリックスメタロプロテナーゼ-9 (MMP-9) の発現が促進されることを報告した。PLD のうち、メラノーマは PLD1 を高発現するが、酸性 pHe が PLD アイソザイムに及ぼす機序については不明な点が多い。そこで本研究では、酸性によって誘導される MMP-9 産生における PLD1 の役割について解析したので報告する。**【方法】**本研究では、マウスメラノーマである B16-BL6 を、酸性 (pH 5.9) 条件にして検討を行った。各種インヒビターを培地中に添加しゼラチンゼイモグラフィにて MMP-9 活性を測定した。また、siRNA を用い RhoA, Rac1, Cdc42 のノックダウンを、CRISPR/Cas9 によって Pld1, Pld2 のノックアウトを行った。**【結果】**酸性条件で誘導される MMP-9 産生は、simvastatin, cytochalasin D, C3 exoenzyme により阻害された。RhoA のノックダウンは MMP-9 誘導と PLD の活性化とを有意に阻害したが、Rac1 と Cdc42 では抑制が認められなかった。PLD1 インヒビター (VU0359595) は、MMP-9 の誘導を抑制したが、PLD2 インヒビター (CAY10594) では効果がなかった。また、PLD1 KO は MMP-9 産生を完全に阻害したが、PLD2 KO は影響を及ぼさなかった。**【結論】**RhoA-PLD1 が、酸性 pHe によって誘導される MMP-9 発現において重要な役割を果たすことがわかった。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## **Expression of MMP-9 mRNA is induced by acidic extracellular pH through by RhoA-PLD1 axis in mouse B16 melanoma cells**

---

○Maeda T, Suzuki A, Kato Y

Div Oral Biochem, Ohu Univ Sch Dent

---

**Introduction:** Aerobic glycolysis is well known as the main energy source of tumors. Therefore, acidic metabolites such as lactate decreases extracellular pH (pHe). Previously, we reported that acidic pHe promotes activation of PLD followed by induction of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). In this study, we report the role of PLD subtypes in acidic pHe-induced MMP-9 production. **Methods:** Mouse melanoma B16-BL6 cells and acidic medium (pH 5.9) were used in this study. MMP-9 activity was measured by gelatin zymography. Reduction of gene expression was transiently with siRNA for RhoA, Rac1 and Cdc42 and stably with CRISPR / Cas9 system for PLD isozymes. PLD activity was measured by using Bio Vision PLD assay kit. **Results:** Treatment of B16-BL6 cells with simvastatin, cytochalasin D or C3 exoenzyme completely inhibited acid pHe-induced MMP-9 expression. RhoA, but not Rac1 or Cdc42, knockdown significantly inhibited MMP-9 induction, concomitantly with PLD inactivation. Addition of PLD1 inhibitor (VU0359595) suppressed MMP-9 induction but PLD2 inhibitor (CAY10594) did not. When PLD1, but not PLD2, was knocked out, MMP-9 induction by acidic pHe was completely inhibited. **Conclusion:** RhoA-PLD1 plays an essential axis in acidic pHe-induced MMP-9 expression in melanoma B16-BL6 cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-46 併用化学療法は口腔扁平上皮癌細胞の CD44 の分解を促進する**

---

○梅村 直己, 高山 英次, 川木 晴美, 神谷 真子, 近藤 信夫  
朝日大 歯 口腔生化

【目的】当初, 我々は既存の化学療法剤による, 頭頸部扁平上皮癌に対して効果的なレジメを探索した。【方法】in vitro において頭頸部扁平上皮癌細胞の細胞増殖抑制を combination index を指標に SN-38 と gefitinib の併用処置の可能性に注目した。【結果】in vivo において我々の期待に反して, gefitinib 単独投与と併用投与における腫瘍増殖抑制に有意な差はなかった。しかしながら gefitinib 単独投与では投与終了後に一部の腫瘍が再増大した。そこで腫瘍組織内のがん幹細胞マーカー CD44 を検証した結果, 再増大した腫瘍組織では CD44 の発現が見られた。そこで, SN-38 と gefitinib の併用処置における CD44 の発現抑制を in vitro で検証した。その結果, 併用処置は CD44 の lysosomal における degradation を促進していた。【考察】我々の研究により SN-38 と gefitinib の併用処置は頭頸部扁平上皮癌の CD44 の lysosomal degradation を促進することで発現を抑制することを明らかにした

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## **Combined SN-38 and gefitinib treatment promotes CD44 degradation in head and neck squamous cell carcinoma cells**

---

○Umemura N, Takayama E, Kawaki H, Kamiya M, Kondoh N

Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

The aim of this study was to search for an effective regimen among existing chemotherapies for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Among the tested drugs, we focused on combined SN-38 and gefitinib treatment, based on the ability of this combination to inhibit HNSCC cell growth in vitro. Contrary to our expectation, in vivo, there was no significant difference in tumor growth suppression between gefitinib-only treatment and gefitinib plus SN-38. However, when tumor measurements were continued after treatment ceased, we found that several tumors showed renewed growth in the gefitinib-only group. The tumors that resumed growing after treatment showed increased CD44 expression compared with tumors from the combined treatment group. Next, we investigated the mechanism whereby SN-38 and gefitinib inhibited CD44 expression in vitro. These studies revealed that the combined treatment promoted the lysosomal degradation of CD44. This study revealed that combined gefitinib and SN-38 treatment inhibits CD44 expression by promoting its lysosomal degradation in HNSCC cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-47 $\rho 0$ 細胞における酸化ストレス応答機構の解析

---

○高 裕子<sup>1</sup>, 富田 和男<sup>2</sup>, 塚原 飛央<sup>2</sup>, 古川みなみ<sup>3</sup>, 西谷 佳浩<sup>1</sup>, 佐藤 友昭<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 歯科保存

<sup>2</sup>鹿大 院医歯 応用薬理

<sup>3</sup>鹿大 院医歯 矯正

---

ミトコンドリアはエネルギー産生を行う細胞内小器官として認識されていたが、近年、アポトーシスに関与することや活性酸素種(ROS)の主要な発生源であるということも明らかになってきている。 $\rho 0$  細胞は mtDNA が欠失しミトコンドリアの機能が損傷を受けている細胞である。我々は、ヒト子宮頸部がん (HeLa) 及びヒト舌がん (SAS) 細胞由来の  $\rho 0$  細胞を用い、酸化ストレスに対する応答機構の解析を行った。はじめに、これらの細胞が酸化ストレスに耐性を示すかを調べたところ、 $\rho 0$  細胞は過酸化水素処理に対して感受性が高かった。次に、過酸化水素を分解する内在性のカタラーゼ遺伝子の発現を調べたところ、親株と比較して、HeLa $\rho 0$  細胞では上昇し、SAS $\rho 0$  細胞では低下していた。カタラーゼの酵素活性を検討したところ、いずれの  $\rho 0$  細胞においても親株と比較して有意な上昇が見られた。膜電位感受性色素である DiBAC4(3) を用いて細胞膜電位を調べたところ、親株と比較して  $\rho 0$  細胞における膜電位が有意に低いことが示された。内在性の過酸化水素を特異的に検出する蛍光色素である HYDROP を用い、10分、30分、1時間、2時間での過酸化水素の細胞内局在の変化を調べたところ、処理後1時間において  $\rho 0$  細胞でのみ有意な上昇が見られた。処理後2時間においては親株、 $\rho 0$  細胞ともに有意に上昇していた。これらの結果より、 $\rho 0$  細胞においては、細胞膜電位が変化し、過酸化水素の入るタイミングが早まることによって、細胞内に過酸化水素が増えた結果、細胞死に至るというメカニズムが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of oxidative stress response in $\rho 0$ cells

---

○Takashi Y<sup>1</sup>, Tomita K<sup>2</sup>, Tsukahara T<sup>2</sup>, Furukawa M<sup>3</sup>, Nishitani Y<sup>1</sup>, Sato T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Mitochondria have been recognized as "Powerhouse of the Cell" for a long time, and lately, mitochondria also have been shown to be involved in apoptosis and shown as the primary site of reactive oxygen species (ROS) generation. We established mitochondrial DNA (mtDNA) depleted  $\rho 0$  cells from HeLa and SAS cell lines and investigated the effect of ROS, especially hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) sensitivity. As a result,  $\rho 0$  cells showed high sensitivity to  $H_2O_2$  compared with its parental cells, even though the catalase activity of  $\rho 0$  cells were up-regulated. Membrane potential of  $\rho 0$  cells was investigated using DiBAC4(3). The result showed that the membrane potential of  $\rho 0$  cells was lower than their parental cells. Moreover, internal  $H_2O_2$  amount was significantly increased only in  $\rho 0$  cells after 50  $\mu M$   $H_2O_2$  treatment for 1 h. Furthermore, internal  $H_2O_2$  amount was increased both in  $\rho 0$  cells and its parental cells for 2 hours  $H_2O_2$  treatment. These results suggest that cell surface plasma membrane status may change the permeability of  $H_2O_2$  and this change could lead to high  $H_2O_2$  sensitivity by external oxidative stress in  $\rho 0$  cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-48 口腔扁平上皮癌における AT1 受容体拮抗薬の影響

---

○森岡 政彦<sup>1,2</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>1</sup>, 中島 学<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御

<sup>2</sup>福岡大 薬 免疫・分子治療

---

アンジオテンシン受容体タイプ I (AT1R) は、血管平滑筋の他、種々の臓器や組織に発現しているが、癌や炎症の病態下では、特にその発現増強が認められることが知られており、抗癌治療ターゲットとしての有用性が期待されている。実際に、AT1R 拮抗薬が、癌細胞の増殖や腫瘍血管新生を抑制する可能性が近年報告されているが、それらの詳細なメカニズムには不明な点が多い。我々は、AT1R 拮抗薬であり、PPAR $\gamma$  の部分的アゴニストとしても知られるテルミサルタンを用いて、AT1R が発現しているヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (SQUU-A, SQUU-B) に対する増殖抑制効果とそのメカニズムについて検討を行った。解析の結果、テルミサルタンは SQUU-A の細胞生存率に影響を及ぼさなかったが、SQUU-B の細胞生存率を低下させた。また、テルミサルタンの SQUU-B に対する増殖抑制効果は PPAR $\gamma$  アンタゴニストである GW9662 の前処理によっても変化は認められなかった。続いて、AT1R シグナル伝達を負に制御するタンパク質のひとつである RGS2 (Regulator of G protein signaling 2) に着目した。発現解析の結果、SQUU-B に比べて SQUU-A では RGS2 の発現が亢進しており、このことがテルミサルタンに対する感受性の相違に参与していた可能性が示唆された。そこで、SQUU-A において RGS2 遺伝子の発現抑制、SQUU-B において RGS2 の過剰発現を行ったところ、それぞれ、細胞増殖抑制効果、細胞増殖抑制作用に対する抵抗性が生じた。以上のことから、ヒト口腔扁平上皮癌細胞において、テルミサルタンは PPAR $\gamma$  の活性化に依存しない細胞増殖抑制効果を発揮すること、また、その感受性の相違は、個々の細胞の RGS2 の発現量に依存する可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The effect of AT1 receptor blocker in oral squamous cell carcinoma

---

○Morioka M<sup>1,2</sup>, Kawakubo-Yasukochi T<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>1</sup>, Nakashima M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ

---

Telmisartan, an angiotensin II receptor type I (AT1R) blocker, is used as an antihypertension drug. It has also been characterized as a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR $\gamma$ ) ligand, and reported to have antitumor effects through its activation. However, the mechanism of these effects has not been fully elucidated. In this study, we investigated antiproliferative effect of telmisartan in oral squamous cell carcinoma (OSCC), by using SQUU-A and SQUU-B, which are OSCC cell lines expressing AT1R. Our data showed that telmisartan reduced cell viability in SQUU-B, but not SQUU-A, and the antiproliferative effect was not abrogated by GW9662, a PPAR $\gamma$  antagonist. Therefore, we next focused on RGS2, a regulator of G protein signaling 2, which negatively regulates the signaling of G-protein-coupled receptors, including AT1R. RGS2 was highly expressed in SQUU-A, compared with SQUU-B. In addition, siRNA to RGS2 facilitated antiproliferative effect of telmisartan in SQUU-A cells, meanwhile SQUU-B cells overexpressed RGS2 were not sensitive to the growth-inhibitory effect of telmisartan. Taken together, our results suggest that telmisartan had an antiproliferative effect for OSCC cells independent of PPAR $\gamma$  activation, and that the difference of sensitivity toward telmisartan might depend on the expression level of RGS2 in each OSCC cell.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-49 口腔粘膜の角化異常を伴う疾患における Transglutaminase の局在と酵素活性に関する予備研究

---

○嶋田 勝光, 落合 隆永, 長谷川博雅

松歯大 口腔病理

【緒言】 Transglutaminase (TGM) は広く自然界に分布する酵素で、口腔錯角化上皮では TGM1 が表層と有棘層の細胞膜、TGM3 が表層と有棘層の細胞質に局在し、基質タンパクを架橋して角化の一端を担う。我々は免疫組織学的手法と酵素組織学的手法を併用し、口腔の角化異常を伴う疾患における TGM の局在と活性を検討した。【材料と方法】 癌患者の手術材料のうち過錯角化症(舌 n = 1), 上皮異形成症(舌 n = 2, 頬 n = 1), 疣贅癌(舌 n = 1)の試料の一部を凍結標本として TGM 酵素の特異的基質である FITC 標識合成ペプチドを使用して酵素活性部位を検出後、同一標本上で TGM に対する一次抗体と Cy5 標識二次抗体を用いて免疫染色を行い、TGM 活性部位と局在の関係を蛍光重染色で確認した。【結果】 免疫組織化学的検索では、過錯角化症の TGM1 と TGM3 は表層と有棘層の細胞膜に陽性で、上皮異形成症の TGM1 は有棘層上層の細胞膜、TGM3 は表層の細胞質に陽性を示し、疣贅癌の TGM1 は有棘層の細胞膜、TGM3 は表層と有棘層の細胞質に陽性であった。酵素組織化学的検索では、過錯角化症の TGM1 と TGM3 は表層と有棘層の細胞膜に反応を認め、上皮異形成症の TGM1 と TGM3 は表層と有棘層の一部の細胞膜に反応し、疣贅癌の TGM1 と TGM3 は有棘層の細胞膜に反応を認めた。蛍光重染色では、過錯角化症や疣贅癌の TGM は共染を示し、上皮異形成症の TGM は表層や有棘層で局在と活性の不一致がみられた。【まとめと考察】 過錯角化症、上皮異形成症および疣贅癌ともに、表層や有棘層に TGM1 と TGM3 の局在と活性が認められ口腔錯角化上皮に類似した。以上から TGM1 と TGM3 の共発現が口腔粘膜の錯角化を起こす一因と考えられた。興味深いことに、過錯角化症と疣贅癌の TGM の局在と活性は有棘層全層に認められたが、上皮異形成症では有棘層上層に限局し、有棘細胞の分化との関連が疑われた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## A pilot study on localization and enzymatic activity of transglutaminases in the oral epithelial disease with abnormal keratinization

---

○Shimada K, Ochiai T, Hasegawa H

Matsumoto Dent Univ, Dept Oral Pathol

Transglutaminases (TGMs) are distributed over the realm of nature. In para-keratinized epithelium, both TGM1 and TGM3 are widely localized above the spinous layer and their activities contribute to keratinization by cross-linking structural proteins. **Material and Method:** To determine the distribution and enzymatic activity of TGM in oral epithelial diseases, we immunohistochemically and enzymehistochemically examined five mucosal specimens, diagnosed as hyperparakeratosis (n=1), epithelial dysplasia (n=3) and verrucous carcinoma (n=1), with abnormal keratinization. **Result:** In hyperparakeratosis, epithelial dysplasia and verrucous carcinoma, the localization and enzymatic activity of TGM1 and TGM3 were observed in the superficial and spinous layers. In epithelial dysplasia, neither immunopositive reaction nor enzymatic activity of TGM1 and TGM3 were noted in the lower spinous layers. **Summary and Discussion:** The localization and enzyme activity of TGM1 and TGM3 in diseases examined were similar to those in oral parakeratinized epithelium. The colocalization of TGM1 and TGM3 could play an important role in parakeratinization of oral epithelium. Interestingly, a case of epithelial dysplasia showed reduced expressions of TGM1 and TGM3 in the lower spinous layers. The deficiency of these TGMs might be associated with the differentiation of spinous cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-50 ヒト扁平上皮癌細胞 HSC-4 において TGF- $\beta$ 1 は BMP-2 シグナルの減弱により BMP-2 誘導性間葉上皮転換を抑制する

---

○加茂 政晴, 客本 斉子, 石崎 明

岩医大 生化 細胞情報科学

---

【目的】 癌細胞の転移においては、上皮間葉転換(EMT)により移動が可能になった後、転移先での癌細胞の定着と再増殖が重要であり、再び上皮様細胞の性質を獲得する間葉上皮転換 (MET)の関与が考えられている。BMP は、MET に関与することが示唆されているが、その機構は明らかではない。そこで、BMP-2 及び TGF- $\beta$ 1 が hOSCC の EMT/MET 関連遺伝子の発現に対してどのように影響するのかについて研究を行った。【方法】 hOSCC 細胞として、HSC-2, HSC-3, HSC-4 及び SAS 細胞株を用いた。BMP-2 と TGF- $\beta$ 1 の応答に関与する遺伝子とタンパク質は qRT-PCR 及びウェスタンブロット法により解析した。【結果と考察】 HSC-4 細胞において BMP-2 は、間葉マーカーである N-cadherin の発現を抑制するのに対して、上皮マーカーの cytokeratin9 の発現を上昇させた。HSC-4 細胞は BMP-2 と TGF- $\beta$ 1 の両者に応答する hOSCC 細胞として初めて見いだされた。両サイトカインで同時刺激した場合には、BMP-2 による上皮マーカー発現上昇及び間葉マーカーの発現抑制が、TGF- $\beta$ 1 により濃度依存的に打ち消された。また BMP による EMT 関連転写因子 Snail の発現抑制、及び MET 関連因子である ID1 の発現増大も同様に TGF- $\beta$ 1 により打ち消された。さらに TGF- $\beta$ 1 は、BMP シグナル経路の因子である Smad1/9 の発現及びそのリン酸化を抑制した。BMP-2 は、TGF- $\beta$ 1 と異なり、上皮系マーカーの発現を促進させ、間葉系マーカーの発現を抑制したことから、EMT ではなくむしろ MET を誘導することが示唆された。この BMP-2 の作用が TGF- $\beta$ 1 により濃度依存的に阻害されること、また TGF- $\beta$ 1 は BMP-Smad1/5/9 シグナルを減弱させたことから、TGF- $\beta$ 1 は BMP-2 による MET を抑制することが示された。細胞機能に対しては、BMP-2 は TGF- $\beta$ 1 とは逆に、HSC-4 細胞の細胞遊走能には影響を与えないが細胞増殖を増大させた。このことは転移先での癌細胞のコロニー形成を BMP-2 が誘導する可能性を示すものと考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## TGF- $\beta$ 1 suppresses BMP-2-induced mesenchymal-epithelial transition in human oral squamous cell carcinoma cell HSC-4 through attenuation of BMP-2 signal

---

○Kamo M, Kyakumoto S, Ishisaki A

Div Cell Biosig Sci, Dept Biochem, Iwate Med Univ

---

**Background:** In the metastasis of cancer cell, epithelial-mesenchymal transition (EMT) is known to show important process. However, it remains to be clarified that whether bone morphogenetic protein (BMP) affects the TGF- $\beta$ -induced EMT of hOSCC cells or not. Here, we examined how TGF- $\beta$ 1 and/or BMP-2 affect the statuses of EMT and mesenchymal-epithelial transition (MET) of human oral squamous cell carcinoma (hOSCC) cells. **Results:** The expression levels of BMP-activated Smad1/5/9 target genes including ID1 were most clearly up-regulated by BMP-2 stimulation in HSC-4 cells. BMP-2 down-regulated the expression of mesenchymal marker N-cadherin, and the EMT-inducer snail, whereas that up-regulated the expression of epithelial marker cytokeratin9, indicating that BMP-2 prefers to induce the MET but not EMT. In addition, the BMP-2-induced down-regulation of N-cadherin and snail expression, and up-regulation of cytokeratin9 and ID1 expressions were clearly inhibited by TGF- $\beta$ 1 stimulation. Moreover, TGF- $\beta$ 1 suppressed the BMP-2-induced phosphorylation of Smad1/5/9 according to the down-regulations of expression level of Smad1/9. On the other hand, TGF- $\beta$ 1 significantly induced migratory ability of HSC-4 cells, whereas BMP-2 did not. In addition, BMP-2 significantly induced proliferative ability, but TGF- $\beta$ 1 did not. **Conclusion:** TGF- $\beta$  positively regulates invasion of hOSCC, whereas BMP-2 positively regulates colonization of hOSCC cells.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-51 口腔扁平上皮癌における BP180 の局在

---

○安河内 篤<sup>1</sup>, 森岡 政彦<sup>1,2</sup>, 川久保-安河内 友世<sup>2</sup>, 中島 学<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御

<sup>2</sup>福岡大 薬 免疫・分子治療

---

癌の浸潤・転移には、細胞-細胞間および細胞-基質間接着の異常が深く関わっていることが想定される。ヘミデスモソームは、細胞-基質間接着装置の代表的なものであり、癌の浸潤・転移のほか、創傷治癒過程など、様々な生命現象における細胞運動時にも、この構造の接着解離が生じることが明らかとなっている。そのため、ヘミデスモソームの役割、またそれを構成する細胞接着分子の動態を理解することは、生命現象のみならず、様々な病態形成の分子基盤を理解することに繋がる。

我々は、口腔扁平上皮癌の浸潤・転移過程における細胞-基質間接着の動態について解析を行った。特に、ヘミデスモソームの構成成分の中でも、現在までに、大腸癌、肺癌等の複数の癌種においてその発現の亢進が浸潤・転移能と深く関わっていることが示唆されているタンパク質である BP180C 末 180 (180 kDa bullous pemphigoid antigen) に着目した。

解析の結果、口腔扁平上皮癌組織における BP180 は、原発巣および所属リンパ節転移巣において、癌組織辺縁に一致した発現の亢進が認められ、他の癌種では報告されていない特徴的な局在パターンを示した。また、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (NA, SAS) を用いた三次元培養実験においても、BP180 は、スフェロイド外部の基底膜成分の有無に関わらず、時間経過とともに辺縁に局在していくことが明らかとなった。

以上の結果から、BP180 は口腔扁平上皮癌において、癌組織内部では発現が消失し、さらに(基底膜の有無に関わらず) 辺縁部では発現が亢進するという、特徴的な発現パターンを示すことが明らかとなった。すなわち、本タンパク質は単なる細胞-基質間接着因子としてのみならず、その異常発現が癌の浸潤・転移過程に何らかの役割をもつ可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Localization of BP180 in oral squamous cell carcinoma

---

○Yasukochi A<sup>1</sup>, Morioka M<sup>1,2</sup>, Kawakubo-Yasukochi T<sup>2</sup>, Nakashima M<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ

---

Cancer cells generally exhibit reduced adhesion molecule expression or function resulting in release of their substrate, and freeing cells to pile up, migrate, or invade. Hemidesmosomes are multiprotein structures that attach basal cells of stratified epithelia to basement membranes not only in normal epithelium but also in cancer microenvironment.

In this study, we focused the role of BP180 bullous pemphigoid autoantigen, a major component of the hemidesmosome plaque, in oral squamous carcinoma cell (OSCC) invasion.

As a result of IHC, BP180 localized at the margin of tumor mass both in primary and lymphatic metastasis areas. In addition, it was also detected at the edge of 3-D structure culture spheroid regardless of the presence or absence of Matrigel surround by the use of human OSCC cell lines, NA and SAS.

These data indicate that expression of BP180 undertakes roles as not only a component of the hemidesmosome but also an indicator for cancer progression which may define clinical prognosis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-52 TGF- $\beta$ 誘導 CUX1 アイソフォームの強皮症肺線維芽細胞の線維化への関与

---

○池田 哲朗<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東大 医科研 免疫病態

<sup>2</sup>ユニヴァーシティ・カレッジ・ロンドン 医 リウマチ

---

TGF- $\beta$  は不可逆的に線維芽細胞を刺激し、ケロイドや強皮症を引き起こす。後者では、肺、腎、皮膚等の器官に1型コラーゲンの沈着が見られる。強皮症では、40%の患者に肺線維化が認められ、肺高血圧症を併発し死亡する。1型A2コラーゲン遺伝子(COL1A2 gene)は、五つのDNase Hypersensitive sitesを含むエンハンサーにより調節され、この領域に転写因子CUX1結合 cis-elementを発見した。CUX1は様々な遺伝子にアクチベーター、リプレッサーとして働くが、COL1A2 gene 調節機構は全く知られていない。EMSA法により、強皮症肺線維芽細胞(SSc)においてCUX1はCOL1A2 geneのエンハンサーに結合した。TGF- $\beta$ 依存性にSScでCUX1 isoforms p200, p150, p110, p75蛋白質が増加した。TGF- $\beta$ は、SScにおいて強皮症関連サイトカイン、CTGF, Wnt, ET-1を増加させた。SScで、Cathepsin L抑制剤は1型コラーゲンを減少させ、SScの大きさを減少させた。また、CUX1-siRNAはSScで1型コラーゲンを減少させた。強皮症肺、IPF肺及びDAD肺組織において、CUX1 isoformsは $\alpha$ -SMA陽性細胞内に存在した。これらの結果は、TGF $\beta$ 誘導CUX1-isoformsが1型A2コラーゲン遺伝子のエンハンサー領域を介してfibrosisを調節することを示唆している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## TGF- $\beta$ induced CUX1 isoforms up-regulates fibrosis in systemic sclerosis lung fibroblasts

---

○Ikeda T<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Immunol, IMS, Tokyo Univ

<sup>2</sup>Sch Med, Univ Coll London

---

In the enhancer region of the human type I collagen alpha 2 (COL1A2) gene, we identified cis-elements for the transcription factor CUX1. However, the role of CUX1 in fibrosis remains unclear. Here we investigated the role of CUX1 in the regulation of COL1 expression and delineated the mechanisms underlying the regulation of COL1A2 expression by CUX1 in systemic sclerosis (SSc) lung fibroblasts. The binding of CUX1 isoforms to the COL1A2 enhancer region increased after TGF- $\beta$  treatment using electrophoretic mobility shift assays. TGF- $\beta$  also increased the protein levels of the CUX1 isoforms p200, p150, p110, p75, p30 and p28 using Western blotting. Moreover, SSc lung fibroblasts showed higher levels of CUX1 isoforms than normal lung fibroblasts, and treatment of SSc lung fibroblasts with a cathepsin L inhibitor (IW-CHO) decreased COL1 protein expression and reduced cell size, as measured using immunocytochemistry. In SSc and diffuse alveolar damage lung tissue sections, CUX1 localised within  $\alpha$ -smooth muscle actin-positive cells. Our results suggested that CUX1 isoforms play vital roles in connective tissue deposition during wound repair and fibrosis.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

## P2-53 小学校児童における味覚の動向

○佐伯 周子<sup>1</sup>, 井出 良治<sup>1</sup>, 高橋 誠之<sup>1</sup>, 今井 敏夫<sup>1</sup>, 河内 嘉道<sup>1,2</sup>, 石井 広志<sup>2</sup>,  
長谷川 勝<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 生理

<sup>2</sup>市川市歯科医師会

【目的】過去8年にわたり、千葉県市川市では市教育委員会主催「ヘルシースクール推進事業」の一環として小学校児童(4~6年生)の味覚検査を実施している。今回は、平成24~28年度の5年間の検査結果を集計し、学童期の味覚の現状について解析・検討した。【方法】平成24~28年の秋に4~6学年児童を対象として行なわれた味覚検査の結果を集計した。5基本味のうち忌避的要素が少ないと考えられる甘味と塩味の2種類を選択し、昼食前(11:00-12:00)に全口腔法を用いて検査した。甘味溶液(シヨ糖水)と塩味溶液(食塩水)は各々濃度を3段階(甘味は4.6 mM, 18.3 mM, 36.5 mM; 塩味は3.2-3.3 mM, 12.8-13.4 mM, 25.7-26.7 mM)用意し、薄い濃度から、甘味そして塩味の順で実施した。児童は各濃度の溶液10 ml/回を口に含み、用紙に記載された4つ(水と同じ、水とちがう、あまい味、食っぱい味)のうちから1つを選んで、児童自身で判定し○印で記載するようにした。なお本調査は日本歯科大学生命歯学部倫理審査委員会の承認を得ている。【結果】認知閾値の評価が可能だった1333名(甘味)と1384名(塩味)のデータを集計した。その結果、全体の48.2%が18.3 mM シヨ糖水溶液で甘味を、60.8%が12.8-13.4 mM 食塩水で塩味を認知し、より低濃度で塩味が認知される傾向となった。一方、総人数1586名(甘味)と1579名(塩味)のうち、最高濃度で味を正確に選択できず、その結果、評価から除外された児童は総人数の16.0%(甘味)と12.3%(塩味)を占め、男子より女子の方が低い傾向を示した。【考察】市川市の小学生の味覚閾値に関しては過去の文献と類似した所見が得られ、本研究方法による味覚検査が小学生の味覚の評価・検討に有効である可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Gustatory test performed in schoolchildren

○Saiki C<sup>1</sup>, Ide R<sup>1</sup>, Takahashi M<sup>1</sup>, Imai T<sup>1</sup>, Kawauchi K<sup>1,2</sup>, Ishii H<sup>2</sup>, Hasegawa M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Ichikawa Dent Assoc

<Aims> We examined sweet and salty taste thresholds by whole mouth gustatory in public elementary schoolchildren of Ichikawa City in Chiba Prefecture from 2012 to 2016. <Methods> Testers were schoolchildren, aged 10-12 (n=2046). The school board got the consent of their parents as a part of "Healthy School Project" promoted by Ichikawa City. Three-stepped concentrations (mM) of sucrose (4.6, 18.3, 36.5) and NaCl (3.2-3.3, 12.8-13.4, 25.7-26.7) solutions were examined. <Results> In total, we obtain data from 1586 (sweet) and 1579 (salty) children. Both tastes were detected at 18.3 mM (sweet) and 12.8-13.4 mM (salty) by 48.2% (sweet) and 60.8% (salty) of children, who met criteria for our evaluation of the taste thresholds (sweet and salty tastes n = 1333 and 1384, respectively). Another group (n = 253 and 195 for sweet and salty tastes, respectively, and corresponded to 16.0% and 12.3% of total number) did not indicate right answer at the highest concentrations, and were excluded from the evaluation. <Conclusion> Our results suggest that taste thresholds were not very different from previous observations, and accordingly that our protocol is applicable in schoolchildren.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-54 マウス味覚器に発現するインスリンレセプターは味細胞の増殖・分化に関与する

---

○高井 信吾<sup>1</sup>, ニノ宮裕三<sup>2</sup>, 重村 憲徳<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析

<sup>2</sup>九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理

---

近年、消化管で働くホルモンやそのレセプターが末梢味覚器にも発現しているという報告が相次いで為されているが、その詳細な分布や機能に関しては未だ多くが不明である。特に、哺乳類の糖代謝機構の中で最も重要な働きを持つホルモンであるインスリンの味覚器における機能は未だ研究が進んでいない。本研究では、まず、インスリンとその関連分子のマウス味細胞における発現を探索した。RT-PCRの結果、マウス有郭乳頭において、インスリンレセプターに加え数種の糖輸送体 mRNA の発現が確認された。また免疫染色の結果、有郭乳頭の多くの味細胞でインスリンレセプターが発現していた。さらに、新たに開発された3次元味細胞幹細胞培養系「taste organoid」を用い、味細胞におけるインスリンシグナルの機能を探索した。その結果、有郭乳頭基部より採取した味細胞幹細胞をインスリンを含む培地で培養すると、organoidのコロニーサイズおよび各種味細胞マーカーの mRNA 量がインスリン濃度依存的に増加する傾向が見られた。以上の結果より、インスリンが直接味蕾にインスリン受容体を介して作用し、味細胞の増殖と成熟プロセスに関与している可能性が示唆された

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The function of insulin signaling in mouse peripheral taste system

---

○Takai S<sup>1</sup>, Ninomiya Y<sup>2</sup>, Shigemura N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Sensory Physiol, R & D Cent for Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ

---

Recent studies revealed that the hormones and their receptors which were originally identified in the gastrointestinal tract are shown to be expressed in our oral cavity. We reported an insulinotropic gut hormone GLP-1 is expressed in mice taste cells. On the other hand, it has not been studied well about insulin, an essential hormone of our whole body energy metabolism, in peripheral taste system. In this study, we look at the effect of insulin on peripheral taste system. In RT-PCR analysis, mRNA of insulin receptor and several glucose transporters are detected in mouse circumvallate papillae, not in tongue epithelium without taste buds. Immunohistochemical study showed that insulin receptors were expressed in a subset of T1r3-GFP (type II taste cell marker) or GAD67-GFP (type III marker) positive taste cells. A newly developed 3-Dimensional taste stem cell culture system: 'taste organoid' analysis revealed that the size of taste organoid colony and the mRNA expression levels of several taste cell markers, such as T1R3 or gustducin, were increased in an insulin concentration-dependent manner. These results suggest that insulin signaling may be involved in taste system and influence the taste cell growth or proliferation and/or differentiation in taste organs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-55 ラットにおける混合味溶液中の含有味溶液認識に及ぼす溶液濃度の影響

---

○山村 知暉, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

---

【目的】ラットは混合味溶液の含有物を認識できることが知られている (Katagawa *et al.*, 2016). 本研究では, 含有物の濃度の変化によりその認識がどう変わるのかを検討した.

【方法】実験1: 8週齢の雄性 Wistar ラット (n=40) を用いた. 24時間絶水したラットに5日間, 1日10分間のみ蒸留水を飲むトレーニングを行い, 6日目に条件刺激 (CS) として 30 mM ショ糖 (Suc), 10 mM 塩酸 (H) または 30  $\mu$ M 塩酸キニーネ (Q) を飲ませた. ラットは, 条件づけ群 (0.15 M LiCl 2% BW i. p.) とコントロール群 (生食 2% BW i. p.) の2群にわけ, 1日間のリカバリー日 (蒸留水のみ飲水) をおいたのち, 試験溶液 (CS 溶液そのものと CS に各種濃度の別の味溶液を混合したもの) に対する 10 秒間リック数を測定した.

実験2: 10 mM H または 100  $\mu$ M Q に 8 日間 (但し, 蒸留水と隔日提示のため正味 4 日) 事前暴露したラット (n=20) を用いた. 24 時間の絶水と 5 日間のトレーニング (但し, 暴露溶液 5 分後蒸留水 5 分) を行い, 6 日目に 30 mM Suc を CS として条件づけ, 実験 1 と同様にリック数を測定した.

【結果と考察】実験1: Q または H に条件づけられたラットのリック数は, Suc を混入すると濃度により多くなった. Suc に条件づけた場合, Q 混入の低濃度領域でリック数は多くなったが, H 混入ではこの現象は認められなかった. この結果は, 混合溶液により CS の存在の認知が抑制されているように見えるが, 味溶液の嫌悪性によりリック数が下がっている可能性が存在した.

実験2: 嫌悪性溶液に事前暴露したラットを用いて Suc を CS として条件づけし, Q を混合した場合も H を混合した場合も, CS の認知が混合物の濃度により阻害されることを確認した.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## The influence of the concentration of component in the binary mixed taste solutions in rats

---

○Yamamura T, Yasuo T, Suwabe T, Sako N

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

---

Rats can recognize the components in the binary taste mixtures (Katagawa *et al.*, 2016). We investigated how rats changed their recognition of component in taste mixtures by changing the concentrations of the partner component. The number of licks for mixtures of 10 mM HCl (or 30  $\mu$ M quinine hydrochloride (Q)) + 1-30 mM sucrose (Suc) in the rats subjected to aversive conditioning to 10 mM HCl (H) or 30  $\mu$ M Q were increased on the high concentration level of mixed Suc. The number of licks for mixture of Q + Suc in the rats subjected to aversive conditioning to 30 mM Suc were higher than that of CS when the concentrations of Q were on low level. But in the mixture of H + Suc, we could not find this situation. When the rats pre-exposure to 10 mM H or 100  $\mu$ M Q were subjected to aversive conditioning to 30 mM Suc, the number of licks for the mixture of H + Suc or Q + Suc were higher than those of CS on the some concentration levels of H or Q. The partner component in mixed taste solution may obstruct the recognition of component of binary taste mixture.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-56 離乳前ラットの行動特性と環境ホルモン曝露の影響

---

○藤本 哲也, 西川 泰央

大歯大 歯 生理

【目的】ビスフェノール A (BPA) は歯科材料にも用いられる著名な環境ホルモンの 1 つである。BPA の胎児期曝露に関しては多くの研究データが報告されているが、ほとんどは 6 週齢以降の成熟ラットが用いられる。近年、化学物質曝露による小児期への健康リスクが着目されており、BPA も例外ではない。今回、不明な点が多い幼若期ラットへの影響について着目し、1 つの行動学的アプローチを試みた。【方法】極低濃度 (15  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) の BPA を妊娠ラットに経口投与し、8 日齢、20 日齢の仔ラットについて自発行動を 8 日齢で 2 分間、20 日齢で 3 分間記録した。24 日齢で血中コルチコステロン濃度を測定した。【結果】1) 8 日齢: BPA 群において頭部運動、旋回運動の増加および不動時間の減少を示した。匍匐運動に差は認められなかった。2) 20 日齢: BPA 群において探索行動、移動量の増加および不動時間、毛繕い行動の減少を示した。3) 安静時における血中コルチコステロンは、BPA 群で低値を示した。【考察】BPA による行動様式への影響は、8 日齢の頭部運動、旋回運動、20 日齢の探索行動、移動量においていずれも増加であり、不動時間はどちらの日齢でも減少であった。20 日齢で観察された BPA の行動様式への影響 (活動亢進、不動減少、毛繕い行動減少) は、ストレスレベルの抑制との関連が示唆された。また、8 日齢の行動への影響様式は 20 日齢のものと似ており、BPA の影響は 8 日齢ですでに認められており、それが 20 日齢においても持続していることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Behavioral characteristics of pre-weaned rats and effect of environmental endocrine disrupter

---

○Fujimoto T, Nishikawa Y

Dept Physiol, Osaka Dent Univ

Bisphenol A (BPA) is a well-known environmental endocrine disrupter. A majority of animal studies evaluating the effects of BPA on non-reproductive behaviors have used adolescent or adult offspring. However, the influence of BPA on the immature offspring remains unclear. In recent years, there has been an increased focus on childhood health risks, and BPA is no exception. Here, we attempted one behavioral approach for evaluating the neurotoxicity of BPA in immature rats. We examined spontaneous behaviors and blood stress hormone levels in immature rats after prenatal BPA exposure (15  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ). At 8 days of age, BPA exposure increased the head-movement and pivoting, decreased the duration of immobility. At 20 days of age, BPA increased the exploration and ambulation, decreased the durations of immobility and grooming. In addition, BPA rats had lower basal levels of serum corticosterone than control rats. We concluded that prenatal BPA exposure produced a trend of hyperactivity potentially related to a mild state of stress suppression. In addition, the influence manner on 8-day-rat is similar to that on 20-day-rat, suggesting that the influence of BPA has already been recognized at 8 days of age and that it is sustained until 20 days of age.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P2-57 三叉神経入力で生じる口腔内及び口腔外組織の血流動態とサーモレギュレーションにおける相違点**

---

○石井 久淑, 佐藤 寿哉

北医療大 歯 生理

---

皮膚や粘膜の表面温度は感覚や免疫機能の維持に重要な因子であり, これらのサーモレギュレーションには血流動態が密接に関連していると考えられる. 口腔・顔面領域のサーモレギュレーションのメカニズムについては不明であるが, 三叉神経入力で生じる副交感性血管拡張は急峻かつ顕著な血流変化を誘発することから, 同領域のサーモレギュレーションに重要であると考えられる. そこで, 本研究はウレタン麻醉下で頸部交感神経と迷走神経切除を行ったラットを用いて, 三叉神経入力(舌)と口腔外(口唇と咬筋)組織の表面温度と血流動態に与える影響を検討した. その結果, 舌神経の電気刺激は, 舌, 口唇及び咬筋の血管拡張と顕著な表面温度の増加を誘発した. ヘキサメトニウム(自律神経節遮断薬)の投与は口唇と咬筋の血管拡張と表面温度の増加を有意に抑制した. 一方, ヘキサメトニウム投与は舌の表面温度の増加を有意に抑制したが, 舌の血管拡張に顕著な影響を与えなかった. これらの結果は, 反射性の副交感性血管拡張が口腔・顔面領域のサーモレギュレーションに関与することを示すとともに, 口腔内組織のサーモレギュレーションにおいては三叉神経入力で生じる副交感性血管拡張と軸索反射性血管拡張の相互作用が重要であることを示唆している.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

**Differences in the regulation of surface temperature accompanied by hemodynamic changes in the intra- and extraoral tissues mediated by trigeminal afferents**

---

○Ishii H, Sato T

Div Physiol, Dept Oral Biol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

Surface temperature (T<sub>mp</sub>) in the skin or mucosa is important in the maintenance of function and may be regulated by blood flow. Although mechanisms underlying thermoregulation in the orofacial area are unclear, parasympathetic vasodilation evoked by trigeminal afferents may be important because of the speed and magnitude of change in blood flow. Here, we examined the role of trigeminal afferents in the regulation of surface T<sub>mp</sub> and hemodynamics in the intra- and extra-oral tissues in urethane-anesthetized, cervically vago-sympathectomized rats. Stimulation of the lingual nerve (LN) resulted in significant increases in surface T<sub>mp</sub> accompanied by vasodilation in the lower lip, masseter muscle and tongue. Pretreatment with the autonomic ganglion cholinergic blocker hexamethonium reduced the T<sub>mp</sub> increase significantly, as well as vasodilation evoked by LN stimulation in the lower lip and masseter muscle. However, while hexamethonium inhibited the increase in the tongue T<sub>mp</sub> significantly, it had no significant effect on LN stimulation-induced vasodilation in the tongue. Our results indicate that parasympathetic reflex vasodilation is involved in the regulation of surface T<sub>mp</sub> in the orofacial area, and suggest that interactions between parasympathetic and axon reflex vasodilation evoked by trigeminal afferents are important for maintenance of surface T<sub>mp</sub> through vasodilation in some intraoral tissues.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-58 顎顔面皮膚および深部組織への侵害刺激がもたらす吻側延髄腹側部ニューロンの応答特性

---

○黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 長谷川真奈<sup>1,2</sup>, 岡本圭一郎<sup>1</sup>, 清水 志保<sup>1,3</sup>, 中谷 暢佑<sup>1,3</sup>, 藤井 規孝<sup>2</sup>, 高木 律男<sup>3</sup>, 山田 好秋<sup>4</sup>, 山村 健介<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 医歯病 歯総診

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 顎顔面外科, <sup>4</sup>東歯大短大 歯衛生

---

**【目的】** 吻側延髄腹側部 (rostral ventromedial medulla: RVM) は脊髄後角や脊髄路核尾側亜核へ下行性線維を送り, 直接的または間接的に侵害情報伝達を調節するなど, 内因性疼痛調整系の中で重要な役割を果たしている. RVM を構成するニューロンについての研究が進み, ラットの尾や後肢への侵害刺激に対する電気生理学的反応から機能的に異なる3つのニューロン (On-Cell, Off-Cell, Neutral Cell) の存在が明らかとなっている. その中で, On-Cell は脊髄後角での侵害情報伝達を促進し, Off-Cell は同部位での侵害情報伝達を抑制すると考えられている. これに対して, 顎顔面皮膚および深部組織への侵害刺激に対する RVM ニューロンの応答性に関しては十分に検討されていない. **【方法】** イソフルラン浅麻酔下の SD ラットを用いて, RVM ニューロンを同定後, 1: 尾・後肢・前肢・顔面部皮膚への pinching 2: 足底・顔面部皮膚への侵害性熱刺激 (50 oC) 3: 咬筋深部への Capsaicin (0.1%) 刺激を行い, それぞれの刺激に対する応答性を記録し RVM ニューロンを機能的に分類した. **【結果と考察】** まず RVM ニューロンを後肢への pinching に対する応答から 30% を On-Cell, さらに 30% を Off-Cell そして残り 40% を Neutral Cell と分類した. 顔面部皮膚への pinching に対しては On-Cell (50%), Off-Cell (30%), Neutral Cell (20%) とその比率が変化した. 以上より RVM ニューロンは, 四肢領域からの侵害情報伝達と, 顎顔面領域からの侵害情報伝達に対して異なる働きをすることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Neural activity of rostral ventromedial medulla induced by noxious stimulation to cutaneous and deep craniofacial tissues

---

○Kurose M<sup>1</sup>, Hasegawa M<sup>1,2</sup>, Okamoto K<sup>1</sup>, Shimizu S<sup>1,3</sup>, Nakatani Y<sup>1,3</sup>, Fujii N<sup>2</sup>, Takagi R<sup>3</sup>, Yamada Y<sup>4</sup>, Yamamura K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>2</sup>Gen Dent Clinic Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp

<sup>3</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>4</sup>Dept Dent Hyg, Tokyo Dent Junior Coll

---

**Introduction** The rostral ventromedial medulla (RVM) projects to spinal and medullary dorsal horns, to directly or indirectly enhance or reduce the nociceptive transmission. Three classes of RVM neurons (on-cells, off-cells, and neutral cells) have been described with distinct responses to noxious tail and hindpaw stimulation. Although the strong evidence implicates on-cell activity in facilitating and off-cell activity in inhibiting nociceptive transmission, classification of RVM neuron based on the response to noxious stimulation of cutaneous and deep craniofacial tissues has not been well studied. **Material and Methods** In lightly anesthetized rats, systematic exploration using single-unit extracellular recordings was used to examine the neuronal properties of the cell classes. As a noxious stimulation, pinching the tail, hind-paw and skin overlying the masseter muscle, heating (50oC) to skin and application of capsaicin (0.1%) into masseter muscle were used. **Results** RVM neurons were first classified as ON (30%), OFF (30%), or NEUTRAL (40%) cells by pinching to the hind paw. Pinching the skin overlying the masseter muscle altered the proportions of ON (50%), OFF (30%), and NEUTRAL (20%) cells. **Discussion** Our findings indicated that RVM neurons plays a different functional role for craniofacial and spinal nociceptive transmission.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-59 麻酔下ラット延髄の体性感覚一次中継核ニューロンの発火パターン解析: 動的触刺激の方向による変化

---

○戸田 孝史<sup>1</sup>, 宍戸新一郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生理

<sup>2</sup>赤門鍼灸柔整専門学校

---

【目的】体性感覚の一次中継核である後索核では、ニューロン活動の組合せにより種々の刺激特性が弁別的に再現されることがわかっている。本研究では個々のニューロンが動的触刺激に应答する際の発火パターンが、刺激の方向などにより変化するかどうかを調べるため、単一ニューロン活動のスパイク列について時間構造解析を行った。【方法】ウイスター系雌性ラット8匹を用い、全身麻酔下(塩酸メドミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトルファノール)で後索核及び三叉神経脊髄路核尾側亜核から単一細胞外記録を行い、同じ方向について多数回(36-136回)の動的触刺激を行い、その際の持続的神経応答を記録した。データ収集にはSpike 2 (CED, UK)を用いoff-lineでスパイク弁別を行った。その上で、数値計算ソフト(Scilab, Scilab Consortium/Digiteo)に移し、発火パターン(regular, random, bursty)を解析した。解析では、Shinomotoら(2009)により考案された局所変動係数の改良型(LvR)で隣接するスパイク間隔同士の相関を評価し、ブートストラップ標本(試行:10000回)からLvRと平均発火頻度の分布を調べた。【結果と考察】記録された20個のニューロンのうち、15個は体毛の刺激に、5個は関節の動きに反応した。前者15個のうち14個のニューロンについて動的触刺激の方向を2-4通りに変化させ、得られた28ペアについて反応を比較した。LvRは、0.35-2.28の広い範囲に分布していたが、概ね1.0と1.8の周辺に集中する傾向がみられ、すでに報告のある大脳皮質の感覚野や頭頂連合野に類似する分布パターンであった。同じニューロンで刺激方向を変えた28ペアのうち86%では発火頻度が、54%ではLvRが有意に変化していた。このことは、発火頻度に加えスパイク列の時間構造が変化することで、異なる刺激属性間の識別を容易にしている可能性を示唆する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Spiking patterns of somatosensory neurons in the first relay nuclei in the rat medulla: their sensitivity to directions of moving tactile stimuli

---

○Toda T<sup>1</sup>, Shishido S<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Akamon Oriental Medical Coll

---

Temporal signaling patterns, as well as the firing rate, is thought to be important to code somatosensory information. We examined the spiking patterns of somatosensory neurons in the dorsal column nuclei and trigeminal subnucleus caudalis when moving tactile stimulus (light rubbing) was applied. In anesthetized rats, single-unit activities of 20 neurons were recorded, and their firing patterns were analyzed using a metric of local variation (LvR; Shinomoto et al., 2009). Of the 20 units, 15 responded to deflection of hair (hair neuron), and the rest five responded to joint movement. In 14 out of 15 hair neurons, moving tactile stimuli were applied in 2-4 different directions. The LvR values ranged widely from 0.35 to 2.28, although concentrated roughly around 1.0 and 1.8. This pattern of LvR distribution was similar to that of the primary sensory cortex and even to that of the parietal association cortex reported previously. Among 28 stimulus-pairs in which stimulus direction altered, 86% showed the significant difference in the firing rate, and 54% showed that in LvR. We speculate that the firing pattern as well as firing rate has a considerable influence on representing somatosensory attributes, even at the very first stage of the somesthetic integration.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-60 ラット皮質における咬筋筋紡錘刺激に応答する興奮伝播の時空間的特徴

---

○藤田 智史, 小林 真之

日大 歯 薬理

【目的】咬筋神経は咬筋中の筋紡錘からの固有感覚情報、咬筋の侵害受容情報を中枢に送っている。しかしながら、咬筋の筋紡錘が活動した時の固有感覚情報が脳皮質のどこで情報処理されているのかについてはいまだ完全には明らかとなっていない。本研究では、咬筋の筋紡錘からの固有感覚情報の情報処理を行っている領域を明らかにするため、膜電位感受性色素を用いてウレタン麻酔下のラットで光学計測を行った。【材料・方法】ウレタン麻酔下 (1.5 g/kg) のラットに対して左側島皮質とその周辺領域を含む領域に開窓を行った。その後、膜電位感受性色素の RH1691 (1 mg/ml) を 1 時間負荷した。膜電位感受性色素から得られる蛍光強度の変化は CCD カメラを搭載した実体顕微鏡を用いて観察した。開口時および咬筋神経に電気刺激した時の応答を記録した。【結果・考察】下顎を機械的に引き下げ、開口させると、一次体性感覚野の吻腹側部 (S1)、および二次体性感覚野の腹側部と島皮質の境界部分 (S2/IOR) の 2 か所に神経活動が認められた。光学的シグナルの時間的な動態として、latency, amplitude, rise time, decay time, half duration を S1 と S2/IOR の間で比較したが有意な差を認めなかった。咬筋神経に電気刺激を行った時の S2/IOR における初期応答部位は、開口時の初期応答部位からわずかに吻側に位置していた。また、咬筋神経に電気刺激した時の最大応答領域は、開口時に誘発される最大応答領域と重なる部分に加えて、さらに吻側方向へ広がった応答を認めた。これらのことから、この重複する応答領域で咬筋中の筋紡錘からの情報が処理されていることが示唆された。また、咬筋神経に電気刺激した時に認められた吻側方向へ広がる応答領域は、咬筋神経からの侵害受容情報を処理している部位であることが考えられた。【共同研究者】中村紘子 (日大 歯 小児歯), 金子茉莉 (日大 歯 矯正)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Spatiotemporal profiles of excitatory propagation responding to masseter muscle spindles stimulation in rat cerebral cortex

---

○Fujita S, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

【Purpose】Previous studies suggest that proprioceptive information from the muscle spindles is processed in the cerebral cortex. However, the spatiotemporal profiles of excitatory propagation responding to stimulation of masseter muscle spindles are unclear. The present study aimed to identify the regions that process proprioception of muscle spindles in the masseter using an *in vivo* optical imaging with a voltage-sensitive dye in rats. 【Materials & Methods】Rats were anesthetized with urethane (1.5 g/kg). After a craniotomy, a voltage-sensitive dye, RH1691 (1 mg/ml), was applied. Changes of intensity of RH1691 fluorescence were recorded using a CCD camera system. The responses to jaw opening and electrical stimulation of the masseter nerve were observed. 【Results & Conclusion】Jaw opening that was produced by mechanically pulling down the mandible excited two cortical regions: the most rostroventral part of primary somatosensory cortex (S1) and the border between the ventral part of secondary somatosensory cortex (S2) and the insular oral region (IOR). Electrical stimulation of masseter nerve initially excited S2/IOR region rostral to initial response to jaw opening. The maximum responses to jaw opening and electrical stimulation of masseter nerve were partially overlapped. These findings suggest that proprioception of the masseter is processed in S1 and S2/IOR.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-61 ラット脳幹におけるレニン-アンギオテンシン系の解析

---

○諏訪部 武

朝日大 歯 口腔生理

【目的】脳組織にはレニン-アンギオテンシン系が存在し、末梢血管抵抗や体液量の調節のメディエーターである血漿中のレニンやアンギオテンシンとは独立して働く。その機能は多岐に渡り、神経突起の伸長、シナプスの形成、ニューロンの興奮性の調節などに関連しているとされている。このように局所で働くレニン-アンギオテンシン系が脳幹に存在すれば、脳幹の神経回路を調節することで口腔顔面領域の感覚機能や運動機能に影響を与える可能性が考えられる。本研究では脳幹にレニン-アンギオテンシン系が存在することを確かめるため、レニン-アンギオテンシン系を構成するアンギオテンシノーゲン、レニン、アンギオテンシン変換酵素およびアンギオテンシン受容体の mRNA 発現をラットの脳幹組織で調べた。【方法】麻酔下でラットから脳を摘出し、脳幹組織から全 RNA を抽出し、逆転写反応で cDNA を合成した後、PCR 法でレニン-アンギオテンシン系の構成要素の mRNA 発現を調べた。【結果と考察】アンギオテンシノーゲン、レニン、アンギオテンシン変換酵素およびアンギオテンシン受容体の mRNA 発現が認められたことから、レニン-アンギオテンシン系が脳幹に存在する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of a local renin-angiotensin system in the rat brainstem

---

○Suwabe T

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

<Purpose> A local renin-angiotensin system (RAS) has been demonstrated in the brain. The brain RAS is independent of plasma renin and angiotensin that mediate cardiovascular and body water regulation. The brain RAS has been implicated in various functions including regulation of neurite outgrowth, synaptogenesis and neuronal excitability in the central nervous system. We hypothesized that a RAS in the brainstem influence orofacial sensory and motor functions through regulating brainstem neural circuit. To examine existence of a local RAS in the brainstem, we investigated mRNA expression of RAS components (angiotensinogen, renin, angiotensin-converting enzyme and angiotensin receptors) in rat brainstem tissue. <Materials & Methods> Rat brain was rapidly removed under anesthesia and total RNA was extracted from the brainstem. cDNA was synthesized from the RNA by reverse transcription and mRNA expression of RAS components was analyzed by real-time PCR. <Result & Conclusion> RAS component mRNAs were expressed in rat brainstem tissue suggesting a local RAS exists in the brainstem.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

**P2-62 タッピング運動時に活動する脳領域の機能結合解析**


---

○深見 秀之, 佐原 資謹

岩医大 歯 生理

非侵襲的脳機能イメージングの普及により、顎運動時に活動するヒト脳部位について多くの研究がされてきた。しかし、これらの顎運動にかかわる脳部位がどのように結合し円滑な顎運動が遂行されているかについては不明な点が多い。本研究は顎運動時の脳活動および領域間機能結合についてfMRIで調べた。対象は80歳以上で残存歯20本以上のグループ(ED)および無歯顎のグループで行った。無歯顎者は無歯顎(EE)および義歯を装着(EED)したタスクを行った。タスクは30秒間のタッピング運動と安静を繰り返すブロックデザインとした。画像解析の結果、3グループで共通して一次体性感覚野(SI)、一次運動野(MI)、補足運動野/運動前野(Brodmann area 6: BA6)、視床後内側腹側核(VPM)、大脳基底核(BG)および小脳に有意な賦活が見られた。EDおよびEED群では前頭前野背外側部(DLPFC)に賦活が観察されたがEE群では観察されなかった。義歯装着の影響をうける領域間機能結合を調べるために、psychophysiological interaction (PPI)を用いて結合解析を行った。Seed領域はSI、BG、小脳に設定した。SIとVPM、BA6、BG、DLPFC、小脳間の機能結合が影響を受けた。BGと視床腹外側核、MI、SI間の機能結合が影響を受けた。小脳と視床腹外側核、MI、SI間の機能結合が影響を受けた。タッピングにより生じる感覚入力にはVPMからSIを介して前頭連合野DLPFCに伝わると考えられる。また、感覚入力はCerebellar loop, basal ganglia loopを介し運動の開始、遂行、調節に関わっていることが予測される。単純な顎運動であるタッピングにおいて、感覚入力、反射だけではなく随意運動の調節機構にも関与していることが示唆される。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

**Functional connectivity of human jaw tapping**


---

○Fukami H, Sahara Y

Dept Physiol, Iwate Med Univ Sch Dent

Many studies have identified brain area associated with jaw movement. However, brain circuitry that initiates and executes jaw movement remains poorly understood. In this study, we investigated the brain area associated with jaw tapping and connection among these areas by fMRI. Three groups of subjects were included: an elderly dentulous (ED) group, an elderly edentulous (EE)/denture wear (EED) group. Task consisted of alternated 30 s blocks of rest and 30 s blocks of tapping. The EE/EED group was asked to perform the task with and without dentures. Effective connectivity analyses were performed using psychophysiological interaction (PPI). Jaw tapping induced activation at various foci, including somatosensory cortex (SI), primary motor area (MI), premotor/supplementary motor area (Brodmann area 6: BA6), cerebellum, ventroposterior medial nucleus of thalamus (VPM), and basal ganglia (BG) in all groups. Dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) was activated in ED and EED groups. A PPI analysis was made to examine how denture wearing affected to connectivity from seed ROIs. SI seeds connected with VPM, BA6, BG, DLPFC and cerebellum. BG and cerebellum seeds connected with MI, SI and ventrolateral nucleus of thalamus. These results indicated that sensory information affected voluntary jaw movement via cerebellar and basal ganglia loops.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-63 エメチンの催吐作用とその中枢機序

---

○佐藤 孝紀, 久留 和成, 平井 喜幸, 船橋 誠

北大 院歯 口腔生理

【目的】エメチンは催吐薬として使用される吐根に含まれる成分であるが, 悪心・嘔吐を誘発する作用機序については不明である. そこで我々はエメチンの催吐作用の容量依存性と化学受容性嘔吐誘発域(延髄最後野)のニューロン活動の変化を明らかにするために動物実験を行った. 【方法】Wistar系雄性ラット(250-300g)を用いて, 条件刺激をサッカリン溶液(甘味刺激), 無条件刺激をエメチン腹腔内投与(悪心誘発)として味覚嫌悪学習の獲得を解析した. また, 味覚嫌悪学習を獲得する濃度のエメチン投与2時間後における最後野および孤束核のc-Fos陽性細胞数を免疫組織化学的手法を用いて解析した. ラットは23.5時間の絶水後, 30分間の飲水トレーニング(7日間)を行ったのち, エメチン(0.03, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0 mM, i.p.)による条件付けを行い, 23.5時間の絶水後, 3サッカリンもしくはDWを30分間摂取させる2ボトルテストにより評価した. 【結果と考察】0.5および1.0 mMエメチンを投与した群においてサッカリン選択率の有意な低下を認めた. 用量-反応曲線からED<sub>50</sub>は0.35 mM程度であった. また, 0.5 mMエメチンを投与したラットの最後野および孤束核では, 生理食塩水を投与したコントロール群に比べ, c-Fos陽性細胞数の有意な増加を認めた. 以上のことから, エメチンは用量依存的に催吐作用を示し, 最後野及び孤束核の神経活動の上昇が悪心誘発に関与したことが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

### Possible central mechanism of emetine-induced nausea and/or emesis

---

○Sato T, Hisadome K, Hirai Y, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Emetine is one of the emetogenic ingredients of ipecac. However the central mechanism of the emetine-induced nausea and/or emesis has not yet revealed. Therefore, we performed measurement of conditioned taste aversion (CTA) and neuronal activity in the area postrema (AP) and nucleus tractus solitarius (NTS) when effective dose of emetine was injected intraperitoneally. Male Wistar rats (250~350 g BW) were used as experimental animals. Saccharin preference was measured by 2 bottle test to estimate the acquisition of CTA. The unconditioned stimulus was i. p. injection of emetine (0.03, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0 mM). Immunohistochemical analysis was performed to identify c-Fos positive cells in the AP and NTS. In animals injected with emetine (0.5, 1.0 mM), saccharin preference was significantly lower as compared with the control group. From the dose-response curve of emetine, ED<sub>50</sub> was around 0.35 mM. The number of c-Fos positive cells in the AP and NTS was significantly larger in the group with emetine-injection (0.5, 1.0 mM) as compared with the control. The present study suggests that the increases in the excitability of AP and NTS neurons were involved in the mechanism of emetine-induced nausea and/or emesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-64 『酒は百薬の長』の根拠を科学的に解明するストレス誘発性の咬筋侵害受容反応に対する日本酒の影響について

○岡本圭一郎<sup>1</sup>, 中谷 暢佑<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 柿原 嘉人<sup>3</sup>, 木口 哲郎<sup>2,3</sup>, 長谷川真奈<sup>4</sup>, 藤井 規孝<sup>4</sup>, 佐伯万騎男<sup>3</sup>, 高木 律男<sup>2</sup>, 山村 健介<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口外

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>4</sup>新潟大 医歯病 歯総診

適度な酒類の摂取は健康の増進に有用であり、例えば日本酒は心理的ストレス状態を軽減させることができる。一方、持続的なストレス状態が疼痛感受性を増大させることが知られている。我々は繰り返し強制水泳ストレス処置 (FST) を加えたラットでは顎顔面部の侵害受容反応が増大することを過去に報告した。今回、本実験では FST ラットにおける咬筋の侵害受容反応に対する日本酒の影響を神経興奮のマーカーである Fos タンパクの発現を指標に検討したので報告する。雄性ラットに FST または非ストレス (Sham) 処置を行った (10 分/日×3 日)。FST 群では非水泳時間を計測しウツ様行動の指標とした。FST または Sham 処置後、日本酒 (アルコール濃度として 400 mg/kg/日×3 日, ip) 又は生食水を腹腔内投与した。3 日間のストレス処置を終えた 24 時間後、全身麻酔下、左側の咬筋へのホルマリン注入による侵害刺激を加え、三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) での Fos 抗体による免疫組織化学的実験を施行し、Fos 陽性細胞数を定量、Sham 群と FST 群を比較した。抗ウツ効果について: 3 日間の日本酒の投与は経日的に FST における非水泳時間を短縮させた。つまり日本酒によるウツ様行動が低下した。抗侵害受容効果について: FST + 3 日間の生食投与群では、Sham + 3 日間の生食投与群に対し有意に Fos 陽性細胞数の増加を認めた。FST + 3 日間の日本酒群では FST + 生食群と比べ有意な Fos 応答の減少を認めた。Sham + 3 日間の日本酒群では Fos 反応の軽度の低下を認めた。以上より日本酒はウツ関連行動を抑制し、ストレス誘発性の咬筋の侵害受容反応の増大を抑制することが明らかになった。また Sham 群でも日本酒による侵害受容反応の抑制が見られたことから、3 日間の日本酒投与は非ストレス下においても疼痛応答に影響を与えることが示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Inhibitory roles of Japanese Rice Wine (Sake) on masseter muscle nociception after repeated psychophysical stress conditionings in the rats

○Okamoto K<sup>1</sup>, Nakatani Y<sup>1,2</sup>, Kurose M<sup>1</sup>, Kakihara Y<sup>3</sup>, Kiguchi T<sup>2,3</sup>, Hasegawa M<sup>4</sup>, Fujii N<sup>4</sup>, Saeki M<sup>3</sup>, Takagi R<sup>2</sup>, Yamamura K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp

A proper amount of Sake intake contributes to promote one's healthy life and Sake is known to reduce psychological distress. We previously reported that repeated forced swim stress conditionings (FST) facilitated masseter muscle (MM) nociception in rats. The aim of this study was to investigate if preventing neural effects by psychophysical stress conditionings had roles to reduce MM nociception in rats. FST or sham treatments were conducted for 3 days (10 min/d). Sake (ip) was administered 30 min after each conditioning from Day 1 to 3. At Day 4, MM nociception by unilateral formalin injection was tested by Fos immunohistochemistry at trigeminal subnucleus caudalis region (Vc) being conducted at 24 hours after the last Sake administration. Sake reduced immobility time during FST sessions, suggesting that Sake reduced depression-like behavior. FST + saline increased Fos response at Vc compared to sham + saline. FST + sake reduced Fos response at Vc. Sham + Sake displayed a small but significant reduction of Fos response. These findings indicate that daily administration of Sake prevents depression-like behavior and MM nociception that was enhanced by FST. Inhibitory effects on Fos response under sham condition suggest that Sake could alter pain sensitivity even under normal condition.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **P2-65 セロトニン再取り込み阻害薬は繰り返しストレスによる咬筋の侵害受容反応の増強を抑制する**

---

○中谷 暢佑<sup>1,2</sup>, 黒瀬 雅之<sup>1</sup>, 清水 志保<sup>1,2</sup>, 柿原 嘉人<sup>3</sup>, 木口 哲郎<sup>2,3</sup>, 長谷川真奈<sup>1,4</sup>, 佐伯万騎男<sup>3</sup>, 高木 律男<sup>2</sup>, 山村 健介<sup>1</sup>, 岡本圭一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 口腔生理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 顎顔面口外

<sup>3</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>4</sup>新潟大 医歯病 歯総診

---

我々はこれまでに繰り返し強制水泳ストレス処置 (FST) を加えたラットでは咬筋での侵害受容反応が増大し、持続的なストレス状態は侵害刺激に対する反応性を増大させることを明らかにした。本研究では FST が咬筋の侵害受容反応の増大に与える影響とセロトニン機構との関連性を三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) での Fos タンパクの発現を指標に観察した。雄ラットに FST (10 分間/日×3 日) または非ストレス (Sham) 処置を行った。FST 処置時、うつ状態の指標とされる非水泳時間を計測した。ストレス処置の 30 分後、セロトニン再取り込み阻害薬であるフルオロキセチン (以下 SSRI, 1, 10 mg/kg/日) 又は生食水を計 3 回、全身 (腹腔内) 投与した。3 日間のストレス/薬剤処置の 24 時間後、全身麻酔下、左側咬筋へ侵害刺激 (5%ホルマリン注入) を施行した。刺激 2 時間後、灌流固定を行い、Vc 部での Fos タンパクの発現を同定するため免疫染色を施行。Fos 陽性細胞数を計測し、各群ごとの比較を行った。Vc 領域での観察部位は、Fos の著明な発現を認めた三叉神経脊髄路核中間亜核/尾側亜核移行部の腹側と背側部、三叉神経脊髄路核/延髄移行部の浅層および深層の 4 カ所で行なった。FST + 生食群は Sham + 生食群と比べ、4 領域の全てにおいて両側性に Fos 発現の有意な増大を認めた。一方で FST + SSRI 群では FST + 生食群と比べ、SSRI の濃度依存性に Fos 発現の有意な低下を認めた。しかし Sham 群では SSRI 投与は Fos 応答に変化を及ぼさなかった。また FST による非水泳 (うつ様行動) 時間は SSRI 投与によって短縮した。以上より SSRI 投与による Vc 領域での Fos 陽性細胞数の低下は、FST 群でのみ見られたことから、繰り返し情動ストレス処置による咬筋侵害受容反応の増大にはセロトニン機構が関与することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Fluoxetine prevents psychophysical stress-induced increases in Fos responses in Trigeminal Caudalis (Vc) region evoked by masseter muscle injury in rats**

---

○Nakatani Y<sup>1,2</sup>, Kurose M<sup>1</sup>, Shimizu S<sup>1,2</sup>, Kakihara Y<sup>3</sup>, Kiguchi T<sup>2,3</sup>, Hasegawa M<sup>1,4</sup>, Saeki M<sup>3</sup>, Takagi R<sup>2</sup>, Yamamura K<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>4</sup>Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp

---

The aim of this study was to assess the contribution of serotonergic mechanisms on masseter muscle (MM) nociception in the Vc region under psychophysical stress conditions. Rats were subjected to repeated forced swim stress (FST) or sham treatment for 3 days (10 min/d). Fluoxetine (SSRI), the selective serotonin reuptake inhibitor or vehicle was administered systemically at 30 min after each FST. Immobility time that was considered as depression-like behaviors was measured during FST. At Day 4, 24 hours after the last SSRI administration, rats were sacrificed after MM injection of 5% formalin injection (left) to perform Fos immunohistochemistry. The number of Fos positive cells was quantified in Vc region in sham and FST groups. Repeated FST increased Fos expression by MM injury in Vc region bilaterally compared to sham rats with vehicle ip. SSRI decreased immobility time during FST at Day 3, and decreased Fos expression in Vc region by MM injury at Day 4 compared to vehicle group in FST rats. Daily application of SSRI for 3 days showed no effect on Fos expression in sham rats. These findings indicated that preventing increased MM nociception after repeated FST could be mediated by serotonergic mechanisms.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-66 Laser scanning photostimulation 法を用いた島領野無顆粒皮質に投射する梨状皮質からの興奮性入力経路の同定**

---

○山本 清文, 小林 真之

日大 歯 薬理

無顆粒島皮質 (AI) の出力は, 痛みの下行性抑制を調節することが知られる (Jasmin et al., 2003). AI からの出力情報は興奮性ニューロンの発火とこれらニューロンに対する GABA 作動性ニューロンの抑制の調和によって生み出されると考えられるが, これらのニューロンの発火に必要な局所的興奮性入力を何処から受けるかほとんど分かっていない. そこで錐体ニューロン (Pyr) と GABA 作動性ニューロン的一种である高頻度発火型ニューロン (FSN) に対する興奮性入力の位置を推定した. VGAT Venus A ラット (3-4 週齢) から島皮質を含む急性スライス標本を作製し, AI の II 層から V 層の Pyr と FSN からホールセルパッチクランプ法により行い, MNI-caged glutamate (200  $\mu$ M) および AP5 (25-50  $\mu$ M) 灌流下で UV レーザー照射 (5.1 mW) によって惹起されるシナプス応答を記録した. laser scanning photostimulation 法を用いて AI 内 II 層から VI 層の領域に 60  $\mu$ m 毎で 336 ポイントに UV 照射し, 記録ニューロンに対する興奮性入力の位置を同定した. V 層上層から V 層深層-VI 層に存在する Pyr (n = 54), ならびに V 層上層から V 層中間層に存在する FSN は, 各ニューロンの soma 近傍からの垂直性の興奮入力認められた. 一方, V 層深部に存在する FSN (n=19) は同層の下方ならび VI 層の広範囲からの興奮性入力を受けることが明らかとなった. 無顆粒皮質 V 層内の浅層ならびに深層で認められた興奮性入力の位置の差異は, 無顆粒皮質内で全く異なる局所回路が存在する可能性を示唆する.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Fast-spiking interneurons in the agranular insular cortex receive excitatory inputs from the piriform cortex**

---

○Yamamoto K, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

The insular cortex (IC) processes multiple sensory information such as gustation, visceral sensation, olfaction, and nociception. In spite of the accumulating findings of the AI regarding nociceptive and olfactory information processing, a functional profile of the AI local circuits has been unknown. We performed laser-scanning photostimulation (LSPS) mapping, which is suitable for exploring neural connections to comprehend the source of excitatory synaptic inputs, using acute slices obtained from the VGAT-Venus transgenic rat. Whole-cell patch-clamp recordings were obtained from pyramidal (Pyr) and GABAergic fast-spiking neurons (FSN), and LSPS was applied to the AI and surrounding areas in a grid pattern with 60  $\mu$ m spacing (560 spots/slice). Both Pyr in layers III and V and FSN in layer III showed synaptic responses around the cells. In contrast, FSN in layer V received potent excitatory inputs from deep layers of the ventrally adjacent cortex, suggesting that the activities of FSN in layer V are driven by excitatory neurons in the piriform and endopiriform cortices. The FSN in the deep layer of the AI may play a role as a gate of excitatory inputs from the ventral part of the cortex to the IC.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-67 マウス味覚応答に対するヒト苦味受容体阻害剤の効果

---

○吉田 竜介<sup>1,2</sup>, 重村 憲徳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析

<sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

---

苦味受容体 (T2Rs) は味細胞以外にも様々な臓器に発現し, 自然免疫や呼吸, 代謝など多様な機能に関与することが示されている. このような新たな苦味の機能を理解し, 制御・利用するためにも, 苦味受容の分子基盤を知る必要がある. 近年, HEK 細胞を用いた強制発現系の実験により, ヒト苦味受容体 (hT2Rs) の機能を阻害する物質が報告されている. それらの内, アミノ酸誘導体である GABA および  $\alpha$ ,  $\alpha$ -bis(carboxymethyl)-L-Lysine (BCML) はヒト T2R4 受容体の阻害剤として機能し, quinine に対する応答を抑制する. また, Probenecid はヒト T2R38 を阻害し phenylthiocarbamide (PTC) に対する応答を抑制する. 本研究では, これら苦味受容体阻害剤がマウス味覚行動応答および味細胞応答に影響を与えるかについて検討した. 各種味溶液 (甘味: sucrose, 塩味: NaCl, 酸味: HCl, うま味: monopotassium glutamate, 苦味: quinine-HCl, denatonium, phenylthiourea) に対する短時間リック応答を調べると, マウスは塩味, 酸味, 苦味に対して濃度依存的に忌避を示した. これら味溶液に GABA, BCML または probenecid を加えた時の短時間リック応答は, これらを加えていない味溶液のリック応答と有意差がなかった. さらに, マウス苦味受容細胞の quinine 応答に対する GABA や BCML の効果を調べると, 行動応答と同様にこれら阻害剤は quinine 応答に影響を与えなかった. これらの結果から, ヒト T2R に対する阻害剤はマウス T2R に対しては無効である可能性が示唆される.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Effects of human bitter taste receptor antagonists on gustatory responses in mice

---

○Yoshida R<sup>1,2</sup>, Shigemura N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

<sup>2</sup>OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

---

Bitter taste receptors T2Rs are widely expressed throughout the body and play various roles in each organ such as innate immunity, respiration and metabolic functions. To understand, regulate and utilize these new functions of bitter taste, we need to know the molecular mechanisms for bitter taste reception. Recent studies using heterologous expression system reported that some compounds function as antagonists for human T2Rs. For examples, amino acid derivatives such as  $\gamma$ -aminobutylic acid (GABA) and  $\alpha$ ,  $\alpha$ -bis (carboxymethyl)-L-Lysine (BCML) block responses to quinine mediated by human T2R4. Probenecid inhibits responses to phenylthiocarbamide mediated by human T2R38. In this study, we investigated effects of these human bitter receptor antagonists on gustatory responses in mice to elucidate whether these compounds also function as bitter blockers in mice. In short-term (10 s) lick tests, concentration-dependent lick responses to bitter compounds (quinine-HCl, denatonium and phenylthiourea) were not affected by addition of GABA, BCML or probenecid. In addition, taste cell recordings demonstrated that GABA and BCML did not affect taste cell responses to quinine-HCl. These results indicate that some bitter antagonists for human T2Rs are ineffective for mouse T2Rs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P2-68 カプサイシンによるマウス鼓索神経応答への影響**○岩田 周介<sup>1</sup>, 安松 啓子<sup>1</sup>, ニノ宮裕三<sup>1,2</sup><sup>1</sup>九大 味覚嗅覚センサ研究開発セ 感覚生理<sup>2</sup>Monell Chemical Senses Center

香辛料は食のおいしさを際立たせる独特のフレーバーを醸成し、食味の構築に重要な役割を果たす。しかし、その味覚効果の実体は未だ不明である。例えば、唐辛子の辛味成分であるカプサイシン (CAP) は三叉神経末端に存在する痛み受容陽イオン非選択的イオンチャネルの TRPV1 を刺激することは明らかになっているが、味覚への影響に関しては、ヒトで、全く影響はないとする報告から、苦味を感じる、甘味うま味を低下させるなど味覚修飾が生じたとするもの、げっ歯類の味細胞・味神経応答の解析においても、苦味甘味の低下、うま味の増強、塩味の増強や低下など、相反する結果も含め多種多様の報告がなされている。しかし、これらの報告の多くは、CAP 受容体候補 TRPV1 の感受性の低下 (脱感作) をもたらす 30  $\mu$ M 以上 (-500  $\mu$ M) の CAP を用いており、多様な結果の背景には、味覚測定の実験的再現性の問題も強く示唆される。そこで、本研究では、脱感作の生じる可能性の低い 0.1~10  $\mu$ M CAP の味覚への影響を、マウス鼓索神経応答を指標に検索した。その結果、この濃度範囲の CAP の舌刺激は、鼓索神経に有意な活動変化を起こさないことがわかった。次に、各種、甘・塩・酸・苦・うま味溶液と、それらの 3  $\mu$ M CAP 混合液に対する応答を解析した。その結果、0.5M 単糖類及び二糖類、0.1M NaCl の応答が有意に増強され、人工甘味料や他の味物質に対する応答には変化がなかった。仮に、CAP が TRPV1 を介して味覚に影響を生じると仮定すると、味細胞に TRPV1 が発現し、その活性化による直接的な効果、あるいは三叉神経末端の TRPV1 を介し軸索反射で分泌された CGRP やサブスタンス P などのペプチドによる味細胞への間接的な影響などが予想される。また今回の結果から、甘味応答の増強は人工甘味料の受容に関わる T1R2/T1R3 以外の甘味受容経路を介して生じた可能性も予想される。今後、これらの可能性についての解析を進める予定である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。**Capsaicin enhances responses of the chorda tympani nerve to sugars and salt**○Iwata S<sup>1</sup>, Yasumatsu K<sup>1</sup>, Ninomiya Y<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Div Sensory Physiol, R&D Cent for Taste and Odor Sensing, Kyushu Univ<sup>2</sup>Monell Chemical Senses Center

Capsaicin (CAP) is a naturally occurring vanilloid that gives chili peppers their spicy taste via activation of TRPV1 channels. There are several reports investigating potential effects of CAP on taste responsiveness, but results have reported so far are controversial. For example, CAP had no effect on, modified, or elicited particular taste (s) in humans and rodents. Concentrations of Cap (30-500  $\mu$ M) used in most of those studies, however, are known to cause desensitization (reduction of responsiveness to repeated stimulations), thereby potentially irreproducible results. In this study, to avoid the Cap desensitization, we used lower concentrations of Cap (0.1-10  $\mu$ M) and examined potential effects of Cap on taste responses of the mouse chorda tympani nerve to various tastants. The results showed that Cap alone elicited no taste nerve responses. Intriguingly, addition of CAP enhanced responses to mono- and di-saccharide sugars and NaCl but not to artificial sweeteners and other bitter, sour, salty and umami compounds. Sweet receptor, T1R2/T1R3 is known to be broadly sensitive to both sugars and artificial sweeteners, suggesting our data may imply potential involvement of T1Rs-independent receptor systems in the Cap enhancement of sugar responses. Our on-going studies hopefully solve this question.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-69 ロテノン投与マウスにおける嗅覚と味覚の変化

---

○尹 東旭, 佐藤 元, 河野 奨, 松裏 豊, 豊田 博紀, 加藤 隆史  
阪大 院歯 口腔生理

[目的] パーキンソン病 (PD) では, ドパミン系障害に伴う運動障害のほか, 様々な非運動障害を高頻度に併発する. 非運動症状のうち, 嗅覚障害や味覚障害が PD の早期に発症することが報告されている. しかし, PD における味覚障害の発生機序はよくわかっていない. ロテノン投与による PD モデルでは, ドーパミンニューロンの変性に加え, 脳内の  $\alpha$ -synuclein の蓄積など, PD の臨床像との類似点が多いことが報告されている. そこで, 本研究では, ロテノン経鼻投与後のマウスを用いて, 味覚および嗅覚の経時的変化を調べた. [方法] 8~20 週齢の C57BL/6 マウスに微小灌流ポンプを用いて, ロテノン (0.35 mg/kg/day) を 1 日 1 回 4 週間経鼻投与した. 投与 3 日前から 2 瓶法による味覚試験を行ない, キニーネ (0.05M) の飲水量と 2 瓶の総飲水量から preference ratio (PR) を求めた. また, 投与 1 週後と 3 週後に, Y 字迷路を用いた嗅覚試験を行ない, 水と酪酸に対する忌避行動をビデオ撮影により観察して, PR を求めた. さらに, 投与前と全投与期間終了後にロータロッドテストにて運動量を測定した. 全行動実験終了後, 灌流固定を行い, tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞を免疫組織化学的に観察した. [結果] ロテノン投与前に比べて, 投与後のキニーネに対する PR に増加傾向を認めた. 一方, 投与 1 週後と 3 週後において, 水と酪酸に対する PR に有意差を認めなかった. また, ロータロッドテストから, 投与前後での運動機能に変化を認めなかった. さらに, 嗅球における TH 陽性細胞数の減少と軸索分岐数の減少が観察された. [考察] ロテノンの経鼻投与後に嗅覚障害と嗅球の TH 陽性細胞の減少を誘発できたので, 今後は異なる投与量や観察期間を設定し, 運動障害と非運動障害の発現様態と, 嗅球や黒質の TH 陽性細胞数の変化との関係を調べる必要がある.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## The effect of intranasal administration of rotenone on olfactory and taste functions in C57BL/6 mice

---

○Yin DX, Sato H, Kawano T, Matsuura Y, Toyoda H, Kato T  
Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

**【Introduction】** Parkinson's disease (PD) is a complex systemic disease, characterized by the motor and non-motor symptoms. Olfactory and taste dysfunctions are acknowledged to be the prevalent and prodromal non-motor symptoms. However, less clear is the pathophysiology of these dysfunctions in PD. **【Materials and Methods】** We examined the effects of 4-week intranasal administration of rotenone (0.35 mg/kg/day) on olfactory and taste functions in C57BL/6 mice. We used the avoidance test of butyric acid using Y-maze, the two-bottle preference test and rotarod test to evaluate olfactory, taste and motor functions, respectively. After finishing rotenone administration, we immunohistochemically stained tyrosine hydroxylase (TH) positive neurons. **【Results】** Quinine preference ratio after rotenone administration showed an increasing trend compared to that before. Whereas, there were no differences between water and butyric acid preference at 1 and 3 weeks after rotenone administration. Motor function before and that after rotenone administration remained the same. Furthermore, we observed TH-positive neurons and axonal arborizations in olfactory bulb (OB) with reduced number. **【Discussion】** We will plan improving the experimental procedures, especially route and dose of rotenone administration, and will demonstrate the neuropathological changes in OB and substantia nigra to clarify the mechanisms of developing motor and non-motor dysfunction caused by rotenone administration.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-70 マウス三叉神経節のマクロファージ様細胞は神経傷害によって増殖・活性化する**

---

○岩井 治樹, 倉本恵梨子, 山中 淳之, ダールアシス, 後藤 哲哉

鹿大 院医歯 機能形態

【目的】三叉神経節の神経細胞は、一次感覚神経細胞として中枢へ感覚情報を伝達するだけでなく、刺激を受けていない周囲の神経細胞にも影響を与えることが報告されている。感覚神経節内の神経細胞周囲には衛星細胞およびマクロファージ様細胞が存在し、これらを通じて、他の神経細胞に影響を及ぼすことが考えられるが、これらの細胞間の情報伝達機構については未だ明らかでない。これまでに私たちは、神経傷害時、神経細胞でATPを細胞外へ放出する小胞型ヌクレオチドトランスポーターが経時的に増加することを報告した。マクロファージ様細胞はATP受容体を有していることから、細胞外ATPを通じてマクロファージ様細胞を増殖・活性化させている可能性がある。本研究では、マクロファージ様細胞が神経傷害によって実際に増殖・活性化するのか、免疫組織学的に検証することを目的とした。【方法】マウスおよび骨髄細胞をGFP標識したキメラマウスの眼窩下神経を麻酔下で傷害後、細胞増殖を調べるために腹腔内にBrdUを注入し、7日目に灌流固定した。三叉神経節は、抗-ATF3抗体(傷害細胞のマーカー)、抗-Iba-1抗体(マクロファージ様細胞のマーカー)抗体、および抗-BrdU抗体を用いて調べた。【結果と考察】傷害後7日目において、三叉神経節内に実験群および非実験群ともにIba-1陽性細胞およびBrdU免疫陽性細胞が認められた。実験群において、ATF3免疫陽性神経細胞周囲のIba-1陽性細胞を確認したところ、神経細胞を取り囲み、そして細胞質の顕著な増大が認められた。さらに、Iba-1陽性細胞は、部分的にBrdU陽性であった。また、同様の実験をキメラマウスで行ったところ、実験群でIba-1・GFP陽性細胞はわずかに認められた。これらのことから、神経傷害後、三叉神経節では、神経細胞からの刺激が周囲のマクロファージ様細胞を増殖・活性化させ、アロディニア等の発生に関与していることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## **Peripheral nerve injury induces the proliferation and activation of macrophage-like cells in the mouse trigeminal ganglion**

---

○Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A, Dhar A, Goto T

Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Neurons in trigeminal ganglion (TG) receive orofacial sensory information and have been reported to affect non-stimulated neurons around stimulated neurons. Sensory ganglion has satellite glial cells (SGCs) and macrophage like cells (MLCs) around neurons and one neuron affects other neurons through SGCs and MLCs, however signal transduction among neuron, SGCs, and MLCs is still unclear. Previously, we reported that tooth extraction increased vesicular nucleotide transporter that relates extracellular ATP release in neurons and SGCs. Because MLCs have ATP receptors, MLCs would be proliferated and activated by extracellular ATP. Here, we investigated whether MLCs are proliferated and activated after peripheral nerve injury. The mouse infraorbital nerve was injured and injected intraperitoneally with BrdU. TG was examined using anti-ATF3 antibody (a marker of damaged neuron), anti-Iba1 antibody (a marker of MLCs), and anti-BrdU. Seven days after injury, Iba1-IR cells and BrdU-IR cells distributed in both experimental and control group. In experimental group, cytoplasm of Iba1-IR cells around ATF3-IR damaged neurons was enlarged remarkably and these cells were partially BrdU positive. These results suggest that the damaged neurons affect the proliferation and activation of MLCs, and these activated MLCs would induce the neuropathic pain in trigeminal nerve area.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-71 ラット顎下腺における GABA<sub>B</sub>受容体の発現解析

---

○原田 史子<sup>1</sup>, 井上 (野澤) 佳世子<sup>1</sup>, 前田 健康<sup>1</sup>, 照沼 美穂<sup>2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 高度口腔機能研セ

<sup>2</sup>新潟大 院医歯 口腔生化

【目的】γアミノ酪酸 (GABA)は、イオンチャネル型の GABA<sub>A</sub>と G タンパク質共役型の GABA<sub>B</sub>受容体を介し、主に中枢神経において抑制性の神経伝達に関与している。近年、中枢神経系以外の組織にも GABA や GABA 受容体の発現が確認され、その機能解明が少しずつ進んできた。最近、昆虫の顎下腺において GABA<sub>B</sub>受容体はクローニングされ、この受容体が昆虫から哺乳類まで幅広く保存されている可能性が見出され、顎下腺における受容体の機能解析が待たれている。そのため本研究は、哺乳類であるラットの唾液腺における GABA<sub>B</sub>受容体の発現を詳細に解析し、その後の機能解析への予備的知見を収集することを目的とする。

【方法】実験動物にはウイスター系の雄性ラット (8 週齢) を用いた。深麻酔下にて 4% PFA を用いて灌流固定後、顎下腺を取り出し、パラフィン切片および凍結切片を作成した。GABA<sub>B</sub>受容体の局在は、抗 GABA<sub>B</sub>受容体 (GABA<sub>B</sub>受容体 R1 サブユニットおよび GABA<sub>B</sub>受容体 R2 サブユニット) 抗体と ABC 法を用いて免疫組織化学的に検討した。

【結果と考察】ラット顎下腺の導管系の線条部および腺房細胞において、GABA<sub>B</sub>受容体の R1 サブユニットと R2 サブユニットの発現がそれぞれ確認された。特に導管での染色が高度であることから、GABA<sub>B</sub>受容体がラット顎下腺における唾液成分の修飾や分泌の調節機構に関与する可能性が示唆された。今後は、GABA<sub>B</sub>受容体の機能的な役割に関して検討を行う予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Histological analysis of GABA<sub>B</sub> receptors in the rat submandibular gland

---

○Harada F<sup>1</sup>, Nozawa Inoue K<sup>1</sup>, Maeda T<sup>1</sup>, Terunuma M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is an inhibitory neurotransmitter which mediate the GABA receptor signaling in the central nervous system. G-protein-coupled GABA<sub>B</sub> receptors have been identified in various peripheral tissues such as pancreas and adipocytes, and their physiological function has been studied. Recently, GABA<sub>B</sub> receptors have cloned in the submandibular glands of insects, and provided a greater possibility that this receptor is preserved in the submandibular glands across species. The purpose of this study is to determine the expression of GABA<sub>B</sub> receptors in rat submandibular glands and to identify the target cells to perform functional analyses in the future.

Male Wistar rats at the age of 8 weeks were used. Rats were deeply anesthetized using an appropriate regimen and transcardially perfused with 4% paraformaldehyde. The submandibular glands were removed and embedded in paraffin wax or snap-frozen for histology. Receptor expression was identified using antibodies for GABA<sub>B</sub> R1 and R2 subunit respectively and detected using ABC kit.

The expression of both GABA<sub>B</sub>R1 and R2 subunits were confirmed in the striated portion of the duct system and the acinar cells. Since high positive immunoreaction was detected in the striated duct, it is possible that GABA<sub>B</sub> receptors are involved in salivation and/or the modification of saliva composition.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-72 マウス耳下腺における small membrane A-kinase anchoring protein (smAKAP) の発現

---

○梨田 智子<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>1</sup>, 下村-黒木 淳子<sup>2</sup>, 水橋 史<sup>3</sup>, 吉村 建<sup>4</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 生化

<sup>2</sup>日歯大新潟 小児歯

<sup>3</sup>日歯大新潟 補綴1

<sup>4</sup>日歯大新潟 解剖1

---

【目的】 マウス耳下腺からのアミラーゼ分泌は主に交感神経刺激によって起こり、刺激後の細胞内 cAMP レベル上昇と protein kinase A (PKA) の活性化が重要な役割を持つことが報告されてきたが、その機構については明らかとなっていない部分が多い。PKA regulatory subunits (PKA-R) と結合して PKA を局在化させる A-kinase anchoring proteins (AKAP) については、耳下腺腺房細胞の基底膜に存在し PKA-RII と結合する AKAP150 (AKAP5) が報告されているが、他には報告されていない。我々はマウス耳下腺の解析から、PKA-RI と結合するとされている small membrane A-kinase anchoring protein (smAKAP) の発現を確認したので報告する。【方法】 cDNA マイクロアレイ解析およびリン酸化タンパク質の iTRAQ プロテオミクスは委託により行った。マウス smAKAP (NP\_659202.1) の C 末端 16aa を抗原として、ウサギポリクローナル抗体を委託して作成し、これを用いて Western blotting を行った。【結果と考察】 リン酸化タンパク質 iTRAQ プロテオミクスにより smAKAP はリン酸化されたペプチド断片 (TPSPGEQQVQEVK) として検出された。耳下腺腺房細胞における smAKAP の発現は RT-PCR および Western blotting でも確認され、その局在は細胞膜画分であることがわかった。smAKAP は耳下腺腺房細胞において未だ解明されていない PKA および cAMP を介した唾液分泌機構に関与する可能性があると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Expression of small membrane A-kinase anchoring protein (smAKAP) in mouse parotid glands

---

○Nashida T<sup>1</sup>, Morita T<sup>1</sup>, Shimomura-Kuroki J<sup>2</sup>, Mizuhashi F<sup>3</sup>, Yoshimura K<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>3</sup>Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>4</sup>Dept Anat, Nippon Dent Univ at Niigata

---

smAKAP is a member of protein kinase A (PKA)-anchoring proteins (AKAPs) which tether the regulatory subunit of PKA and provide spatiotemporal specificity for PKA. We performed phospho-iTRAQ proteomics of the parotid glands from C57BL/6 mouse, and detected the phosphorylated peptide of smAKAP. AKAP150 was previously reported in rat parotid glands but other AKAPs have not been investigated in salivary glands. Therefore, we demonstrated the expression and the localization of smAKAP in the mouse parotid glands. **METHODS:** The expression of smAKAP mRNA was confirmed by RT-PCR and cDNA microarray analysis. Western blotting using a specific antibody raised against a 16 amino acid peptide near the C-terminal end of smAKAP (NP\_659202.1) was performed to detect smAKAP protein. **RESULTS and DISCUSSION:** A phosphorylated peptide of smAKAP (TPSPGEQQVQEVK) was detected by phospho-iTRAQ proteomics on mouse parotid glands. The mRNA expression of smAKAP was confirmed by cDNA microarray analysis and RT-PCR. Immunoblotting with the specific antibody revealed that smAKAP was localized in the plasma membranes of the parotid acinar cells. smAKAP would relate to cAMP signaling in parotid acinar cells, connecting to salivary secretory process.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-73** ラット下顎腺における骨粗鬆症およびビスホスホネート製剤の形態学的影響

---

○川島 渉, 上村 守, 戸田 伊紀, 竹村 明道  
大歯大 解剖

ビスホスホネート製剤 (BP) は、骨粗鬆症 (OP) などの治療薬として広く用いられているが、BP 投与 OP 患者は、BP 非投与 OP 患者に比べ唾液分泌量が減少したと報告されている。また、OP 患者の多くは口腔乾燥を自覚しているが、OP による唾液腺への形態学的影響を調べた報告はない。そこで、正常および OP モデルラットを用いて、BP 投与による下顎腺の形態学的影響を調査した。8 週齢 Wistar 系雌性ラット 36 匹を使用し、そのうち 18 匹の両側卵巣を摘出した。10 週間飼育後、OP モデルラットとした。OP モデルラットから任意に 9 匹を選び、BP を腹腔内投与し、OP-BP 群とした。同様に、OP モデルラットの残る 9 匹には、同量の生理食塩水を腹腔内投与し、OP-NS 群とした。また、18 匹の正常ラットには、疑似手術を行い、同様に BP を投与した 9 匹を SH-BP 群とし、生理食塩水を投与した 9 匹を SH-NS 群とした。投与完了 1 週後に全てのラットを安楽死させ、両側下顎腺を摘出した。各群各 3 匹ずつ光顕・表面形態・微細血管鑄型標本を作製した。なお、画像処理ならびに統計処理は、光顕標本で漿液腺房の断面積を、表面形態標本で腺房の直径を、微細血管鑄型標本では腺房周囲毛細血管の直径をそれぞれ計測し、Tukey-Kramer 検定 (危険率 1%) を行った。OP-NS 群と SH-NS 群、および OP-BP 群と SH-BP 群の間において、各値に有意な差は認められなかったことから、OP だけでは下顎腺への形態学的影響はないと考えられた。OP-BP 群と OP-NS 群の各値を比較すると、OP-BP 群の方が、OP-NS 群よりも有意に小さかった。また、SH-BP 群と SH-NS 群の各値を比較すると、SH-BP 群の方が、SH-NS 群よりも有意に小さかった。以上のことから、BP 投与が下顎腺組織の萎縮性変化ならびに毛細血管の細小化を引き起こし、その結果、唾液分泌量が減少することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **The morphological influence of osteoporosis and bisphosphonate for the mandibular glands of rat**

---

○Kawashima W, Uemura M, Toda I, Takemura A

Dept Anat, Osaka Dent Univ

We investigated the morphological difference of the mandibular glands between the normal and the ovariectomized osteoporosis (OP) model rats. And we investigated the morphological influence of Bisphosphonate (BP) in each of them. Bilateral ovaries were removed from 18 in 36 rats. We randomly selected 9 rats and injected intraperitoneally with BP (OP-BP group), and the remaining 9 rats were injected with normal saline (OP-NS group). The sham operation was performed in the normal 18 rats, and they were divided into SH-BP and SH-NS groups. After euthanizing, the bilateral mandibular glands were sampled. We calculated and performed statistical analysis of the cross-sectional areas and the diameters of the acinus, and the diameters of the capillaries. A significant difference was not admitted in each value between the OP-NS and SH-NS groups, and the OP-BP and SH-BP groups. It was considered that there was no morphological influence on the mandibular glands only by OP. These values of OP-BP group were significant smaller than OP-NS group, and SH-BP group were significant smaller than SH-NS group. It was suggested that the atrophic changes and the microangiopathy of the mandibular glands were occurred by BP, and the amount of saliva secretion was decreased in the result.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-74 液状飼料により萎縮したラット耳下腺の固形飼料への変更による回復について

---

○高橋 茂, 竹渕 壘, 谷脇 裕人, 土門 卓文

北大 院歯 口腔機能解剖

---

【目的】液状飼料でラットを飼育すると耳下腺は萎縮することが知られている。本研究では液状飼料により耳下腺に萎縮を誘導した後、固形飼料に変更すると萎縮耳下腺はどのような変化を示すのかを明らかにすることを目的とした。【方法】実験には7週齢のWistar系雄性ラットを用い、実験群と対照群に分けた。実験群の動物には粉末飼料に水を加えて作製した液状飼料を、対照群の動物には固形飼料を与えた。それぞれの飼料による14日間の飼育終了時(実験0日目)より両群とも固形飼料とし、以後0~14日間飼育した。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4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定した。摘出した耳下腺の湿重量を測定後、通法に従ってHE染色およびPAS染色標本を作製し、組織学的に観察した。また、抗BrdU抗体を用いた免疫染色を行い、細胞増殖活性を検索した。【結果と考察】14日間の液状飼料飼育により実験群の耳下腺は萎縮し、その湿重量は実験群よりも少なかった。しかし固形飼料に変更後、実験群の湿重量は経時的に増加し、7日目には対照群との間に有意差は認められなくなった。組織学的には0日目の実験群の腺房細胞は対照群に比べて小さかったが、経時的に大きさを増し、7日目以降ではほぼ同じ大きさを呈するようになった。腺房細胞のPAS染色に対する反応については実験群と対照群の間に違いは認められなかった。免疫組織化学的には、1~3日目を中心に実験群の耳下腺にBrdU陽性腺房細胞が多く観察された。以上の結果より、液状飼料により萎縮した耳下腺は固形飼料への変更により回復することが明らかとなり、これには腺房細胞の大きさの回復と腺房細胞の増殖が重要な役割を演じていると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Recovery from atrophy of rat parotid glands by change from liquid diet feeding to pellet diet feeding

---

○Takahashi S, Takebuchi R, Taniwaki H, Domon T

Dept Oral Functional Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

It has been reported that liquid diet feeding induces atrophy to parotid glands in rats. This study is designed to clarify whether atrophic parotid glands could be restored by change from a liquid diet to a pellet diet. Seven-week-old male Wistar rats were divided into control and experimental groups. The control and experimental rats were fed a pellet diet and a liquid diet for 14 days, respectively. Thereafter, rats in both groups were fed a pellet diet from 0 (day 0) to 14 days. Then, the parotid glands were taken, weighed, and examined histologically and immunohistochemically using antibodies to 5'-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU). The experimental parotid glands became atrophic by liquid diet feeding for 14 days. After change of the diet, the weights of the parotid glands in the experimental groups increased and became similar to those in the controls on day 7. Although acinar cells in the experimental glands were small in size on day 0, they became gradually larger over time. Many BrdU-positive acinar cells were identified in the experimental glands on day 1 and 3. These data showed that atrophic parotid glands could recover by change from a liquid diet to a pellet diet.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-75 カルシウム拮抗薬による口腔乾燥症患者の唾液タンパク質の分析

---

○水橋 史<sup>1</sup>, 小出 馨<sup>1</sup>, 梨田 智子<sup>2</sup>, 戸谷 収<sup>3</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 補綴 1, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>日歯大新潟 口外

【目的】Ca拮抗薬は、高血圧症患者の7割が服用し副作用として口渇があるが、その機序は十分に明らかにされていない。本研究では、Ca拮抗薬による口腔乾燥症患者の唾液タンパク質成分に相違があると考え、iTRAQプロテオーム解析を行い、Ca拮抗薬による口腔乾燥症患者、シェーグレン症候群患者および健常高齢者の唾液タンパク質成分を比較した。【方法】被験者は、Ca拮抗薬による口腔乾燥症患者、シェーグレン症候群患者および健常高齢者である。本研究は日本歯科大学新潟生命歯学部倫理委員会の承認を得て行った（承認番号ECNG-H-155）。吐唾法による安静時唾液およびサクソントテストによる刺激唾液を採取した。採取した唾液は、遠心分離を行い、上清をiTRAQプロテオーム解析に用いた。同時に、Ca拮抗薬服用者、シェーグレン症候群患者および健常高齢者3群の唾液を用いて、タンパク定量と、ウエスタンブロッティングでタンパク成分の検出を行った。統計分析は、Ca拮抗薬服用者、シェーグレン症候群患者および健常高齢者の唾液量とタンパク濃度の違いについて、Kruskal Wallis検定を用いて行った。【結果】安静時唾液量とタンパク濃度は、Ca拮抗薬服用者、シェーグレン症候群患者および健常高齢者の間に有意差が認められ、Ca拮抗薬服用者とシェーグレン症候群患者では健常高齢者よりも少なかった。刺激唾液量は、Ca拮抗薬服用者の方がシェーグレン症候群患者よりも多かった。iTRAQプロテオーム解析の結果、Ca拮抗薬服用者と健常高齢者、シェーグレン症候群患者と健常高齢者に違ったタンパク質の発現が認められた。【考察】本研究の結果、Ca拮抗薬服用者の刺激唾液量は、シェーグレン症候群患者よりも有意に多いが、安静時唾液量には違いを認めず、シェーグレン症候群患者の耳下腺の状態は、Ca拮抗薬服用者と異なる可能性が示唆された。本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（15K20456）の交付を得て行った。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Analysis of protein ingredient in saliva of oral dryness patients caused by calcium blocker

---

○Mizuhashi F<sup>1</sup>, Koide K<sup>1</sup>, Nashida T<sup>2</sup>, Toya S<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata

【Objective】Calcium blocker causes dry mouth, but the mechanism has not been cleared. We compared the protein ingredient in saliva of oral dryness patients caused by calcium blocker, patients with Sjögren's syndrome, and healthy elderly by iTRAQ proteomic analysis. 【Methods】Patients taking calcium blocker, Sjögren's syndrome, and healthy elderly were enrolled. Unstimulated and stimulated salivary flow rate were measured, and the supernatant after centrifugation was used for iTRAQ proteomic analysis. Saliva of the three groups was also used for the protein determination and western blotting. The differences in salivary flow rate and protein concentration among the three groups were analyzed. 【Results】Unstimulated salivary flow rate and protein concentration were significantly lower in patients taking calcium blocker and Sjögren's syndrome than that in healthy elderly. Stimulated salivary flow rate was higher in patients taking calcium blocker than that in Sjögren's syndrome. The result of iTRAQ proteomic analysis showed that there were different protein expression between patients taking calcium blocker and healthy elderly. 【Conclusions】It was suggested that the condition of parotid gland in Sjögren's syndrome is different from patients taking calcium blocker. This work was supported by Grant-in-aids for Scientific Research from Japanese Society for the Promotion of Science, 15K20456.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-76 ピロカルピン刺激を介した顎下腺及び脳における遺伝子発現の亢進

---

○森田 貴雄<sup>1,2</sup>, 根津 顕弘<sup>2</sup>, 梨田 智子<sup>1</sup>, 谷村 明彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 生化

<sup>2</sup>北医療大 歯 薬理

---

【目的】ムスカリン受容体アゴニストのピロカルピン(Pilo)は、シェーグレン症候群の治療薬として使われており、継続投与による唾液分泌増加が知られている。我々は昨年本会において、Piloの前投与により唾液分泌の亢進と、顎下腺と脳における遺伝子発現変化が起こることを報告した。本研究では、この遺伝子発現変化のタイムコースを検討した。【方法】麻酔下のラットにPilo (1 mg/kg)を腹腔内投与し、30分間に口腔内に分泌された唾液を綿球で採取し、唾液分泌量を算定した。ラット顎下腺にCa<sup>2+</sup>センサーを発現させ、アセチルコリン刺激によるintravital Ca<sup>2+</sup> imagingを行った。非Pilo投与(非刺激)、投与2時間後(2h)、1日後(1d)、1週間後(1w)のラット顎下腺及び脳組織から抽出したtotal RNAを用いて次世代シーケンシングによるmRNA発現の網羅的解析を行った。検出された遺伝子の発現量変化を定量PCRで解析した。【結果と考察】9週齢のラットにPiloを投与し、その1日後あるいは一週間後(10週齢)にPilo投与による唾液分泌量を測定すると、コントロールの非前投与群と比較してPilo前投与群の分泌量が増加した。顎下腺におけるintravital Ca<sup>2+</sup> imagingの結果、Pilo前投与群(1w)で低濃度のアセチルコリン刺激による応答の増加傾向が観察された。遺伝子発現の網羅的解析の結果、脳において、9852遺伝子中3遺伝子が非刺激サンプルと比較して、2h、1d、1wサンプルのすべてで2倍以上発現が増加していた。顎下腺でも、刺激サンプルすべてで発現が亢進した遺伝子が3遺伝子あったが、脳で検出されたのとは異なる遺伝子であった。また、脳で検出された3遺伝子はいずれもMAPKやNFκB系に関与する遺伝子であった。これらの遺伝子の発現と唾液分泌との関係は現在不明であり、今後はこの関係を解析していくとともに、遺伝子発現の細胞内シグナルメカニズムを明らかにしていく予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Enhancement of gene expressions by stimulation with pilocarpine in submandibular gland and brain

---

○Morita T<sup>1,2</sup>, Nezu A<sup>2</sup>, Nashida T<sup>1</sup>, Tanimura A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

<sup>2</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

Pilocarpine (pilo), which is known to be a therapeutic drug for Sjogren syndrome, causes the increases in saliva secretion by its long-term administration clinically. We confirmed that Pilo-induced salivary secretions from rats with 1-day (1d)- or 1-week (1w)-preadministration of Pilo were significantly increased. In addition, we monitored acetylcholine (ACh)-induced Ca<sup>2+</sup> responses in rat submandibular gland (SMG) using the intravital Ca<sup>2+</sup> imaging system. The Ca<sup>2+</sup> responses induced by lower doses of ACh in Pilo-pretreated (1w) rats were increased slightly compared to untreated rats. These results imply that the increase in saliva secretion is associated with changes of gene expressions in salivary gland and/or brain. Comparative RNA-seq analyses of gene expression in unstimulated and stimulated (2h, 1d or 1w after Pilo treatment) rat SMG and brain were performed. Among 9852 expressed genes revealed, the expressions of 3 genes in the brain were up-regulated remarkably (> 2 fold) at all stimulated rats compared to unstimulated control. The expressions of another 3 genes were also up-regulated remarkably in the SMG of all stimulated rats. We are trying to elucidate the relation of these genes and salivary secretions and intracellular signal mechanisms of the expression of these genes.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-77 唾液腺の組織障害時における micro RNA の発現パターンの解析

---

○小川 博亮, 櫻井 甫, 横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

【目的】 micro RNA (miRNA) は他の遺伝子の発現調節を行うことによって、様々な生理機能を発揮する。唾液腺においても、miRNA が唾液腺の発生過程に重要な役割を果たすと報告されている。また、唾液腺腫瘍患者の唾液には健常者と異なる miRNA が検出され、唾液腺の異常や機能変化に影響すると考えられている。我々は、唾液腺の障害応答メカニズムを解析するために、唾液腺腺房細胞の初代培養系を確立している。唾液腺から腺房細胞を単離培養すると、Src-p38 MAPK キナーゼシグナル経路の活性化が起こり、腺房細胞の脱分化が引き起こされる。そこで、唾液腺腺房細胞において組織障害に応答して発現量が変化する miRNA を同定し、唾液腺機能への役割を検討した。【方法】ラット耳下腺から Src 阻害剤である PP1 存在下および非存在下で腺房細胞を単離し、培養を行った。単離直後および培養 1 日目の細胞から全 RNA を精製し、マイクロアレイを用いて唾液腺腺房細胞に存在する miRNA の発現変化について網羅的な解析を行った。【結果と考察】アレイ上の 1218 種類の成熟および未成熟 miRNA のうち、単離直後から 1 日の培養により、2 倍または 1/2 以上に発現が変動した miRNA は 70 個あり、そのうち 18 個の miRNA が発現上昇、52 個が発現低下していた。細胞単離直後から培養 1 日目の間に増加した 18 個の miRNA のうち、2 種類が PP1 の添加により減少していた。我々はこれまでに mRNA の網羅的な発現解析を行ってきており、培養 1 日目で大きく遺伝子発現変化が起こること、PP1 がその変化を部分的に抑制することを示している。したがって、培養過程で増加し、かつ PP1 添加により減少する miRNA は、腺房細胞の機能維持に関わる遺伝子群の発現調節を行っている可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Changes in the expression pattern of micro RNA in response to tissue injury in parotid acinar cells

---

○Ogawa H, Sakurai H, Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

**Objective:** micro RNAs (miRNAs) play an important role in the physiological function via regulation of protein expression. In salivary glands, miRNAs regulate development of the glands and the saliva of cancer patients include different miRNAs from healthy controls, suggesting that miRNAs are involved in the abnormality and dysfunction of salivary glands. We have established a primary culture system to investigate the mechanism of dysfunction of salivary glands. We previously reported that isolation process of acinar cells from the glands triggered dedifferentiation via Src-p38 MAP kinase pathways. In this study, changes in expression of miRNAs in response to tissue injuries were examined by using the primary culture.

**Materials & Methods:** Acinar cells were isolated from rat parotid glands and were cultured in the absence or presence of PP1, a Src kinase inhibitor. Total RNA was purified from the cells just after isolation and after 1-day culture and were analyzed by using microarray. **Results & Conclusion:** After 1 day-culture, the expression levels of 18 miRNAs increased and addition of PP1 suppressed the expression of 2 miRNAs among the 18 miRNAs. These 2 miRNAs may regulate the genes that are involved in the maintenance of salivary acinar functions.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-78 片側唾液腺傷害による反対側唾液腺への影響

---

○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

【背景】大唾液腺は左右で対に存在し、それぞれが独立した臓器である。片側の唾液腺が癌治療のための放射線照射などの傷害を受けると照射側（傷害側）の唾液腺はその機能が低下する。しかし、傷害が片側であれば反対側の唾液腺が傷害側の唾液腺の機能を補うという報告がある。このことから、両唾液腺間にはなんらかの情報伝達メカニズムが存在することが考えられる。本研究では、傷害側と非傷害側の唾液腺における情報伝達メカニズムを解明することを目的として、片側唾液腺傷害時の非傷害側唾液腺への影響について検討した。【方法】マウス片側耳下腺排泄導管を結紮しこれを傷害とした。結紮後4, 7日目に両側耳下腺を摘出した。傷害側, 非傷害側, コントロールの耳下腺で重量の変化, HE染色における形態学的変化, 免疫組織化学染色における細胞増殖能, 唾液腺幹細胞マーカーといわれるCK5のタンパク質の発現量を比較した。【結果】各耳下腺の重量測定の結果から、結紮4, 7日目ともにコントロールの唾液腺が最も重く、続いて非傷害側, 傷害側は最も軽かった。非傷害側とコントロールを比較すると結紮4日目に差がみられた。形態学的変化では、結紮側では腺房細胞の萎縮が観察された。細胞増殖能では、陽性細胞数がコントロール, 非傷害側, 傷害側の唾液腺の順で多かった。非傷害側とコントロールを比較すると結紮7日目に差がみられた。CK5の発現量は結紮4, 7日目の結紮側では増加傾向を示したが、非結紮側とコントロール間では変化は認められなかった。【結論】コントロールと非傷害側の唾液腺を比較すると非傷害側の唾液腺は傷害側の唾液腺から何らかの影響を受けていることが推察され、そのシグナルは幹細胞を増加させるものではなく、細胞増殖を亢進させるものであることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The effect of unilateral salivary gland injury in the opposite salivary gland

---

○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

There are some reports that when one side of salivary gland receives injury such as radiation therapy, the other side of gland compensates for its function. In this study, for the purpose of analysis on compensatory mechanism, we examined the response of non-injured side of salivary gland during unilateral salivary gland injury. We prepared injured, non-injured and control of mouse parotid glands in days 4 and 7 by duct ligation. We compared the weight, morphological change, proliferation potential and expression of CK5. Comparing the non-injured side with the control, the weight of the non-injured side was significantly decreased in 4 days after ligation. Morphologically, the atrophy of acinar cells was observed in the injured side. Cell proliferation ability of the non-injured side increased significantly compared to the control in the 7 days after ligation. The expression level of CK5 showed no change between the non-injured side and control. These results suggested that the non-injured side is influenced to increase the proliferative ability from the injured side.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-79 唾液ヒスタチンによるインフルエンザウイルスヘマグルチニンの Toll 様受容体 2 活性化への影響

---

○今村 泰弘<sup>1</sup>, 王 宝禮<sup>2</sup>, 十川 紀夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯科薬理

<sup>2</sup>大歯大 細菌

---

**【目的】** 唾液には抗ウイルス作用があり, 唾液蛋白質ヒスタチンは抗菌作用を持つ自然免疫関連因子である. 我々は, ペプチドグリカンによる Toll 様受容体 2 (TLR2) を介した炎症性サイトカイン産生をヒスタチン 3 が抑制することを示した. ヒスタチンは異物の刺激に対して抑制的に働くことから, インフルエンザウイルス構成成分の宿主への刺激に対して影響を与える可能性がある. 本研究では, インフルエンザウイルスヘマグルチニン (HA) による TLR2 活性化とこれに対するヒスタチンの影響について検討した. また, ヒスタチンと HA との相互作用を解析した. **【方法】** TLR2, CD14 の恒常的発現 HEK293 細胞に NF- $\kappa$ B 結合配列連結ルシフェラーゼ遺伝子を導入し, HA で刺激した. 細胞抽出液を調製後, ルシフェラーゼアッセイを行った. また, この系において, ヒスタチン 3 存在下で HA 刺激し, 同様に解析した. ヒスタチン 3 と HA の発現ベクターを HEK293 細胞に導入し, 細胞抽出液を調製後, 免疫沈降を行った. **【結果】** HA は TLR2 のリガンドとして機能し, NF- $\kappa$ B を活性化することが示された. また, ヒスタチンは量依存的にこの NF- $\kappa$ B 活性化を抑制した. ヒスタチン 3 は HA と結合することが明らかとなった. **【考察】** 今回の結果は, ヒスタチン 3 が HA と結合することにより, HA による TLR2 シグナル伝達を初期の段階で抑制することを提唱している. このことは結果的に, ヒスタチン 3 が NF- $\kappa$ B 依存性の遺伝子発現を負に制御することを意味する. 以上から, ヒスタチン 3 はインフルエンザウイルス構成成分の宿主への刺激を軽減する生体防御因子であると考えられる.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Effects of salivary histatin on Toll-like receptor 2 activation by influenza virus hemagglutinin

---

○Imamura Y<sup>1</sup>, Wang PL<sup>2</sup>, Sogawa N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ

---

**【Purpose】** Saliva and salivary protein histatins have antiviral and antimicrobial actions, respectively. We have shown that histatin 3 inhibits inflammatory cytokine production through peptidoglycan-mediated Toll-like receptor (TLR) 2 signaling. Because histatins work restrainedly to foreign body stimulation, histatins are likely to affect stimulatory actions of influenza viral constituents. Here, TLR2 activation by influenza virus hemagglutinin (HA) and the effects of histatin on that were examined. The association between histatin and HA was also examined. **【Methods】** The luciferase gene linked NF- $\kappa$ B binding sequences was transfected to 293-TLR2/CD14 cells expressing TLR2 and CD14. The cells were stimulated with HA and were lysed. Then, luciferase assay was performed. In this experiment, HA stimulation with histatin 3 was carried out. The expression vectors of histatin 3 and HA were transfected to HEK293 cells. Cell lysates were prepared, and immunoprecipitation analysis was performed. **【Results】** HA was a TLR2 ligand that induces NF- $\kappa$ B activation. Histatin 3 dose-dependently inhibited that. Histatin 3 bound to HA. **【Conclusions】** Histatin 3 binding to HA inhibited TLR2 signaling in the early stage. This implies that eventually histatin 3 negatively regulates the expression of NF- $\kappa$ B-dependent gene. Histatin 3 is a biophylactic factor that reduces the stimulation of viral constituent toward the host.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-80 ポリデキストロースとラクチトールの継続摂取がラットにおける腸内発酵と唾液中 IgA 分泌速度に与える影響

○山本 裕子<sup>1</sup>, 猿田 樹理<sup>2</sup>, 東 雅啓<sup>2</sup>, 槻木 恵一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>神歯大 短大 歯科衛生

<sup>2</sup>神歯大 院歯 口腔科学

【目的】唾液中には多量の IgA が含まれており、上気道感染症の感染防止に関与していることが数多く報告されている。我々はこれまでに、唾液中 IgA 分泌速度の増加には盲腸内容物中短鎖脂肪酸の増加が関与している可能性が高いことを動物実験で明らかにしてきた。そこで本研究ではポリデキストロース (PDX) とラクチトール (Lac) を組み合わせた飼料の継続摂取が盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度と唾液中 IgA に与える影響を検討した【方法】AIN76 のコーンスターチ 15% とセルロース 5.0% をグラニュー糖に置き換えた無繊維固形飼料を対照飼料とし、2.5% PDX・2.5% Lac 添加飼料を調整した .4 週齢 Wistar 系雄ラットを 2 群 (各群 n=6) に分け、予備飼育後に各飼料を自由摂取させた。0, 1, 4, 8 週後に盲腸組織、盲腸内容物、顎下腺、唾液を採取した。盲腸内容物および唾液中 IgA 濃度は ELISA 法にて測定した。盲腸内容物は各週の pH と水分量、8 週後の短鎖脂肪酸濃度を測定した。【結果】二元配置分散分析の結果、顎下腺重量あたりの唾液中 IgA 分泌速度は PDX・Lac 添加と摂取期間の間に交互作用が認められ ( $p < 0.0001$ )、4 および 8 週後で対照群よりも PDX + Lac 群の方が高い値が認められた ( $p < 0.05$ , Tukey 多重比較)。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度は、無繊維群と比較して PDX + Lac 群で低値が認められた ( $p = 0.0003$ )。盲腸内容物水分量は無繊維群と比較して PDX + Lac 群で高値が認められた ( $p < 0.0001$ )。【考察】唾液中 IgA 分泌速度は、PDX と Lac 添加 4 週後に上昇し、その増加は 8 週後まで持続することが示された。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度の減少は、発酵による盲腸内容物水分量の増加により、短鎖脂肪酸の盲腸からの吸収速度が増加したことで起こった可能性がある。唾液中 IgA 分泌速度上昇には、盲腸からの短鎖脂肪酸吸収速度が関与している可能性が考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Continuous intake of polydextrose and lactitol combination stimulates fermentation in the cecum and salivary IgA secretion in rats

○Yamamoto Y<sup>1</sup>, Saruta J<sup>2</sup>, To M<sup>2</sup>, Tsukinoki K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Junior Collage, Kanagawa Dent Univ, Sch Dent Hygiene

<sup>2</sup>Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent Dept Oral Sci

Immunoglobulin A (IgA) which plays an important role in infection defense is upregulated by dietary fiber intake in the large intestine and oral cavity; however, the mechanism underlying salivary IgA increase by dietary fiber is unknown. This study investigated time-dependent effects of non-absorbable polydextrose (PDX) and lactitol intake on IgA secretion in saliva and fermentation in the cecum. Five-week-old rats were fed a fiber-free diet supplemented or not with 25 g/kg PDX and 25 g/kg lactitol for 1, 4, and 8 weeks. Compared to control, PDX and lactitol ingestion increased the salivary IgA flow rate per weight of submandibular gland tissue at 4 and 8 weeks ( $P < 0.05$ ) and the weight of cecum and cecal digesta at 1, 4, and 8 weeks ( $P < 0.05$ ). At the same time, the concentration of short chain fatty acids (SCFAs) in cecal digesta decreased ( $P = 0.0003$ ). These findings suggest that the consumption of PDX and lactitol may upregulate salivary IgA secretion possibly by stimulating absorption of SCFAs produced by fermentation in the cecum. Thus, continuous ingestion PDX and lactitol for up to 4 weeks could increase salivary IgA and promote immune defense against pathogen invasion through the oral route.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **P2-81 胎仔マウス顎下腺における EGF/ErbB 活性化による Hippo シグナルの調節**

---

○小山 典子, 足立 圭亮, 柏俣 正典

朝日大 歯 薬理

---

**【目的】** 発生期の唾液腺は分枝形態形成とよばれる機構によって腺腔構造が形成される。この現象は上皮間葉相互作用という細胞間コミュニケーションによって制御される。上皮間葉相互作用は複雑な分子間相互作用によって成り立っており、各分子間の連携を解明することで器官形成のメカニズムを読み解くことが可能になると考えられる。本研究ではショウジョウバエのがん抑制遺伝子として同定され、臓器の大きさの制御に関わっているとされる Hippo シグナルと EGF/ErbB システム関連について検討した。**【実験方法】** 顎下腺原基に発現している Hippo シグナル関連タンパク質 YAP をウエスタンブロット法によって解析した。また、培養した顎下腺原基に EGF を処理し、リン酸化 YAP の変化について調べた。**【結果と考察】** 胎生 13 日以降の顎下腺原基には YAP タンパク質が発現していた。YAP の発現は胎生 14-16 日でピークとなり、それ以後に低下するパターンを示した。顎下腺原基に EGF (20 ng/ml) を処理するとリン酸化 YAP が減少した。以上の結果から、EGF/ErbB システムは Hippo シグナルと連携して分枝形態形成を制御していると考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Regulation of Hippo signaling by EGF/ErbB activation in fetal mouse submandibular glands**

---

○Koyama N, Adachi K, Kashimata M

Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

---

**【Introduction】** Branching morphogenesis (BrM) is a basic developmental process for formation of a wide variety of organs including salivary glands. BrM is regulated by epithelio-mesenchymal interactions which is an intermolecular interaction. In this study, we demonstrated the cooperation of Hippo and EGF/ErbB signals in BrM of developing mouse submandibular gland (SMG) rudiments. **【Material and Methods】** YAP protein which is one of component of Hippo signaling in E13 (embryonic day 13) - adult mouse submandibular glands was detected by western blotting. Phosphorylated YAP was also detected in SMG rudiment cultured with EGF. **【Result and Discussion】** YAP protein detected in SMGs from E13 to adult mice, and the highest expression of the protein was between E14 and E16 SMG. EGF administration (20 ng/ml) in cultured SMG rudiments observed phosphorylation of YAP. These results show that Hippo signaling cooperates with EGF/ErbB system in developing mouse SMG rudiments.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-82 唾液分泌量の異なる2系統マウスのカルシウム動態の比較

---

○櫻井 甫, 小川 博亮, 横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

【目的】唾液は水成分とタンパク質成分が異なる分泌制御を受けているが、水成分は腺房細胞の細胞内カルシウムイオン濃度が上昇することにより分泌促進される。唾液の水分分泌量が低下すると、口腔内衛生が保たれず、重度の齲蝕や歯周疾患の原因になる。系統の異なるマウス、C57BL/6 (B6) および C3H では齲蝕感受性が異なることが報告されているが、齲蝕高感受性である B6 は低感受性である C3H に比べ、唾液分泌量が少ないことが報告されている。そこで本研究では、2つの系統マウスの唾液腺腺房細胞における細胞内カルシウム動態について解析を行った。【材料と方法】7週齢および9週齢の B6 および C3H マウスから、深麻酔下にて顎下腺を摘出し、酵素処理により腺房細胞を単離した。カルシウム蛍光指示薬 fura-2/AM を取り込ませた細胞にカルバコール刺激し、細胞内カルシウム測定装置 CAF-110 を用いて fura-2 の 340nm 励起時 (F340) および 380nm 励起時 (F380) の蛍光強度比 (F340/F380) を測定した。【結果と考察】B6 および C3H マウスから単離した顎下腺腺房細胞は、カルバコール添加に反応して一過性に F340/F380 が上昇した。最大ピーク時を比較すると、7週齢では B6 よりも C3H マウスの方が F340/F380 が有意に高く、9週齢でも C3H の方が高い傾向にあった。結果として、唾液分泌の多い C3H の方が細胞内カルシウム応答が高いことが示された。今回用いた2つの系統マウスでは、ムスカリン刺激に対するカルシウム応答に関わる遺伝子発現に差があると予想され、そのことが唾液分泌能の差の原因である可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Comparison of calcium mobilization between the two mouse strains that have different capacities of saliva secretion

---

○Sakurai H, Ogawa H, Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

**Objective:** In salivary glands, secretion of fluid and ions and exocytosis of proteins are regulated by different agonists and fluid and ion secretion is promoted by intracellular  $Ca^{2+}$  elevation. Two mouse strains, C57BL/6 (B6) and C3H, have been reported to have different sensitivities to caries. B6, which has a higher sensitivity to caries, have a lower ability to secrete saliva compared with C3H. In this study, calcium mobilization in salivary acinar cells of the two strains. **Materials & Methods:** Acinar cells were isolated from submandibular glands of B6 and C3H mice. After loading with fura-2, the ratio of fluorescence intensities excited at 340 nm and 380 nm (F340/F380) were measured by intracellular calcium imager CAF-110. **Results & Discussion:** Addition of carbachol induced elevation of F340/F380 in submandibular acinar cells of the two both strains. The peak of calcium elevation in the acinar cells isolated from C3H was higher than that of B6. These results suggest that expression levels of the calcium response-related genes are different between the two strains, which may be involved in the difference of the abilities to secrete saliva.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-83 マウス顎下腺への放射線照射に対する鉛板の防護条件の検討

○澤野 和生<sup>1</sup>, 菊池憲一郎<sup>1</sup>, 那須 優則<sup>2</sup>, 堀江 哲郎<sup>2</sup>, 池田 利恵<sup>1,3</sup>, 高田 清美<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 解剖 2

<sup>2</sup>日歯大 生命歯 研究セ

<sup>3</sup>日歯大 東京短期大

【目的】頭頸部悪性腫瘍に用いる放射線治療は、唾液腺の腺房や導管の細胞の萎縮、構成細胞の乱れを生じ、唾液分泌量の低下を導いている。今回我々は、放射線の影響に関する実験的研究を行う際の鉛板を用いた防護条件の検討を、照射後の組織像で明らかにすることを目的とした。【方法】生後10週齢の雄マウスの頸部を剃毛し頸部を後屈させ、目視で顎下腺の概観を確認した後、右側顎下腺相当部（長軸約14mm、短軸約7mmの円形）にマーキングをし、右側顎下腺のみにX線が照射されるように鉛板をくり抜いた。左側顎下腺相当部を含めたそれ以外の全身部分は鉛板で覆った。鉛板を用いない（防護なし）で10Gyあるいは20GyのX線（200kV, 15mA, 2Gy/min）の照射時間はそれぞれ約5分、10分であったため、実験には顎下腺相当部に同条件のX線を5分、10分照射をした。鉛板は3種類（厚さ1mm, 2mm, 4mm）用意した。照射1週間後に両側顎下腺を採取し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液に浸漬固定を行い、通法に従いパラフィンに包埋し、5 $\mu$ mの切片を作製の後、H-E染色を行った。【結果と考察】各々の鉛の厚さの違いによる線量率は、鉛無し：左右側2Gy/min, 1mm厚鉛：右側0.75Gy/min, 左側0.1Gy/min, 2mm：0.78Gy/min, 0.06Gy/min, 4mm:0.36Gy/min, 0.05Gy/minだった。5分の照射時間で鉛無し：左右側10Gy, 1mm厚鉛：右側3.75Gy, 左側0.5Gy, 2mm：3.9Gy, 0.3Gy, 4mm:1.8Gy, 0.25Gyに相当する。また、10分照射では各々の2倍の線量となる。両側顎下腺で最も差異が認められたのは厚さ2mmであった。組織変化は、鉛板の厚さ1mm, 2mm, および2条件の照射線量においても、照射側の右側顎下腺は左側と比較して腺房の萎縮が認められたが、鉛板の厚さが4mmでは、いずれの照射線量においても両側の違いは認められなかった。【結論】2mmの鉛板を用いた10Gyの照射条件は、マウスの拘束時間も少なく、照射条件設定として適切であると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Studies of radiation protection of mice submandibular gland with lead sheet

○Sawano K<sup>1</sup>, Kikuchi K<sup>1</sup>, Nasu M<sup>2</sup>, Horie T<sup>2</sup>, Ikeda R<sup>1,3</sup>, Takada K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>3</sup>Nippon Dent Univ Coll at Tokyo

**Purpose:** Radiotherapy for head and neck malignancies induce the atrophy of submandibular gland (SMG) cells. This study was undertaken to examine the radiation protection and histological changes of SMG. **Materials & Methods:** A total of eight 10-week-old male mice (C57BL/6NJcl) were used. The animals had been anesthetized, and shaved the neck and confirmed the outline of the SMG, and the skin above the right SMG was cut and a hole was made in the lead sheet according to the same part. The thickness of the sheet was set to 1, 2, 4 mm, and was exposed to 10 and 20Gy of radiation. After measuring the irradiation dose rate of the SMG with the probe of the irradiation device, the mice were covered whole body except the right SMG gland with lead sheet and irradiated. SMGs were collected 1 week after irradiation and embedded in paraffin for light microscopy. Samples were sectioned 5 $\mu$ m and stained with H-E. **Results & Conclusion:** Based on the dose rate results, the set irradiation dose was maintained in the right SMG, and reliable protection was observed in the left SMG. These findings suggest that the irradiation condition of 10Gy using the 2 mm plate is appropriate condition.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **P2-84 唾液腺におけるケモカイン CXCL14 の免疫陽性構造の分布**

---

○水野 潤造, 立花 要, 山本 利春

神歯大 院歯 口腔科学

ケモカインは白血球系細胞の走化性を調節する生理活性物質である。その中の1つであるCXCL14は初め乳腺や腎臓の細胞から単離され、別名BRAKともよばれる。CXCL14は本来単球並びに単球由来のマクロファージの走化性を調節するが、近年神経細胞や内分泌細胞に存在することが知られている。視床下部の室傍核神経細胞、消化管内分泌細胞並びに消化管の神経叢に存在することが判明している。

本研究ではラットの大唾液腺におけるCXCL14免疫陽性構造の分布を明らかにした。顎下腺や舌下腺には少数のCXCL14免疫陽性線維が観察されるのみであるが、耳下腺には多数の免疫陽性線維が認められた。CXCL14免疫陽性線維は多くの腺房細胞の周辺部に密着して観察され、腺房細胞への何らかの作用が示唆される。これらの分布パターンは神経ペプチドY (NPY)のそれと酷似し、共存性が示唆される。しかしながら、血管周囲のNPY免疫陽性線維とは共存性が認められず、腺房細胞周囲に限局している。このことはCXCL14が腺房細胞のみを標的としていることが示唆される。なお、ソマトスタチンやカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)とは共存性が認められなかった。

これらの結果はCXCL14がNPYとともに耳下腺機能を調節している可能性があることを示唆する。また、顎下腺や舌下腺にはこれらCXCL14免疫陽性線維が少ないことから、CXCL14の作用は耳下腺に限局している可能性が示唆される。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Distribution patterns of CXCL14 immunoreactive structures in the salivary glands**

---

○Mizuno J, Tachibana K, Yamamoto T

Kanagawa Dent Univ, Grad Sch Dent

Chemokines possess chemotactic activity for leukocytes and lymphocytes. One of chemokines, CXCL14 was first isolated from human breast and kidney cells and originally termed as BRAK. Recently, the presence of CXCL14 in neurons and endocrine cells was demonstrated, however, distribution patterns of CXCL14 immunoreactive structures in the salivary glands are not revealed yet. This study investigated the distribution patterns of CXCL14 immunoreactive fibers in the submandibular, sublingual and parotid glands by immunohistochemistry. In the submandibular and sublingual glands, only a few CXCL14 immunoreactive fibers were observed. In contrast, many immunoreactive fibers were seen in the parotid gland. These fibers located peripheral regions of acinar cells suggesting some functional association of CXCL14 with the acinar cells. Double immunostaining of CXCL14 and neuropeptide Y (NPY) suggested co-localization of CXCL14 with NPY in peripheral regions of acinar cells, however, NPY immunoreactive fibers around blood vessels were immuno-negative for CXCL14. CXCL14 immunoreactive fibers were immuno-negative for somatostatin and calcitonin gene-related peptide. These results suggest that CXCL14 may regulate the acinar cell functions of parotid gland and the paucity of CXCL14 immunoreactive fibers in the submandibular and sublingual glands suggests the minor contribution of CXCL14 to these two salivary glands.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-85 頭顔面の発生ステージ特異的な薬物催奇形性解析における「*in vivo* 薬物投与法と全胚培養法を組み合わせた実験系」の確立を目指して

---

○鈴木 礼子<sup>1</sup>, 今井 元<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奥羽大 歯 歯科薬理

<sup>2</sup>奥羽大 歯 生物

---

薬物の催奇形性についてラットを用いて解析する場合、*in vivo* 薬物投与法と全胚培養法には、それぞれ大きな利点がある。まず、母獣に薬物を投与し胎仔を母胎内で発生させる *in vivo* 薬物投与法では、母体-胎盤-胎仔における薬物動態（吸収、分布、代謝、排泄）の影響を再現することができる。一方、全胚培養法では、薬物に暴露された時点における胎仔ごとの発生ステージを確認することができるので、胎仔の発生ステージと薬物が及ぼす影響との厳密な相関データを得ることが出来る。特に、頭顔面の場合、全胚培養が可能な時期と、頭顔面の形成に寄与する細胞と原基のダイナミックな発生時期が合致しているため、薬物の催奇形性の原因究明に適している。しかしながら、これら二つの方法の利点を組み合わせて、胎仔の発生ステージ特異的な薬物の催奇形性を解析する実験系は十分には確立されていない。そこで、薬物の頭顔面の催奇形性解析における「*in vivo* 薬物投与法と全胚培養法を組み合わせた実験系」の確立を目標として実験を行った。本実験では、催奇形性薬物として、小顎症を引き起こすことが知られている抗てんかん薬、バルプロ酸ナトリウム (VPA) を使用した。まず、妊娠9日のラット母獣に VPA または生理食塩水 (対照群) を背部皮下投与し、母獣からほぼ全ての薬物が排泄されたと推測される6時間後に胚を摘出した。次に、摘出した胚の頭部神経堤細胞を DiI 標識し、40時間全胚培養を行った。培養後の胚において、蛍光顕微鏡下で頭部神経堤細胞の移動経路を確認したところ、VPA 投与群と対照群とでは差異がある可能性が示唆された。本実験の結果から、解析項目を工夫すれば、「*in vivo* で母獣に薬物を投与した後、摘出した胚を全胚培養する実験系」が、頭顔面における胎仔の発生ステージ特異的な薬物の催奇形メカニズムの解明に有用であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## An experimental system combining *in vivo* drug administration with rat whole embryo culture as an assay system for teratogenicity in craniofacial morphogenesis

---

○Suzuki R<sup>1</sup>, Imai H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Biol, Ohu Univ Sch Dent

---

In case of analyzing the teratogenicity of drugs using rats, *in vivo* drug administration method and rat whole embryo culture (WEC) method have great advantages, respectively. First, the former method, in which a drug is administered systemically to a dam, can reproduce the influence of pharmacokinetics (absorption, distribution, metabolism, excretion). On the other hand, in the later method, it is possible to confirm the developmental stage for each embryo at the moment of drug exposure, so that a strict correlation between the embryonic developmental stage and the influence of the drug can be obtained. In particular, the cells and the primordia contributing to craniofacial morphogenesis develop during the period when WEC is possible. However, the experimental system combining the advantages of these two methods has not been established to analyze the embryonic developmental stage-specific teratogenicity of drugs sufficiently. Therefore, experiments were conducted with the aim of establishing an experimental system combining *in vivo* drug administration and WEC as an assay system for teratogenicity in craniofacial morphogenesis of rats. We will report a case of this new experimental system using sodium valproate as a teratogenic drug.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-86 マウス胎生期における Nfix を中心とした舌筋細胞系譜の分化制御

---

○田谷 雄二<sup>1</sup>, 佐々木康成<sup>2</sup>, 佐藤かおり<sup>1</sup>, 添野 雄一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理

<sup>2</sup>神奈川県立こども医療セ 臨床研 歯科

---

【目的】胎生期での骨格筋発生では、転写因子 Nfix を中心として、胚性筋芽細胞から胎性筋芽細胞への分化だけでなく、筋前駆細胞から筋芽細胞と筋サテライト細胞への分化スイッチにも働く重要な分子であることが明らかになりつつある。ただし、これまでの解析から、全身の骨格筋発生のなかで、舌筋発生に特異な分子機構も明らかにされてきている。そこで、本研究では、舌筋発生での筋細胞系譜の分化に働く Nfix を中心とした分子機構について検討した。【方法】ICR マウス胎仔（胎生 9.5~18.5 日）から発生段階の異なる舌原基および舌組織を採取し、mRNA と miRNA の遺伝子発現の定量解析と免疫組織化学による局在解析を行った。【結果と考察】舌原基における Nfix の発現は、胎生 10.5 日から胎生 11.5 日にかけて急速に発現上昇して胎生 14.5 日で発現ピークとなり、その後、一定の発現量を維持していた。この解析結果は、体肢骨格筋では胎生 14.5 日以降（胎生 16.5 日で発現ピーク）で発現することと異なっていた。しかも、胚性および胎性筋芽細胞の両方の指標遺伝子（*Meox1*, *Meox2* および *Musculin*）が Nfix と同時期に同様な発現パターンを示すことが判明した。さらに、筋サテライト細胞への分化に関わる制御因子 *Pax7*, *Hesr3*, *Notch1*, *Dll1*, *Jag1*, *Cxcr4* は胎生 14.5 日に至るまで発現上昇しており、*miR-152*, -378 も Nfix と一致した発現パターンを示すことが確かめられた。舌原基内では、筋系譜の Nfix 陽性細胞は胎生 11.5 日には出現し、胎生 14.5 日では散在性の局在が多数確認できた。筋細胞系譜のなかの一部の細胞が *Cxcr4* 陽性を示し、リガンドの *Cxcl12* は近傍の血管内皮細胞に局在しており、筋サテライト細胞の分化制御と血管との関係を示唆する結果が得られた。以上の結果から、舌筋細胞系譜の分化には Nfix を中心とした特異な分子制御機構が精妙に働いていると考えられた。本研究は JSPS 科研費 #15K11024 の助成を受けた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Tongue myogenic cell differentiation regulated by Nfix and its related factors in embryonic mice

---

○Taya Y<sup>1</sup>, Sasaki Y<sup>2</sup>, Sato K<sup>1</sup>, Soeno Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent

---

It is known that the transcription factor Nfix acts as the unique molecular switches from embryonic to fetal myoblast lineage and from myogenic progenitor to muscle satellite cell lineage in limb and trunk myogenesis. We focused on myogenic cell differentiation regulated by Nfix and their related factors during tongue development in embryonic mice. Tongue primordia including muscle tissues were dissected from ICR mouse embryos at E9.5-18.5. Analyses of myogenic gene expression and myogenic differentiation markers were carried out by mRNA/microRNA microarray, qPCR, and immunohistochemistry. We confirmed that myogenic signaling molecules, including Nfix, were up-regulated significantly in association with differentiation of myogenic cells from myogenic progenitors during E10.5 to E11.5. Nfix expression started at E10.5 and reached its peak level at E14.5. Nfix-positive myogenic cells were detected from E11.5. Nfix-associated embryonic myoblast-specific genes (e. g. *Meox1*, *Meox2*) were down-regulated and fetal myoblast-specific genes (e. g. *Musculin*) and muscle satellite cell differentiation-regulatory genes (e. g. *Pax7*, *Hesr3*, *Notch1*, *Dll1*, *Jag1*, *Cxcr4*) were up-regulated after E14.5. Moreover, our analyses supported the involvement of multiple microRNAs, including miR-152 and miR-378 that target Nfix mRNA, in regulating myogenic gene expression. The present findings indicate the contribution of Nfix to tongue myogenesis. Supported by JSPS KAKENHI Grant number 15K11024.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-87 Hertwig 上皮鞘から遊走する細胞動態の解析

---

○藤原 尚樹, 大津 圭史, 原田 英光

岩医大 解剖 発生生物・再生医学

【背景】 歯根発生過程で Hertwig 上皮鞘 (HERS) から Malassez の上皮遺残が発生するメカニズムについては様々な仮説がある。歯根の成長過程における Hertwig 上皮鞘の細胞動態についてリアルタイムイメージングを用いて観察したところ、我々は HERS から細胞の一部が離脱して歯根膜内に遊走していく現象を捉えた。本研究では、この細胞遊走のメカニズムを明らかにする目的で、この細胞の形態的变化や動きを詳細に解析した。【方法】 生後 10 日齢の K14cre/Rosa26RtdTomato マウスの下顎第 1 臼歯の器官培養、根尖周囲のみを切り取って培養した組織培養、このマウス由来の HERS 細胞株 (HERS02-T) と歯根膜細胞との共培養を行って、HERS 由来遊走細胞のライブイメージングを撮影した。このビデオイメージをもとに細胞の移動経路、移動速度、形態変化を観察した。【結果】 HERS の細胞集団から周囲の歯根膜組織の中に遊走する HERS 由来細胞 (Tomato 陽性細胞) は次のような移動パターンを繰り返した。1) 細胞はコロニーから遊走する方向へゆっくりと伸長し、その先端に複数の細胞質突起を形成しながら移動を開始する。2) 細胞集団から離れるとすぐに細胞は素早く移動する。3) その遊走細胞が近傍の細胞へ接触すると移動を停止して、細胞形態を球形に変化させる。4) 再度、接触面と反対側に細胞が伸長し、他の細胞との接触がなくなると再び速い速度で移動する。【考察】 HERS 細胞の一部は、contact inhibition of locomotion と考えられる細胞動態を示すことにより、歯根膜中へ遊走していくことが示唆された。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Study of movement pattern in cells that migrated from Hertwig's epithelial root sheath

---

○Fujiwara N, Otsu K, Harada H

Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent

**Background:** There are hypotheses about mechanism in formation of epithelial cell rests of Malassez originated from Hertwig's epithelial root sheath (HERS). We observed that cells broke away from HERS and migrated toward periodontal ligament (PDL) in studies about cell dynamics by real-time imaging. We analyzed morphological change and movement pattern of the migrated cells. **Methods:** We observed live-imaging of migratory cells from HERS by organ culture of mandibular first molars in k14cre/Rosa26RtdTomato mice (PN10), tissue culture in the root apex, and HERS-derived cells isolated from the mice and PDL cells from ddY mice were co-cultured. Track, speed and morphology of the migratory cells were analyzed. **Results:** A cell from HERS-derived cells migrated toward PDL as the following; 1) a cell projects from the colony at a slow speed, and begins migration after making processes at putative direction side of movement, 2) the cell moves faster immediately leaving from the colony, 3) the cell is arrested suddenly and becomes globular shape, when the cell collided with the neighbor cells, 4) the cell restarts cell protrusion at the opposite side, and moves faster. **Conclusion:** These results indicate that HERS cells migrate to PDL by movement pattern like the contact inhibition of locomotion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-88 ニワトリ胚における低温環境下のガス交換に肺と漿尿膜が寄与する割合

---

○井出 良治<sup>1</sup>, 佐伯 周子<sup>1</sup>, 高橋 誠之<sup>1</sup>, 橋爪 那奈<sup>2</sup>, 今井 敏夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 生理

<sup>2</sup>日歯大 生命歯 麻酔

---

**【目的】**ニワトリ胚は、胎生 20 日齢 (internal pipping stage) になると肺と漿尿膜 (chorioallantoic membrane, CAM) による二重のガス交換機構 (dual gas exchange) によって呼吸をおこなう。類似した現象は哺乳類にも認められ、出生直後の新生児は未熟な肺と胎盤を介して二重のガス交換をおこなう。そこで今回我々は、肺によるガス交換と CAM を介した拡散によるガス交換のいずれが個体の主たるガス交換機能を担うかを解明するかを目的として、ニワトリ胚をモデルとして検討した。**【方法】**胎生 19-21 日齢の孵化直前の鶏卵を使用した (n=60)。まず、ニワトリ胚の正常な生育温度環境である 38℃で測定を開始し、その後、段階的に環境温度を低下させ (40 分毎に 5℃)、肺による自発呼吸が停止するまで測定を継続した。測定項目としては、酸素消費量 (VO<sub>2</sub>) と二酸化炭素産生量と呼吸頻度および環境温度全てを経時的に測定した。**【結果】**環境温度 38℃において、肺と CAM によるガス交換の割合 (VO<sub>2</sub>を用いて評価) は、肺が約 34%、CAM が約 66%であった。環境温度を約 18℃まで下げると VO<sub>2</sub>は低下し (-78%)、自発呼吸も停止したが、CAM によるガス交換は維持された。その後、環境温度を 38℃まで再上昇させたところ、自発呼吸は再開し、VO<sub>2</sub>も回復した。**【考察】**ニワトリ胚のガス交換は、肺よりも CAM が寄与する割合が大きい。さらに、低温下で自発呼吸が停止した場合でも胚のガス交換は CAM によって保たれた。これらの結果から CAM が低温環境下の生命活動維持にも大きく寄与することが示唆された。**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Contribution of gas exchange lung - CAM in the chicken embryo during cold-hypometabolism

---

○Ide R<sup>1</sup>, Saiki C<sup>1</sup>, Takahashi M<sup>1</sup>, Hashizume N<sup>2</sup>, Imai T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Nippon Dent Univ Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Nippon Dent Univ Life Dent at Tokyo

---

**Objectives.** The avian embryo close to end-incubation dual gas exchange through the pulmonary ventilation and chorioallantoic membrane (CAM). We examined whether lung and CAM play major functional roles in gas exchange by using chick embryos model. **Methods.** We used chicken embryos close to hatching (internal pipping stage, n = 60) and measured gaseous metabolism (oxygen consumption, VO<sub>2</sub>, and carbon dioxide production) and breathing frequency, in normothermia (i. e. 38 C) or as ambient temperature were progressively lowered (from 38 C, in steps of 5 C per forty min, each) until spontaneous breathing ceased. **Results.** In normothermia, gas exchange through the lunge and CAM provided about 34% and 66%, respectively, of total gaseous metabolism. Under progressively cold environment, VO<sub>2</sub> decreased (-78%) and respiratory movement had ceased. Nevertheless, the embryos could survived in cold, because they successfully maintained gas exchange entirely through the CAM. Finally, by being applied rewarming, they recovered breathing movement and gaseous metabolism similar to those obtained in normothermia. **Conclusion.** In chick embryos, CAM plays greater roles in gas exchange, compared to lung. Furthermore, these results suggest that CAM supplies sufficient O<sub>2</sub> without berating movement and contributes to embryos' survival in cold environment

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-89 カテキンジェル使用時における健康高齢者および障害者口腔細菌変動についての網羅的解析

---

○田村 宗明<sup>1,2</sup>, 今井 健一<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 細菌

<sup>2</sup>日大 総歯研 生体防御

---

【目的】近年、口腔細菌数および菌叢の変化は口腔のみならず全身の疾患と関わっていることから、予防の観点から口腔ケアは重要課題となっている。演者らは、要介護高齢者の口腔環境改善目的で選択的抗菌効果を発揮するカテキン含有ジェル（カテキンジェル）を開発し、臨床応用への道を開いた。今回、健康高齢者および障害者を対象に本ジェルの口腔内塗布が口腔細菌に及ぼす影響について網羅的な解析を行った。【方法】介護予防教室（川口市）に参加した健康高齢者 69 名（平均年齢 76.4 歳）および相模原市歯科医師会に通院中の障害者 15 名（平均年齢 36.7 歳）に、4 週間、カテキンジェルを口腔内塗布した。ジェル塗布前後の唾液をそれぞれ採取し、抽出した DNA を試料として次世代シーケンサ解析を行い、その解析結果より、総レンサ球菌数、歯周病原菌およびカンジダ菌数を real-time PCR 法にて解析した。なお、本研究は日本大学歯学部倫理委員会より審査・承認を受けている。【結果および考察】次世代シーケンサ解析の結果、カテキンジェル塗布による両被験者の口腔レンサ球菌属への影響は認められなかった。Real-time PCR 法の結果、歯周病原菌およびカンジダ菌数が減少し、特に健康高齢者において有意差が認められた。しかし、次世代シーケンサ解析結果と同様にレンサ球菌群の菌数への影響は見られなかった。したがって、カテキンジェルは健康高齢者および障害者の口腔細菌叢のコントロールと口腔環境維持に有用であると考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Exhaustive analysis of oral bacteria among healthy elderly and disability patients treated with catechin gel

---

○Tamura M<sup>1,2</sup>, Imai K<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Immunol Pathobiol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

---

Recently, improvement of the oral environment and maintenance is becoming a significant problem for elderly persons and disability patients. Throughout this study, we examined the antimicrobial action of GEC that has selective anti-microbial activities against oral microorganisms found among healthy elderly and disability patients. Either GEC or placebo gel was applied along the oral cavity for 4 weeks. The whole experiment consisted of DNA extraction from collected saliva, performing next generation sequencing analysis, and microbial number of red complex group in periodontal disease, *Candida albicans* and oral *Streptococcus* spp. were computed through real-time PCR. In the new generation sequencing analysis, treatment of either GEC or placebo gel had no effect on *Streptococcus* spp., however, GEC reduced the rate of some pathogenic bacteria in both subjects. From the results of real-time PCR analysis, GEC significantly decreased the number of red complex group among elderly persons and only *T. denticola* strain found in disability patients. No significant differences were observed in total number of oral *Streptococcus* spp. in both applications. Therefore, GEC antimicrobial action and its potential are useful in controlling the number of oral pathogenic microorganisms found in oral cavity of healthy elderly and disability patients.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-90 歯周病原性細菌アシルペプチジルオリゴペプチダーゼ(AOP)のアシルペプチド選択機構

○根本 孝幸, 小野 俊雄, 根本 優子

長大 院医歯薬 口腔生化

糖非発酵性歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* が発現するペリプラズム局在エキソペプチダーゼ群の中で, PGN\_1349 がコードする S9 ファミリータンパク質はアシルペプチドに高い親和性を示す新規のペプチダーゼであり, アシルペプチジルオリゴペプチダーゼ (AOP) と命名した (Nemoto et al., J. Biol Chem. **291**: 5913-5925, 2016). 血漿タンパク質の多くは N 末端がアシル化されていることから, タンパク分解の効率化に AOP 活性が重要であると考えられた. 今回は *Bacteroides dorei* GV\_0560 (BdAOP) および *Lysinibacillus sphaericus* 由来の T479\_19275 (LsAOP) について発現してそれらの性状を PgAOP と比較検討した. 【結果】 種々の合成基質に対する特異性の違いから, 3AOP は類似した基質を分解するが, 一部に差異もあることが明らかとなった. つまり, 3 菌種の AOP は基本的に P1 に疎水性アミノ酸を好むが, PgAOP では Leu, BdAOP と LsAOP では Phe を最もよい基質とした. さらに 3AOP はアシル化ジペプチジル MCA をよく分解したが, アシル化への依存度は PgAOP が最も高かった. PgAOP 同様に, 他の 2 つの AOP も基質により至適 pH が異なり, アシル化基質は pH7.0-7.8, 非アシル化基質は pH8.5-9.0 であった. 【結論】 AOP は基本的に N 末端の疎水性ジペプチド部分を切断し, さらにアシル化基質により高い活性を示した. その仕組みは基質の N 末端の  $\alpha$ -アミノ基がアシル化によって電荷を失い疎水性を獲得するために, AOP の活性部位に受け入れやすくなるためであると結論した. N 末非アシル化基質の至適 pH が塩基性側にシフトすることもこの結論を支持した.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

## Acylpeptide recognition mechanism of acylpeptidyl oligopeptidase in periodontopathic bacteria

○Nemoto TK, Ono T, Ohara-Nemoto Y

Dept Oral Mol Biol, Course Med Dent Sci, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Among exopeptidases expressed in *Porphyromonas gingivalis*, PGN\_1349 was identified to encode an acylpeptide oligopeptidase (AOP) that is solely capable of degrading acylated oligopeptides in the species (Nemoto et al., J Biol Chem. **291**: 5913-5925, 2016). *P. gingivalis* AOP (PgAOP) most efficiently liberates acylated dipeptides with hydrophobic residues at the P1 position. To elucidate general properties of AOP, we here expressed 2 AOP orthologues, GV\_05060 from *Bacteroides dorei* and T479\_19275 from *Lysinibacillus sphaericus* in addition to PgAOP, and found that 3 AOPs commonly hydrolyzed peptidyl-4-methylcoumaryl-7-amides (MCAs) with hydrophobic P1 residues, while their profiles were partially overlapped, but not identical to each other. Their altered repertoires were derived from minor changes in the properties, i. e., (i) P1-position Leu preference of PgAOP and Phe preference of others, and (ii) the most significant enhancement of the PgAOP activity to N-terminal acylated dipeptidyl MCA. We found that AOPs prefer hydrophobic residues at P2 as well as P1 position. Finally, we propose that the cancel of the positive charge of  $\alpha$ -amino group is the mechanism of acylation-dependent enhancement of AOP. This proposal was further supported by the optimal pH shift of AOPs from pH 7.0-7.8 for acylated substrates to pH 8.5-9.0 for non-acylated ones.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-91 歯周病原菌と肺炎発症との関連：*Porphyromonas gingivalis* は気道上皮細胞において肺炎球菌受容体 PAFR の発現を増強する

---

○神尾 宜昌<sup>1</sup>, 早田真由美<sup>1,2</sup>, 渡辺 典久<sup>1,3</sup>, 田村 宗明<sup>1</sup>, 今井 健一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 細菌

<sup>2</sup>日大 歯 摂食機能

<sup>3</sup>日大 歯 保存 III

---

【目的】疫学研究により歯周炎罹患者は肺炎発症のリスクが高いこと、口腔ケアが肺炎の予防に有効であることが明らかとなった。しかし、歯周病原菌がどのように肺炎の発症に関与しているのかは解っていない。この点を明らかにするために我々は、気道上皮細胞に発現し、肺炎の起炎菌である肺炎球菌やインフルエンザ菌などと強固に結合する Platelet-activating factor receptor (PAFR) に注目し、*Porphyromonas gingivalis* が PAFR の発現と肺炎球菌の細胞への付着に及ぼす影響を検討した。【方法と結果】*P. gingivalis* 培養上清 (*P. g. sup*) によりヒト肺胞上皮細胞株 (A549 細胞) を刺激し、PAFR の遺伝子発現状態をリアルタイム PCR にて、タンパク発現状態をウエスタンブロット法および蛍光免疫染色法にて検討した。その結果、PAFR 遺伝子およびタンパク発現は *P. g. sup* 刺激により増加することが認められた。また PAFR プロモーターを用いたルシフェラーゼアッセイの結果から、*P. g. sup* は転写レベルで PAFR 発現を誘導した。以上の結果から、*P. g. sup* 刺激は、肺炎球菌の A549 細胞への付着を促進させる可能性が示唆されたため付着実験を行った。その結果、*P. g. sup* 刺激により付着細菌数は増加傾向を示した。【考察】*P. g.* は気道上皮の PAFR の発現を誘導し、肺炎球菌の付着を促進することで肺炎の発症に関与していることが示唆された。実際に PAFR ノックアウトマウスでは肺炎による死亡率が低下することから、歯周病が肺炎 (発症) のリスクファクターであること、および肺炎予防としての口腔ケアの有効性の一端を分子レベルで解明できたと考える。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## *Porphyromonas gingivalis* enhanced platelet-activating factor receptor expression in human epithelial cells

---

○Kamio N<sup>1</sup>, Hayata M<sup>1,2</sup>, Watanabe N<sup>1,3</sup>, Tamura M<sup>1</sup>, Imai K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Dysphagia Rehabil, Nihon Univ Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent

---

Oral care reduces the incidence and mortality of pneumonia in hospital and other healthcare facilities, such as nursing homes. There is growing evidence suggesting a relationship between poor oral hygiene and pneumonia. The platelet-activating factor receptor (PAFR) is a major epithelial receptor used by both *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to invade airway epithelial cells. In this study, we examined the effect of *Porphyromonas gingivalis* culture supernatant (*P. g. sup*) on PAFR expression and pneumococcal adhesion. PAFR mRNA and protein expression were upregulated by *P. g. sup* in the alveolar epithelial cell line A549. In addition, *P. g. sup* activated PAFR promoter in A549 cells. Moreover, *P. g. sup* increased pneumococcal adhesion to A549 cells. These results suggest that *P. g.* has the potential to enhance PAFR expression and pneumococcal adhesion. In this regard, we propose that periodontal disease could elevate the risk of pneumonia.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P2-92 健康人における口腔内 *Candida* 属保菌と唾液抗菌成分との関連性**○福井佳代子<sup>1</sup>, 今井あかね<sup>2,3</sup>, 桑島 治博<sup>1</sup>, 仲村健二郎<sup>1</sup><sup>1</sup>日歯大新潟 薬理<sup>2</sup>日歯大新潟 生化<sup>3</sup>日歯大新潟 短大

**【目的】**近年、免疫不全患者の増加に伴い重篤な真菌症が増えており問題になっている。日和見感染症の原因と言われる *Candida* (C) 属真菌の健康人における口腔内分離状況を調査し、唾液成分との関連性と抗真菌作用を検索する。**【方法】**歯学部学生 84 名を対象とし、口腔内よりスワブ法にて酵母様 C 属真菌を採取分離した。分離菌株はゲノム DNA 抽出後、種特異的プライマーによる multiplex PCR を行い *C. albicans*, 他 7 種類に同定した。唾液分泌量, タンパク質濃度を測定し, C 保菌との関連性を調べた。ELISA キットを用いて唾液中タンパク質を測定し, C 保菌との関連性を調べた。**【結果】**対象の 16.7% から真菌が分離され, 3 年間計 262 名中 18.7% 分離された。分離同定された菌株は *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, 未同定株の 4 種類であった。C 保菌群の平均唾液分泌量は 2.2 mL, 無保菌群 (N 群) 2.7 mL より有意に少なかった ( $p < 0.05$ )。C 保菌群のタンパク質濃度は 5.3 mg/mL, N 群 3.9 mg/mL より有意に高かった ( $p < 0.05$ )。唾液中のラクトフェリン濃度は C 保菌群 108.0  $\mu\text{g/mL}$ , N 群 122.2  $\mu\text{g/mL}$ , 唾液中  $\beta$ -ディフェンシン 2 濃度は C 保菌群 14.9 ng/mL, N 群 3.2 ng/mL, 唾液中 sIgA 濃度は C 保菌群 222.2  $\mu\text{g/mL}$ , N 群 227.9  $\mu\text{g/mL}$  で有意差はなかった。**【考察】**C 保菌と唾液分泌量との関連性が認められ, 唾液分泌量の低下, 口腔内細菌叢の変化などが C 保菌の要因と考えられる。C 保菌とタンパク質濃度との関連性が認められ, C 保菌により唾液中タンパク質が増加すると考えられる。唾液中  $\beta$ -ディフェンシン 2 濃度に有意差はなかったが, C 保菌群で多い傾向がみられ, 静菌的に働いていることが考えられる。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。**Study of the relationship between *Candida* carriers and salivary antimicrobial components in healthy persons**○Fukui K<sup>1</sup>, Imai A<sup>2,3</sup>, Kuwashima H<sup>1</sup>, Nakamura K<sup>1</sup><sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata<sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata<sup>3</sup>Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata

< **Introduction** > Recently, the rate of serious fungal infections among immunocompromised patients has increased. We investigated the relationships between *Candida* carriers and their salivary antimicrobial components in healthy persons. < **Materials & Methods** > Specimens from 84 students were collected by swabbing. Isolates of *Candida* species were identified by multiplex polymerase chain reaction. Resting saliva volume was measured using the spitting method. The concentrations of salivary antimicrobial substances, namely lactoferrin,  $\beta$ -defensin-2, and sIgA, were measured with an ELISA Kit. < **Results** > Fourteen (16.7%) of 84 subjects were positive for oral yeasts. The isolates were classified into four types, *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* and unidentified strains. The saliva volume in *Candida* carriers was significantly lower than in non-*Candida* carriers. The amount of salivary proteins in *Candida* carriers was higher than in non-*Candida* carriers. There was no significant differentiation between *Candida* carriage and the mean concentrations of lactoferrin,  $\beta$ -defensin-2, and sIgA. < **Discussion** > The saliva volume showed a close inverse correlation with *Candida* carriage. We recognized the importance of the self-cleaning function of saliva. We thought that  $\beta$ -defensin-2 may have static antifungal activity because the mean concentration of  $\beta$ -defensin-2 in *Candida* carriers tended to increase in comparison with that in non-*Candida* carriers.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## **P2-93 MTA セメントと *Bacillus subtilis* 混和材料の相乗効果に関する基礎的研究**

---

○岡 俊哉

日歯大新潟 生物

**【目的】** *B. Subtilis* はヒトに対する安全性の高さおよび数々の有用物質の生成能力から probiotics 分野での活用がなされている。齲蝕への活用の試みの一例として、抜髄処置を回避することを目的とした間接覆髄法を施行する際、Mineral trioxide aggregate (MTA) セメントと *B. Subtilis* 芽胞粉末の混和物が極めて有効であるという臨床治験がある (personal communication)。一方、MTA セメントは高い封鎖性を持ち pH10 以上を示す強アルカリ性歯内治療用材料であり抗菌作用を持つ。本研究では、基礎的研究の立場から MTA セメントと *B. Subtilis* の混和物が相乗効果を発揮できる可能性について検討した。

**【方法】** *B. subtilis* の各種条件下における増殖性、および抗菌性、MTA セメントの抗菌性を調べた。

**【結果】** (1) *B. subtilis* は pH10 以上の液体培地内では増殖しなかった。(2) MTA セメントと活性化芽胞粉末との混和物から、*B. subtilis* が増殖する様子が観察された。(3) 好気条件と微好気条件では *B. subtilis* 芽胞の発芽、栄養体の増殖、ともに有意な差は無かった。(4) *B. subtilis* は *S. aureus*, *L. casei* に抗菌性を示した。一方、(5) MTA セメントは *S. aureus*, *S. mutans* に抗菌性を示した。

**【結論】** MTA セメントの存在下でも *B. subtilis* は増殖可能であり、*B. subtilis* の有用性を MTA セメントに付加できる可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Potential synergistic effects of a mixture of mineral trioxide aggregate (MTA) cement and *Bacillus subtilis***

---

○Oka S

Dept Biol The Nippon Dent Univ at Niigata

*Bacillus subtilis* is nonpathogenic in humans and produces a number of useful substances, and therefore this bacterium is used in probiotic therapy. Indirect pulp capping with a mixture of MTA cement and *B. subtilis* spore powder is effective for avoiding pulpectomy or tooth extraction in such cases [personal communication]. This study was planned to examine the scientific basis of this clinical finding, with examination of possible synergistic effects of MTA cement and *B. subtilis*. From these experiments, the following five results were obtained: (1) *B. subtilis* did not proliferate in liquid-culture media at pH  $\geq$  10. (2) *B. subtilis* proliferated when mixed with MTA cement. (3) There was no significant difference in proliferation of *B. subtilis* under aerobic and microaerobic conditions. (4) *B. subtilis* exhibited antibacterial effects on *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus casei*. (5) MTA cement exhibited antibacterial effects on *S. aureus* and *Streptococcus mutans*, but not on *B. subtilis*. These results support the hypothesis that a combination of *B. subtilis* and MTA cement is likely to be clinically useful for treatment of dental caries.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## P2-94 口臭簡易キットの開発と口臭に関わる細菌の検索

---

○續橋 治<sup>1</sup>, 内堀 聡史<sup>2</sup>, 齋藤 真規<sup>1</sup>, 小林 良喜<sup>1</sup>, 瀧澤 智美<sup>1</sup>, 桑原 紀子<sup>1</sup>,  
落合 智子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 微生物免疫

<sup>2</sup>日大松戸歯 クラウンブリッジ補綴

---

【目的】口臭は成人のおよそ4人に1人に認められ、舌背に生息している口腔細菌が産生する揮発性硫黄化合物 (VSC) が主に原因となる。そこで本研究は、口臭原因物質の産生メカニズムに着目し、細菌学的手法を利用した簡易でコストパフォーマンスに優れ、さらには多数の検体を同時に検査することが可能な口臭検出キットの開発、および口臭に関わる細菌の検索を目的として行った。【方法】被験者における口臭群および無口臭群の分類はセンサーガスクロマトグラフィー (ODSA-P2) を用いて測定した。口臭簡易検出キットは、マイクロ法を応用して開発した。臨床の場での本検出キットの有用性を確認するために、口臭群 50 名および無口臭群 50 名から舌背試料を採取し、本検出キットにて測定を行い、得られた両群の結果を比較検討した。また、代表的な口腔細菌の選択培地を用いた培養法により、口臭に関わる口腔細菌の特定を行った。本研究は、ヒトから採取した呼気および舌背試料を対象としているために、本学部倫理審査委員会に申請を行い、承認を得ている (承認番号 EC12-015)。【結果と考察】本研究で開発した口臭簡易キットにより得られた結果は、センサーガスクロマトグラフィーによる測定結果と相関が認められたために、本キットが臨床の場で応用可能であり、口臭診断に大いに貢献できることが示唆された。また、口臭群の舌背細菌叢の特徴は、総菌数に対して嫌気性菌の割合が高く (53.6%)、その中でも *Veillonella* 属菌が増加 (27.2%) していることが判明し、口臭に *Veillonella* 属菌が最も関与することが推測された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Development of an easy-to-use clinical kit for estimating halitosis levels, and study of oral bacteria that cause halitosis

---

○Tsuzukibashi O<sup>1</sup>, Uchibori S<sup>2</sup>, Saito M<sup>1</sup>, Kobayashi R<sup>1</sup>, Takizawa T<sup>1</sup>, Kuwahara N<sup>1</sup>,  
Ochiai T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Micorobiol and Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

<sup>2</sup>Dept Crown Bridge Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

**Objectives:** Bad breath is estimated to affect one in four adults and frequently is caused by bacteria infecting the dorsal surface of the tongue and producing volatile sulfur compounds (VSCs). The aim of this study was to develop a simple oral halitosis detection kit using culture method and to investigate oral bacteria that cause halitosis. **Methods:** Halitosis was evaluated by measuring the VSC using sensor gas chromatograph, ODSA-P2. A clinical kit for estimating halitosis level was developed using modified Micro method. For examination of clinical efficacy, oral swab samples from dorsum of tongue were collected from 50 healthy volunteers and 50 halitosis persons. The result obtained by using the proposed clinical kit was compared with the results by sensor gas chromatograph. Moreover, the type and number of oral bacteria causing halitosis were investigated using culture method. **Results and conclusions:** The results obtained by the clinical kit were correlated with those obtained by sensor gas chromatograph. Thus, since this clinical kit is able to estimate accurately halitosis level, it will be clinically useful. Furthermore, it was suggested that *Veillonella* spp. was the main cause of halitosis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-95 細菌叢解析に基づく機械学習による口臭の判別

---

○中野 善夫<sup>1</sup>, 谷口 奈央<sup>2</sup>, 桑田 文幸<sup>1</sup>, 埴岡 隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 化学

<sup>2</sup>福歯大 口腔保健

【目的】口臭は口腔内細菌が発生させる揮発性硫化物が主たる原因であるが、口腔内細菌の種類は多く、それらが複雑な相互作用を及ぼし合いながら生態系を構築しているために、数種の菌種の有無では口臭のリスクを予測するのは困難である。本研究では、唾液由来の細菌叢を 16S rRNA の塩基配列によって解析し、その operational taxonomic units (OTU) の種類と割合のパターンから、機械学習によって口臭の有無が予測できるかどうかを検証した。機械学習として、近年とくに画像解析等で注目されている深層学習 (Deep Learning) に着目して解析を行なった。

【方法】90 人の口臭外来患者 (強い口臭 45 人+口臭なし or 弱い口臭 45 人) の唾液を採取しその細菌叢を解析した。16S rRNA 配列を MiSeq により決定し、それぞれのサンプルから 3000 配列を無作為抽出し、口腔内細菌データベースを使って Blast 解析を行なった。その結果をもとに、機械学習としてサポートベクターマシン (SVM) と深層学習を用いて口臭の有無が予測できるかどうかを調べた。

【結果と考察】90 サンプルから 1 サンプルの結果を抜き出し、残り 89 サンプルの結果から学習した後に選んだ 1 サンプルの口臭の有無を予測するという計算を 90 回繰り返した。その結果、SVM による予測では 79% の精度しか得られなかったのに対して、深層学習による予測では 97% の精度が得られた。このことから、唾液中の菌叢解析の結果から、深層学習を用いれば精度よく口臭の有無が予測できることが明らかになった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Classification of oral malodour based on the microbiota in saliva samples by machine learning

---

○Nakano Y<sup>1</sup>, Taniguchi N<sup>2</sup>, Kuwata F<sup>1</sup>, Hanioka T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Dept Prev & Public Health Dent, Fukuoka Dent Coll

Oral malodour is caused mainly by volatile sulfur compounds produced by presence and interactions of various bacteria and so it is hard to predict oral malodour based on the presence and variations of some specific species of oral bacteria. This paper presents an effective way of deep learning approach to predict oral malodour from oral microbiota in saliva. A discrimination classifier model was constructed to profiles of 16S rRNA-based operational taxonomic units (OTUs) and their relative abundance in saliva samples from 90 subjects (45 with marked oral malodor and 45 with no- or weak-oral malodor). Our deep learning model achieved a predictive accuracy of 97%, compared to 79% with a support vector machine. This classification is expected to be useful for screening saliva for oral malodour before visits to specialist clinics.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-96 遺伝子クローニングを要しないミュータンス連鎖球菌の遺伝子破壊株作製法**

---

○村田 貴俊, 花田 信弘

鶴大 菌 探索菌

微生物の特定遺伝子の機能解明のための典型的な方法は、野生型菌株と目的遺伝子が破壊された菌株の表現型の比較・分析である。細菌の遺伝子破壊株作製には、適切な抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む遺伝子破壊 DNA コンストラクトの構築、その後の遺伝子破壊 DNA コンストラクトとゲノム DNA との相同組み替えを利用した形質転換法が汎用されている。しかしながら、遺伝子クローニングを必要とする従来の遺伝子破壊株作製方法は、複雑な工程とその工程の成否に依存した時間のかかるプロトコルを必要とする。我々は、ミュータンスレンサ球菌の標的遺伝子破壊のための、比較的容易、迅速で費用対効果の高い方法を紹介する。紹介する方法は、二段階の PCR 法を使用して遺伝子破壊 DNA コンストラクトを生成し、遺伝子形質転換のためにエレクトロポレーションを利用する。この方法は、PCR 以外の酵素反応を必要としない。つまり、従来、遺伝子破壊 DNA コンストラクト作製に必要とした、リガーゼ、制限酵素などのその他の酵素、クローニング用プラスミド、大腸菌を必要としない。また、目的遺伝子の制限酵素部位に依存しないため、遺伝子破壊 DNA コンストラクトの設計に大きな柔軟性を提供することができる。エレクトロポレーションの採用は、コンピテント細胞の調製を容易にし、形質転換効率を改善する。本方法は、種々の微生物遺伝子破壊株の作製に応用できる。ここでは、本方法によるミュータンスレンサ球菌の *gtfC* 遺伝子破壊株作製法の紹介と、表現型比較として、シヨ糖依存性バイオフィルム形成能を野生型ミュータンスレンサ球菌と比較する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### **Generation of a gene-disrupted *Streptococcus mutans* strain without gene cloning**

---

○Murata T, Handa N

Dept Translational Res, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Elucidation of the function of a particular gene typically involves phenotypic comparison between the wild-type strain and a strain in which the gene of interest has been disrupted. A gene-disruption DNA construct containing a suitable antibiotic resistance marker gene is useful for generation of the gene-disrupted strains in bacteria. However, conventional construction methods, which require gene cloning steps, involve complex and time-consuming protocols. Here, a relatively facile, rapid, and cost-effective method for target gene disruption in *Streptococcus mutans* is described. The method utilizes a 2-step fusion polymerase chain reaction (PCR) for construction of the disruption construct and electroporation for genetic transformation. This method does not require an enzymatic reaction, other than PCR, and additionally offers greater flexibility in terms of the design of the disruption construct. Employment of electroporation facilitates the preparation of competent cells and improves the transformation efficiency. The present method may be adapted for the generation of gene-disrupted strains of various species.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

**P2-97 歯肉溝内における細菌ネットワークの位相的データ解析**

---

○Cueno Marni<sup>1</sup>, 今井 健一<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 細菌

<sup>2</sup>日大 総歯研 生体防御

---

**Network analysis of the bacterial network in the gingival sulcus**

---

○Cueno M<sup>1</sup>, Imai K<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol Nihon Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Immunol Pathobiol Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

---

The human oral cavity possesses different types of bacterial habitats: teeth, gingival sulcus, tongue, cheeks, hard and soft palates, and tonsils. Among these possible bacterial habitats, the gingival sulcus has recently gained much attention since it is hypothesized that the growing bacterial network within the gingival sulcus may help influence various systemic conditions which include ageing and systemic diseases. With the advent of network and systems biology, it is now possible to fully understand the role of a particular oral bacterium given the whole bacterial network. In this regard, our current work focuses on the growing bacterial network within the gingival sulcus. Throughout this study, we gathered metadata pertaining to all known bacterial species growing within the gingival sulcus and, likewise, the inter- and intra-relationship between these bacterial species. Subsequently, we established the overall bacterial network and, through topological analysis, elucidated which among the known bacterial species are: relevant to the growing network; crucial to maintain coherence among the bacterial species in the developing network; heavily involved in developing bacterial network within the gingival sulcus; influence other bacterial species within the network; accessibility of each bacterial species relative to the whole network; and, likewise, highlight which bacterial association is significant.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-99 Terpinen-4-ol 類似体における構造活性—菌体ならびにバイオフィルムにおける抗菌性の解明—

---

○藤田 真理<sup>1</sup>, 長田 和実<sup>2</sup>, 宮川 博史<sup>1</sup>, 中澤 太<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 微生物

<sup>2</sup>北医療大 歯 生理

---

【目的】植物精油由来 terpinen-4-ol は低濃度におけるバイオフィルム形成抑制能は低いですが、既成バイオフィルムにおける顕著な浸透ならびに抗菌性が報告されている。本研究では terpinen-4-ol の抗菌機構ならびに構造活性を明らかにするため、ヒドロキシ基がアセチル基に置換された terpinyl acetate-4 (TOA-4) に加え、TOA の 1 位の二重結合が単結合に変化した Dihydro terpinyl acetate-4 (DHTA-4) を用い、菌体ならびにバイオフィルムにおける抗菌性について検討をおこなった。【方法】供試菌株として *Streptococcus mutans* Ingbritt 株を用いた。菌体ならびに既成バイオフィルム中の菌体に対する抗菌効果はテルペン化合物処理後の生菌数で評価した。また、バイオフィルム形成過程における抗菌効果は各種条件下で形成されたバイオフィルム量を定量し、評価した。既成バイオフィルムにおける各テルペン化合物の残留量は HS-SPME 法を用いて抽出し、四重極ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) で分析した。【結果・結論】TOA-4 と DHTA-4 は Terpinen-4-ol と比較すると抗菌作用ならびに既成バイオフィルムにおける浸透性が顕著に低下するが、その一方で低濃度におけるバイオフィルム形成抑制能が増強されていることが確認された。これらの結果より、terpinen-4-ol の 4 位の官能基をアセチル基に変換することでバイオフィルム形成抑制能に影響を及ぼすことが明らかとなり、官能基の重要性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Structure-activity relationships of terpinene-4-ol analog in antibacterial and anti-biofilm activity

---

○Fujita M<sup>1</sup>, Osada K<sup>2</sup>, Miyakawa H<sup>1</sup>, Nakazawa F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

<sup>2</sup>Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

We had previously reported that terpinen-4-ol derived from plant essential oil had the superior antibacterial effect on planktonic bacterial cells and bacterial cells in the preformed biofilm, and low inhibitory effect on biofilm formation. In this study, we used terpinen-4-ol analog, terpinyl acetate-4 (TOA-4) and Dihydro terpinyl acetate-4 (DHTA-4) to examine structure-activity relationships in antibacterial activity and inhibitory effect on biofilm formation, and penetration of terpene compound into the preformed biofilm. *Streptococcus mutans* Ingbritt was used in this study. After treatment with terpenes, the total viable counts of planktonic bacteria and bacteria in preformed biofilm were examined. And the amounts of terpene compounds in the preformed biofilm were quantified with HS-SPME conjunction with a gas chromatograph mass spectrometer. In addition, effects of terpene compounds on biofilm formation were evaluated. TOA-4 and DHTA-4 revealed lower antibacterial activity and penetration activity into the preformed biofilm compared with terpinen-4-ol. Nonetheless, they had higher inhibitory effect on biofilm formation in low concentration compared with terpinen-4-ol. These results demonstrated that the functional group of terpinen-4-ol attached on the fourth carbon played very important roles in antibacterial effect against bacterial cells and penetration into the preformed biofilm.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-100 *Porphyromonas gingivalis* の硫化水素産生によるマウス生体反応の解析**

---

○塩屋 幸樹<sup>1</sup>, 平岡 行博<sup>2</sup>, 谷口 奈央<sup>3</sup>, 吉田 明弘<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 口腔細菌

<sup>2</sup>松歯大 総歯研

<sup>3</sup>福歯大 口腔保健

---

**【目的】** *Porphyromonas gingivalis* は L-システインから硫化水素を産生するが、その生合成に関わる酵素や生体への病原性は明らかになっていなかった。そこで本研究では同細菌の硫化水素産生に関わる酵素の生体への影響と役割を明らかにすることを目的とした。**【方法】** 10 mM L-システイン存在下・非存在下で *P. gingivalis* W83 株 (親株) と同酵素欠損株 (欠損株) を 8 週齢の BALB/c マウスに皮下注射し、致死率と炎症の程度を比較した。さらに、10 mM L-システイン存在下で RAW 264.7 細胞による *P. gingivalis* の貪食実験を行い、硫化水素の影響を比較した。**【結果と考察】** まず、L-あるいは D-システインを用いた硫化水素産生能を評価した結果、L-システインからの特異的な硫化水素産生を確認した。BALB/c マウスに親株および欠損株を接種し、腹部の炎症および死亡率を比較した結果、欠損株接種マウスで死亡率および炎症の程度が有意に低下した。また、10 mM L-システインを含む親株を皮下接種した結果、L-システインを含まない接種群と比較し早い時期での潰瘍形成および炎症程度の増悪が観察された。一方、欠損株接種群において L-システインは炎症の程度に大きく影響しなかった。さらに、マクロファージによる *P. gingivalis* の貪食実験において、L-システインを添加することで *P. gingivalis* を貪食したマクロファージの細胞死が誘導された。このことより *P. gingivalis* はマウス生体内にて L-システインから硫化水素を産生することで免疫を回避し、より重篤な炎症を惹起することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **The effect of H<sub>2</sub>S produced by *Porphyromonas gingivalis* on inflammation in mice**

---

○Shioya K<sup>1</sup>, Hiraoka Y<sup>2</sup>, Taniguchi N<sup>3</sup>, Yoshida A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Prev & Pub Health Dent, Fukuoka Dent Coll

---

*Porphyromonas gingivalis* is known to produce hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S). However, the enzymes involved in production of H<sub>2</sub>S and the effect of H<sub>2</sub>S on inflammation remain unclear. Based on this background, the aim of this work is to investigate the effect and the role of the enzyme involved in H<sub>2</sub>S production on mouse inflammation. *P. gingivalis* W83 (WT) and the enzyme-deficient (KO) strains were subcutaneously injected into the back of mice under the presence or absence of 10 mM L-cysteine, and levels of inflammation and mortality were monitored daily. The mean diameter of the abscesses formed by infection of KO strain was smaller than that of WT. Although the infection by WT led to the death of all mice, all the mice infected with KO strain were alive after 6 days. Furthermore, WT supplemented with L-cysteine induced bigger abscess formation compared to WT without L-cysteine at the early days. RAW 264.7 macrophages were co-cultured with WT with or without 10 mM L-cysteine. The cell death was induced by WT supplemented with L-cysteine. These data suggested that H<sub>2</sub>S produced by *P. gingivalis* might play a crucial role in escaping from the immune system and causes inflammation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-101 *Streptococcus gordonii* は単球を樹状細胞へと分化誘導する

---

○田代有美子, 高橋 幸裕, 古西 清司

日歯大 生命歯 微生物

【目的】口腔レンサ球菌の一種である *Streptococcus gordonii* は口腔におけるデンタルプラーク形成やそれに続く歯肉炎の発症に関与しているのみならず, 感染性心内膜炎の原因菌としても知られている. これまでの研究で, *S. gordonii* がシアル酸結合性アドヘジン Hsa を介して血小板や赤血球, 好中球, 単球といった血液細胞に付着することが明らかとなっている. また, 単球に *S. gordonii* が付着すると樹状細胞へと分化することも明らかとなっている. これらの現象は *S. gordonii* による感染性心内膜炎の発症に関与していると考えられる. そこで本研究では, *S. gordonii* による単球の樹状細胞分化の誘導メカニズムの解析をおこなった. 【方法】*S. gordonii* DL1 または低温殺菌処理をおこなった *S. gordonii* (HK-SG), *S. gordonii* の細胞壁タンパク質 (SG-CWP) を THP-1 細胞に処理し, 48 時間後の樹状細胞マーカー (CD83, CD86, IL-12p40) の発現を RT-PCR 法を用いて解析した. また, *S. gordonii* DL1 または HK-SG を THP-1 細胞に処理し 2 時間後にギムザ染色をおこなうことで, THP-1 細胞と菌体の相互作用を確認した. 【結果】*S. gordonii* DL1 を処理した THP-1 細胞では CD83, CD86, IL-12p40 発現上昇がみられた. しかしながら, HK-SG や SG-CWP を処理した THP-1 細胞ではこれらの発現上昇は認められなかった. また, ギムザ染色の結果より菌体が THP-1 細胞へ付着しているだけでなく, 細胞内へ取り込まれている様子も見られた. 【考察】これらの結果から, 単球から樹状細胞へ分化が誘導される起因は菌体が単球に付着することではなく, *S. gordonii* 生菌が単球に貪食されることだと考えられる.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## *Streptococcus gordonii* promotes differentiation of monocytes into dendritic cells

---

○Tashiro Y, Takahashi Y, Konishi K

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

**Objectives:** *Streptococcus gordonii* is component of the human oral microflora. In addition, *S. gordonii* is the most frequently identified bacteria as primary etiological agents of infective endocarditis. Our previous study showed that *S. gordonii* surface protein Hsa is important for *S. gordonii* to bind to host blood cells such as platelets, erythrocytes, neutrophils, and monocytes. In addition, we showed that monocytes interacted with *S. gordonii* rapidly undergo monocyte-to-dendritic cell (DC) differentiation. It is considered that this response may be the initial step in infective endocarditis. In this study, we investigated the mechanism of differentiation of monocytes into DC following interaction with *S. gordonii*. **Methods:** THP-1 cells were exposed to *S. gordonii* DL1, Heat-killed *S. gordonii* (HK-SG), and *S. gordonii* cell wall protein (SG-CWP) for 48 h, and the expression levels of DC markers CD83, CD86, and interleukin-12 were quantified using RT-PCR. **Results:** Exposure of THP-1 to *S. gordonii* DL1 induced up-regulation of the expression of CD83, CD86, and interleukin-12. In contrast, the treatment with HK-SG or SG-CWP weakly induced the expression of the DC markers. **Conclusion:** These data show that monocyte-to-DC differentiation occurs when monocytes engulf living *S. gordonii*, not adhere to *S. gordonii*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-102 義歯安定剤による *Candida albicans* 病原性の変化

---

○村上 智彦<sup>1</sup>, 下山 佑<sup>2</sup>, 野村 太郎<sup>1</sup>, 石河 太知<sup>2</sup>, 近藤 尚知<sup>1</sup>, 佐々木 実<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 歯 補綴・インプラント

<sup>2</sup>岩医大 歯 分子微生物

---

【目的】義歯安定剤は高度顎堤吸収, 不安定な顎間関係などをはじめとした種々の要因により, 可撤性義歯の維持・安定が困難である際に用いられ, 口腔に関連する QOL の維持, 回復に重要な役割を担っている. しかし, 義歯安定剤の生体為害性についての報告, 特に口腔微生物の義歯安定剤への付着能, さらに義歯安定剤を足場とした際の増殖能, 病原性の変化についての検討はほとんどなされていない. そこで本研究では, 義歯安定剤の生体為害性を明らかにすることを目的とし, 義歯性口内炎との関連が強い *Candida albicans* の義歯安定剤への付着能, さらに義歯安定剤による増殖能および病原性への影響について検討した. 【方法】*C. albicans* SC 5314 株を培養・洗浄後,  $OD_{600}=2.0$  ( $1 \times 10^7$  CFU/ml) に調整し, 加熱重合型義歯床用レジンプロック ( $10 \times 10 \times 5$  mm, 耐水ペーパー 400 番で全面研磨) およびレジンプロック上に塗布した義歯安定剤 (クリームタイプ, パウダータイプ, クッションタイプそれぞれ 0.011 g) に  $100 \mu\text{l}$  ( $1 \times 10^6$  CFU) 滴下し,  $4^\circ\text{C}$ , 2 時間培養した. 培養後, 菌種特異的定量的 PCR 法から付着菌数を定量した. さらに, *C. albicans* の付着した各試料を  $37^\circ\text{C}$  で 3, 6, 12, 24 時間培養し, 菌種特異的定量的 PCR 法により経時的な菌数および病原性関連遺伝子の発現量について検討した. 【結果】*C. albicans* の付着能はすべての義歯安定剤においてレジンと同程度であった. 増殖能については, すべての義歯安定剤において培養 3 時間でレジンより有意に高かった. また, クリームタイプ, パウダータイプ培養 6 時間で Agglutinin-like protein 3 (ALS3) および Hyphal wall protein 1 (HWP1) の発現量が有意に亢進した. 【まとめ】義歯安定剤はレジン同様に *C. albicans* が付着・増殖する足場となることが明らかとなった. また, クリームタイプ, パウダータイプの義歯安定剤は *C. albicans* の生体為害作用を亢進させる可能性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## Comparison of the pathogenicity of *Candida albicans* cultured with denture adhesives

---

○Murakami T<sup>1</sup>, Shimoyama Y<sup>2</sup>, Nomura T<sup>1</sup>, Ishikawa T<sup>2</sup>, Kondo H<sup>1</sup>, Sasaki M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Prosthodont Oral Implantol, Iwate Med Univ Sch Dent

<sup>2</sup>Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ Sch Dent

---

Denture adhesives are useful to improve denture retention, stability and function. However, undesirable effects of denture adhesives on the host including mucosal tissue have not been elucidated. In this study, we compared the pathogenicity of *Candida albicans*, causing denture candidiasis, between 3 different forms of denture adhesives (cream, powder and cushion forms). For the adhesion, *Candida albicans* SC5314 suspension was seeded on acrylic resin block and 3 different forms of denture adhesives overlaid on the acrylic resin block and incubated for 2 hours at  $4^\circ\text{C}$ . These 4 groups were then incubated for a specific period 0, 3, 6, 12 and 24 hours. The mRNA was purified at its specific period to investigate the cell numbers and expression of the pathogenesis-related genes by quantitative real-time PCR. As a result, the adhesive cell numbers at 0 hour were not significantly different among the 4 groups, but at the 3 hours, the cell numbers on 3 different forms of denture adhesives were significantly higher than that on acrylic resin surface. Expression levels of *C. albicans* incubated on cream and powder forms, ALS3 and HWP1 were higher than the other groups at 6 hours. Consequently, denture adhesives might enhance pathogenicity of *C. albicans*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-103 *Fusobacterium nucleatum* に特有の硫化水素産生酵素 Fn1055 の立体構造と反応機構

---

○毛塚雄一郎<sup>1</sup>, 吉田 康夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 薬 構造生物

<sup>2</sup>愛院大 歯 微生物

---

【目的】硫化水素は口臭の主要な原因物質であり、低濃度においても強い細胞毒性を示すため、歯周病を進行させる一因と考えられている。Fn1055は、ピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) を補因子として持ち、L-システインのβ-置換反応によって硫化水素とL-セリンを生成する *Fusobacterium nucleatum* に特有の硫化水素産生酵素である。本研究では、この酵素の反応機構を、酵素の立体構造および生化学的側面から解析した。【方法】大腸菌において組換えタンパク質として発現させた Fn1055 を高純度に精製した後、結晶化を行い、X線結晶構造解析を実施した。定常状態における酵素学的解析を行うとともに、ラピッドスキャン分光法により、酵素反応溶液から紫外可視吸収スペクトルを時分割で測定し、定常状態に至るまでの酵素反応を追跡した。【結果と考察】Fn1055はα/βフォールドを持つ2つのドメインからなっており、PLPはこれらにより形成されるチャンネルの底部でLys46とシッフ塩基を形成していた。チャンネルの側面には、本酵素特有のAsp232が見出された。このアミノ酸残基は、β-置換反応に必須であり、生成物であるL-セリンの側鎖を形成する水分子の付加反応において塩基の役割を担うことが分かった。また、この水分子の付加は、反応サイクルにおける律速段階であることが強く示唆された。(会員外共同研究者: 琉球大学理学部 石田哲夫, 岩手医科大学薬学部 野中孝昌)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Structure and reaction mechanism of a unique hydrogen-sulfide producing enzyme Fn1055 from *Fusobacterium nucleatum*

---

○Kezuka Y<sup>1</sup>, Yoshida Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Struct Biol, Iwate Med Univ Sch Pharm

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Aichi Gakuin Univ Sch Dent

---

Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) produced by oral pathogens plays important roles in the pathogenesis of periodontitis. The *fn1055* gene from *Fusobacterium nucleatum* encodes a pyridoxal 5'-phosphate (PLP)-dependent enzyme catalyzing the replacement of the thiol group of L-cysteine with a hydroxyl group to produce H<sub>2</sub>S and L-serine. As an initial step towards understanding the H<sub>2</sub>S-producing mechanism of this bacterium, the structure and the reaction mechanism of this unique enzyme was analyzed. Crystal structure of Fn1055 was determined and refined. Fn1055 has an α/β fold composed of two domains. The PLP cofactor is covalently bound to the ε-amino group of Lys46 at the bottom of channel formed by the domains. Asp232, positioned on the side face of channel, was found to be essential for the catalysis, and was shown to be a base catalyst for the addition of water to yield L-serine. On the basis of the rapid scan spectroscopy results, this addition is likely to be rate limiting of the reaction. Non-member collaborators: Prof. Tetsuo Ishida (University of the Ryukyus), Prof. Takamasa Nonaka (Iwate Medical University)

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-104 *Treponema denticola* 病原因子欠損株における遺伝子発現調節

---

○新居 由紀<sup>1</sup>, 菊池有一郎<sup>2</sup>, 柴山 和子<sup>2</sup>, 国分 栄仁<sup>2</sup>, 新谷 誠康<sup>1</sup>, 石原 和幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東歯大 小児歯

<sup>2</sup>東歯大 微生物

*Treponema denticola* は、慢性歯周炎の病巣より高頻度で分離され、その発症と進行に重要な役割を果たしている。本菌の表層には、major outersheath protein (Msp), Dentilisin が存在し、その病原性に関与している。本研究では、*T. denticola* の Msp と dentilisin の欠損株の遺伝子発現を解析することにより 2 種類の病原因子に関わる遺伝子発現機構を明らかにすることを目的とした。*T. denticola* ATCC 35405 株, Dentilisin および Msp の欠損株 *T. denticola* K6, *T. denticola* DMSP3 を供試した。各菌株を、mid-log phase で集菌後、Total RNA を抽出し、DNA マイクロアレイ解析を行った。また、Msp のタンパクレベルの発現は、SDS-PAGE と Immunoblot により検出した。Dentilisin の活性は、N-succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide を用い測定した。DNA microarray で上昇が認められた遺伝子の確認には、mid-log phase の *T. denticola* から採取した total RNA を用い、リアルタイム qPCR により解析を行った。Dentilisin の欠損株では、*msp* の発現に低下が認められた。これに加え、転写制御因子様遺伝子の上昇が認められた。Msp の欠損株でも、転写制御因子様遺伝子の発現上昇が認められた。転写制御因子様遺伝子の発現は、qRT-PCR によっても確認された。*msp* の発現は、mRNA レベル、タンパクレベルともに低下していた。これらの結果は、Dentilisin の欠損が Msp に影響を与えており、その調節に転写制御因子が関わることを示唆している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Gene regulation in *T. denticola* virulence factor deficient mutant

---

○Arai Y<sup>1</sup>, Kikuchi Y<sup>2</sup>, Shibayama K<sup>2</sup>, Kokubu Y<sup>2</sup>, Shintani S<sup>1</sup>, Ishihara K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

*Treponema denticolais* detected in high frequency from lesion of chronic periodontitis and plays an important role in the onset and progress of the disease. In this study, we intended to investigate gene regulation associated with *msp* and *prtP* expression in *msp*-deficient mutant or dentilisin-deficient mutant of *T. denticola* to clarify regulation of the virulence factors. *T. denticola* ATCC35405, Dentilisin-deficient mutant, K6 and *msp*-deficient mutant, DMSP3 were used in this study. To investigate the gene expression in the mutant, DNA microarray analysis was carried out. In K6 expression of *msp* was significantly decreased. Results of qRT-PCR, SDS-PAGE and immunoblot indicated that these changes were caused at mRNA level. Expression of potential regulator genes, which has DNA binding domain also increased in both mutants. These potential regulators, which were changed in the mutant strains were selected and their expressions were confirmed by qRT-PCR. These data indicated that expression of *msp* was affected by dentilisin via potential regulator with DNA binding domain.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-105 口腔バイオフィルム細菌の増殖・代謝抑制作用を有する天然植物抽出物の探索

○北郡 秀晃<sup>1,2</sup>, 鷲尾 純平<sup>1</sup>, 互野 亮<sup>1,3</sup>, 高橋 信博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生化

<sup>2</sup>小林製薬 中央研

<sup>3</sup>東北大 院歯 口腔システム補綴

【目的】植物には、古くからの薬用や食用の歴史に裏づけされた、安全性を有するものが数多く知られている。これらの中からう蝕や歯周病を引き起こす口腔細菌に対して抑制作用を示すものを見出すことができれば、私たちの口腔の健康維持において安全かつ有用な材料となりうる。そこで本研究では、このような材料を見出すべく、約 60 種の植物抽出物からの探索を実施した。【方法】実験 1：各植物抽出物を 0.1% 添加した液体培地を用いて *Streptococcus mutans* NCTC 10449 (SM) を嫌気培養後、培地の濁度上昇 (増殖) と pH 低下を抑制した植物抽出物を選定した。実験 2：選定した植物抽出物 0.1, 0.01 あるいは 0.001% を添加した培地を用いて SM 及び *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (PG) を嫌気培養し、培地の濁度を経時的に測定することで本抽出物による増殖抑制効果を評価した。実験 3：SM 菌懸濁液に 5 mM グルコースと選定した植物抽出物 0.1, 0.01 あるいは 0.001% 加え、pH 低下を経時的に測定し、本抽出物による糖代謝抑制効果を評価した。【結果及び考察】実験 1：1 種の植物抽出物を選定することができた。実験 2：本抽出物 0.1% 存在下、SM 及び PG の培地の濁度は有意に低値であったことから、本抽出物が SM 及び PG の増殖を抑制することがわかった。実験 3：対照の pH は 6.6 から 4.1 (60 分後) に低下したのに対し、本抽出物 0.1% 存在下では 5.6 (60 分後) と有意に抑制されたことから、本抽出物が SM の糖代謝による酸産生を抑制することが示された。以上の結果から、本植物抽出物が口腔の健康維持に有用な材料となる可能性が見出された。

【利益相反】利益相反状態にあります。

## Screening of natural plant extracts for inhibiting activity against growth and metabolism of oral biofilm bacteria

○Kitagori H<sup>1,2</sup>, Washio J<sup>1</sup>, Tagaino R<sup>1,3</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Central R&D Lab, KOBAYASHI Pharm Co, Ltd.

<sup>3</sup>Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

【Objective】Many natural plant extracts have been used safely as a food or medicine for long time. Natural plant extracts that have antimicrobial activity against oral disease-associated bacteria, may contribute to our oral health. Therefore, this study aimed to find such plant extracts and evaluate their antimicrobial activity.

【Method】Sixty kinds of plant extracts were tested. *Streptococcus mutans* NCTC 10449 (SM) were grown anaerobically in the presence of 0.1% each plant extract, and bacterial growth and culture pH were evaluated for screening. Next, the growth of SM and *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (PG) in the presence of 0.1, 0.01 and 0.001% plant extract selected was evaluated. Moreover, the glucose-induced pH fall activity of SM was also evaluated in the presence of the extract. 【Results and Discussion】One plant extract was confirmed to have antimicrobial activity. The growth of SM and PG were inhibited significantly ( $99.4 \pm 1.0$  and  $61.8 \pm 7.2\%$ , respectively) by 0.1% extract. The pH fall activity was also inhibited significantly by 0.1% extract (The pH change: 6.6 to 4.1 in control group for 60 min, 6.6 to 5.6 in test group). These results suggest that this extract may help to improve the oral health.

【Conflict of Interest】The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

## P2-106 *Porphyromonas gingivalis* の増殖阻害性ペプチド

---

○才木桂太郎, 古西 清司

日歯大 生命歯 微生物

【目的】 歯周病の原因菌であるグラム陰性偏性嫌気性細菌 *Porphyromonas gingivalis* は糖非発酵性であり, エネルギー源としてペプチドのみを利用する. *P. gingivalis* 用の最少培地 GA は唯一の炭素源・窒素源としてウシ血清アルブミン (BSA) とウシ免疫グロブリン G (IgG) をそれぞれ 7.5 と 22.5 mg/ml の濃度で添加されており, *P. gingivalis* は自身が分泌するプロテアーゼ gingipain に依存して GA 培地で増殖する. しかしタンパク質源として BSA (30 mg/ml) のみを添加した最少培地では *P. gingivalis* の増殖が完全に阻害される. これは *P. gingivalis* の増殖を阻害するペプチド断片やアミノ酸配列の存在を示唆する. この様な増殖阻害性ペプチドは抗生物質に代わる新規の歯周病治療薬になる可能性があることからその詳細を検証した. 【方法】 BSA は熱ショック画分製品を用いた. 最少培地 GA や *P. gingivalis* の通常増殖培地であるヘミン・メナジオン添加 brain-heart infusion (BHI) 培地を用いて *P. gingivalis* W83 株の増殖を阻害するタンパク質組成条件を決定した. 【結果】 BSA の *P. gingivalis* に対する増殖阻害活性は, 添加終濃度が 15 mg/ml 以上で阻害する濃度依存性を示したが, 同条件は大腸菌の増殖を阻害しなかった. またこの BSA の阻害活性はトリプシン処理や限外濾過法で低分子を除去しても残存した. 一方, 数種のジペプチド製品を検索して *P. gingivalis* の増殖を阻害するジペプチド Gly-Gln と Ala-Gln (何れも 10~20 mM) を同定した. 【結論】 *P. gingivalis* に増殖阻害を示すペプチドの存在が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

---

## Growth inhibitory peptides for *Porphyromonas gingivalis*

---

○Saiki K, Konishi K

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

*Porphyromonas gingivalis* is a Gram-negative anaerobe, and is considered one of the important etiologic agents of periodontitis. Growth of *P. gingivalis* strictly depends on peptides as the energy source, and its secreted proteases are essential factors for growth. We've developed minimum medium GA, containing a mixture of bovine IgG (22.5 mg/ml) and bovine serum albumin (BSA: 7.5 mg/ml) as a sole energy source. Interestingly, *P. gingivalis* showed maximum growth on the mixture of IgG and BSA as 3:1, but showed no growth on BSA (30 mg/ml) when supplied as a sole energy source. This shows that there would be growth inhibitory peptides derived from BSA. [Materials and methods] Using GA medium and BHI supplemented with hemin and menadione, effects of BSA (heat shock fraction) and peptide on growth of *P. gingivalis* W83 were determined. [Results and conclusion] Growth of *P. gingivalis* was strongly inhibited by more than 15 mg/ml BSA, and the inhibition activity was still existed after BSA was trypsinized or purified by an ultrafiltration. From several peptide products, we identified Gly-Gln and Ala-Gln as *P. gingivalis* growth inhibitors when supplied as 10-20 mM. Therefore, peptides that have growth inhibitory activity against *P. gingivalis* were suggested to be existed.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-107 *Treponema denticola* の iron-sulfur cluster-binding protein 調節遺伝子 (*icbR*) の機能解析

---

○沼田 由美<sup>1</sup>, 柴山 和子<sup>2</sup>, 佐藤 亨<sup>1</sup>, 菊池有一郎<sup>2</sup>, 国分 栄仁<sup>2</sup>, 石原 和幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東歯大 クラウンブリッジ補綴

<sup>2</sup>東歯大 微生物

---

*Treponema denticola* の bacteriocin ABC transporter 様遺伝子 *tepA2* の欠損は, *marR* 様遺伝子の発現上昇およびクロラムフェニコール, オフロキサシンに対する感受性低下をもたらすことが報告されている. MarR は複数の菌種において, 薬剤排出ポンプの調節により薬剤感受性へ関わることを報告されている. 本研究では, *T. denticola* の抗菌薬感受性と遺伝子発現制御における *marR* 様遺伝子 TDE\_0259 の役割を検討することを目的とし, *T. denticola* ATCC 35405 と TDE\_0259 欠損株 NY-7 の薬剤感受性と遺伝子発現を比較した. 薬剤感受性の変化は, 最小発育阻止濃度 (MIC) により評価した. また, TDE\_0259 の上下流遺伝子及び bacteriocin ABC transporter 様遺伝子の発現をリアルタイム qRT-PCR により測定し, さらに DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った. MIC 測定の結果, 欠損株でオフロキサシンに対する MIC が著明に増加した. リアルタイム qRT-PCR の結果, 欠損株で隣接する下流遺伝子 iron-sulfur cluster-binding protein を code する TDE\_0260 の発現に著明な増加が認められ, TDE\_0259 による直接的な制御が示唆された. この機能を踏まえ, TDE\_0259 を *icbR* (iron-sulfur cluster-binding protein regulator) と命名した. さらに *tepA2-B2*, *tepA3-B3* の発現が欠損株で有意に増加したことから, *icbR* は bacteriocin ABC transporter の発現に影響し, 抗菌薬感受性に関与している可能性が考えられた. DNA マイクロアレイでは, *icbR* が下流遺伝子以外の遺伝子発現にも影響を与えていることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Analysis of iron-sulfur cluster-binding protein regulator gene (*icbR*) in *Treponema denticola*

---

○Numata Y<sup>1</sup>, Shibayama K<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>, Kikuchi Y<sup>2</sup>, Kokubu E<sup>2</sup>, Ishihara K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Crown Bridge Prosthodont, Tokyo Dent Coll

<sup>2</sup>Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

---

In *Treponema denticola*, inactivation of *tepA2* increases the expression of *marR*-like gene and decreases susceptibility against chloramphenicol and ofloxacin of the strain. MarR generally acts as a repressor of drug transporters in other microorganisms. The purpose of this study was to investigate the role of the *marR*-like gene, TDE\_0259 on the gene expression in *T. denticola* and the susceptibility of this microorganism against antimicrobial agent. The bacterial strains used in this study were *T. denticola* ATCC 35405 and the TDE\_0259 mutant strain, NY-7. After evaluate the antimicrobial susceptibility, the expression of bacteriocin ABC transporter-like genes and the genes flanking of *marR*-like gene in wild type strain and NY-7 were measured by real-time qRT-PCR. Gene expression profile of each strains also evaluated by DNA microarray. In NY-7, the relative expression of TDE\_0260 (iron-sulfur cluster-binding protein), which located downstream of TDE\_0259, was significantly higher in NY-7 than that in wild type strain. Based on the data we designated the gene as iron-sulfur cluster-binding protein regulator gene (*icbR*). In addition, the expression of *tepA2-A3*, *tepB2-B3* were significantly upregulated. These results indicated that *icbR* to be involved in antimicrobial susceptibility against ofloxacin and it could function as a repressor of iron-sulfur cluster-binding protein.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-108 *Porphyromonas gingivalis* の OmpA 様蛋白質のヒト血清抵抗性への関与**

---

○猪俣 恵, 引頭 毅, 堀江 俊, 村上 幸孝

朝日大 歯 口腔微生物

---

**【目的】**我々は OmpA 様蛋白質 (OmpALP) が *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の主要な糖蛋白質であることを報告した. 本研究では, OmpALP が血清抵抗性に関与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 から 2 種の OmpALP サブユニット遺伝子 (pg0695, pg0694) を欠失させて作製した遺伝子欠損株 ( $\Delta$ 695,  $\Delta$ 694) または両遺伝子の欠損株 ( $\Delta$ 695-694) を用いた. WT または遺伝子欠損株をヒト血清を加えた培地にて嫌気培養後, 600 nm での OD 値, ATP 産生量, 上清中の LPS 量を測定することにより, また膜安定性を SYTO9 および propidium iodide (PI) で染色することにより *Pg* の血清抵抗性を解析した. 各菌株に対するマクロファージの応答は, RAW264.7 細胞のケモカイン等の mRNA をリアルタイム定量 RT-PCR で調べることで解析した. 精製 OmpALP の complement inhibitor C4b-binding protein (C4BP) への結合能は, ELISA にて調べた. **【結果】**WT は血清中で増殖したが, 欠損株は増殖しなかった. 欠損株の ATP 産生量は WT に比べて著しく低く, 一方で培養上清中の LPS 量は WT に比べ高かった. さらに, WT では培養後に PI に染まる菌体を認めなかったが, 欠損株では多くの菌体が染まっており膜安定性が失われていた. 欠損株のケモカイン等の発現誘導活性は WT に比べ有意に上昇していた. OmpALP は C4BP に結合した. **【考察】**OmpALP は C4BP に結合することで *Pg* の血清抵抗性に関与することが示唆された. OmpALP を欠失した場合には溶菌し LPS や DNA などの菌体成分が放出され, その結果 *Pg* への細胞応答が増加すると考えられた.

**【利益相反】**利益相反状態にはありません.

---

## **Involvement of OmpA-like proteins from *Porphyromonas gingivalis* in human serum resistance**

---

○Inomata M, Into T, Horie T, Murakami Y

Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent

---

OmpA-like proteins (OmpALP) are major glycoproteins of *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*). We here report that OmpALP is involved in serum resistance. To examine the serum resistance of *Pg*, *Pg* ATCC 33277 strain (WT) and OmpALP-deficient strains ( $\Delta$ 695,  $\Delta$ 694 and  $\Delta$ 695-694) were anaerobically cultured in media supplemented with human serum, and then the OD value at 600 nm, the amount of ATP, and the amount of LPS in the supernatant were measured, and membrane stability was examined by staining with SYTO9 and propidium iodide (PI). The response of macrophages to each strain was analyzed by measuring chemokine mRNA using qRT-PCR. WT, but not OmpALP-deficient strains, grew in serum. The OmpALP-deficient strain produced less ATP than that of WT. The amount of LPS in the supernatant of the deficient strains was increased compared to that of WT. Bacteria stained with PI were observed in the deficient strains, but not in WT. The deficient strain-induced chemokines were increased as compared with WT. The ELISA results indicated that OmpALP specifically bound to C4BP. These results suggest that OmpALP contributes to serum resistance of *Pg* by binding to C4BP. When OmpALP is deleted, bacterial components are released, which leads to host responses to *Pg*.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P2-109 ブラジル産グリーンプロポリス配合歯磨き粉の口腔環境改善効果**○天野 滋<sup>1</sup>, 松本 勝<sup>2</sup>, 竹下 文章<sup>4</sup>, 大森 喜弘<sup>1</sup>, 安井 利一<sup>3</sup><sup>1</sup>明海大 歯 微生物, <sup>2</sup>明海大 歯 スポーツ歯<sup>3</sup>明海大 歯, <sup>4</sup>大木製薬

プロポリスは、蜜蜂が種々の樹木から集めてきた植物樹脂である。数世紀にわたって民間医療薬として用いられてきた。プロポリスは、抗菌や抗炎症などの作用があることがよく知られている。私達は、ブラジル産グリーンプロポリス(BGP)配合歯磨き粉を作製するための適切な濃度を予測するため、歯周病病原菌(*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*))に対する抗菌活性を再確認した。本研究目的は、口腔環境改善におけるBGP配合歯磨き粉の有効性を評価することである。そのため二重盲検クロスオーバー無作為化プラセボ比較試験を行った。明海大学歯学部学生(48名)を対象に、Plaque Index (PI), Gingival Index (GI), そして舌表面に存在する歯周病病原菌の存在比率の変化を測定することによって、その有効性を検討した。*Pg*, *Fn*, *Aa*に対するBGPのMICを測定したところ、それぞれ39 µg/mL, 156 µg/mL, 156 µg/mLであった。この結果を基に作製されたBGP配合歯磨き粉使用群とプラセボ(BGP非配合歯磨き粉)使用群に対する測定を行い、t検定により検証した。その結果、PIは有意差が得られた( $p < 0.05$ )。しかし、GIはプラセボより比較して減少したが有意差が得られなかった。また、これらの2群の舌表面に存在する総菌数に対する*Pg*, *Fn*, *Aa*の変化率をt検定により検証した。その結果、*Pg*は有意差を持って減少した( $p < 0.01$ )。しかし、*Fn*, 割合の*Aa*はプラセボと比較して有意差が得られなかった。以上から、BGP配合歯磨き粉は、口腔内環境改善と歯周病予防に有用であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。**Effectiveness of toothpaste containing Brazilian green propolis in improving an oral environment**○Amano S<sup>1</sup>, Matumoto M<sup>2</sup>, Takeshita F<sup>4</sup>, Ohmori Y<sup>1</sup>, Yasui T<sup>3</sup><sup>1</sup>Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Sports Dent, Meikai Univ Sch Dent<sup>3</sup>Meikai Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Ohki Pharm CO., LTD.

Propolis is a resinous substance collected by honeybees. It has been used in traditional folk medicine. It is well known that propolis exhibits antimicrobial and anti-inflammatory activities. We redefined the antimicrobial activity of Brazilian green propolis (BGP) against periodontal pathogens (*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*)) for predicting the *in vivo* performance of propolis to form toothpaste. The aim of this study is to evaluate the efficacy of toothpaste containing BGP for improving an oral environment. The randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study was conducted. Plaque Index (PI) score, Gingival Index (GI) score, and the proportions of periodontal pathogens on the tongue surface were assessed in 48 student volunteers at Meikai Univ. Sch. of Dent.. MIC values of BGP against *Pg*, *Fn* and *Aa* were 39 µg/mL, 156 µg/mL, and 156 µg/mL, respectively. Using toothpaste containing BGP resulted in statistically significant reduction in PI score ( $p < 0.05$ ), but not in GI score. In the proportions of periodontal pathogens on the tongue surface, using toothpaste containing BGP resulted in statistically significant reduction in *Pg* ratio ( $p < 0.01$ ) (ratio: *Pg*/Total bacteria), but not in *Fn* and *Aa* ratios. These results suggest that toothpaste containing BGP is useful in improving oral environment and preventing periodontal diseases.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

**P2-110 脂質代謝異常による腸管 Dysbiosis と歯槽骨吸収への影響**


---

○小林 良喜, 落合 智子

日大松戸歯 微生物免疫

我々はすでに *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 菌による歯槽骨の骨吸収に与える影響を BALB/c マウスや動脈硬化自然発症マウス (C. KOR-Apoe<sup>shl</sup>, Apoe<sup>shl</sup>) を用いて検討し、歯槽骨の著しい水平的骨吸収が認められることを報告してきた。そこで、マウスの系統間における口腔内環境の違いを歯肉組織や歯槽骨吸収、さらに生体恒常性の維持・調節を担う腸内環境の違いを腸内細菌叢の構成や腸管免疫機構の動態について比較検討した。本実験では7週齢の Apoe<sup>shl</sup> マウスと BALB/c マウスを用いた。我々が確立した歯周病モデルマウスの実験系を応用し、トレハロース溶液 (0.1 ml/mouse) をマウスの口腔内に15日間連続口腔内投与し、最終口腔内投与から30日後に安楽死させマウスの歯槽骨の水平的骨吸収と歯肉組織の炎症度を検討した。同時に、生体恒常性の維持・調節に関わる腸内環境への影響を検討するために腸内細菌叢と腸管免疫機構について検討した。Apoe<sup>shl</sup> マウスにおいて、著しい歯槽骨の水平的骨吸収と歯肉組織中の TNF- $\alpha$  特異的 mRNA の発現が増大していることが認められた。他方、腸管 CD4<sup>+</sup>T 細胞の動態を検討したところ、Th17 細胞や Treg 細胞は減少しているが IFN- $\gamma$  産生 CD4<sup>+</sup>T 細胞のみ増加していることが認められた。さらに、腸内細菌叢の構成を検討したところ、*Clostridiales* 属、*Akkermansia* 属、*Mucispirillum* 属の比率は増加したが、*Parasutterella* 属は減少していることが T-RFLP 法より認められた。以上の結果から、Apoe<sup>shl</sup> マウスが持つ脂質代謝機能の異常は腸内細菌叢や腸管免疫機構の変調を生じさせるだけでなく、口腔領域にも影響を及ぼし歯槽骨の顕著な水平的骨吸収を生じさせることが認められた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

**Lipid metabolism disorder induces both dysbiosis of Gut Microbiota and alveolar bone loss**


---

○Kobayashi R, Kurita-Ochiai T

Dept Microbiol and Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

We already reported that *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) causes significant alveolar bone loss in BALB/c and apolipoprotein E-deficient, spontaneously hyperlipidemic (C. KOR-Apoe<sup>shl</sup>, Apoe<sup>shl</sup>) mice. This time, we investigated a possible association of the lipid metabolism disorder in gut dysbiosis and periodontal disease between mice strains. Seven-week-old Apoe<sup>shl</sup> and normal BALB/c mice were administered orally 2% carboxymethylcellulose without infection, 15 times over three weeks. Thirty days after the last oral administration, Apoe<sup>shl</sup> mice were significantly increased the alveolar bone loss compared with normal BALB/c mice. Apoe<sup>shl</sup> mice also increased TNF- $\alpha$  specific mRNA in gingival tissue. Further, T-RFLP analysis revealed that the population of *Clostridiales*, *Akkermansia* and *Mucispirillum* were increased but *Parasutterella* was decreased in Apoe<sup>shl</sup> mice. Moreover, only INF- $\gamma$  expressing CD4<sup>+</sup>T cells but not Th17- and Treg-cells were significantly increased in small intestine of these mice. Taken together, lipid metabolism disorder promotes gut dysbiosis with Th1-type responses and activation of the alveolar bone loss

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

**P2-111 ヒト V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞のサイトカインによる活性化機構**○堂前 英資<sup>1</sup>, 合田 征司<sup>2</sup>, 吉川 美弘<sup>1</sup>, 鎌田 愛子<sup>1</sup>, 池尾 隆<sup>1</sup><sup>1</sup>大歯大 生化<sup>2</sup>神歯大 院歯 口腔科学

ヒト V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞は末梢血  $\gamma\delta$ T 細胞サブセットの一つで、リン酸抗原により活性化されることが知られている。われわれは昨年度の歯科基礎医学会学術大会で、窒素含有ビスホスホネートで増幅した V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞が抗原非依存的に IL-12 と IL-18 により活性化されることを報告した。IL-12/IL-18 は V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞による IFN- $\gamma$ , CD25, ICAM-1, granzyme B の発現を亢進させ、IFN- $\gamma$  の発現には I $\kappa$ B $\zeta$  が必要であることを示した。しかしながら CD25, ICAM-1, granzyme B の発現亢進のメカニズムは不明であった。今回、新たに I $\kappa$ B $\zeta$  非依存的な V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞の活性化機構を検討したので報告する。IL-12 と IL-18 を作用させた V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞はそれぞれのサイトカインによりお互いの受容体の発現を亢進させた。この受容体の発現上昇はサイトカインにより活性化されるシグナル伝達を増強し、転写因子 (STAT4 および NF- $\kappa$ B) の活性化時間を延長することが明らかとなった。またこの現象は I $\kappa$ B $\zeta$  をノックダウンした細胞でも観察されたため、I $\kappa$ B $\zeta$  の発現に依存しないことが明らかとなった。以上の結果から IL-12 と IL-18 による共刺激は、I $\kappa$ B $\zeta$  の発現誘導に加え STAT4 と NF- $\kappa$ B の活性化時間の延長という 3 つの経路を介して V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞を活性化することが明らかとなった。次に末梢血から培養を経ずに精製した V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞が IL-12/IL-18 に反応するかを検討した。増幅した V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞と比較するとその強度は弱いものの、PBMC から調整した V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞も IL-12/IL-18 刺激により IFN- $\gamma$  を発現することが明らかとなった。また、CD27 と CD45RA の発現を指標として細胞の分化状態を検討したところ、ナイーブ T 細胞と過去に抗原刺激を受けた細胞は共に、IL-12/IL-18 刺激により IFN- $\gamma$  を発現することが明らかとなった。以上の結果から窒素含有ビスホスホネートにより増幅した細胞に加えて、ナイーブ V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 細胞も IL-12/IL-18 により抗原非依存的に活性化されることが明らかとなった。【利益相反】利益相反状態にはありません。

**Cytokine mediated activation of human V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells**○Domae E<sup>1</sup>, Goda S<sup>2</sup>, Yoshikawa Y<sup>1</sup>, Kamada A<sup>1</sup>, Ikeo T<sup>1</sup><sup>1</sup>Dept Biochem, Osaka Dent Univ<sup>2</sup>Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells predominate in the population of peripheral blood  $\gamma\delta$ T cells and play a key role in immunity against microbial infection and tumors. We previously reported that IL-12 and IL-18 synergistically increase the expression of IFN- $\gamma$ , CD25, ICAM-1 and granzyme B in ex vivo-expanded V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells. We also reported that I $\kappa$ B $\zeta$  is indispensable for the induction of IFN- $\gamma$  but dispensable for the enhanced expression of CD25, ICAM-1 and granzyme B. In this study, we investigated the mechanistic insight for the enhanced expression of CD25, ICAM-1 and granzyme B. The combined treatment of IL-12 and IL-18 reciprocally increased their cell surface receptor expression in V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells. These increased expression of the receptors were associated with prolonged activation of STAT4 and NF- $\kappa$ B. Thus, the combined treatment of IL-12 and IL-18 regulates multiple effector functions of V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells via induction of I $\kappa$ B $\zeta$  and prolonged activation of STAT4 and NF- $\kappa$ B. We also examined whether freshly isolated human V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells also respond to combined exposure to IL-12/IL-18. Both naive and antigen experienced populations of freshly isolated V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells produced IFN- $\gamma$  in response to IL-12/IL-18. Thus, exposure to IL-12/IL-18 activate V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells in an antigen-independent fashion.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-112 歯周病病態形成における免疫制御機構の解明

---

○永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江, 田崎 園子, 池崎晶二郎,  
長 環, 田中 芳彦

福歯大 機能生物 感染生物

歯周病は口腔内の歯周病原細菌が原因となり発症する疾患である。歯周病の病態形成にはヘルパー T 細胞による免疫応答が関与することが知られており、その中でも IL-17 を産生する T 細胞サブセットである Th17 細胞が重要な役割を果たすことが明らかになっている。しかしながら、歯周病において Th17 細胞の分化を誘導する免疫制御機構は分かっていない。本研究では、歯周病原性細菌の抗原性に着目し、歯周病の病態形成における Th17 細胞の制御機構の解明を目的とする。歯周病原性細菌が Th17 細胞への分化を誘導する抗原になると思われるが、その抗原は特定されていない。我々は歯周病原細菌として *Porphyromonas gingivalis* を用い、Th17 細胞誘導を司る *P. gingivalis* の T 細胞エピトープの同定を進めている。これまでに Th17 細胞に誘導する細胞成分を特定しており、さらに逆相 HPLC、二次元電気泳動、プロテオミクス解析により抗原を絞り込んだ。候補となるタンパク質は大腸菌発現系で大量発現させ、精製タンパク質を用いて検証している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Investigation of immune regulatory mechanism in periodontal disease

---

○Nagao J, Narita Y, Arita (Morioka) K, Yasumatsu K, Tasaki S, Ikezaki S, Cho T,  
Tanaka Y

Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease caused by oral pathogenic bacteria that result in tissue inflammation and alveolar bone loss. T helper 17 (Th17) cells have been known to mediate protective immunity as well as pathogenic inflammation. In oral cavity, Th17 cells are key mediator to induce gingival inflammation and to promote alveolar bone loss. However, little is known about the regulatory mechanism to induce Th17 immune response by periodontal pathogens. For example, an antigen of periodontal pathogen and host factors to induce Th17 response remains unknown. In this study, we aimed to identify T-cell epitopes of periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* and host factors to induce Th17 cell differentiation.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-113 肺炎の重症化に伴い誘導される宿主由来エラスターゼの病原性解析

○土門 久哲<sup>1,2</sup>, 前川 知樹<sup>1,2</sup>, 永井 康介<sup>1</sup>, 山口 雅也<sup>3</sup>, 川端 重忠<sup>3</sup>, 寺尾 豊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 微生物

<sup>2</sup>新潟大 院医歯 高口機教研セ

<sup>3</sup>阪大 院歯 口腔細菌

【目的】肺炎球菌性肺炎が重症化すると、多量に遊走した好中球からエラスターゼが放出され、肺組織が傷害を受けると推察されている。この分子メカニズムとして、肺炎球菌由来の毒素であるニューモリシンが好中球の細胞死を誘導し、エラスターゼを漏出させることを明らかにしてきた。しかしながら、エラスターゼが宿主の免疫応答に及ぼす影響については解明されていない。本研究では、マクロファージの炎症性サイトカイン産生および貪食能に及ぼすエラスターゼの作用について解析した。【方法】THP-1をマクロファージ様細胞に分化させ、熱処理した肺炎球菌死菌もしくは大腸菌由来LPSとともに好中球エラスターゼを培地に添加した。一定時間後の炎症性サイトカイン遺伝子転写量をreal-time PCR法にて、培養上清中の炎症性サイトカイン濃度をELISA法にて定量した。次に、好中球エラスターゼ添加群におけるTLRおよびその関連分子の発現をWestern blot法にて、NF- $\kappa$ Bの核内移行を免疫蛍光染色法で解析した。さらに、好中球エラスターゼによる炎症性サイトカインの分解の有無を、Western blot法および蛍光ビーズ抗体を用いたマルチプレックスアッセイにて調べた。【結果】抗原刺激をしたマクロファージに対し、好中球エラスターゼは細胞表面のTLR2およびTLR4/MD2に対して分解作用を示すとともに、NF- $\kappa$ Bの核内移行を抑制した。その結果、IL-6, IL-8, およびTNF- $\alpha$  遺伝子の転写が抑制された。また、好中球エラスターゼは培養上清中の各サイトカイン検出量を有意に低下させた。さらに、IFN- $\gamma$  やMCP-1等のサイトカインに対しても分解作用があること、マクロファージの貪食能も低下させることが明らかとなった。【考察と結論】肺炎球菌のニューモリシンにより好中球から漏出したエラスターゼは、炎症性サイトカインの産生抑制と分解、ならびにマクロファージ貪食能の低下を誘導し、宿主の自然免疫応答を妨げる可能性が示された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Molecular analysis of virulence mechanisms associated with neutrophil elastase in pneumococcal pneumonia

○Domon H<sup>1,2</sup>, Maekawa T<sup>1,2</sup>, Nagai K<sup>1</sup>, Yamaguchi M<sup>3</sup>, Kawabata S<sup>3</sup>, Terao Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>2</sup>Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

<sup>3</sup>Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

**Objectives:** It was suggested that leaked elastase from neutrophils (NE) leads to lung injury in severe pneumonia. Previously, we reported that pneumolysin, pneumococcal pore-forming toxin, induces neutrophilic cell death and subsequent leakage of NE, which eventually disrupts pulmonary epithelial barrier. In the present study, we investigated the effects of NE on phagocytic activity and cytokine production of macrophages. **Methods:** RAW264.7 cells were incubated with NE and phagocytic activity was determined by using phagocytic activity indicator. In addition, cytokine gene expression and protein production in NE-treated THP-1 derived macrophages were evaluated by real-time PCR and ELISA, respectively. We also analyzed the expression of TLRs and MD2 on NE-treated cells by Western blotting. **Results and Discussion:** NE significantly impaired the phagocytic activity in RAW264.7 cells. NE also decreased cytokine gene transcription in THP-1 macrophages and cytokine levels in the culture supernatant. In addition, TLRs and MD2 protein level on NE-treated cells were impaired due to the degradation activity of NE. These results suggest that NE degrades TLRs and MD2 and impairs host innate immune responses. Controlling NE activity in severe pneumonia could represent an attractive therapeutic target for preventing lung injury. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-114 Neutrophil extracellular traps によるヒト血管内皮細胞の Del-1 産生抑制

---

○多田 浩之<sup>1</sup>, 西岡 貴志<sup>2</sup>, 松下 健二<sup>3</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔分子制御

<sup>2</sup>東北大 院歯 口腔診断

<sup>3</sup>国立長寿セ 口腔疾患

---

【緒言】好中球は、細菌および菌体成分の刺激に応じて neutrophil extracellular traps (NETs) を放出する。NETs は好中球に存在するヒストン、DNA、好中球エラスターゼや抗菌タンパクが結合した網状構造物であり、自然免疫における好中球による感染防御機構の一つである。しかしながら、過剰な NETs の産生は種々の炎症性疾患を増悪させることが明らかにされている。血管内皮細胞が産生する developmental endothelial locus-1 (Del-1) は、好中球と血管内皮細胞間の LFA-1 を介した細胞接着を拮抗阻害し、歯周組織における過剰な炎症の誘導を阻止する。本研究は、歯周病関連細菌の一種である *Fusobacterium nucleatum* 感染により好中球から産生された NETs が、血管内皮細胞の Del-1 産生に及ぼす影響について検討した。【方法】ヒト前骨髄球細胞株 HL-60 をレチノイン酸(ATRA)含有 RPMI 1640 培地で分化誘導し、好中球様細胞として供試した。 *F. nucleatum* ATCC 25586 株は tryptic soy broth にて嫌気培養した。 *F. nucleatum* 感染後の ATRA 処理 HL-60 細胞を DNase I で処理し NETs を分離した。 Transwell filter にて培養したヒト血管内皮細胞 (HUVEC) を NETs で刺激後、transmigration assay を行った。また、HUVEC からの Del-1 産生を ELISA 法で測定した。【結果】HUVEC を *F. nucleatum* 感染により ATRA 処理 HL-60 細胞から産生された NETs で刺激すると、HUVEC を介した好中球の細胞外遊走が亢進した。IFN- $\gamma$  刺激による HUVEC からの Del-1 産生亢進は、NETs のプライミングにより抑制された。【考察】歯周病関連細菌の感染により好中球から産生された NETs は、血管内皮細胞の Del-1 ダウンレギュレーションを介して好中球の遊走を促進させる可能性が示唆された。今後、NETs による血管内皮細胞の炎症誘導が、歯周病の病態形成を増悪させる機構について検討を行う。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Neutrophil extracellular traps inhibit Del-1 production by human endothelial cells

---

○Tada H<sup>1</sup>, Nishioka T<sup>2</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG

---

**Objective** Neutrophil extracellular traps (NETs) are extracellular web-like DNA structures, which contain bactericidal substances, such as histone, human neutrophil elastase, and cathelicidin antimicrobial peptide. Endothelial cell-derived developmental endothelial locus-1 (Del-1) acts as a negative regulator of neutrophil extravasation that inhibits LFA-1-dependent adhesion onto the vascular endothelium. We examined the effects of *Fusobacterium nucleatum*-induced NETs stimulation on the induction of Del-1 production by human endothelial cells. **Methods** Human leukemia HL-60 cell line, were induced to differentiate into neutrophil-like cells by treating them with all-trans retinoic acid. *F. nucleatum* ATCC 25586 was cultured anaerobically in tryptic soy broth. HUVEC was grown on a Transwell filter (pore size, 8- $\mu$ m), and treated with NET fragments from *F. nucleatum*-infected ATRA-treated HL-60 cells. Transmigration assay was performed determination of the number of transmigrated neutrophils. Production of Del-1 by HUVEC was analyzed using ELISA. **Results** Stimulation of HUVEC with *F. nucleatum*-infected NET fragments significantly enhanced transendothelial migration of neutrophils. The Del-1 production from HUVEC induced by IFN- $\gamma$  stimulation was down-regulated in NET fragments-primed cells. **Conclusion** *F. nucleatum*-induced NETs might be enhanced neutrophil extravasation for the dependent of attenuation of Del-1 production in endothelial cells. These results suggest that NETs associate with the pathogenesis of periodontal disease.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-115 温度感受性チャネル TRPM5 の機能解析

---

○内田 邦敏<sup>1,2</sup>, 喜多 知<sup>1</sup>, 笠 孝成<sup>1</sup>, 山崎 純<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 細胞分子生物 分子機能

<sup>2</sup>生理研 細胞生理

---

TRPM5 チャネルは他の TRP チャネルとは異なり、1 価の陽イオンの透過性が高くカルシウムなど 2 価の陽イオン非透過性のチャネルである。その発現部位は味細胞、膵臓、脳幹等に局限しており、細胞内カルシウムによって活性化され膜の脱分極を引き起こすことで細胞の興奮性を調節していると考えられている。特に、味細胞において甘みの細胞内情報伝達に関与していることが明らかとなっている。TRPM5 チャネルは細胞内カルシウム以外にもホスファチジルイノシトール 2 リン酸によって活性が調節されることが報告されてはいるが、活性化剤および阻害剤に関する報告は極めて少ないのが現状である。また、2005 年に 15-31°C の温度範囲において温度上昇にともなって TRPM5 チャネル活性が増強されることが報告された。しかし、それ以降、細胞内カルシウム濃度との関係など TRPM5 チャネルの温度依存性に関する詳細な解析はなされていない。そこで、我々は TRPM5 チャネルの特に温度依存性について、主に TRPM5 チャネルを強制発現させた HEK293 細胞を用いたパッチクランプ法並びに精製 TRPM5 チャネルタンパク質を人工脂質二重膜に再構成して電気生理学的に解析する脂質平面膜法を用いて解析を行っている。これまでに、TRPM5 チャネルが温度上昇に伴って活性化される一方で 40°C 近くまで温度を上昇させると不活性化すること、並びに TRPM5 チャネルの電位依存的な不活性化にはタンパク質のポア領域が関与している可能性を見出した。現在、温度依存的な不活性化と電位依存的な不活性化との関連について検討している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Functional analysis of a thermosensitive channel TRPM5

---

○Uchida K<sup>1,2</sup>, Kita T<sup>1</sup>, Ryu T<sup>1</sup>, Yamazaki J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Cell Signal, NIPS

---

Most of transient receptor potential (TRP) channels are non-selective cation channels and widely expressed in mammalian tissues. TRP channels are important for detecting various physical and chemical stimuli in vision, taste, olfaction, hearing, touch, and thermosensation. TRPM5 channel is a Ca<sup>2+</sup>-impermeable monovalent cation channel activated by intracellular Ca<sup>2+</sup>. Expression of this channel is restricted to taste cells, the pancreas and brainstem, and is thought to be involved in controlling membrane potentials. Especially, activation of TRPM5 channel in taste cells potentiates sweet taste signals by depolarizing the cells in the downstream of taste receptor activation that causes increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations through PLC-IP<sub>3</sub> receptor pathway. Although TRPM5 channel is reported to be activated not only by intracellular Ca<sup>2+</sup> but also by PIP<sub>2</sub> and temperature increase from 15 to 31°C, characterization of TRPM5 channel has not been well done. We are analyzing TRPM5 channel by whole-cell patch-clamp recording and reconstitution system. In this presentation, we will show the recent data about unique temperature- and voltage-dependent activation or inactivation of TRPM5 channel.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-116 Regulation of cytokinesis by phospholipase C-related catalytically inactive protein, as a sequestrant of PI(4,5)P<sub>2</sub> in the cleavage furrow**

---

○浅野 智志, 兼松 隆

広大院医歯薬保 細胞分子薬理

---

細胞質分裂とは、細胞が分裂する際に染色体分離に引き続き起こる細胞質が2つに分かれる現象で、細胞質分裂異常は癌の発生に関わることが知られる。Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P<sub>2</sub>]は、細胞質分裂時に分裂溝に集積し、Rho A (Rho-type GTPase)に依存した分裂溝の陥入に必須の分子である。本研究では、PI(4,5)P<sub>2</sub>の分裂溝への集積に PLC-related catalytically inactive protein (PRIP)が必要であることを示す。PRIP をノックダウンした細胞では、furrow regression や細胞質分裂の遅れが観察された。この時、Rho A やリン酸化型 myosin II regulatory light chain (myosin II モーター活性を調節する myosin II サブユニット)の分裂溝への集積量は減少していた。Lowe oculocerebrorenal syndrome protein 1 (OCRL1, inositol polyphosphate 5-phosphatase)は、分裂溝の陥入終了時の PI(4,5)P<sub>2</sub>代謝に関わる酵素の一つである。OCRL1 の過剰発現は分裂溝の PI(4,5)P<sub>2</sub>量を減少させたが、PRIP を共発現させると、この OCRL1 による PI(4,5)P<sub>2</sub>代謝の亢進は抑制された。In vitro co-sedimentation assay の結果、PRIP が OCRL1 と PI(4,5)P<sub>2</sub>の相互作用を抑制することがわかった。これらの結果は、PRIP が分裂溝の PI(4,5)P<sub>2</sub>の安定維持に必要であり、Rho A-signaling 依存的な細胞質分裂の進行に不可欠であることを示唆している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **Regulation of cytokinesis by phospholipase C-related catalytically inactive protein, as a sequestrant of PI(4,5)P<sub>2</sub> in the cleavage furrow**

---

○Asano S, Kanematsu T

Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

---

Cytokinesis is the last step of cell division that physically separates the daughter cells, and cytokinesis failure causes the promotion of tumorigenesis. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P<sub>2</sub>] accumulates at the cleavage furrow and is involved in Rho-type GTPase RhoA-dependent furrow ingression during cytokinesis. Here, we investigate whether PLC-related catalytically inactive protein (PRIP) is involved in the PI(4,5)P<sub>2</sub>-mediated cytokinesis progression. PRIP-knockdown HeLa cells displayed abnormal cytokinesis such as furrow regression and cytokinesis delay compared with control cells. The localization of Rho A at the cleavage furrow was reduced, and the phosphorylation of myosin II regulatory light chain (MRLC), which induces furrow ingression via the activation of myosin II motor activity, was downregulated in the PRIP-knockdown cells. Lowe oculocerebrorenal syndrome protein 1 (OCRL1), an inositol polyphosphate 5-phosphatase, metabolizes PI(4,5)P<sub>2</sub> during a late step in cytokinesis. The overexpression of OCRL1 in HeLa cells decreased PI(4,5)P<sub>2</sub> levels at the cleavage furrow. However, the co-overexpression of PRIP with OCRL1 ameliorated PI(4,5)P<sub>2</sub> levels at the furrow. In vitro co-sedimentation assay, PRIP inhibited the interaction between OCRL1 and PI(4,5)P<sub>2</sub>. Collectively, our results indicate that PRIP maintains PI(4,5)P<sub>2</sub>, a prerequisite molecule at the cleavage furrow for cytokinesis, and regulates Rho A-dependent progression of cytokinesis.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-117 BMPによる骨形成促進を目的とした Smad4 と NF- $\kappa$ B p65 の会合領域の検討

○浦田真梨子<sup>1,2</sup>, 松原 琢磨<sup>2</sup>, 中富 千尋<sup>2</sup>, 平田-土屋 志津<sup>3</sup>, 古株彰一郎<sup>1</sup>, 張 皿<sup>4</sup>, 北村 知昭<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>5</sup>

<sup>1</sup>九歯大 分子情報生化, <sup>2</sup>九歯大 保存, <sup>3</sup>広大院医歯薬保 歯髄生物

<sup>4</sup>九歯大 口腔病態病理, <sup>5</sup>九大 OBT 研究セ

骨誘導因子 Bone Morphogenetic Protein (BMP) は骨補填材として骨欠損部へ臨床応用されているが、期待通りの効果は得られていない。その原因の一つは、炎症時に産生される TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカインが BMP シグナルを阻害するためと考えられる。これまでに我々は TNF $\alpha$  のシグナル伝達分子である NF- $\kappa$ B のメインサブユニットの p65 の TA2 領域が BMP シグナルの伝達分子 Smad4 の MH1 領域と会合し、Smad 複合体の DNA 結合を阻害することで BMP による骨芽細胞分化を抑制することを報告してきた。よって BMP による骨形成を促進するためには NF- $\kappa$ B の阻害が有効だと考えられるが、NF- $\kappa$ B は炎症反応や免疫応答など様々な生命現象を調節しているため、長期の阻害剤の投与は生体に重篤な副作用を引き起こす可能性がある。そこで今回、Smad4 の NF- $\kappa$ B 結合領域に競合的に結合して、NF- $\kappa$ B の機能を完全に失うことなく BMP の骨誘導作用を増強する創薬を目的とし、Smad4 と p65 の結合領域の詳細な検討を行った。His-MH1 (19-138) および 2 種類の欠変異体タンパク質、His-MH1 (19-105) と His-MH1 (19-68) を用いて、GST-TA2 と Pull-down assay を行ったところ、GST-TA2 は His-MH1 (19-138)、His-MH1 (19-105) と結合するのに対し、His-MH1 (19-68) との結合は認められなかった。すなわち、p65-TA2 は Smad4-MH1 の 69 番目から 105 番目までの領域と結合することが明らかとなった。今後、この Smad4-MH1 s69-105 の領域を標的とした BMP による骨形成を促進するペプチドを作製しその効果を検討する。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Identification of the binding region of NF- $\kappa$ B/p65 p65 on Smad4 for enhance BMP-induced bone formation

○Urata M<sup>1,2</sup>, Matsubara T<sup>2</sup>, Nakatomi C<sup>2</sup>, Hirata-Tsuchiya S<sup>3</sup>, Kokabu S<sup>1</sup>, Zhang M<sup>4</sup>, Kitamura C<sup>2</sup>, Jimi E<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

<sup>2</sup>Div Endodont Restorative Dent, Kyushu Dent Univ

<sup>3</sup>Dept Biol Endod, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

<sup>4</sup>Div Pathol, Kyushu Dent Univ

<sup>5</sup>OBT Lab, Kyushu Univ

Bone morphogenetic proteins (BMPs) induce ectopic bone formation and osteoblast differentiation. However, clinical application of BMPs has been limited because inflammation reduces the osteoinductive effect of BMPs, e. t. c. We recently reported that TNF $\alpha$  reduces the effect of BMP and main subunit of NF- $\kappa$ B p65 inhibits BMP signaling by blocking the DNA binding of Smad complex via an interaction with Smad4. Here, we determined the binding region of p65 on Smad4 to develop the peptide that enhances BMP-induced osteoblastogenesis by competitively blocking the binding of p65 on Smad4. To examine critical domain of MH1 in the interaction with TA2, we synthesized His-tagged Smad4-MH1 mutant proteins, His-MH1 (19-105) and His-MH1 (1-68). GST pull down assay revealed that GST-TA2 binds to His-MH1 (1-138) and His-MH1 (1-105), but not His-MH1 (1-68), indicating that p65-TA2 directly binds Smad4-MH1 from 69 to 105. Inhibition of NF- $\kappa$ B signaling is considered to be beneficial for bone formation. However, mice deficient in p65 are embryonic lethal, suggesting that the inhibition of NF- $\kappa$ B results in life-compromising side effects. Thus, the interaction domain of Smad4 and NF- $\kappa$ B may be a novel therapeutic target for diseases accompanied by bone loss by inducing high bone mass with BMP with less severe side effects. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-118 Wntによるスフェロイド培養細胞への骨分化誘導効果

---

○利光 拓也<sup>1,2</sup>, 小島 寛<sup>2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>1</sup>, 大野 純<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 再生医セ

<sup>2</sup>福歯大 成長発達 障害歯

【目的】再生療法に用いる細胞の分化効率を向上させるためには、三次元培養などの細胞培養の工夫が必要とされている。スフェロイド培養法は *in vitro* における細胞分化の誘導促進が報告されている。しかしながら、生体での良好な再生を得るためには、適切な因子の補助が必要であると考えられる。最近の研究から、Wnt/ $\beta$ カテニンによる骨分化経路が注目されている。本研究では、スフェロイド培養法での骨分化誘導に対する Wnt の影響を検索した。

【方法】ヒト歯根膜幹細胞 (HPLSC) を低接着性プレートで培養し、スフェロイドを形成した。形成されたスフェロイド体を通常プレートに再播種して、Wnt 添加あるいは非添加の骨分化誘導剤添加培地にて骨分化の誘導を行った。コントロールには、平面培養細胞を用いた。骨分化誘導効果は、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性および染色、骨分化関連因子 (osterix, Runx-2 など) 発現により評価した。

【結果】非接着性プレートでの培養により、各ウェルに1個のスフェロイド形成を認めた。スフェロイドの大きさは、プレートへの細胞播種数に依存していた。ALP 活性および染色性は、Wnt 非添加スフェロイド細胞群および平面培養群と比較して、Wnt 添加したスフェロイド細胞群で有意に亢進した。添加スフェロイド細胞群においては、osterix および Runx-2 発現の亢進が免疫細胞染色および Western blotting 検索により明らかとなった。

【結論】以上の結果から、Wnt はスフェロイド培養 HPLSC 細胞の骨分化誘導を促進することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Wnt facilitates osteogenic differentiation of stem cells in spheroid culture

---

○Toshimitu T<sup>1,2</sup>, Kojima H<sup>2</sup>, Kajiya H<sup>1</sup>, Ohno J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Res Cent Regen Med, Fukuoka Dent Coll

<sup>2</sup>Div Dent Disabled, Fukuoka Dent Coll

【Purpose】To clarify an effect of Wnt on the osteogenic differentiation, we examined ALP activity and staining and protein and mRNA expression of osteogenesis-related factors in cells cultured in spheroid or monolayer.

【Methods】Human periodontal ligament stem cells (HPLSC) were cultured in DMEM containing 10% FBS. Ultra low-binding plates were used to generate a spheroid formation of HPLSC. Cells in spheroid or monolayer culture were stimulated with or without Wnt.

【Results】Size of spheroids was dependent on the number of disseminated cells in the low-binding plate. Upregulation of alkaline phosphatase activity and staining was observed in spheroid cells treated with Wnt, compared with spheroid cells without Wnt and monolayer cells. Expression of osteogenic factors (Osterix and Runx-2) was also elevated in spheroid cells with Wnt.

【Conclusion】Adding Wnt can facilitate the osteogenic differentiation of HPLSC cells in spheroid culture.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-119 白血球の OPZ 貪食時の細胞内顆粒の flavocytochrome b558 (Ce) と myeloperoxidase (N) に関する走査型透過電顕 (EDS-STEM) による元素の数値化解析

---

○盛口 敬一, 本田 雅規

愛院大 歯 口腔解剖

---

ヒト多形核白血球 (PMN) がオプソニン化サイモザン (OPZ) 貪食時に, NADPH オキシダーゼが活性化されて起こる局在性の変化を, 生成する過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) とミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性を続けて検出し, EDS-STEM にて元素分析とさらに検出元素の数値化を試み, 追跡することを目的とした. Ficoll-Hypaque 法にて健康成人の末梢血より PMN を分離した. Ce 塩法 (0.1M トリスマレイン酸塩緩衝液 pH7.5, 1mM  $CeCl_3$ , 10mM  $NaN_3$ , 0.1% ブドウ糖, 0.25M ショ糖) による  $H_2O_2$  検出の後, 2% グルタルアルデヒド固定 (1 時間) を行なった. さらに続けて DAB による MPO 検出 (0.1% DAB, 0.01%  $H_2O_2$ , 0.1M リン酸緩衝液) を行なった. 分析電顕による元素分析のため, オスミウム後固定を行わず脱水, 樹脂包埋の後, 超薄切片を作製し分析電顕観察を行なった. その結果, 通常電顕観察で, OPZ 貪食 PMN の食胞膜に電子密度の高い沈殿とさらに大小さまざまな顆粒の存在と融合像が観察された. 次にそれらの顆粒について元素分析をすると共に各元素のピーク値について eKV を底辺, カウント数を高さとして, 表面積を算出した. N の値が低く Ce の値が高い顆粒は Borregaard ら (1993) の secretory vesicle であり, 逆に N 値が高く Ce 値が低い顆粒はアズール顆粒であることが明らかとなった.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Independent trafficking of flavocytochrome b558 and MPO and to phagosomes during phagocytosis visualized by elemental quantification of EDS-STEM

---

○Moriguchi K, Honda M

Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

---

When polymorphonuclear leukocytes (PMNs) perform opsonized zymosan particles (OPZ) phagocytosis, free radicals, reactive oxygen (ROS) is formed in the phagosomes. The ROS production is mediated by NADPH oxidase (Nox), which transfers electrons in converting oxygen to superoxide ( $O_2^-$ ).  $O_2^-$  production by Nox is rapidly converted other ROSs. It is known that there are free radical-forming secretory vesicles which include Nox main component flavocytochrome b558, a membrane protein, and azurophil granules with packaged MPO. Presuming the probable fusion of these vesicular and granular organelles with the phagosomes, the translation process of the enzymes was investigated by energy dispersive spectroscopy—scanning transmission electron microscopy. In this work, the primary cerium (Ce) method for imaging Ce ions were demonstrated the localization of generated  $H_2O_2$  from phagocytosing PMN. The MPO activity of same PMN was continuously demonstrated by a DAB method, peroxidase activity consisting 0.1% DAB and 0.01%  $H_2O_2$ . A detailed view shows the digitized triangle surface area of each granular structure and cytoplasm for the N, P and Ce elemental peaks. It appeared, therefore, that the secretory vesicles and the azurophil granules fused with the phagosomes independently and that Nox was redistributed on the phagosomal membrane together with MPO within the phagosomal lumen.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-120 Histamine 処理血管内皮細胞の間隙拡張に対する dexmedetomidine の抑制作用について

---

○戸円 智幸<sup>1</sup>, 深田 哲也<sup>1</sup>, 橋本 修一<sup>2</sup>, 砂田 勝久<sup>3</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 共同利用研セ アイソトープ研究施設

<sup>2</sup>日歯大 生命歯

<sup>3</sup>日歯大 生命歯 麻酔

---

【目的】血管内皮細胞間の間隙は、アドヘレンスジャンクションを構成する VE-cadherin によって調節され、血管透過性を制御していると考えられている。これまでに、我々は histamine (HIS) で誘発されたラット足浮腫形成やヒト臍帯血管内皮細胞 (HUVEC) の透過性が、dexmedetomidine (DEX) によって抑制されると共に、血管内皮細胞型 NO 合成酵素 (eNOS) のリン酸化も抑制されることを報告した。今回、我々は DEX がアデニル酸シクラーゼ抑制系であるアドレナリン  $\alpha 2$  受容体のアゴニストであることから、HUVEC 上の  $\alpha 2$  受容体について検索した。【方法】HUVEC は低濃度血清 (2% V/V) 培地を用いて培養し、サブコンフルエントの状態に細胞を回収した後、western blotting により  $\alpha 2$  受容体の検索を行った。 $\alpha 2$  受容体遺伝子の発現については RT-PCR 法で確認した。一方、細胞間隙については、HUVEC をコンフルエントにした後更に 1 週間培養し、HIS および DEX を添加し、抗 VE-cadherin 抗体、抗  $\alpha 2$  受容体抗体および蛍光標識二次抗体を用いてカドヘリンおよび  $\alpha 2$  受容体を染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察、評価した。【結果と考察】Western blotting および RT-PCR 法により HUVEC に  $\alpha 2$  受容体が存在することを確認した。一方、HUVEC に HIS を添加し、抗 VE-cadherin 抗体で観察すると細胞の間隙の拡張が認められた。またこの HIS による作用は DEX を添加することにより抑制された。これらの結果から細胞内 cAMP を介して内皮細胞間の接着が制御されている可能性が考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effects of dexmedetomidine on the intercellular space of human umbilical vein endothelial cells treated with histamine

---

○Toen T<sup>1</sup>, Fukada T<sup>1</sup>, Hashimoto S<sup>2</sup>, Sunada K<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sect Radioisotopes Res, Res Cent for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>2</sup>Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<sup>3</sup>Dept Dent Anesthesiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

---

【Purpose】It has been thought that the adhesion of vascular endothelial (VE) cells is regulated by the VE-cadherin which composes adherens junction and controls the blood vessel permeability. We have reported that both the rat foot edema formation and the increment of permeability of the human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) layer induced with histamine (HIS) were inhibited by dexmedetomidine (DEX). Furthermore DEX suppressed the phosphorylation of endothelium type NO synthase. In this study, we investigated adrenalin  $\alpha 2$  receptors in HUVECs, so DEX is agonist of  $\alpha 2$  receptors that has an adenylate cyclase inhibitory system. 【Method】Adrenalin  $\alpha 2$  receptors in HUVECs were observed by western blotting using anti- $\alpha 2$  receptor antibodies. The expression of  $\alpha 2$  receptor was analyzed with RT-PCR. VE-cadherin on HUVECs treated with HIS or DEX were analyzed immunohistochemically using a confocal microscope. 【Results and conclusion】The presence of  $\alpha 2$  receptors in HUVECs were detected by both western blotting and RT-PCR methods. The intercellular space of HUVECs treated with HIS were expanded. On the other hand, this effect by HIS was depressed by DEX. These results suggest the possibility that the intracellular cAMP is concerned in regulation of endothelial cells junctions.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-121 TNF- $\alpha$ はヒトマクロファージ様細胞の細胞外小胞の分泌を促進する

---

○鍵谷 忠慶

岩医大 歯 機能形態

【目的】 演者は、これまでマクロファージが生理的状态で特定の microRNA を含む細胞外小胞を分泌することを報告してきた。本研究では、炎症反応で重要な TNF- $\alpha$  に注目し、TNF- $\alpha$  がマクロファージ由来の細胞外小胞へ与える影響について解析した。

【方法】 THP-1 細胞を PMA 存在下で 3 日間培養して、マクロファージ様細胞に分化させた。TNF- $\alpha$  存在下、および非存在下で更に 3 日間培養し、培養上清を回収した。1,400 $\times$ g で 5 分間遠心後、200-nm pore size filter でろ過し、得られた培養上清中の細胞外小胞の直径と粒子数を NanoSight で計測した。また、培養上清を ExoQuick-TC で処理し細胞外小胞のペレットを回収し、RNA を抽出してマイクロアレイ法およびリアルタイム RT-PCR 法で microRNA の発現を解析した。

【結果】 TNF- $\alpha$  非存在下では、粒子径平均値は 133nm、モード値 117nm、TNF- $\alpha$  存在下では、粒子径平均値は 136nm、モード値 117nm であった。粒子数については、それぞれ  $2.99 \times 10^8$  個/mL、 $4.07 \times 10^8$  個/mL であった。また microRNA については、解析した 1,222 種類のうち、100 種類が 2 倍以上の発現変動を示した。特に、miR-146a、miR-378、let-7b、miR-16、miR-21、および miR-670 については、TNF- $\alpha$  刺激で有意に発現が上昇した。

【考察】 TNF- $\alpha$  はマクロファージの細胞外小胞の分泌を促進させて、細胞外小胞内の microRNA 発現プロファイルを変化させることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## TNF-alpha promotes secretion of extracellular vesicles by human macrophage-like cells

---

○Kagiya T

Div Func Mor, Iwate Med Univ Sch Dent

TNF-alpha, one of the most important inflammatory cytokines, is involved in various diseases, including periodontal disease, rheumatoid arthritis, and cancer. Recently, we and other researchers reported that microRNAs are present in extracellular vesicles (EVs), including exosomes, and that they function in other cells. Although TNF-alpha plays crucial roles in various diseases, its effect on macrophage EVs is unknown. THP-1, a human monocytic cell line, was cultured in the presence of PMA to promote differentiation into macrophage-like cells. The cells were then cultured in medium with or without TNF-alpha in the absence of PMA. The conditioned medium was harvested, and the number and size of EVs in the medium were determined by using a NanoSight. The medium was then treated with ExoQuick-TC to collect EV pellets and isolate RNA. Although TNF-alpha did not affect EV size, it increased the number of EVs. Of the 1,222 microRNAs investigated by microarray analysis, 100 differed by more than 2-fold between untreated and TNF-alpha-treated EVs of macrophage-like cells. Notably, miR-146a, miR-378, let-7b, miR-16, miR-21, and miR-670 were significantly upregulated. These results suggest that TNF-alpha promotes the secretion of EVs by macrophages, and that it alters the expression profile of microRNAs in EVs.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## **P2-122 低出力レーザー照射が血管内皮細胞の活性酸素と活性酸素消去酵素に与える影響**

---

○茂呂祐利子, 原田 卓哉

奥羽大 歯 放射線診断

---

**【目的】** 活性酸素はフリーラジカル的一种であり, 活性酸素合成酵素より合成され, 活性酸素消去酵素によって消去される. 今回我々は, 低出力レーザー照射が血管内皮細胞の活性酸素合成酵素と消去酵素に影響を及ぼすのかどうかについて検討し, 低出力レーザーの血管内皮細胞に対する抗炎症効果について調査した.

**【方法】** 血管内皮細胞を培養し, 培地にリポポリサッカライドを添加したもの(LPS 添加群)としないもの(control 群)にわけ, それぞれ低出力レーザーを照射した. 24 時間後の NADPH オキシダーゼ活性, Mn-SOD, ニトロチロシンを測定した. また, それぞれの血管内皮細胞における発現を免疫染色法にて観察した.

**【結果】** NADPH オキシダーゼ活性は control 群ではレーザー照射により活性が上昇するが, LPS 添加群では変化はなかった. Nox-1 は control 群ではレーザー照射により発現が増強するが, LPS 投与群では変化はなかった. Nox-2 は control 群, LPS 投与群ともにレーザー照射により発現が増強した. Nox-4 は control 群, LPS 投与群ともに変化がなかった. Mn-SOD は control 群では発現は変化しないが, LPS 添加群ではレーザー照射により発現が減少した. ニトロチロシンは control 群, LPS 投与群ともに変化がなかった.

**【考察】** 低出力レーザー照射には抗炎症作用があるという事実から, 我々は活性酸素合成量の減少あるいは活性酸素消去酵素の増加があるかもしれないと考えたが, 非炎症時において活性酸素合成量は増加するものの, 消去酵素は変化がなかった. また, 炎症時において活性酸素合成量は変化せず, 消去酵素は減少する結果となった. したがって, 低出力レーザーの抗炎症効果には, 活性酸素合成・消去酵素による制御機構以外の因子が関与するのではないかと推測された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## **Influence of low-energy laser irradiation on ROS and scavenging enzyme in endothelial cells**

---

○Moro Y, Harada T

Div Radiol Diag, Ohu Univ Sch Dent

---

In this study, we investigated the influence of low-energy laser irradiation on reactive oxygen and scavenging enzyme in vascular endothelial cells, and analyzed control of free radicals by and the anti-inflammatory effect of low-energy laser on vascular endothelial cells. Based on the fact that low-energy laser irradiation has an anti-inflammatory action, we hypothesized that reactive oxygen synthesis decreases or reactive oxygen-scavenging enzyme increases, but actually, reactive oxygen synthesis increased in the non-inflammatory state but the scavenging enzyme level did not change. In the inflammatory state, reactive oxygen synthesis did not change and the scavenging enzyme decreased. Therefore, it was assumed that the anti-inflammatory effect of low-energy laser is involved in the free radical control system but it has only a small direct influence on enzyme synthesis, and factors other than the control system involving synthetic and scavenging enzymes are closely involved.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-123 明海大学歯科医学総合研究所(M-RIO)の設立—有害作用の少ない口腔疾患治療薬の開発をめざして

---

○坂上 宏<sup>1</sup>, 友村美根子<sup>1,2,3</sup>, 増田 宜子<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯科医学総合研, <sup>2</sup>明海大 総合教育セ

<sup>3</sup>明海大 歯 生化, <sup>4</sup>明海大 歯 保存治療

---

【目的】明海大学歯科医学総合研究所(M-RIO)は、歯学部に2017年4月に設立された産学連携の研究所であり、口腔疾患治療薬の開発を目指している。これまでの研究の多くは、化学療法係数(いわゆる安全域)を基準にした評価法を用いておらず、副作用に関する情報が少なかった。この点を克服するために、我々は、化学療法係数を用いた評価系を導入し、副作用の少ない効果的な薬剤の開発を進めている。これまでに得られた成果を報告する。【方法】抗腫瘍活性は、ヒト口腔扁平上皮癌細胞(OSCC)と口腔正常細胞に対する腫瘍選択性(TS値)により定量化した。骨形成度は、骨芽細胞の成熟分化させる能力と破骨細胞の成熟分化を抑える能力の比率で評価した。抗菌活性は、細菌に対する選択毒性を、口腔正常細胞に対する傷害性で割り、定量化した。【結果】多くの抗癌剤は、TS値は高いものの、増殖因子存在下で増殖している口腔ケラチノサイトに対して高い傷害性を示した。これに対して、ステイリルクロモン誘導体は、高いTS値と弱い副作用を示した。クマザサ葉アルカリ抽出液が、骨形成促進効果を与えた。マスティックの抗菌活性は、*n*-hexaneによる洗浄を取り入れることにより、比活性が上昇した。【考察】口腔疾患治療薬の開発においては、薬効と同時に口腔組織に対する傷害性も同時に検討すること、そして、生薬成分のモチーフに種々の官能基を導入して、QSAR解析を利用して、その効果を検証してゆくプロセスが重要であると思われる。

【利益相反】利益相反状態にあります。

---

## Meikai University Research Institute of Odontology searches for anti-oral diseases agents with lower adverse effects

---

○Sakagami H<sup>1</sup>, Tomomura M<sup>1,2,3</sup>, Masuda Y<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Meikai Univ Res Inst Odont, <sup>2</sup>Integrated Educ Cent, Meikai Univ

<sup>3</sup>Div Biochem, Meikai Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Div Oper Dent Ther, Meikai Univ Sch Dent

---

(**Purpose**) We have established Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO) on April (2017), to search for anti-oral diseases substances. Most of previous studies have not used chemotherapeutic indexes (i. e., safety margin) to evaluate the pharmacological activity, providing very few information of adverse effects. To overcome this problem, we have introduced the evaluation method based on the chemotherapeutic indexes. This study reports our recent progress. (**Methods**) Antitumor activity was evaluated by the relative cytotoxicity against human oral malignant and non-malignant cells. Bone forming activity was evaluated by both the stimulation of osteoblast maturation and the inhibition of osteoclast maturation. Anti-bacterial activity was evaluated by the ratio of the inhibition of bacterial cell growth to that of normal oral cells. (**Results**) Many anticancer drugs showed excellent TS value, but also potentially damaged the normal oral keratinocyte. Alkaline extract of bamboo leaf showed potent osteoblast formation. Antibacterial activity of mastic was enhanced by prewashing with *n*-hexane and ethyl acetate extraction. (**Conclusion**) In order to explore anti-oral disease drugs, it is important to assess both pharmacological efficacy and side-effects, and introducing various functional groups into the motif of active components, with the help of QSAR analysis.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest associated with this manuscript.

---

---

## **P2-124 骨の健康維持を助ける食品素材のスクリーニングと作用機序の解析**

---

○柿原 嘉人, 中田 樹里, 佐伯万騎男

新潟大 院医歯 歯科薬理

健康な骨は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成によって、リモデリングされ維持されている。しかしながら、骨粗鬆症をはじめとする骨代謝疾患では、そのバランスが崩れ、骨形成に異常が生じる。骨粗鬆症患者数は年々増加傾向にあり、日本の総人口の約1割に達すると見積もられている。骨の健康を維持するために、タンパク質、カルシウム、ビタミンD、ビタミンKなどの摂取が推奨されているが、本研究では、骨代謝を活性化させる新規な食品素材を見出すことを目的とし、骨形成を担う骨芽細胞の分化を促進する食品素材サンプルのスクリーニングを行った。植物、微生物、魚由来など様々な食品素材から水溶性抽出液を調製し、マウス頭蓋骨由来前駆骨芽細胞 MC3T3-E1 によるカルシウム沈着を促進するサンプルをスクリーニングした。約200サンプル中、2割について、カルシウム沈着促進効果が見られ、その程度によってクラス分けを行った。その中から、いくつかのサンプルについて、骨芽細胞分化マーカーの発現解析とI型コラーゲンや細胞骨格因子の免疫蛍光染色を行ったところ、それぞれの食品素材抽出液で骨芽細胞分化関連因子の異なる挙動が観察された。また、そらのサンプルについて、前駆破骨細胞 RAW264.7 の破骨細胞分化への影響も検討したので、併せて報告する。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## **The screening of physiologically-functional ingredients that maintain bone health and its analysis of the functional mechanism**

---

○Kakihara Y, Nakata J, Saeki M

Dept Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Healthy bone is maintained by bone remodeling which is performed by osteoclast and osteoblast. However, if the proper balance between bone resorption and formation was lost, metabolic bone diseases such as osteoporosis and osteopetorosis are caused. In Japan, the number of the osteoporosis patients is currently estimated about 10% of the total population. To maintain the healthy bone, it is recommended to take proteins, calcium, vitamin D, and vitamin K, etc. Other than the basic nutrients, it would be nice to have functional ingredients which keeps bone healthy in our daily life. In this study, we screened various food extracts derived from plants, microorganisms, and fish for activating osteoblastogenesis. We evaluated their activity by mineralization stained by alizarin red. We screened about 200 samples and identified that 20% of the samples increased the calcification. We focused some of the hits and analyzed the expression and cellular localization of osteoblastogenesis-related proteins by Western blotting and immunofluorescence. Intriguingly, each extract different effect on the osteoblastic markers. We also determined the effect of the extracts on osteoclastic differentiation. Currently, we are analyzing the function of the samples in vivo by using ovariectomized (ovx) rat model.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-125 骨芽細胞に取り込まれた bisphosphonates はリソソームに集積する

---

○田島 雅道

明海大 歯 薬理

【目的】 Bisphosphonates (BPs) 投与患者の一部に、抜歯後の顎骨壊死が発症しているが、その機序は未だ不明で有効な治療法も確立されていない。BPs は骨芽細胞内へ取り込まれた後に細胞障害が引き起こされる。その機序を明らかにする目的で、BPs の細胞内の動態について解析を行った。

【方法】 骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用いて、BPs の細胞障害機序を調べた。細胞増殖活性は WST-8 測定により評価した。BPs の細胞内取り込みは蛍光標識した pamidronate を用いた。ナトリウム依存性リン酸トランスポーター (Pit-1, Pit-2) は、免疫染色と siRNA で評価した。ミトコンドリア膜電位変化は JC-1 で、細胞内活性酸素 (ROS) は CM-H<sub>2</sub>-DCFDA で測定し、酸化ストレスによる ROS 生成の応答性を評価した。アポトーシスは CellEvent caspase 3/7 を用いて評価した。

【結果】 BPs による MC3T3-E1 細胞の障害は濃度依存的であった。BPs の細胞内取り込みは siPit-1 処理では影響が認められなかったが、siPit-2 処理によって BPs の細胞内取り込みは顕著に阻害された。取り込まれた BPs はリソソームに集積された。一方、ミトコンドリア膜電位の上昇と ROS 生成応答が抑制されていた。最終的には caspase 3 を活性化した。【考察】 BPs は骨芽細胞の Pit-2 を介して細胞内に取り込まれた後に、リソソームに集積することによりアポトーシスを引き起こしている可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Bisphosphonates taken into osteoblast cells are accumulated in their lysosomes

---

○Tajima M

Div Pharmacol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

Extracting teeth of patients treated with bisphosphonates (BPs) occasionally induces the necrosis of jaw, but the cause of disease is still unclear. Bisphosphonates taken into osteoblast cells induce the cytotoxicity finally. In the present study, we investigated the movement of BPs in osteoblasts to clarify the mechanism of cell death. MC3T3-E1 cells were used as osteoblastic cells. The uptake of BPs into cells was observed by fluorescent pamidronate. The sodium-dependent inorganic phosphate transporters (Pit-1 and Pit-2) were evaluated by immunofluorescence assay and RNA interference. Membrane potential of mitochondria was observed using JC-1. The intracellular reactive oxygen species (ROS) was evaluated by CM-H<sub>2</sub>-DCFDA. Apoptosis was evaluated by CellEvent caspase 3/7. BPs induced the cell damage in dose-dependent manner. The uptake of BPs into cells was markedly decreased by siPit-2 but not siPit-1. Bisphosphonates taken into osteoblast cells were accumulated in their lysosomes. On the other hands, BPs increased the membrane potential of mitochondria, and suppressed the productive response of intracellular ROS induced by oxidative stress. Finally, caspase 3 was activated and cell death was induced. These results suggest that BPs taken into cells by Pit-2 may induce the apoptosis through inhibiting lysosome function.

**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

---

---

## P2-126 ヒト歯肉線維芽細胞においてフェニトインは IL-1 $\alpha$ による mitogen-activated protein kinase の活性化を増強する

---

○松本 裕子<sup>1</sup>, 竹内 麗理<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 薬理

<sup>2</sup>日大松戸歯 生化

---

**【目的】** 抗てんかん薬であるフェニトイン (PHT) によって歯肉肥厚が発症することが報告されている。本研究では PHT による歯肉肥厚の発症機序の解明を目的として、歯肉由来培養線維芽細胞 (hGFs) を用いて細胞増殖能および interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) によって誘導される mitogen-activated protein kinase (MAPK) のリン酸化と転写因子の発現に対する PHT の影響について報告する。【実験方法】 hGFs は ScienCell Research Laboratories より得た。hGFs を semi-confluence になるまで培養した後、PHT と IL-1 $\alpha$  を単独または併用にて培養液中に添加し、1, 6, 24, 96 時間、37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下にて培養した。細胞増殖能は Vi-CELL Reagent Pak と Vi-CELLTM XR Cell Viability Analyser を用いて測定した。p38 MAPK, p44/42 MAPK, ATF-2, ETS-1 の発現とリン酸化については Western blot 法を用いて測定した。【結果】 IL-1 $\alpha$  単独に比較して PHT と IL-1 $\alpha$  を併用して作用させることにより細胞生存率は増加した。IL-1 $\alpha$  は p38 MAPK, p44/42 MAPK のリン酸化と ETS-1 の発現を誘導した。PHT は IL-1 $\alpha$  によって誘導された p38 MAPK, p44/42 MAPK のリン酸化と ATF-2, ETS-1 の発現を亢進した。【結論】 本研究の結果から、PHT による歯肉肥厚の発症には PHT と炎症性因子の相互作用が重要な役割を果たしていることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Phenytoin enhance interleukin-1 $\alpha$ -induced mitogen-activated protein kinase activation in human gingival fibroblasts

---

○Matsumoto H<sup>1</sup>, Takeuchi R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

<sup>2</sup>Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

**Purpose:** Gingival overgrowth is caused in response to the antiepileptic drug, phenytoin (PHT). The present study investigated the effect of PHT on mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphorylation and transcription factor expression induced by Interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) in human gingival fibroblasts (hGFs) to clarify the mechanism of PHT-induced gingival overgrowth. **Materials & Methods:** Cultured hGFs were purchased from ScienCell Research Laboratories. hGFs were cultured to semi-confluence and treated with PHT and/or IL-1 $\alpha$  for 1, 6, 24, and 96 hours. The cell proliferation assay was performed with Vi-CELL Reagent Pak and the Vi-CELLTM XR Cell Viability Analyser. The expression and phosphorylation of p38 MAPK, p44/42 MAPK, ATF-2, and ETS-1 were measured by Western blot analysis. **Results & Conclusion:** A combination of PHT and IL-1 $\alpha$  showed greater cell viability than IL-1 $\alpha$  alone in hGFs. IL-1 $\alpha$  increased phosphorylation of p38 MAPK and p44/42 MAPK, and expression of ETS-1. PHT enhanced IL-1 $\alpha$ -induced phosphorylation of p38 MAPK and p44/42 MAPK, and expression of ATF-2 and ETS-1 in hGFs. These results suggest that the interaction between PHT and gingival inflammation might play an important role in the pathogenesis of PHT-induced gingival overgrowth.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-127 真武湯および人參湯の抗炎症作用メカニズムの検討

---

○荒 敏昭, 十川 紀夫

松歯大 歯科薬理

【目的】 これまでに我々は漢方薬（葛根湯，小柴胡湯，半夏瀉心湯，黄連湯）がヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）を *Porphyromonas gingivalis* 由来の LPS で刺激した際に産生されるプロスタグランジン (PG)<sub>E2</sub> 量を低下させること，およびそのメカニズムを報告してきた。漢方薬は患者の体質である『証』によって処方する漢方薬を決定するが，これまで報告した漢方薬は『実証』および『中間証』に対するものであった。そこで今回『虚証』に対する漢方薬を使用して同様に抗炎症作用のメカニズムを検討した。また，これらの漢方薬を構成する生薬を使用して PGE<sub>2</sub> を低下させる生薬を解析した。

【方法】 HGFs は歯周病治療時の切除歯肉から分離・培養した。真武湯，人參湯は株式会社ツムラの医療用製剤を，生薬は株式会社ツムラから供与されたものを使用した。漢方薬および生薬は，細胞培養用培地に懸濁し，遠心分離後に上清をろ過滅菌したものを使用した。PGE<sub>2</sub> 量は ELISA によって測定した。アラキドン酸カスケード関与する分子の発現はウェスタンブロット法で検討した。

【結果および考察】 真武湯および人參湯は LPS 刺激による PGE<sub>2</sub> 産生量を濃度依存的に減少させた。両漢方薬ともシクロオキシゲナーゼ (COX) 活性およびアラキドン酸カスケードに関与する分子の発現に影響を及ぼさなかった。両漢方薬を構成する生薬のうち，生姜（真武湯の成分），乾姜および甘草（人參湯の成分）が PGE<sub>2</sub> 産生量を低下させた。しかし，生姜および乾姜はアラキドン酸カスケードの分子発現に影響を及ぼさなかった。

以上の結果から，生姜および乾姜はホスホリパーゼ (PL)<sub>A2</sub> 活性を阻害することによって PGE<sub>2</sub> 産生量を低下させることが示唆された。生姜あるいは乾姜を含む漢方薬は炎症性疾患に対して有効であると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## The mechanism of antiinflammatory effect of shinbuto and ninjinto

---

○Ara T, Sogawa N

Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

Previously, we revealed that several kampo medicines (kakkonto, shosaikoto, hangeshashinto, and orento) decreased prostaglandin (PG)<sub>E2</sub>, which is one of the major inflammatory chemical mediator, by LPS-treated human gingival fibroblasts (HGFs). Currently, we examined other kampo medicines (shinbuto and ninjinto), which are also used for the treatment of inflammatory diseases, and the herbs which construct these kampo medicines using the same experimental model.

Both shinbuto and ninjinto concentration-dependently decreased LPS-induced PGE<sub>2</sub> production by HGFs. Both kampo medicines did not alter cyclooxygenase (COX) activities and the expressions of molecules involved in arachidonic acid cascade. Next, we examined which herbs constructing both kampo medicines decrease LPS-induced PGE<sub>2</sub> production. Among these herbs, shokyo (*Zingiberis Rhizoma*) and kankyo (*Zingiberis Processum Rhizoma*) strongly and concentration-dependently decreased LPS-induced PGE<sub>2</sub> production. However, both shokyo and kankyo did not alter the expressions of molecules involved in arachidonic acid cascade. These results suggest that shokyo and kankyo suppress phospholipase (PL)<sub>A2</sub> activity. Moreover, kampo medicines which contain shokyo or kankyo are considered to be effective for the treatment of the inflammatory diseases.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-128 18 $\alpha$ -グリチルレチン酸を用いた歯肉増殖症の治療に関する基礎研究

---

○竹内 麗理<sup>1</sup>, 松本 裕子<sup>2</sup>, 平塚 浩一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 生化

<sup>2</sup>日大松戸歯 薬理

【緒言】歯肉増殖症は咀嚼障害や審美障害を引き起こし、現在有効な治療法が確立されていない疾患である。この疾患は、歯肉線維芽細胞がアポトーシス能低下により過度に増殖することで生じる。18 $\alpha$ -グリチルレチン酸はチトクローム C によるアポトーシスを誘導し細胞増殖を抑制する効果をもつ。そこで我々は、歯肉線維芽細胞の治療法開発を目的に、その基礎研究として、歯肉線維芽細胞を用いてアポトーシス制御因子に対する 18 $\alpha$ -グリチルレチン酸の効果を検討した。

【方法】歯肉線維芽細胞はニフェジピン歯肉増殖症患者の歯肉から得て、セミコンフルエントまで培養し、10  $\mu$ M 18 $\alpha$ -グリチルレチン酸で刺激した。刺激 24 時間後にアポトーシス制御タンパク質の発現をウエスタンブロット法にて、カスパーゼ活性を ELISA 法にて測定した。さらに刺激 48 時間後には、吸光度による相対的なアポトーシス細胞数を測定した。【結果および考察】18 $\alpha$ -グリチルレチン酸はアポトーシス誘導タンパク質カスパーゼ 3、カスパーゼ 9 およびチトクローム C の発現を亢進し、アポトーシス抑制タンパク質 Bcl-xL および Bcl-2 の発現を低下することで歯肉線維芽細胞のアポトーシスを誘導した。本研究から、18 $\alpha$ -グリチルレチン酸のニフェジピン歯肉増殖症の治療への応用が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Treatment of gingival overgrowth using 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid

---

○Takeuchi R<sup>1</sup>, Matsumoto H<sup>2</sup>, Hiratsuka H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

<sup>2</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Gingival overgrowth is an oral disease that is detrimental to oral function and facial appearance. The drug therapy for this disease has not been established even now. It has been reported that the mechanism of gingival overgrowth was an increased proliferation and a decreased apoptosis in the gingival fibroblasts. 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid (18 $\alpha$ -GA) inhibits the cell proliferation via the induction of apoptosis followed by cytochrome c. In this study, we investigated the effects of 18 $\alpha$ -GA on the apoptosis regulators in gingival fibroblasts to establish the basis of a pharmacotherapy for the gingival overgrowth.

Gingival fibroblasts were isolated from patients who presented with the gingival overgrowth as the result of nifedipine treatment. Semi-confluent cells were cultured in medium containing 1% serum with/without 10  $\mu$ M 18 $\alpha$ -GA. At 24 h after treatment, the apoptotic protein levels were measured by the western blotting, and also the level of caspase activity was assessed by the ELISA. At 48 h after treatment, the relative apoptotic cell numbers were measured by the absorptiometry.

18 $\alpha$ -GA significantly increased the number of apoptotic cells via an increased caspases-3, -9 and cytosolic cytochrome c, and decreased Bcl-xL and Bcl-2. 18 $\alpha$ -GA may be used as a pharmacotherapy for nifedipine-induced gingival overgrowth.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-129 ドキソルビシンのヒト正常口腔ケラチノサイトに対する細胞毒性およびポリフェノール併用の影響

---

○生 宏<sup>1,2</sup>, 小川 徹<sup>2</sup>, 庭野 吉己<sup>3</sup>, 佐々木啓一<sup>2</sup>, 立花 克郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福岡大 医 解剖

<sup>2</sup>東北大 院歯 口腔システム補綴

<sup>3</sup>東北大 院歯 生体適合性計測工学

---

〔目的〕口腔扁平上皮癌の治療に使われているドキソルビシン (DOX) は、ヒト口腔由来正常ケラチノサイト (HOK) に対して口腔扁平上皮癌細胞と同程度に傷害を与えることが報告されている。本研究は、DOX 誘発性の細胞傷害を軽減する方法を探索することを目的として、レスベラトロール (RSV), 没食子酸エピガロカテキン (EGCG), タンニン酸 (TA) の3種のポリフェノールのドキソルビシン誘発性細胞毒性に対する影響について比較・検討した。〔方法〕HOK を 37°C, 5% CO<sub>2</sub> で 48 時間培養後、各種濃度の DOX と 3 種のポリフェノールを単独あるいは併用で加え、さらに 48 時間培養後の細胞増殖および細胞死の解析をそれぞれ MTT アッセイ法および annexin v と propidium iodide の二重染色細胞を Tali イメージベースサイトメトリーで検出することにより行った。〔結果および考察〕既報の通り、HOK の生存率は、DOX 濃度依存的に減少した。供試した 3 種のポリフェノールのうち、RSV と DOX の併用では細胞毒性は RSV 濃度依存的に増強された。EGCG の併用では、低濃度 DOX の場合は、細胞毒性は EGCG 濃度依存的に増強されたが、高濃度 DOX の場合は、EGCG により細胞毒性は軽減された。TA の併用では、DOX 濃度に関わらず、ほぼ一定の細胞生存率を示し、かつ TA 濃度依存的に細胞生存率は高かった。細胞死の解析では、RSV の併用はアポトーシスを増加、EGCG および TA の併用は、ネクローシスを減少させるとともにアポトーシスを増加させるという結果が得られた。3 種のポリフェノールに共通するアポトーシスの増加は、ポリフェノールの酸化を介した細胞内活性酸素の上昇により、EGCG および TA によるネクローシスの減少は、DOX の細胞内への取込阻害によるという仮説を立てており、今後の検討課題とする。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effects of polyphenols on doxorubicin-induced cytotoxicity in normal human oral keratinocytes

---

○Sheng H<sup>1,2</sup>, Ogawa T<sup>2</sup>, Niwano Y<sup>3</sup>, Sasaki K<sup>2</sup>, Tachibana K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat, Fukuoka Univ Sch Med

<sup>2</sup>Dept Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>3</sup>Lab Redox Regulation, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

A number of studies have shown that doxorubicin (DOX) was highly cytotoxic to normal human oral keratinocytes. Resveratrol (RSV), epigallocatechin gallate (EGCG) and tannic acid (TA) are polyphenolic compounds found in dietary sources and have many biological effects. In this study, we examined the effects of the three polyphenols on DOX-induced keratinocyte cytotoxicity. RSV augmented cytotoxic effect of DOX in a concentration dependent manner. EGCG amplified cytotoxicity induced by lower DOX concentrations whilst attenuated that induced by higher DOX concentrations. Regardless of DOX concentrations, almost similar cell viability was obtained by the combination use of TA, and became higher with TA concentrations. Cell death analysis revealed that RSV increased apoptosis without changes in necrosis, while EGCG and TA decreased necrosis with increases in apoptosis. As for increases in apoptosis, which was in common with the three polyphenols might be attributable to increased intracellular reactive oxygen species (ROS) induced by oxidation of the polyphenols. Regarding decreases in necrosis by combination use of EGCG or TA, we hypothesized that DOX incorporation into the cells would be inhibited. Involvement of intracellular ROS and inhibition of DOX uptake will be further examined.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

---

## P2-130 Metallothionein-4 のグルココルチコイド応答領域

---

○今村 泰弘<sup>1</sup>, 十川 千春<sup>2</sup>, 荒 敏昭<sup>1</sup>, 十川 紀夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯科薬理

<sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理

---

金属結合蛋白質 metallothionein (MT)は、さまざまな刺激で発現誘導され、微量元素の恒常性維持や重金属毒性軽減、酸化ストレス防御などに関与する低分子量蛋白質である。MT アイソフォームの1つであるMT-4は扁平上皮に特異的に発現することが報告されており、分布特異的な機能の存在が想定されるが、その生理的意義は未だ明らかになっていない。今回われわれは、MT-4の生理的機能を明らかにする一助として、HeLa細胞でグルココルチコイドによるMT-4誘導について検討し、若干の知見を得たので報告する。ヒトMT-4プロモーター領域1.5Kbに2つのグルココルチコイド応答配列(GRE)の存在が示唆されたため、これらGREのグルココルチコイドに対する応答をレポーターアッセイで検討した。上流GREと下流GREを共に含むプロモーター領域1.5Kbにコルチコステロン(CORT)あるいはデキサメタゾン(DEX)によるルシフェラーゼ活性の増加が認められた。しかし、下流GREを含む0.8KbにはCORTあるいはDEXによるルシフェラーゼ活性の増加は認められず、下流GREを含む1.1Kb、および上流GRE相当部を削除した改変プロモーター領域1.5Kbにも、CORTによるルシフェラーゼ活性の増加は認められなかった。一方、CORT刺激および未刺激の細胞核抽出物を用い、GRE結合蛋白質についてゲルシフトアッセイで解析したところ、CORT刺激では未刺激と比べ、GRE結合蛋白質は増加した。また、抗体を用いたスーパーシフトアッセイから、この結合蛋白質はグルココルチコイド受容体であることが確認された。以上の結果より、MT-4はグルココルチコイドで発現誘導され、グルココルチコイド応答に上流GREが必要であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Glucocorticoid responsive region of metallothionein-4

---

○Imamura Y<sup>1</sup>, Sogawa C<sup>2</sup>, Ara T<sup>1</sup>, Sogawa N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

<sup>2</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Metallothionein (MT), is induced by various stimuli and is associated with the maintenance of trace element homeostasis, detoxification of heavy metal, and so on. It has been reported that one of the MT isoforms, MT-4, is expressed specifically in squamous epithelium. Although the distribution-specific functions have been suggested, the physiological significance has been unrevealed. As we found two glucocorticoid responsive elements (GREs) in 1.5k bases of human MT-4 promotor region, we investigated the response of GRE to glucocorticoid in Hela cells by reporter assay. Increase in luciferase activity either by corticosterone or dexamethasone was observed in cells transfected with the vector holding 1.5K bases of promotor region containing both upstream and downstream GRE. However, some modified fragments containing only the downstream GRE did not show the increase of luciferase activity in response to corticosterone or dexamethasone stimulation. Moreover, the gel shift assay using the nuclear extract from the cells with or without corticosterone stimulation and the super-shift assay using anti-glucocorticoid receptor antibody showed the increase of glucocorticoid receptor in response to glucocorticoid stimulation. The results suggest that the gene expression of MT-4 was induced by glucocorticoid, and the upstream GRE was necessary for the response to glucocorticoid.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

---

## P2-131 テトラヒドロビオプテリンの尿中排出への有機陰イオン輸送体, OAT1 と OAT3, の関与

○大橋 晶子, 内藤 昌子, 高橋 富久

日大 歯 解剖 1

テトラヒドロビオプテリン(BH4)はセロトニン, ドーパミン, ノルアドレナリンの合成, 脂肪酸代謝, 一酸化窒素合成に必須な補酵素である. 通常 BH4 は生体内において自家合成されている. BH4 反応性フェニルケトン尿症や先天性の BH4 欠損症に対しては BH4 製剤が処方される. 投与された BH4 の殆どが尿中へ排出されるため, BH4 補充療法は概算必要量の数十倍を要する. これまで私たちは, 1) 投与量の大部分が数時間以内に尿中へ排出されること, 2) 尿中への BH4 排出は糸球体濾過の他に輸送体による経細胞的な尿細管への分泌排出があること, 3) この分泌排出にはプロベネシド(PBC)感受性の輸送体が関与することを示した. また, 核酸輸送体である ENT1, ENT2 が BH4 輸送能を持つことを報告した. 本研究では, BH4 の尿中排出に関わる PBC 感受性の輸送体として, 有機陰イオン輸送体である OAT1 と OAT3 を候補とし, これら輸送体をブタ腎臓近位尿細管上皮由来株化細胞 LLC-PK1 に強制発現させ, BH4 輸送能を観察した. LLC-PK1 細胞の内在性 BH4 輸送活性は, 約 20 nL/(h・4×10<sup>4</sup>cells)程度であった. この輸送は PBC 非感受性であり, OAT1 または OAT3 の基質によって競合的に阻害されなかった. このことから, 非導入 LLC-PK1 細胞で観察された BH4 輸送は OAT 以外の輸送体, おそらく ENT1 および ENT2 であると考えられた. これに対して, OAT1, または OAT3 を強制発現させた LLC-PK1 細胞の BH4 輸送活性はそれぞれ, 約 120, 80 nL/(h・4×10<sup>4</sup>cells)に上昇し, この BH4 輸送は PBC, および OAT1 または OAT3 の基質によって有意に阻害された. これらの結果から, OAT1-, OAT3- LLC-PK1 細胞で観察された BH4 輸送は OAT1, OAT3 によるものであり, OAT は BH4 輸送能をもつことが示唆された. さらに, ラット腎スライスを用いた BH4 輸送は PBC と OAT の基質によって約 80% (P<0.01)が阻害されたことから, OAT が腎尿細管における BH4 の経細胞性の分泌排出に関与していることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

### Rapid clearance of supplemented tetrahydrobiopterin is driven by organic anion transporters, OAT1 and OAT3

○Ohashi A, Naito M, Takahashi T

Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent

Tetrahydrobiopterin (BH4) is an essential coenzyme for phenylalanine metabolism. Synthetic BH4 is an orphan drug for PKU and BH4 deficiency. The BH4 dosage is several hundred greater than estimated synthesis. We previously demonstrated that 1) the exogenous BH4 were rapidly excluded to the urine, 2) the process involved secretion across renal tubular epithelium, distinct from glomerular filtration, 3) this secretion was driven by probenecid-sensitive transporter(s). Although we previously reported that ENT1 and ENT2 were capable of transporting BH4, they seemed to be inappropriate as the responsible transporter in this role. Here, we focused on OAT1 and OAT3 as the candidates for the probenecid-sensitive transporter. We examined BH4 uptake using LLC-PK1 cells of renal epithelial origin. The naive LLC-PK1 cells were endogenously capable of BH4 uptake by a manner as if it were mediated by ENT1 and ENT2. rOAT1 or rOAT3 transfected LLC-PK1 cells were vigorously took up BH4 by probenecid-sensitive manner. In the other experiment using rat kidney slices, their BH4 uptake was virtually inhibited by probenecid and OAT substrates. These result strongly suggested that trans-cellular BH4 secretion across renal tubular epithelium was mediated by OAT1 and OAT3.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interests.

The 59th Annual Meeting of  
Japanese Association for Oral Biology  
September 16 – September 18, 2017  
Matsumoto Dental University, JAPAN



**JAOB** JAPANESE ASSOCIATION FOR  
ORAL BIOLOGY since 1958

**Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 1** (September 17, 14 : 20–15 : 20)

PL-1

Wnt signaling in cortical and trabecular bone: Complex cellular and receptor–ligand interactions

Baron R, Nagano K, Gori F

Harvard Sch Med and Dent Med and Massachusetts Gen Hosp

**Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 2** (September 17, 15 : 30–16 : 30)

PL-2

Innate immunity and inflammation

Akira S<sup>1,2</sup>, Satoh T<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>WPI Immunol Frontier Res Cent, Osaka Univ, <sup>2</sup>Res Inst for Microb Dis, Osaka Univ

**Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner** (September 17, 16 : 40–17 : 40)

L-1

Regulatory mechanisms of orofacial sensation in the insular cortex

Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

L-2

Clarification of alveolar bone remodeling mechanism based on Wnt signal

Kobayashi Y

Matsumoto Dent Univ, Inst Oral Sci

**JAOB/Rising Members Award Winner** (September 18, 13 : 10–14 : 00)

Y-1

TGF- $\beta$ 1 autocrine signaling and enamel matrix components

Kobayashi S<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Asada Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Y-2

Functional analysis of sialidase from *Streptococcus agalactiae* based on molecular phylogenetics

Yamaguchi M

Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Y-3

Possible involvement of saturated fatty acids in pathogenesis of periodontitis

Shikama Y<sup>1</sup>, Kudo Y<sup>2</sup>, Ishimaru N<sup>2</sup>, Funaki M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Dis Res, Natl Cent Geriatr Gerontol, <sup>2</sup>Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>3</sup>Clin Res Cent for Diabetes, Tokushima Univ Hosp

Y-4

Shh/Ptch and EGF/ErbB signals cooperatively regulate branching morphogenesis of fetal mouse submandibular glands

Mizukoshi K

Dept Pharmacol Asahi Univ Sch Dent

**Symposium of JAOB** (September 17, 9 : 00–11 : 00)

KS-1

Novel insights in the pathogenesis and drug development for Alzheimer disease

Tomita T

Lab Neuropathol and Neurosci, Grad Sch Pharm Sci, Univ Tokyo

KS-2

The role of infection and inflammation in Alzheimer's disease

Teeling JL

Biol Sci, Fac Nat and Environ Sci, Univ Southampton

KS-3

Critical roles of cathepsins in linking between periodontal disease and Alzheimer's disease

Zhou Wu<sup>1,2</sup>, Nakanishi H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

**KBDSSA and JAOB Joint Symposium (September 17, 9 : 00-11 : 00)**

"The control of odontoblast differentiation and dentin-pulp complex formation"

JKS-1

Pulpal healing mechanism after exogenous tooth injuries and characteristics of dental pulp stem cells

Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

JKS-2

Role of CPNE7 in odontoblast differentiation and dentin formation

Park J-C

Dept Oral Histol-Dev Biol, Sch Dent, Seoul Natl Univ

JKS-3

Calcium signaling in odontogenic differentiation and reparative dentin regeneration

Kim RH

The Shapiro Family Laboratory of Viral Oncol and Aging Res UCLA Sch Dent

JKS-4

Odontoblast differentiation and Wnt signaling : Basis for the biomimetic regeneration of dentin

Yamashiro T

Dept Orthodont Dentofac Orthop, Grad Sch Dent, Osaka Univ

**Most Advanced Dental School Symposium (September 17, 16 : 40-17 : 50)**

MAS-1

Transcriptional regulation of endochondral bone development

Hata H, Takahata Y, Murakami T, Nishimura R

Dept Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent

MAS-2

Genome-scale understanding of gene regulatory landscape during skeletal formation

Ohba S

Dept Clin Biotech, CDBIM, Univ Tokyo Grad Sch Med

MAS-3

Analysis of contribution of bone marrow mesenchymal stem cells on bone metabolism

Mizoguchi T

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

MAS-4

Scx/Sox9 positive progenitors contribute to enthesis formation

Yoshimoto Y<sup>1</sup>, Takimoto A<sup>2</sup>, Hiraki Y<sup>2</sup>, Shukunami C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Mol Biochem, Basic Life Sci, Inst Biomed Health Sci, Hiroshima Univ, <sup>2</sup>Inst for frontier Life and Med Sci, Cellular Differentiation, Kyoto Univ

**Symposium of Science Council of Japan (September 18, 10 : 00-12 : 00)**

CS-1

Development of innovative medical technology based on integrated understanding of both protection and destruction of articular cartilage homeostasis

Nishimura R

Dept Mol Cell Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent

CS-2

Approach for the elucidation of the pathogenicity of oral microbiome

Yamashita Y

Sect Prev Dent, Div Oral Health, Growth and Dev, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

CS-3

Molecular pathogenesis of autoimmunity through environmental factors—A new etiology of autoimmune disease—

Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

CS-4

Application of X-ray related elemental analyses for the estimation of biomaterials and the diagnosis of biological tissues

Uo M

Dept Adv Biomater, Tokyo Med Dent Univ

**Main Symposium A (September 17, 9 : 00-11 : 00)**

MSA-1

Development of therapeutic drugs for fibrodysplasia ossificans progressiva based on pathophysiological research

Katagiri T

Div Pathophysiol, Res Cent for Genomic Med, Saitama Med Univ

MSA-2

Discovery of an osteoclast differentiation factor, RANKL

Yasuda H

Nagahama Inst for Biochem Sci, Oriental Yeast Co., Ltd.

MSA-3

Molecular pathogenesis of hypophosphatasia and therapeutic advance

Michigami T

Dept Bone and Mineral Res, Res Inst, Osaka Women's and Children's Hosp, Osaka Pref Hosp Organ

MSA-4

The development of a new FGF-2 medicine for periodontal regeneration (REGROTH®)—It began with a chanceful idea and a doubtful sense—

Kitamura M, Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

**Main Symposium B (September 18, 9 : 00-11 : 00)**

MSB-1

Basic research: Future directions to restore salivary gland hypofunction

Melvin JE<sup>1</sup>, Mukaibo T<sup>1,2</sup>, Kondo Y<sup>2</sup> and Nakamoto T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Secretory Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst Dent Craniofac Res, Natl Inst Health, <sup>2</sup>Dept

Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Prosthodont, Matsumoto Dent Univ

MSB-2

Regenerative medicine for salivary gland hypofunction

Mishima K

Div Oral Pathol, Showa Univ Sch Dent

MSB-3

Receptor-mediated salivary secretions and hyper activations in submandibular glands : Regulation of Ca<sup>2+</sup> responses and gene expressions

Tanimura A<sup>1</sup>, Nezu A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

### **Main Symposium C (September 18, 9 : 00-11 : 00)**

MSC-1

Microbial metabolites shape host immunity

Hase K<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fac Pharm Sci, Keio Univ, <sup>2</sup>Int R&D Cent for Mucosal Vaccine, The Inst of Med Sci, Univ Tokyo

MSC-2

Gut microbiota and colorectal cancer

Yamamoto M, Matsumoto S

Basic Res Dept, Yakult Central Inst

MSC-3

Diet-commensal interaction in the control of health and diseases

Kunisawa J<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>Natl Inst Biomed Innov, Health and Nutr (NIBIOHN), <sup>2</sup>Grad Sch Med, Grad Sch Pharm Sci, Grad Sch Dent, Osaka Univ, <sup>3</sup>Kobe Univ, Grad Sch Med, <sup>4</sup>Inst Med Sci, The Univ of Tokyo

### **Main Symposium D (September 18, 13 : 10-15 : 10)**

MSD-1

How to control the cupsal patterning ; epithelial morphogenesis

Li L<sup>1</sup>, Tang Q<sup>1</sup>, Nakamura T<sup>2</sup>, Ohshima H<sup>3</sup>, Jung HS<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Div in Anat and Dev Biol, Dept Oral Biol, Oral Sci Res Cent, BK21 PLUS Project, Yonsei Univ Coll of Dent, <sup>2</sup>Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Dept Tissue Regen Reconstruct, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup>Oral Biosci, Fac Dent, The Univ of Hong Kong

MSD-2

Cellular dynamics and molecular regulatory mechanism of Hertwig's epithelial root sheath during tooth root and periodontal tissue formation

Otsu K, Fujiwara N, Harada H

Iwate Med Univ Sch Dent, Div Dev Bio Reg Med

MSD-3

Mechanism of lung branching morphogenesis

Miura T

Dept Anat Cell Biol, Kyushu Univ Grad Sch Med Sci

MSD-4

Regenerative approach of salivary gland by drug repurposing

Sakai T

Dept of Oral-facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent

MSD-5

Generating functional organoids self-organized from human embryonic stem cells: the next generation of organoids

Akutsu H<sup>1</sup>, Okazaki T<sup>2</sup>, Umezawa A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Natl Res Inst for Child Health and Dev, Cent for Regen Med, <sup>2</sup>Dai Nippon Printing Co.

### **Main Symposium E (September 18, 13 : 10-15 : 10)**

MSE-1

Recent topics on the significance of keratins during amelogenesis

Ohshima H

Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

MSE-2

Identification of keratin 75 in developing enamel

Yamakoshi Y<sup>1</sup>, Chiba R<sup>1</sup>, Yamamoto R<sup>1</sup>, Saito MM<sup>1</sup>, Karakida T<sup>1</sup>, Nishikawa S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ, <sup>2</sup>Dept Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

MSE-3

FAM83H maintains the cell structure of ameloblasts by properly organizing the keratin cytoskeleton

Kuga T<sup>1</sup>, Sasaki M<sup>2</sup>, Suzuki O<sup>2</sup>, Nakayama Y<sup>3</sup>, Tomonaga T<sup>4</sup>, Yamagishi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab Anal Biomol, Fac Pharm Sci, Setsunan Univ, <sup>2</sup>Lab Anim Models Hum Dis, Natl Inst Biomed Innov Health Nutr, <sup>3</sup>Dept Biochem Mol Biol, Kyoto Pharm Univ, <sup>4</sup>Lab Proteome Res, Natl Inst Biomed Innov Health Nutr

MSE-4

*Msx2* deficiency transforms the dental outer enamel epithelium to skin and causes enamel dysplasia

Nakatomi M

Div Anat, Kyushu Dent Univ

MSE-5

Sox21 induces ameloblast differentiation and plays an important role for suppression of keratinization, epithelization

Saito K, Fukumoto S

Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

### **Main Symposium F (September 18, 13 : 10-15 : 10)**

MSF-1

Important role of osteoprotegerin in bone remodeling

Udagawa N

Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

MSF-2

Role of RANKL in the coupling process

Honma M<sup>1</sup>, Ikebuchi Y<sup>1</sup>, Hayashi M<sup>1</sup>, Aoki K<sup>2</sup>, Kariya Y<sup>1</sup>, Suzuki H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharma, the Univ of Tokyo Hosp, <sup>2</sup>Basic Oral Health Engin, Tokyo Med Dent Univ

MSF-3

Role of metabolic reprogramming in osteoclast differentiation

Nishikawa K

IFReC, Osaka Univ

MSF-4

The effect of W9 on osteoblast differentiation via RANKL

Furuya Y, Yasuda H

Nagahama Inst for Biochem Sci Oriental Yeast Co., Ltd.

MSF-5

Advantages of genetically modified medaka fish for study of bone

Chatani M<sup>1</sup>, Kudo A<sup>1,2</sup>, Takami M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ, <sup>2</sup>Tokyo Inst Technol

### **Update Symposium 1 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US1-1

Therapeutic effect of nanogel-based delivery of soluble FGFR2 with S252W mutation on craniosynostosis

Moriyama K

Dept Maxillofac Orthognath, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US1-2

Initiative on rare and undiagnosed diseases

Kosaki K

Keio Univ Sch Med

US1-3

Pathophysiological study of CCR5, a therapeutic target of HIV transmission, in bone using mice genetics

Iimura T<sup>1,2,3</sup>, Lee J-W<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bio-Imaging, PROS, Ehime Univ, <sup>2</sup>Analytical Bio-Medicine, ADRES, Ehime Univ, <sup>3</sup>Grad Sch Med, Ehime Univ

US1-4

Approaches on pathophysiological mechanism of jaw bone disease with iPS cells

Azuma T<sup>1</sup>, Onodera S<sup>1,2,4</sup>, Saito A<sup>1,4</sup>, Nakamura T<sup>1,4</sup>, Ohba S<sup>2</sup>, Kosaki K<sup>3</sup>, Yamaguchi A<sup>4</sup>, Sueishi K<sup>5</sup>, Shibahara T<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Cent for Dis Biol and Integrative Med The Univ of Tokyo, <sup>3</sup>Cent for Med Genet, Sch Med Keio Univ, <sup>4</sup>Oral Health Sci Cent Tokyo Dent Coll, <sup>5</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop Tokyo Dent Coll, <sup>6</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Dent Coll

### **Update Symposium 2 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US2-1

Altered salivary gland function in a mouse model of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia

Mukaibo T<sup>1,2</sup>, Melvin JE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Secretory Mechanisms and Dysfunction Section, Natl Inst Dent Craniofac Res, Natl Inst Health, <sup>2</sup>Dept of Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ

US2-2

The rate-limiting activities for anion secretion from acinar and duct cells in salivary glands

Sugita M, Ueno K, Kitagawa M, Shiba Y, Hirono C

Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

US2-3

Involvement of MARCKS phosphorylation and translocation in protein secretion in exocrine glands

Satoh K<sup>1</sup>, Kashimata M<sup>1</sup>, Seo Y<sup>2</sup>, Sugiya H<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Regul Physiol, Dokkyo Med Univ Sch Med, <sup>3</sup>Lab Vet Biochem, Nihon Univ Coll Bioresouce Sci

US2-4

Sexual dimorphism and salivation control in the Runx1cKO mouse

Ono H<sup>1</sup>, Sarper E S<sup>2</sup>, Kurosaka H<sup>2</sup>, Ikai K<sup>2</sup>, Yamashiro T<sup>2</sup>, Sakai T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral-facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Orthodont and Dentofac Orthopedics, Osaka Univ Grad Sch Dent

US2-5

Master regulator of bicarbonate, Na<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cotransporter. From kidney to multiple organs

Yamazaki O<sup>1</sup>, Muallem S<sup>2</sup>, Seki G<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Apheresis and Dialysis Cent/Gen Med, Keio Univ Med, <sup>2</sup>NIDCR, NIH, <sup>3</sup>Yaizu City Hosp

### **Update Symposium 3 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US3-1

Dysfunction of epidermal keratinocytes drives the chronicity of pain

Hayashi Y

Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Aging Sci Pharmacol

US3-2

Plastic changes in trigeminal neuronal and non-neuronal crosstalk contribute to ectopic orofacial pain

Shinoda M, Iwata K

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

US3-3

The mechanisms of chronic pain in the primary somatosensory cortex

Eto K

Div Homeostatic Dev, Natl Inst Physiol Sci

US3-4

Sensocrine machinery of nociceptors boosts the resolution of fungal osteo-inflammation

Maruyama K

Immunol Frontier Res Cent, Osaka Univ

### **Update Symposium 4 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US4

Origin of the research on bone metabolism in Japan

Kumegawa M<sup>1</sup>, Ozawa H<sup>2</sup>, Suda T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Meikai Univ, <sup>2</sup>Niigata Univ, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup>Saitama Med Univ

### **Update Symposium 5 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US5-1

Endogenous HMGB1 in nucleus

Sato T

Dept Anat Tissue and Cell Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

US5-2

Suppression of heme oxygenase-1 is required for caspase-3 activation, high mobility group box 1 release, and osteoclastogenesis

Sakai E<sup>1</sup>, Okamoto K<sup>2</sup>, Tsukuba T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, Dept Dent Pharmacol, <sup>2</sup>Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Dent Pharmacol

US5-3

The role of DAMPs in periodontal destruction

Kobayashi H, Sudo T, Kengwong T, Suzuki N, Kano C, Izumi Y

Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US5-4

The effect of the form and characteristics of the tongue muscle adjacent to the tongue cancer by high mobility group box1 (HMGB1)

Sakiyama K<sup>1</sup>, Takizawa S<sup>2</sup>, Komine Y<sup>2</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat, Meikai Univ of Dent, <sup>2</sup>Div Oral Surg II, Meikai Univ of Dent

US5-5

Orthodontic tooth movement and HMGB1

Kanzaki H, Nakamura Y

Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

US5-6

Role of HMGB1 in regulation of apoptosis/autophagy

Kuroda N, Sato T

Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

### **Update Symposium 6 (September 16, 12 : 30-14 : 10)**

US6-1

Early pathogenesis of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ)

Toyosawa S

Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent

US6-2

Osteonecrosis of the Jaw: pathoetiology, prevention and treatment

Kuroshima S<sup>1,2</sup>, Sasaki M<sup>1</sup>, Nakajima K<sup>1</sup>, Tamaki S<sup>1</sup>, Hayano H<sup>1</sup>, Sawase T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Implantol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>2</sup>Oral & Maxillofac Implant Cent, Nagasaki Univ Hosp

US6-3

Prevention of stage 0 BRONJ (bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw) pathophysiology by non-invasive mechanical therapy with low intensity pulsed ultrasound (LIPUS)

Hidaka K<sup>1</sup>, Takeuchi R<sup>1,2</sup>, Takagaki Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Joint Surg, Yokosuka City Hosp

US6-4

Current environment of osteoporotic antiresorptive-drug-related-osteonecrosis-of-the-jaw patients in Japan and challenges to provide better medical services

Iwabuchi H

Dept Dentmaxillofac Diag Treat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

### **Update Symposium 7 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US7-1

C1 neurons mediate a stress-induced anti-inflammatory reflex

Abe C<sup>1,3</sup>, Inoue T<sup>2</sup>, Okusa MD<sup>2</sup>, Guyenet PG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch Med, <sup>2</sup>Dept Med, Div Nephrol, UVA, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, UVA

US7-2

Mesenchymal stem cell function and tissue regeneration

Akiyama K

Dept Oral Rehabil Regen Med, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

US7-3

Therapeutic potential of human oral mucosa stromal stem cells

Abe S<sup>1,2</sup>, Yamaguchi S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Maxillofac Surg, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Dent and Oral Surg, Tokyo Metropolitan Hiroo Hosp

### **Update Symposium 8 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US8-1

WNT signaling and cathepsin K as therapeutic targets

Baron R

Harvard Sch Med and Dent Med

US8-2

Roland gave me a seed of my research

Aoki K

Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US8-3

The osteocyte as a therapeutic target in the treatment of osteoporosis

Ishihara Y<sup>1,2</sup>, Buxsein ML<sup>3,4,5</sup>, Baron R<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Harvard Sch Med and Dent Med, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Okayama Univ Hosp, <sup>3</sup>Harvard Med Sch, <sup>4</sup>Endocr Unit, Mass Gen Hosp, <sup>5</sup>Cent for Adv Orthop Studies, Beth Israel Deaconess Med Cent

US8-4

Regulation of sclerostin expression by bone resorption

Koide M

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

US8-5

Roles of Wnt signals in bone resorption

Kobayashi Y<sup>1</sup>, Uehara S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

### **Update Symposium 9 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US9-1

Establishment of estimation of lip function and development of a new lip training system

Takehana Y<sup>1</sup>, Masuda Y<sup>2</sup>, Kageyama T<sup>1</sup>, Yamada K<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Biol, Inst Oral Med, Matsumoto Dent Univ

US9-2

Multi-level research strategies for sleep related oromandibular functions and dysfunctions

Kato T

Osaka Univ Grad Sch Dent, Dept Neurosci Oral Physiol

US9-3

Sensory and motor functions in the larynx and associated laryngopharyngeal areas utilize TRP channels

Hossain MZ<sup>1</sup>, Unno S<sup>1</sup>, Ando H<sup>2</sup>, Masuda Y<sup>3</sup>, Kitagawa J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Biol, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

US9-4

Visualization of oral function based on surface EMG analysis of suprahyoid muscles using machine learning

Sasaki M

Div Biotech & Robo, Iwate Univ Grad Sch Eng

### **Update Symposium 10 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US10-1

Osteocyte biology—overview

Amizuka N<sup>1</sup>, Hasegawa T<sup>1</sup>, Nakashima T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup>Div cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US10-2

Regulation of bone remodeling by osteocyte

Nakashima T

Dev Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US10-3

The differentiation from osteoblast to osteocyte —Ultrastructural aspects—

Hasegawa T<sup>1</sup>, Nagai T<sup>1,2</sup>, Hongo H<sup>1</sup>, Amizuka N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Oral Func Prosth, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US10-4

The osteocyte network formation is influenced by the collagen fibril alignment

Kamioka H<sup>1</sup>, Hashimoto M<sup>2</sup>, Nagaoka N<sup>3</sup>, Oshima Y<sup>4</sup>, Iimura T<sup>4</sup>, Hara T<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Okayama Univ Hosp, <sup>3</sup>ARCOCS, <sup>4</sup>Ehime Univ Proteo Sci Cent, <sup>5</sup>NIMS

US10-5

Relationship between osteocyte and apatite orientation in bone extracellular matrix

Nakano T, Ishimoto T, Matsugaki A

Biomater & Struct Mater Design Area, Div Mater & Manufacturing Sci, Grad Sch Eng, Osaka Univ

### **Update Symposium 11 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US11-1

The role of choline transporters CTLs/SLC44 family in cell proliferation and survival

Inazu M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inst Med Sci, Tokyo Med Univ, <sup>2</sup>Dept Mol Prev Med, Tokyo Med Univ

US11-2

Regulation of monoamine transporters and pain

Sogawa C<sup>1</sup>, Morita K<sup>2</sup>, Ohyama K<sup>3</sup>, Sogawa N<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Dept Pharmacol, Fac Nursing, Hiroshima Bunka Gakuen Univ, <sup>3</sup>RI Res Cent, Okayama Univ Dent Sch, <sup>4</sup>Dept Dent Pharmacol Matsumoto Dent Univ

US11-3

Association between sleep bruxism frequency and serotonin transporter activities

Minakuchi H

Okayama Univ Hosp

### **Update Symposium 12 (September 16, 14 : 20-16 : 00)**

US12-1

Investigation into pathogenesis of odontogenic tumor through genetic analysis : Application to pathological diagnosis

Okada Y

Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata

US12-2

Contradiction between clinical dynamics of odontogenic tumors and molecular pathologic findings

Mikami T<sup>1</sup>, Takeda Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pathol, Iwate Med Univ, <sup>2</sup>Div Clin Pathol, Iwate Med Univ Sch Dent

US12-3

CTNNB1 mutations are the major gene mutations in calcifying odontogenic cysts

Yukimori A

Div Clin Lab, Tokyo Med Dent Univ Dent Hosp

US12-4

Regulation factors of morphological changes in odontogenic tumor

Ochiai T

Dept Oral Pathol, Matsumoto Dent Univ

US12-5

Notch signaling in biological features of odontogenic tumors

Nakano K

Dept Oral Pathol and Med, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

### **Update Symposium 13 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US13-1

Structure and function of the taste-substance recognition region of taste receptor-perception of diverse chemical stimuli

Yamashita A

Struct Biol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

US13-2

Diversity in the oral mucosal thermoTRP channels

Kido M<sup>1</sup>, Yoshimoto R<sup>2</sup>, Aijima R<sup>1</sup>, Cao AL<sup>1,2</sup>, Zhang JQ<sup>3</sup>, Ohsaki Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Histo Neuroanat Saga Univ, <sup>2</sup>Oral Path, Grad Sch Dent Kyushu Univ <sup>3</sup>Mol Cell Biol Oral Anat Grad Sch Dent Kyushu Univ

US13-3

Unexpected role of inhibitory neurotransmitters

Terunuma M

Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US13-4

Study of fat sensing mechanism in the oral cavity as a path to future medicine and treatment

Yasumatsu-Nakano K

Div Sensory Physiol, R&D Cent Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ

### **Update Symposium 14 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US14-1

Understanding oral biofilms

Spratt D

Microbial Ecol and Educ, UCL Eastman Dent Inst, London, UK

US14-2

A novel mechanism linking periodontitis and rheumatoid arthritis

Sato K<sup>1,2</sup>, Takahashi N<sup>1,3</sup>, Matsuda Y<sup>1,2</sup>, Yamada M<sup>1,2</sup>, Yokoji M<sup>1,2</sup>, Tabeta K<sup>1</sup>, Nakajima T<sup>4</sup>, Yamazaki K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Div Oral Sci for Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup>Res Cent for Adv Oral Sci (CAOS), Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup>Div Dent Educ Res Dev, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US14-3

Determination of the antibacterial substances produced by probiotic lactobacilli against a periodontal pathogen

Kawai T<sup>1</sup>, Ohshima T<sup>1</sup>, Shin R<sup>2</sup>, Ikawa S<sup>3</sup>, Tani A<sup>4</sup>, Inazumi N<sup>5</sup>, Maeda N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ, <sup>2</sup>Central Inst, Health Sci, A.L.A. Corporation, <sup>3</sup>Technol Res Inst, Osaka Pref, <sup>4</sup>Dept Human Environ Sci, Fac Human Dev, Kobe Univ, <sup>5</sup>Tech Support Div, Grad Sch Sci, Osaka Univ

US14-4

Carbohydrate metabolism of a novel caries-associated bacterium *Scardovia wiggisiae* —A possible role of acetic acid bacteria in the dental caries etiology—

Kameda M<sup>1</sup>, Abiko Y<sup>2</sup>, Washio J<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tohoku Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

### **Update Symposium 15 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US15-1

Analgesic mechanism of hangeshashinto on oral ulcer-induced pain in rats

Hitomi S, Ito M, Nodai T, Ujihara I, Ono K

Div Physiol, Kyushu Dent Univ

US15-2

Peripheral mechanisms underlying tongue hypersensitivity associated with dry tongue

Chen JY, Shinoda M, Iwata K

Nihon Univ Sch Dent, Dept Physiol

US15-3

Masticatory muscle plasticity in mouse

Umeki D<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Ito A<sup>1</sup>, Yagisawa Y<sup>1</sup>, Nariyama M<sup>3</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Nakamura Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

US15-4

Phox2b<sup>+</sup> and Phox2b<sup>-</sup> neurons in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus have different electrophysiological and morphological properties

Nagoya K<sup>1,2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Nakayama K<sup>2</sup>, Mochizuki A<sup>2</sup>, Sato F<sup>3</sup>, Yoshida A<sup>3</sup>, Inoue M<sup>1</sup>, Inoue T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

### **Update Symposium 16 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US16-1

The local regulation on the phosphate supply and FGF23/klotho signaling during bone mineralization

Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N

Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US16-2

The role of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on bone and calcium homeostasis

Masuyama R

Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

US16-3

New insight into matrix vesicles as microRNA carriers

Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

US16-4

Regulation of bone metabolism by bone marrow mesenchymal stem cells

Mizoguchi T

Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

US16-5

The regulatory mechanism in bone metabolism analyzed by intravital imaging

Kikuta J

Dept Immunol Cell Biol, Grad Sch Med, Osaka Univ

### **Update Symposium 17 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US17-1

Structural features of developing mandibular condylar cartilage

Shibata S

Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

US17-2

Extracellular matrix expression that characterizes soft palate development

Oka K<sup>1</sup>, Kurihara S<sup>1</sup>, Ogata K<sup>1</sup>, Ozaki M<sup>1</sup>, Chai Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr, Dent, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>CCMB, USC

US17-3

Sox9<sup>+</sup> progenitors contribute to the establishment of 'muscle-tendon-bone complex of temporomandibular joint'

Yamamoto M

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

### **Update Symposium 18 (September 16, 16 : 10-17 : 50)**

US18-1

Molecular mechanisms maintaining periodontal tissue homeostasis and destruction by extracellular matrix

Yamada S

Dept Periodontol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US18-2

Del-1 restrains osteoclastogenesis and inhibits inflammatory bone loss in periodontitis

Maekawa T

Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US18-3

New therapeutic strategies for periodontal disease based on the proteomic approach and exosome from GMSCs

Fukuda T

Dept Periodontol, Div Oral Rehabil, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

US18-4

ADAMTS superfamily involved in pathogenesis of Marfan syndrome

Orimoto A, Ishikawa M, Handa K, Saito M

Dept Restor Dent Div Oper Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

## ■ Oral Presentation

(September 17, 9 : 00–9 : 30)

<b>01-D1</b>	Influenza A virus infection-induced Snail1 expression contributes to secondary bacterial translocation across epithelial barrier ○Sumitomo T, Nakata M, Yamaguchi M, Kawabata S (Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>01-D2</b>	The effect of galectin-1 on invasion of Ca9-22 cells by <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Tamai R, Kobayashi M, Kiyoura Y (Dept Oral Sci, Ohu Univ Sch Dent)
<b>01-D3</b>	Mechanistic insight into bactericidal action of propolis against <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Nakao R, Hirayama S, Senpuku H (Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis)

(September 17, 9 : 30–10 : 00)

<b>01-D4</b>	Temperature-dependent expression of group A streptococcal pili ○Nakata M, Sumitomo T, Kawabata S (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>01-D5</b>	Evaluation of nisin-resistant-type MRSA ○Kawada-Matsuo M, Komatsuzawa H (Dept Oral Bacteriol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>01-D6</b>	The phylogenetic diversity of unclassified <i>Veillonella</i> isolates ○Theodora C <sup>1</sup> , Mashima I <sup>1,2,3</sup> , Nakazawa F <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup> Postdoc. JSPS, <sup>3</sup> Dept Oral Biol, Univ NY Buffalo, Sch Dent)

(September 17, 10 : 00–10 : 30)

<b>01-D7</b>	DHA downregulated inflammasome activity in <i>A. actinomycetemcomitans</i> -invaded macrophages through the regulation of ASC expression ○Okinaga T, Ariyoshi W, Nishihara T (Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)
<b>01-D8</b>	The inflammasome active substance derived from mycoplasmas ○Saeki A <sup>1</sup> , Hasebe A <sup>1</sup> , Suzuki T <sup>2</sup> , Shibata K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup> Div Bacter Pathogenesis, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>01-D9</b>	Inflammasome activation at hypoxic condition by <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Okano T, Suzuki T (Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)

(September 17, 10 : 30–11 : 00)

<b>01-D10</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains induce PGE2 production via COX-2 expression ○Nakayama M <sup>1,2</sup> , Tachibana M <sup>1,2</sup> , Naito M <sup>3</sup> , Nakayama K <sup>3</sup> , Ohara N <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch, <sup>3</sup> Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>01-D11</b>	Short-chain fatty acids produced by periodontopathic bacteria induce gingival epithelial cell death and release of rheumatoid arthritis-inducing molecules ○Tsuda H, Murofushi T, Suzuki N (Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent)
<b>01-D12</b>	New microbial strain relating for periodontal disease in lesser slow loris ( <i>Nycticebus pygmaeus</i> ) using next generation sequencer ○Yano W, Watanabe R, Satoh K, Sonomura T, Ejiri S (Dept Oral Anat, Asahi Univ Sch Dent)

(September 17, 11 : 00–11 : 30)

<b>01-D13</b>	The role of NF- $\kappa$ B alternative pathway in chondrocyte proliferation ○Nakatomi C <sup>1</sup> , Matsubara T <sup>1</sup> , Nakatomi M <sup>2</sup> , Kokabu S <sup>1</sup> , Jimi E <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Anat, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup> OBT Lab, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>01-D14</b>	Expression of MMPs and TIMPs in the developing condylar cartilage of fetal mouse mandible. ○Takahashi M, Kusaka S, Shibata S (Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>01-D15</b>	The Dgcr2 gene contributes to maintenance of chondrocytes in mouse skull base ○Kajiwara K (Dept Mol Life Sci, Sch Med, Tokai Univ)

(September 17, 11 : 30–12 : 00)

<b>01-D16</b>	Localization of new mechanical-stress responsive factor KLHDC8A in bone tissue ○Ikegame M <sup>1,2</sup> , Uchibe K <sup>1</sup> , Okamura H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>01-D17</b>	Detection of the bone structure change and periodic osteocytes' expression of sclerostin during orthodontic tooth movement ○Wang Z <sup>1</sup> , Ishihara Y <sup>2</sup> , Odagaki N <sup>1</sup> , Kamioka H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Orthodont, Okayama Univ Hosp)
<b>01-D18</b>	Structural characteristics of osteon grown newly in dental implant ○Koresawa K <sup>1</sup> , Matsunaga S <sup>1</sup> , Odaka K <sup>1</sup> , Morita S <sup>1</sup> , Hirouchi H <sup>1</sup> , Iimura T <sup>2</sup> , Abe S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anat, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Ehime Univ Proteo-Sci Center)

(September 17, 16 : 40–17 : 10)

<b>01-D19</b>	Acquisition of titanium-binding ability by chemical phosphorylation of bio-molecules ○Kuboki Y <sup>1</sup> , Yagami K <sup>2</sup> , Furusawa T <sup>3</sup> , Tokura S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Environ Adaptation, Hokkaido Univ Grad Sch Earth Environ Sci, <sup>2</sup> Dept Implantl, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Grad Sch Sci Eng, Yamagata Univ)
<b>01-D20</b>	Dissolution of fluoridated apatite in polyol and fluoride-containing solutions ○Tsutsui S, Suzuki O (Tohoku Univ)
<b>01-D21</b>	Spacial relationship between posterior part of Meckel's cartilage and gonial bone in postnatal mice ○Shibata S <sup>1</sup> , Takahashi M <sup>1</sup> , Kusaka S <sup>1</sup> , Fujikawa K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Maxillofac Anat, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent)

(September 17, 17 : 10–17 : 50)

<b>01-D22</b>	Developmental process of the modern shrew's molar replays evolution of the tribosphenic molar in Mesozoic mammals ○Yamanaka A, Iwai H, Kuramoto E, Dhar A, Goto T (Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>01-D23</b>	Establishment of local irradiation method for the mouse tooth germ, and the morphological observation of the irradiated tooth germ during root formation ○Ide Y <sup>1</sup> , Fukada T <sup>2</sup> , Nasu M <sup>2</sup> , Nakahara T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dev Regen Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>01-D24</b>	Morphological analysis of vasculogenesis in the chick embryo ○Hara Y <sup>1</sup> , Inoue K <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Inst Electron Microscopy, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>01-D25</b>	SM22 is a possible indicator of morphological change in vascular endothelial cells ○Tsuji-Tamura K, Tamura M (Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

(September 17, 9 : 00–9 : 30)

<b>01-E1</b>	D-serine as a promoter for salivation ○Yoshikawa M <sup>1</sup> , Okubo M <sup>2</sup> , Kawaguchi M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Clin Pharmacol, Tokai Univ Sch Med, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll)
<b>01-E2</b>	Effect of diquafosal sodium ophthalmic administration on ophthalmalgia under dry eye condition ○Sugawara S <sup>1,2</sup> , Mikuzuki L <sup>1,2</sup> , Saito H <sup>2</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>01-E3</b>	Distribution differences of thalamic and parabrachial projection neurons in the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord ○Saito H <sup>1</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)

(September 17, 9 : 30–10 : 00)

<b>01-E4</b>	The threshold of [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> for salivary secretion induced by acetylcholine in rat submandibular gland <i>in vivo</i> ○Nezu A <sup>1</sup> , Morita T <sup>2</sup> , Tanimura A <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>01-E5</b>	miR-1290 promotes cell growth via targeting ERFFII expression in NS-SV-AC, a human submandibular gland cell line ○Mizusawa N, Iwata T, Yoshimoto K (Dept Med Pharmacol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>01-E6</b>	Cdc42 is required for the maintenance and formation of the apical lumen in tubular organs ○Shitara A (Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol)

(September 17, 10 : 00–10 : 30)

<b>01-E7</b>	Identification and characterization of a novel splicing form of signaling molecule of T cell ○Ikezaki S <sup>1,2</sup> , Nagao J <sup>1</sup> , Hashimoto M <sup>1</sup> , Tasaki S <sup>1</sup> , Yasumatsu K <sup>1</sup> , Narita Y <sup>1</sup> , Arita-Morioka K <sup>1</sup> , Cho T <sup>1</sup> , Ikebe T <sup>1</sup> , Tanaka Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sec Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Sec Oral and Maxillofac Surg, Fukuoka Dent Coll)
<b>01-E8</b>	Analysis of oxidative stress response in clinically relevant radioresistant cells ○Tomita K <sup>1</sup> , Takashi Y <sup>2</sup> , Tsukahara T <sup>1</sup> , Furukawa M <sup>3</sup> , Nishitani Y <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>01-E9</b>	Hydrogen-rich water improves antioxidative activity in human saliva and urine and protects human gingival fibroblasts from UVA-induced injuries ○Xiao L <sup>1</sup> , Miwa N <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Pref Univ Hiroshima)

(September 17, 10 : 30–11 : 00)

<b>01-E10</b>	The mechanism of phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP)-mediated energy metabolism by $\beta$ -adrenergic stimulation in brown adipocytes ○Oue K <sup>1,2</sup> , Yamawaki Y <sup>2</sup> , Asano S <sup>2</sup> , Kanematsu T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Hiroshima Univ Hosp, <sup>2</sup> Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
<b>01-E11</b>	Obesity in adipocyte-specific GPRC6A knockout mice ○Mizokami A <sup>1,2</sup> , Takeuchi H <sup>3</sup> , Jimi E <sup>1,2</sup> , Hirata M <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ, <sup>4</sup> Fukuoka Dent Coll)

**01-E12**

AMPK/mTOR pathway is involved in D-dopachrome tautomerase gene transcription in adipose tissue  
 ○Iwata T, Yoshimoto K (Dept Med Pharmacol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)

(September 17, 11 : 00–11 : 30)

**01-E13**

MMP20 overexpression disrupts ameloblast cell polarity  
 ○Shin M<sup>1</sup>, Okamoto F<sup>1</sup>, Kajiya H<sup>1</sup>, Ogata K<sup>1,2</sup>, Okabe K<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Pediatr Dent, Fukuoka Dent Coll)

**01-E14**

An attempt to identify and isolate ameloblasts and odontoblasts using transgenic mice that label these cells as fluorescent protein expressing cells

○Isono K, Yamazaki H (Dept Stem Cell and Dev Biol, Mie Univ Grad Sch Med)

**01-E15**

Expression profile of amelogenesis-related genes in an *in vitro* amelogenesis imperfecta model

○Arinawati DY<sup>1</sup>, Miyoshi K<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>2</sup>, Horiguchi T<sup>2</sup>, Noma T<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Grad Sch Oral Sci, Tokushima Univ, <sup>2</sup>Dept Mol Biol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)

(September 17, 11 : 30–12 : 00)

**01-E16**

Apical buds in guinea pig cheek teeth demonstrated by three-dimensional reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling

○Seino Y<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Ida-Yonemochi H<sup>1</sup>, Ohshima H<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ)

**01-E17**

In vivo functional analysis of MSX1 conserved domains in mice using CRISPR/Cas system

○Yasue A, Mitsui SN, Arai D, Tanaka E (Div Orthod Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch)

**01-E18**

Gene-environmental interaction in cleft lip model mice

○Nakatomi M, Kataoka S, Toyono T, Seta Y (Div Anat, Kyushu Dent Univ)

(September 17, 16 : 40–17 : 10)

**01-E19**

Regulation of cell migration and gene expression by the store-operated calcium entry in dental epithelial cells

○Murata K<sup>1</sup>, Morita T<sup>3</sup>, Takahashi A<sup>2</sup>, Saitoh M<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>3</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata)

**01-E20**

Bioluminescence imaging of proteins secreted from 3D-cultured cells: Visualization of oscillatory insulin secretion

○Suzuki T<sup>1</sup>, Kanamori T<sup>1</sup>, Inouye S<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Dept Biochem, Sch Dent, Aichi-Gakuin Univ, <sup>2</sup>JNC Yokohama Res Center)

**01-E21**

Profiling of time-dependency of inflammation by FRET imaging

○Nishide S (Dept Cell Physiol, Fac Med, Hokkaido Univ)

(September 17, 17 : 10–17 : 50)

**01-E22**

Dental information and DNA analysis plays a conclusive role in dental identification

○Yamada Y (Dept Disaster Relief Med/Dent Div Forensic Dent Grad Sch Kanagawa Dent Univ)

**01-E23**

Effects of LPS generated from *Porphyromonas gingivalis* on muscle mass in the whole body

○Kawamura N<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Umeki D<sup>1</sup>, Umeki D<sup>3</sup>, Ujiiie Y<sup>1</sup>, Ito A<sup>1</sup>, Gomi K<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Dept Div Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Div Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Div Orthod Dentofac Orthop, Tsurumi Univ Sch Dent)

**01-E24**

The role of Tcf4 in muscle regeneration: an immunohistological study to localize Tcf4 in regenerated muscle and tissue surrounding muscle fibers

○Ogawa Y, Nagakura R, Nara M, Yamamoto M, Abe S (Dept Anat, Tokyo Dent Coll)

**01-E25**

Role of  $\beta$ -adrenergic receptor subtype-specific signaling on masseter muscle

○Ito A<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Umeki D<sup>1</sup>, Ishiwaka M<sup>3</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Kawamura N<sup>4</sup>, Yagisawa Y<sup>1</sup>, Nakamura Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

(September 18, 9 : 00–9 : 30)

**02-D1**

Platypus and opossum calcitonin has strong bioactivities similar to that of non-mammalian calcitonin

○Yamashita T<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>2</sup>, Uehara S<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ)

**02-D2**

Osteoblast-derived Laminin-332 is a novel negative regulator of osteoclastogenesis

○Uehara N<sup>1</sup>, Kyumoto Y<sup>1</sup>, Kukita A<sup>2</sup>, Yamaza T<sup>1</sup>, Kukita T<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Microbiol, Fac Med, Saga Univ)

**02-D3**

Potent induction of bone formation by anti-resorptive cathepsin K inhibitor in osteolytic tumor

○Teramachi J (Dept Histol Oral Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)

(September 18, 9 : 30–10 : 00)

**02-D4**

Positive regulation of osteoclast differentiation by PRIP

○Matsuda M<sup>1</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>, Hirata M<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Fukuoka Dent Coll)

<b>O2-D5</b>	Autophagy activation via Becn1 is required in RANKL-mediated osteoclast differentiation ○Arai A <sup>1</sup> , Yamada K <sup>1</sup> , Udagawa N <sup>2</sup> , Takahashi N <sup>3</sup> , Wang C <sup>4</sup> , Kim R <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Div Hard Tissue, Matsumoto Dent Univ Inst Oral Sci, <sup>4</sup> Sch Dent, UCLA)
<b>O2-D6</b>	Ror2-Rho-Pkn3 signaling promotes bone-resorbing activity of osteoclasts ○Uehara S <sup>1</sup> , Yamashita T <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>1</sup> , Takahashi N <sup>2</sup> , Kobayashi Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)

(September 18, 10 : 00–10 : 30)

<b>O2-D7</b>	The role of CCN2 produced by aged osteocytes in the osteoclastogenesis ○Nishida T <sup>1</sup> , Kubota S <sup>1,2</sup> , Takigawa M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Adv Res Cent Oral Craniofac Sci, Okayama Univ Dent Sch)
<b>O2-D8</b>	Osteoclast-derived LIF promotes bone formation through suppression of sclerostin expression ○Koide M <sup>1</sup> , Kobayashi Y <sup>1</sup> , Yamashita T <sup>1</sup> , Uehara S <sup>2</sup> , Nakamura M <sup>2</sup> , Hiraoka Y <sup>3</sup> , Ozaki Y <sup>1</sup> , Iimura T <sup>4</sup> , Takahashi N <sup>1</sup> , Udagawa N <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Inst Oral Sci, <sup>2</sup> Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Chem, Matsumoto Dent Univ, <sup>4</sup> PROS and ADRES, Ehime Univ)
<b>O2-D9</b>	Origin and differentiation of septoclasts during ontogeny of mouse tibiae ○Bando Y, Sakashita H, Sakiyama K, Amano O (Meikai Univ Sch Dent Div Anat)

(September 18, 10 : 30–11 : 00)

<b>O2-D10</b>	Kelch-like ECH-associated protein 1 gene deletion inhibits osteoclast differentiation via up-regulation of interferon regulatory factor-8 and MafB ○Sakai E <sup>1</sup> , Kido MA <sup>2</sup> , Fukuma Y <sup>1</sup> , Nishishita K <sup>1</sup> , Okamoto K <sup>3</sup> , Tsukuba T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Anat & Physiol, Saga Univ Fac Med, <sup>3</sup> Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>O2-D11</b>	JAK inhibitors inhibit osteoclast differentiation via suppressing RANKL expression in osteoblasts ○Murakami K <sup>1</sup> , Uehara S <sup>1</sup> , Takahashi N <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>1</sup> , Kobayashi Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
<b>O2-D12</b>	Effect of a helioxanthin-derivative (TH) on osteoclast differentiation ○Amano H, Iwaki F, Ohura K (Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ)

(September 18, 11 : 00–11 : 30)

<b>O2-D13</b>	(withdrawn)
<b>O2-D14</b>	The effect of administration of CCL25 on bone development during early childhoods ○Yukita A <sup>1</sup> , Ninomiya T <sup>3</sup> , Hosoya A <sup>4</sup> , Nakamura H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Educ, Shizuoka Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>4</sup> Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>O2-D15</b>	Change of serum Dmp1 level in rats treated with bisphosphonate administration ○Sharyo M <sup>1</sup> , Sato S <sup>1</sup> , Usami Y <sup>1</sup> , Hirose K <sup>1</sup> , Oya K <sup>2</sup> , Komori T <sup>3</sup> , Toyosawa S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Dent, <sup>2</sup> ClinLabo, Osaka Univ Dent Hosp, <sup>3</sup> Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)

(September 18, 11 : 30–12 : 00)

<b>O2-D16</b>	The role of PP2A Calpha in osteoblast differentiation and its target factors ○Okamura H <sup>1</sup> , Yoshida K <sup>2</sup> , Uchibe K <sup>1</sup> , Ikegame M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Health Edu Tokushima Univ Grad Sch Med Dent Pharm)
<b>O2-D17</b>	Kruppel-Like factor 4 regulates osteoblast differentiation through regulating cilia-mediated signaling ○Kito A <sup>1,2</sup> , Takeuchi Y <sup>1</sup> , Abe M <sup>1</sup> , Wakisaka S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>O2-D18</b>	Mechanotransduction in 3D culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex regulates the cell fate ○Komatsu N, Kajiya M, Fujita T, Kurihara H (Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)

(September 18, 9 : 00–9 : 30)

<b>O2-E1</b>	An intracellular role for Matrix metalloproteinases (MMPs) ○Eguchi T <sup>1,2,5</sup> , Okusha Y <sup>1</sup> , Nakano K <sup>3</sup> , Kubota S <sup>4</sup> , Takigawa M <sup>2</sup> , Calderwood SK <sup>5</sup> , Kozaki K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch, <sup>3</sup> Dept Oral Pathol & Med, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci, <sup>4</sup> Dept Biochem & Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent & Pharm Sci, <sup>5</sup> BIDMC, Harvard Med Sch)
<b>O2-E2</b>	The role of acetylation in the regulation of MCL1 stability ○Shimizu K, Inuzuka H, Fukushima H, Fukumoto S (Cent for Adv Stem Cell and Regen Res, Tohoku Univ)
<b>O2-E3</b>	Role of the BMP signal in jawbone invasion and the metastasis of the malignant melanoma ○Ogawa M <sup>1</sup> , Kokabu S <sup>1</sup> , Nakatomi T <sup>1</sup> , Matsubara T <sup>1</sup> , Watanabe S <sup>2</sup> , Jimi E <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Dent Anesthesiol, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup> OBT Cent Kyushu Univ Grad Sch Dent)

(September 18, 9 : 30–10 : 00)

<b>O2-E4</b>	The roles of Ets1 and ESE1 in cancer cells ○Saitoh M (Dept Biological Chem, Grad Sch Med Univ Yamanashi)
<b>O2-E5</b>	The roles of Snail and Slug in oral squamous cell carcinoma cells ○Nakamura R <sup>1,2</sup> , Saitoh M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biological Chem, Univ Yamanashi Grad Sch Med, <sup>2</sup> Dept Oral and Maxillofac Surg, Kofu Municipal Hosp)
<b>O2-E6</b>	Arl4c expression promotes tumorigenesis of lung cancer (adenocarcinoma and squamous cell carcinoma) ○Fujii S <sup>1</sup> , Kiyoshima T <sup>1</sup> , Matsumoto S <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Oral Pathol, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>2</sup> Dept Mol Biol and Biochem, Grad Sch Med, Univ of Osaka)

(September 18, 10 : 00–10 : 30)

<b>O2-E7</b>	Regulation of oral cancer development mediated by non-coding RNA ○Kawakubo-Yasukochi T <sup>1</sup> , Morioka M <sup>1,2</sup> , Yasukochi A <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>2</sup> , Nakashima M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ, <sup>2</sup> Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>O2-E8</b>	Analysis of the function of molecular chaperone R2TP in progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC) ○Kiguchi T <sup>1,2</sup> , Kakahara Y <sup>1</sup> , Yamazaki M <sup>3</sup> , Takagi R <sup>2</sup> , Saeki M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Div Oral Pathol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>O2-E9</b>	DKK3 overexpression increases malignant properties of head and neck squamous cell carcinoma cells ○Katase N, Fujita S (Dept Oral Pathol Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)

(September 18, 10 : 30–11 : 00)

<b>O2-E10</b>	Thalamo-insular pathway conveying proprioception from rat jaw-closing muscle spindles: possible key pathway in Tourette's syndrome ○Sato F <sup>1</sup> , Uemura Y <sup>2</sup> , Kanno C <sup>3</sup> , Tsutsumi Y <sup>4</sup> , Kato T <sup>5</sup> , Yoshida A <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Anat and Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Dent Anesthesiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup> Sch Dent Osaka Univ, <sup>5</sup> Dept Neurosci and Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>O2-E11</b>	The reduction of calcium release from the endoplasmic reticulum suppresses cell death in layer II/III pyramidal neurons of the mouse somatosensory cortex ○Kawano T, Sato H, Yin D, Toyoda H, Kato T (Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>O2-E12</b>	Experimental tooth movement increases the excitability of excitatory and inhibitory neurons in the insular cortex ○Horinuki E <sup>1</sup> , Shimizu N <sup>2</sup> , Kobayashi M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent)

(September 18, 11 : 00–11 : 30)

<b>O2-E13</b>	Transplantation of neural crest cells derived from human iPS cells following inferior alveolar nerve transection in rats ○Toriumi T <sup>1,2</sup> , Watanabe M <sup>3</sup> , Shinoda M <sup>3</sup> , Futenma T <sup>1</sup> , Iwata K <sup>3</sup> , Isokawa K <sup>2</sup> , Honda M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>O2-E14</b>	Effects of Wnt5A, released by periodontal ligament cells loaded with mechanical stimulation, on neurite elongation ○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M (Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>O2-E15</b>	The effect of swallows on the jaw reflex responses ○Suzuki T, Yoshihara M, Tsuji K, Magara J, Tsujimura T, Inoue M (Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

(September 18, 11 : 30–12 : 00)

<b>O2-E16</b>	Morphological change in thalamic- and pontine-projection neurons in Vc and C1 following trigeminal nerve injury ○Okada S <sup>1,2</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>O2-E17</b>	Tooth extraction induces the phosphorylation of tau at mesencephalic nucleus in Alzheimer model mice ○Goto T, Kumamoto E, Dhar A, Iwai H, Yamanaka A (Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>O2-E18</b>	Effect of bite-opening on atrium in mice ○Suito K <sup>1</sup> , Yagisawa Y <sup>2</sup> , Ohnuki Y <sup>1</sup> , Umeki D <sup>2</sup> , Ishikawa M <sup>3</sup> , Ito A <sup>2</sup> , Kawamura N <sup>4</sup> , Nakamura Y <sup>2</sup> , Okumura S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup> Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup> Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

## ■ Poster Presentation

(September 17, 16 : 30–17 : 30)

<b>P1-1</b>	Morphological observation of the temporo-mandibular joint in elderly people ○To M <sup>1</sup> , Kawata A <sup>2</sup> , Matsuo M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Dent Anat, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Nerve Tissue Embryol, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-2</b>	The patterns of superior alveolar nerves running in anterior and posterior superior alveolar canals/grooves ○Makishi S, Ohshima H (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-3</b>	Observation of shape of maxillary first premolar root canals using cone beam computed tomography ○Yoza T, Sato T, Serikawa M, Saito H, Usami A (Dept Oral Anat, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P1-4</b>	Morphological evaluation of the superior cervical ganglion in Japanese cadaver donors ○Mitsuoka K, Sato I (Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P1-5</b>	Healing process of the metaphyseal region in long bone ○Inoue S, Otsuka H, Nakamura M (Dept Oral Anat, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-6</b>	Apical buds in guinea pig cheek teeth demonstrated by three-dimensional reconstruction of serial histological sections and chasing BrdU-labeling ○Seino Y <sup>1</sup> , Nakatomi M <sup>2</sup> , Ida-Yonemochi H <sup>1</sup> , Ohshima H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Anat, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-7</b>	TRP channel regulates oral squamous cell carcinoma ○Aijima R <sup>1,2</sup> , Cao A <sup>2,3</sup> , Gao W <sup>2</sup> , Yoshimoto R <sup>3</sup> , Mori K <sup>1</sup> , Danjo A <sup>1</sup> , Yamashita Y <sup>1</sup> , Kiyoshima T <sup>3</sup> , Kido M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral & Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ, <sup>2</sup> Dept Anat & Physiol, Fac Med, Saga Univ, <sup>3</sup> Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-8</b>	The concurrent stimulation of Wnt and FGF8 signaling proceeds differentiation of dental mesenchymal cells into odontoblast ○Kimura M <sup>1</sup> , Azuma T <sup>2</sup> , Shintani S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Biochem, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-9</b>	Mechanotransduction in 3D culture clumps of a mesenchymal stem cell/extracellular matrix complex regulates the cell fate ○Komatsu N, Kajiya M, Fujita T, Kurihara H (Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
<b>P1-10</b>	p38 $\alpha$ MAP kinase specific pathway stimulates gene expression of chemokine CXCL14, a multistep tumor suppressor ○Yang X <sup>1,2</sup> , Ozawa S <sup>1,2</sup> , Ikoma T <sup>1,2</sup> , Maehata Y <sup>1</sup> , Kato Y <sup>3</sup> , Hata R <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Oral Health Sci Res Cent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Dentmaxillo Diag Treat Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Oral Fxn Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P1-11</b>	A study for elucidation of masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia-Estrogen and $\beta$ -crystallin A4 promotes tenocyte differentiation and proliferation ○Hayashi N <sup>1</sup> , Sato T <sup>1</sup> , Isozaki Y <sup>1</sup> , Ikami E <sup>1</sup> , Yumoto M <sup>1</sup> , Kokabu S <sup>2</sup> , Yoda T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Saitama Med Univ, <sup>2</sup> Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-12</b>	Monocarboxylate transporter-1 functions as a positive regulator of osteoblast differentiation ○Sasa K, Yoshimura K, Miyamoto Y, Kamijo R (Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-13</b>	Small GTPase Rac1 is a negative regulator in calvarial osteoblast differentiation and ossification ○Suzuki D, Yamada A, Sasa K, Kamijo R (Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-14</b>	Actin-Binding LIM protein 1 regulates cytoskeleton and cell function in osteoclasts ○Narahara H <sup>1,2</sup> , Sakai E <sup>1</sup> , Okamoto K <sup>3</sup> , Tsukuba T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ, Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Dent Orthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>3</sup> Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ, Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-15</b>	Activin-A enhances RANKL-induced osteoclast differentiation ○Kajita T <sup>1,2</sup> , Ariyoshi W <sup>1</sup> , Okinaga T <sup>1</sup> , Nishihara T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-16</b>	Keratin 75 of developing enamel ○Chiba R <sup>1</sup> , Yamamoto R <sup>1</sup> , Okubo M <sup>1</sup> , Saito M <sup>1</sup> , Nishikawa S <sup>2</sup> , Yamakoshi Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem and Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ, <sup>2</sup> Dept Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
<b>P1-17</b>	Effects of the surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler eluate on the proliferation and differentiation of 3 types of human stem cells ○Ishigure H <sup>1,2</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Shintani K <sup>1,2</sup> , Tatsumi Y <sup>1,2</sup> , Idono T <sup>1,2</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Kamiya M <sup>3</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Hotta M <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin)
<b>P1-18</b>	Salting out effect in the surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler eluate on the human serum proteins ○Tatsumi Y <sup>1,2</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Ishigure H <sup>1,2</sup> , Shimizu S <sup>1,2</sup> , Ochi Y <sup>1,2</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Kamiya M <sup>3</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Hotta M <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin)
<b>P1-19</b>	TGF- $\beta$ isoforms in enamel of <i>Mmp20</i> knockout mice ○Okubo M <sup>1</sup> , Kobayashi S <sup>2</sup> , Nagano T <sup>1</sup> , Gomi K <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>P1-20</b>	Local regulator Del1 inhibits bone-resorption via suppression of Wnt5a-Ror2 signaling axis ○Maekawa T <sup>1,3</sup> , Kobayashi Y <sup>2</sup> , Domon H <sup>1,3</sup> , Nagai K <sup>3</sup> , Terao Y <sup>1,3</sup> , Maeda T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

<b>P1-21</b>	Immunosuppressive effect of mesenchymal cells (10T1/2) is enhanced by IL-1 $\alpha$ from mouse oral squamous cell carcinoma cells (Sq1979) ○Ito H <sup>1</sup> , Kamiya M <sup>2,3</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Inagaki Y <sup>2,4</sup> , Muramatu Y <sup>1</sup> , Sumitomo S <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Maxillofacial Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Chem, Asahi Univ Sch Business, <sup>4</sup> Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P1-22</b>	Effects of the intravenous anesthetics on the immune response in the microenvironment of oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissue ○Inagaki Y <sup>1,2</sup> , Kamiya M <sup>2,3</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Ito H <sup>2,4</sup> , Sumitomo S <sup>4</sup> , Sakurai S <sup>1</sup> , Chihara E <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, <sup>4</sup> Dept Oral & Maxillofacial Surg, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P1-23</b>	Mesenchymal stem cell spheroids upregulated osteogenesis via Wnt/ $\beta$ -catenin activation ○Imamura A <sup>1,2</sup> , Kajiyama H <sup>2,3</sup> , Kojima H <sup>1</sup> , Okabe K <sup>3</sup> , Ohno J <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Grow & Dev, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Reser Cent for Regen Med, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Physiol Sci & Mol Biol, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-24</b>	Osteogenic potential of neural crest-derived cells in nasal conchae of adult mice ○Yoshida H <sup>1</sup> , Suzawa T <sup>1</sup> , Maki K <sup>2</sup> , Kamijo R <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-25</b>	Effects of FGF8 and KSR using mouse iPSCs which were differentiated into the odontoblast cells ○Ogihara Y <sup>1</sup> , Odashima A <sup>3</sup> , Hoshino T <sup>1</sup> , Onodera S <sup>2</sup> , Saito A <sup>2</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> , Azuma T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Biochem, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept OCC, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-26</b>	Regulation of B7-H1 expression on keratinocytes ○Jin X, Nagai S, Azuma M (Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-27</b>	PI3K-Akt pathway enhances the differentiation of IL-27-induced Tr1 cells ○Nadya N, Azuma M, Nagai S (Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-28</b>	Functions of uncarboxylated osteocalcin in atherosclerotic pathogenesis ○Kondo A <sup>1</sup> , Kawakubo-Yasukochi T <sup>1,2</sup> , Mizokami A <sup>1,3</sup> , Jimi E <sup>1,3</sup> , Hirata M <sup>1,4</sup> ( <sup>1</sup> Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ, <sup>3</sup> OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup> Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-29</b>	Neural communication between Merkel cells and neurons ○Higashikawa A <sup>1</sup> , Kojima Y <sup>1</sup> , Terashima-Shigefuji R <sup>2</sup> , Inoue H <sup>2</sup> , Kouno K <sup>1</sup> , Ando M <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>2</sup> , Kimura M <sup>1</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> , Tazaki M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-30</b>	Mechanism of oral ulcerative mucositis-induced pain via endothelin signaling ○Nodai T <sup>1,2</sup> , Hitomi S <sup>1</sup> , Ito M <sup>3</sup> , Ujihara I <sup>1</sup> , Masaki C <sup>2</sup> , Hosokawa R <sup>2</sup> , Ono K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Physiol Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Oral Reconstr Rehabil Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup> Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-31</b>	A measurement of contacted surface pressure between buccal mucosa and tooth surface by multi-channel capacitive tactile sensing technology ○Hasegawa M <sup>1,2</sup> , Kurose M <sup>2</sup> , Okamoto K <sup>2</sup> , Shimizu S <sup>2,3</sup> , Nakatani Y <sup>2,3</sup> , Yamamura K <sup>2</sup> , Fujii N <sup>1</sup> , Takagi R <sup>3</sup> , Yamada Y <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> Gen Dent Clinic Edu Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp, <sup>2</sup> Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Dept Dent Hyg, Tokyo Dent Junior Coll)
<b>P1-32</b>	High pH-sensitive store-operated Ca <sup>2+</sup> entry (SOCE) in rat odontoblasts ○Kimura M <sup>1</sup> , Kojima Y <sup>1</sup> , Higashikawa A <sup>1</sup> , Oyama S <sup>1</sup> , Shimada M <sup>1</sup> , Ando M <sup>1</sup> , Kouno K <sup>1</sup> , Tazaki M <sup>1</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-33</b>	Infraorbital nerve injury facilitates the excitatory propagation evoked by the stimulation of orofacial regions in insular cortex ○Zama M <sup>1,2</sup> , Horinuki E <sup>1,3</sup> , Kaneko T <sup>2</sup> , Kobayashi M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Div Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-34</b>	Physiological and morphological properties of Phox2b <sup>+</sup> neurons located in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus ○Nagoya K <sup>1,2</sup> , Nakamura S <sup>2</sup> , Nakayama K <sup>2</sup> , Mochizuki A <sup>2</sup> , Sato F <sup>3</sup> , Yoshida A <sup>3</sup> , Inoue M <sup>1</sup> , Inoue T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-35</b>	The intrinsic membrane properties of excitatory and inhibitory neurons in the trigeminal spinal subnucleus caudalis ○Nakaya Y, Yamamoto K, Kobayashi M (Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-36</b>	Orexin facilitates GABAergic inhibitory synaptic transmission in the rat insular cortex ○Usui M <sup>1</sup> , Oi Y <sup>2</sup> , Kobayashi M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-37</b>	The effect of swallows on the jaw reflex responses ○Suzuki T, Yoshihara M, Tsuji K, Magara J, Tsujimura T, Inoue M (Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-38</b>	Morphological change in thalamic- and pontine-projection neurons in Vc and C1 following trigeminal nerve injury ○Okada S <sup>1,2</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-39</b>	Distribution differences of thalamic and parabrachial projection neurons in the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord ○Saito H <sup>1</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-40</b>	Effect of diquafosal sodium ophthalmic administration on ophthalmalgia under dry eye condition ○Sugawara S <sup>1,2</sup> , Mikuzuki L <sup>1,2</sup> , Saito H <sup>2</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-41</b>	A search for expression of P2X7 receptors in rat trigeminal ganglions ○Inoue H <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>1</sup> , Ishikawa N <sup>3</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Satou M <sup>2</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Tazaki M <sup>2</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Tokyo Dent Coll, Dept Dent Anesthesiol, <sup>2</sup> Tokyo Dent Coll, Dept Physiol, <sup>3</sup> Tokyo Dent Coll, Dept Histol Dev Biol)

<b>P1-42</b>	Glial cells in rat trigeminal ganglion express delayed-rectifier K <sup>+</sup> currents ○Kojima Y <sup>1</sup> , Higashikawa A <sup>1</sup> , Ohshima S <sup>1</sup> , Kouno K <sup>1</sup> , Ando M <sup>1</sup> , Nishi K <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>2</sup> , Kimura M <sup>1</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> , Tazaki M <sup>1</sup> (1Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, 2Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-43</b>	Neonatal skin injury affects whisker pad skin-incised pain in adulthood ○Soma K <sup>1</sup> , Shinoda M <sup>2</sup> , Urata K <sup>2</sup> , Shirakawa T <sup>1</sup> , Iwata K <sup>2</sup> (1Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent, 2Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, 3Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-44</b>	Involvement of phenotypic change in trigeminal ganglion neurons and neuron-glia interaction in persistent tongue pain associated with lingual nerve injury ○Mikuzuki L <sup>1,2</sup> , Sugawara S <sup>1,2</sup> , Katagiri A <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> (1Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, 2Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P1-45</b>	Ca <sup>2+</sup> mobilization via bradykinin B <sub>2</sub> receptor activation in rat trigeminal ganglion neurons ○Terashima-Shigefuji R <sup>1</sup> , Higashikawa A <sup>2</sup> , Kojima Y <sup>2</sup> , Inoue H <sup>1</sup> , Kawaguchi A <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>1</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Tazaki M <sup>2</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> (1Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, 2Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P1-46</b>	Analysis of salivary gland function in aging model mouse ○Miyagi Y, Kondo Y, Kusuda Y, Munemasa T, Hori Y, Masaki C, Hosokawa R (Div Oral Reconstr Rehabil, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-47</b>	Influence of type 2 diabetes on parasympathetic vasodilation in the salivary glands of rats ○Sato T, Ishii H (Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
<b>P1-48</b>	A role of BMP signaling in incisor formation in adult mice ○Machiya A <sup>1,2</sup> , Jimi E <sup>3</sup> , Suda N <sup>2</sup> , Katagiri T <sup>1</sup> (1Div Pathophysiol, Res, Cent for Genomic Med, Saitama Med Univ, 2Div Orthod, Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent, 3OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-49</b>	Experimental investigation on the performance of cutting bone and soft tissue with piezosurgery ○Otake Y <sup>1,2</sup> , Nakamura M <sup>2</sup> , Henmi A <sup>2</sup> , Takahashi T <sup>1</sup> , Sasano Y <sup>2</sup> (1Div Oral Maxillofac Surg, Tohoku Univ Grad Sch Dent, 2Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-50</b>	Sclerostin modulates alveolar bone turnover during orthodontic tooth movement ○Odagaki N <sup>1</sup> , Ishihara Y <sup>2</sup> , Wang Z <sup>1</sup> , Kamioka H <sup>1</sup> (1Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, 2Orthodont, Okayama Univ Hosp)
<b>P1-51</b>	Localization of hypoxia- and autophagy-related factors in mouse Meckel's cartilage and effects by the hypoxic culture ○Sakashita H <sup>1</sup> , Bando Y <sup>1</sup> , Sakiyama K <sup>1</sup> , Amano O <sup>1</sup> (1Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, 2Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P1-52</b>	The role of IGF binding protein 5 in the maintenance of pulpal homeostasis during tooth development and wound healing in mice ○Saito K, Ohshima H (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-53</b>	Hertwig's epithelial root sheath and root development of molars in K14 GFP mice ○Nakatsugawa K, Kurosaka H, Yamashiro T (Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-54</b>	<i>Aqp1</i> -knockout mice generated through CRISPR/Cas9-mediated deletion for the analysis of the role of aquaporin 1 in the periodontium ○Kawano Y, Sugiyama A, Takigawa T (Dept Oral Anat, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P1-55</b>	Effects of the enamel matrix derivative on the regeneration of degraded periodontal tissues ○Hasan M <sup>1,2</sup> , Shalehin N <sup>1</sup> , Takebe H <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>1</sup> , Saito T <sup>2</sup> , Irie K <sup>1</sup> (1Div Histol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, 2Div Clinic Cariol Endodont Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>P1-56</b>	A comprehensive gene expression analysis of junctional epithelium using a bioengineered tooth germ method ○Seki T <sup>1,2</sup> , Aizawa R <sup>1</sup> , Mishima K <sup>2</sup> , Yamamoto M <sup>1</sup> (1Dept Periodontol, Showa Univ Sch Dent, 2Dept Pathol, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-57</b>	Histological evaluation of boric acid effects on alveolar bone loss and periodontitis ○Shalehin N, Hasan M, Takebe H, Hosoya A, Irie K (Div Histol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>P1-58</b>	Thermo-sensitive ion channel TRPV4 regulates intercellular junction and motility of oral epithelial cell ○Yoshimoto R <sup>1,2</sup> , Aijima R <sup>3</sup> , Ohsaki Y <sup>4</sup> , Zhang JQ <sup>4</sup> , Cao AL <sup>1,5</sup> , Gao WQ <sup>5</sup> , Kiyoshima T <sup>1</sup> , Kido MA <sup>1,5</sup> (1Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2Sect Periodontol, Grad Sch Dent, Kyushu Univ, 3Dept Oral Maxillofac Surg, Saga Med Sch, 4Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent, Kyushu Univ, 5Dept Anat Physiol, Saga Med Sch)
<b>P1-59</b>	Tactile allodynia in OVA-induced asthma model mice ○Cao AL <sup>1,2</sup> , Gao WQ <sup>1</sup> , Yoshimoto R <sup>2</sup> , Aijima R <sup>3</sup> , Ohsaki Y <sup>4</sup> , Zhang JQ <sup>4</sup> , Kido M <sup>1,2</sup> (1Dept Anat Physiol, Saga Med Sch, 2Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 3Dept Oral and Maxillofacial Surgery, Saga Med Sch, 4Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-60</b>	Morphological changes of von Ebner's gland in the zinc deficiency rat ○Taira F <sup>1,2</sup> , Kawabe Y <sup>3</sup> , Bando Y <sup>1</sup> , Sakiyama K <sup>1</sup> , Amano O <sup>1</sup> (1Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, 2Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent, 3Div Oral Rehabil, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P1-61</b>	Localization of adiponectin in sublingual glands of rats and effects by diabetes mellitus ○Miyake G <sup>1,2</sup> , Taira F <sup>1,2</sup> , Ogasawara Y <sup>1,2</sup> , Bando Y <sup>1</sup> , Sakiyama K <sup>1</sup> , Amano O <sup>1</sup> (1Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, 2Div Oral Surg II, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P1-62</b>	Retinoic-acid-induced cleft palate by regulating Sim2 and sonic hedgehog signaling ○Wang Q, Yamashiro T, Kurosaka H (Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-63</b>	Morphological characteristics of secondary cartilage in the head and neck region ○Kitamura K <sup>1</sup> , Hirouchi H <sup>2</sup> , Yamamoto M <sup>2</sup> , Ishikawa N <sup>1</sup> , Abe S <sup>2</sup> , Yamamoto H <sup>1</sup> (1Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, 2Dept Anat, Tokyo Dent Coll)

<b>P1-64</b>	<i>Rogdi</i> is important for enamel biomineralization in mice ○Mitsui SN, Yasue A, Tanaka E (Dept Orthod Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>P1-65</b>	Runx-Cbfb signaling involved in enamel formation by regulating Stat3 ○Sarper S <sup>1</sup> , Kurosaka H <sup>1</sup> , Ono H <sup>2</sup> , Yamashiro T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Ortho, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-66</b>	Effect of TGF- $\beta$ and BMP on spheroid formation of dental pulp cells ○Saito M, Karakida T, Yamamoto T, Oida S, Yamakoshi Y (Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>P1-67</b>	Primary cell culture of epithelial sheet of rat incisor: cell reaggregation and identification using cell markers ○Nakano T <sup>1,2,3</sup> , Sugiura M <sup>3</sup> , Sakaguchi M <sup>3</sup> , Jinbu Y <sup>1</sup> , Mori Y <sup>1</sup> , Takano Y <sup>3</sup> , Tabata M <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Jichi Med Univ, <sup>2</sup> Kamagaya Gen Hosp, <sup>3</sup> Dept Biostructural Sci Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-68</b>	Histone deacetylase inhibitors suppress inflammatory cytokine production on macrophage-polarized THP-1 cells ○Kaneko J <sup>1,3</sup> , Okinaga T <sup>1</sup> , Hikiji H <sup>2</sup> , Ariyoshi W <sup>1</sup> , Fujii S <sup>3</sup> , Takahashi O <sup>3</sup> , Nishihara T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-69</b>	Extracellular purine nucleotides induce inflammatory cytokine production in human oral epithelial cells ○Shishido K <sup>1,2</sup> , Kuroishi T <sup>1</sup> , Sugawara S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-70</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> enhance the differentiation of osteoclasts via formation of IgG complex with protein A ○Kamohara A <sup>1</sup> , Xu X <sup>1,2</sup> , Kukita T <sup>2</sup> , Kukita A <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol, Fac Med Saga Univ, <sup>2</sup> Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-71</b>	Protective effects of antibodies against <i>Porphyromonas gulae</i> toxicity in silkworm larvae ○Yoshida S <sup>1</sup> , Inaba H <sup>2</sup> , Nakano M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pediatr, Okayama Univ Hosp, <sup>2</sup> Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-72</b>	The study of the sterilizing power and the detergency on the fabricated foamy cationic surfactant ○Shigemura Y, Wang P (Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ)
<b>P1-73</b>	Quantification of oral streptococcal species in children's plaques and its relationship to the caries prevalence ○Makinae T <sup>1</sup> , Shimoyama Y <sup>2</sup> , Kimura S <sup>3</sup> , Ishikawa T <sup>2</sup> , Kodama Y <sup>2</sup> , Sasaki M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Hygiene, Kansai Women's Coll)
<b>P1-74</b>	Evaluation of drug efflux activity in non-tuberculous mycobacteria (NTM) ○Kosaki H, Nakayama M, Tachibana M, Ohara N (Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-75</b>	Suppression of oral bacteria by 2-methacryloyloxyethyl-phosphorylcholine-polymer ○Fujiwara N <sup>1</sup> , Yumoto H <sup>2</sup> , Hirota K <sup>3</sup> , Murakami K <sup>4</sup> , Ozaki K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Conserv Dent, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>3</sup> Dept Med Hygiene, Dent Hygiene Course, Kochi Gakuen Coll, <sup>4</sup> Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>P1-76</b>	Analysis of <i>thyA</i> - or <i>thyX</i> -overexpression mutant ○Ryumon A, Nakayama M, Tachibana M, Kosaki H, Ohara N (Dept Oral Microorganism, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-77</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i> non-coding csRNAs negatively regulate the expression of type IV pilus retraction ATPase <i>pilT</i> and biofilm formation ○Ota C <sup>1</sup> , Morisaki H <sup>2</sup> , Arimoto T <sup>2</sup> , Fukamachi H <sup>2</sup> , Kataoka H <sup>2</sup> , Suzuki N <sup>1</sup> , Masuda Y <sup>3</sup> , Miyazaki T <sup>1</sup> , Kuwata H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Endodontol, Dept Conserv Dent, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Microbiol Immunol, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Div Endod Oper Dent, Dept Restor Biomater Sci, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P1-78</b>	Regulation of biofilm related infections using Myricetin derivatives ○Arita-Morioka K <sup>1</sup> , Nagao J <sup>2</sup> , Narita Y <sup>2</sup> , Tasaki S <sup>2</sup> , Ikezaki S <sup>2</sup> , Yasumatsu K <sup>2</sup> , Cho T <sup>2</sup> , Tanaka Y <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Adv Sci Res Cent, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-79</b>	IgA-recognition against salivary microbiome ○Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Shibata Y, Yamashita Y (Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-80</b>	The choline binding protein CbpJ of <i>Streptococcus pneumoniae</i> contributes to pathogenicity of pneumonia ○Goto K, Yamaguchi M, Hirose Y, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S (Dept Oral and Mol Microbiol, Grad Sch Dent, Osaka Univ)
<b>P1-81</b>	Distribution of single nucleotide polymorphisms in protein-coding regions of <i>emm12 Streptococcus pyogenes</i> ○Shibasaki M <sup>1</sup> , Watanabe T <sup>2</sup> , Nakagawa I <sup>3</sup> , Kasugai S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Implantol Regen Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Center for Food Safety, Grad Sch Agric & Life Sci, The Univ of Tokyo, <sup>3</sup> Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med)
<b>P1-82</b>	Investigation of intracellular pathogenic factor released by of <i>Streptococcus pneumoniae</i> ○Nagai K <sup>1</sup> , Domon H <sup>1,2</sup> , Maekawa T <sup>1,2</sup> , Yamaguchi M <sup>3</sup> , Kawabata S <sup>3</sup> , Terao Y <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Oral Mol Microbial, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-83</b>	Influence of glyco-enzyme inhibitors on glycoproteins of <i>Tannerella forsythia</i> ○Horie T, Inomata M, Into T, Murakami Y (Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P1-84</b>	EBV-LMP1 promotes production of IL-8 through NF- $\kappa$ B signaling in gingival epithelial cells: its potential implication in periodontitis progression ○Watanabe N <sup>1,2</sup> , Koike R <sup>2,3</sup> , Hayata M <sup>2,4</sup> , Kaneko T <sup>3</sup> , Sato S <sup>1</sup> , Imai K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral, Nihon Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Dept Dysphagia, Nihon Univ Sch Dent)

<b>P1-85</b>	Basic study on decontamination effectiveness using implant bacterial contamination model ○Yasamatsu K <sup>1,2</sup> , Narita Y <sup>1</sup> , Cho T <sup>1</sup> , Nagao J <sup>1</sup> , Arita K <sup>1</sup> , Tasaki S <sup>1</sup> , Ikezaki S <sup>1</sup> , Kido H <sup>2</sup> , Tanaka Y <sup>1</sup> (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-86</b>	Relationships between CRISPR and its immune targets in the genus <i>Porphyromonas</i> ○Watanabe T <sup>1</sup> , Shibasaki M <sup>2</sup> , Nakagawa I <sup>3</sup> (Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Cent Food Safety, Grad Sch Agric Life Sci, The Univ of Tokyo, <sup>2</sup> Div Oral Implantol Regen Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med)
<b>P1-87</b>	Metatranscriptomic analysis of dental plaque microbiota in cleft lip and palate patients ○Funahashi K <sup>1</sup> , Watanabe T <sup>2</sup> , Shiba T <sup>3</sup> , Muramoto K <sup>1</sup> , Ogawa T <sup>1</sup> , Nakagawa I <sup>4</sup> , Takeuchi Y <sup>3</sup> , Izumi Y <sup>3</sup> , Moriyama K <sup>1</sup> (Dept Maxillofac Ortho, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Lab Food-borne Pathog Microbiol, Res Center for Food Safety, Grad Sch Agric Life Sci, The Univ of Tokyo, <sup>3</sup> Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Dept Microbiol, Kyoto Univ Grad Sch Med)
<b>P1-88</b>	Effect of lactate and pH on nitrite producing activity of <i>Veillonella atypica</i> ○Dimas Prasetyanto W, Washio J, Takahashi N (Dept Oral Ecol and Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-89</b>	Site-specific inactivation of CD8 <sup>+</sup> T cells in allergic contact stomatitis ○Hirunwidchayarat W, Furusawa E, Kang S, Ohno T, Nagai S, Azuma M (Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ)
<b>P1-90</b>	Identification of the major T cell component of <i>Candida albicans</i> in oral candidiasis ○Tasaki S <sup>1,2</sup> , Cho T <sup>1</sup> , Nagao J <sup>1</sup> , Narita Y <sup>1</sup> , Hashimoto M <sup>1</sup> , Ikezaki S <sup>1</sup> , Arita-Morioka K <sup>1</sup> , Yasumatsu K <sup>1</sup> , Kojima H <sup>2</sup> , Tanaka Y <sup>1</sup> (Sec Infect Biol, Dept Funct BioSci, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Sec Dent for the Disability, Dept Oral Growth and Dev, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-91</b>	Mucosal vaccine effect in mice by intranasal coadministration with outer membrane vesicles of <i>P. gingivalis</i> and <i>A. actinomycetemcomitans</i> ○Hirayama S, Senpuku H, Nakao R (Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis)
<b>P1-92</b>	IL-1β-production-inducing activity of <i>Candida albicans</i> toward dendritic cells and macrophages ○Hasebe A, Saeki A, Shibata K (Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P1-93</b>	Host immune responses induced by molecules from <i>Candida albicans</i> biofilm formed under mild heat stress ○Cho T, Ikezaki S, Tasaki S, Yasumatsu K, Narita Y, Arita-Morioka K, Nagao J, Tanaka Y (Dept Func Biosci, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-94</b>	Discovery of four genes encoding glycosyltransferase involved in the lipopolysaccharide synthesis of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Shoji M, Sato K, Yukitake H, Naito M, Nakayama K (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>P1-95</b>	Identification of pathogen's components inducing T cell response in experimental periodontitis model mice ○Narita Y, Nagao J, Arita-Morioka K, Ikezaki S, Tasaki S, Yasumatsu K, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-96</b>	A consideration on the origin of odontogenic keratocyst—Existence of melanocytes in odontogenic keratocyst— ○Isomura M <sup>1</sup> , Sato N <sup>1</sup> , Honda Y <sup>1</sup> , Kato I <sup>1</sup> , Komori A <sup>1</sup> , Kawai R <sup>1,2</sup> , Yoshida W <sup>1,2</sup> , Sugita Y <sup>1,2</sup> , Kubo K <sup>1,2</sup> , Maeda H <sup>1,2</sup> (Div Oral Pathol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Res Inst Adv Oral Sci, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
<b>P1-97</b>	Macrophages appearing to bioabsorbable suture thread Vicryl embedded in the rat subcutaneous tissue ○Nakayasu Y <sup>1,2</sup> , Matsuda S <sup>2</sup> , Moriyama K <sup>2</sup> , Shoumura M <sup>1,2</sup> , Tsujigiwa H <sup>3</sup> , Nakano K <sup>4</sup> , Nagatsuka H <sup>4</sup> , Osuga N <sup>1,2</sup> , Kawakami T <sup>5</sup> (Oral Health Anal, Matsumoto Dent Univ Grad Sch, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Histopathol, Okayama Univ Sch, <sup>4</sup> Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch, <sup>5</sup> Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch)
<b>P1-98</b>	KIR3DL2 binding to HLA class I licenses pathogenic T cell differentiation in bone diseases ○Yahara H <sup>1</sup> , Kollnberger S <sup>2</sup> (Dept Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Inst Infect Immunol, Cardiff Univ)
<b>P1-99</b>	The role of Fam20C in bone formation ○Hirose K <sup>1</sup> , Usami Y <sup>1</sup> , Sato S <sup>1</sup> , Sharyo M <sup>1</sup> , Oya K <sup>1</sup> , Komori T <sup>2</sup> , Toyosawa T <sup>1</sup> (Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Cell Bio, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>P1-100</b>	Gene expression of senescence autophagy by long-term stimulation of LPS in human gingival epithelial cells ○Takai R <sup>1</sup> , Toraya S <sup>2</sup> , Uehara O <sup>2</sup> , Ohnishi A <sup>3</sup> , Yoshida K <sup>3</sup> , Sato J <sup>3</sup> , Nishimura M <sup>3</sup> , Abiko Y <sup>3</sup> , Ohta T <sup>1</sup> (Res Inst Health Sci, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup> Div Dis Control Mol Epidemiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup> Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>P1-101</b>	Bone marrow derived cell migration and differentiation into locally specialized fibroblasts in the periodontal polyp ○Matsuda S <sup>1,2</sup> , Shoumura M <sup>1,2</sup> , Osuga N <sup>1,2</sup> , Tsujigiwa H <sup>3</sup> , Nakano K <sup>4</sup> , Kawakami T <sup>2</sup> (Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Matsumoto Dent Univ Grad Sch, <sup>3</sup> Fac Sci, Okayama Sci Univ, <sup>4</sup> Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-102</b>	Combination effect of oncolytic adenovirus with 5-FU ○Kanayama J <sup>1,2</sup> , Matuda-Yanagawa A <sup>1</sup> , Kitamura T <sup>1</sup> , Kitagawa Y <sup>2</sup> , Higashino F <sup>1</sup> (Dept Oral Pathol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P1-103</b>	Keratin17 expression, regulated by GLI, promotes tumor cell growth through the anti-apoptotic function in oral squamous cell carcinoma ○Mikami Y <sup>1</sup> , Fujii S <sup>2</sup> , Nagata K <sup>2</sup> , Wada H <sup>2</sup> , Hasegawa K <sup>2</sup> , Abe M <sup>2</sup> , Yoshimoto R <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>1</sup> , Kiyoshima T <sup>2</sup> (Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-104</b>	Prognostic prediction of oral squamous cell carcinoma by E-cadherin and N-cadherin expression ○Honda Y <sup>1,2</sup> , Fujita S <sup>2</sup> , Ikeda T <sup>3</sup> (Dept Clin Physiol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Pathol Bone Metab, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>3</sup> Div Oral Pathol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-105</b>	Induction of drug resistance in vascular endothelial cells by highly metastatic tumor-derived exosome miRNA ○Morimoto M <sup>1,2</sup> , Maishi N <sup>1</sup> , Hida K <sup>1</sup> (Dept Vascular Biol, IGM, Hokkaido Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

<b>P1-106</b>	Ubiquitin proteasome pathway maintain undifferentiated state in pluripotent stem cells ○Tsunematsu T, Kudo Y, Yamada A, Arakami R, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol, Grad Sch Biomed Sci Tokushima Univ)
<b>P1-107</b>	Attenuate tooth movement-related pain by laser irradiation ○Tsuchiya T <sup>1</sup> , Hasegawa N <sup>1</sup> , Suda N <sup>1</sup> , Adachi K <sup>2</sup> (Div Orthodontol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P1-108</b>	Effects of anti-bone-resorptive drugs on the growth and tooth development of young mice ○Isawa M <sup>1,2</sup> , Karakawa A <sup>2</sup> , Sakai N <sup>2</sup> , Chatani M <sup>2</sup> , Kuritani M <sup>2,3</sup> , Koga T <sup>2</sup> , Takami M <sup>2</sup> (Dept Pediatr Dent, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Person with Disabilities, Showa Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-109</b>	A novel Rab protein regulating osteoclast differentiation ○Yamaguchi Y <sup>1</sup> , Sakai E <sup>1</sup> , Okamoto K <sup>2</sup> , Kajiya H <sup>3</sup> , Okabe K <sup>3</sup> , Tsukuba T <sup>1</sup> (Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>3</sup> Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll)
<b>P1-110</b>	Effects of anti-RANKL antibody and zoledronate on inflammatory bone destruction induced by LPS in mice ○Kuritani M <sup>1,2</sup> , Sakai N <sup>1</sup> , Karakawa A <sup>1</sup> , Chatani M <sup>1</sup> , Isawa M <sup>1,3</sup> , Koga T <sup>1</sup> , Takami M <sup>1</sup> (Dept Oral Pharmacol, Showa Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Persons with Disabilities, Showa Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Pediatr Dent, Showa Univ Sch Dent)
<b>P1-111</b>	Conditioned medium from rat dental pulp attenuates the number of osteoclasts via suppression of proliferation in macrophages ○Mori H <sup>1,2</sup> , Hamamura K <sup>1</sup> , Yo S <sup>1,2</sup> , Hamajima K <sup>1,2</sup> , Ishizuka K <sup>1</sup> , Otani K <sup>1</sup> , Honda M <sup>3</sup> , Goto S <sup>2</sup> , Togari A <sup>1</sup> (Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Adv Cell Technol and Engineering Ltd)
<b>P1-112</b>	Targeting <i>Mmp</i> inhibits viability and metastasis of high-metastatic cancer cells ○Okusha Y <sup>1</sup> , Eguchi T <sup>1</sup> , Sogawa C <sup>1</sup> , Nakano K <sup>2</sup> , Okamoto K <sup>1</sup> , Kozaki K <sup>1</sup> (Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P1-113</b>	Stress induced overexpression of GPR30 evoke hyperactivity of Akt-WNK1 signaling which lead a decline in GABAergic inhibitory signal via inactivation of KCC2 ○Tsukahara T <sup>1</sup> , Furukawa M <sup>1,2</sup> , Tomoto K <sup>1</sup> , Iwai H <sup>3</sup> , Takashi Y <sup>1,5</sup> , Sonomura T <sup>4</sup> , Sato T <sup>1</sup> (Dept Appl Pharmacol, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Oral Anat, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Dept Anat, Asahi Univ Sch Dent, <sup>5</sup> Dept Restorat Dent Endodont, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-114</b>	Maternal separation delayed the timing of GABA switch and induced the behavior disorders in male mice ○Furukawa M <sup>1,2</sup> , Tsukahara T <sup>1</sup> , Tomita K <sup>1</sup> , Takashi Y <sup>1,3</sup> , Sato T <sup>1</sup> (Dept Appl Pharmacol, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Restorat Dent Endodont, Kagosima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P1-115</b>	Effects of Wnt5A, released by periodontal ligament cells loaded with mechanical stimulation, on neurite elongation ○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M (Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-116</b>	Cathepsin E in the epidermal keratinocytes of hindpaw contributes to the chronic phase of neuropathic pain ○Zhang J, Hayashi Y, Nakanishi H (Sctet Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P1-117</b>	Integrin $\beta$ 1 subunit modifies branching morphogenesis and signal transduction in SMG rudiments stimulated by EGF or FGF10 ○Adachi K <sup>1</sup> , Koyama N <sup>2</sup> , Muramatsu Y <sup>1</sup> , Kashimata M <sup>2</sup> (Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P1-118</b>	Regulation of cell migration and gene expression by the store-operated calcium entry in dental epithelial cells ○Murata K <sup>1</sup> , Morita T <sup>3</sup> , Takahashi A <sup>2</sup> , Saitoh M <sup>2</sup> , Tanimura A <sup>1</sup> (Dept Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>3</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P1-119</b>	Induction of biofilm formation composed of multiple bacteria species by NaCl ○Senpuku H (Dept Bact I, Natl Inst Infect Dis)
<b>P1-120</b>	Promoter analysis for mouse T1R1 amino acids (umami) receptor gene in C2C12 cells ○Toyono T <sup>1</sup> , Hirata Y <sup>2</sup> , Kataoka S <sup>1</sup> , Nakatomi M <sup>1</sup> , Seta Y <sup>1</sup> (Div Anat, Dept Health Improv, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Oral Reconstruct. Rehabil, Dept Oral Funct, Kyushu Dent Univ)
<b>P1-121</b>	Imaging and mapping of mouse bone using MALDI-imaging mass spectrometry ○Minamizaki T, Yoshiko Y (Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci)
<b>P1-122</b>	Evaluation of organic components remaining in the autoclave-sterilized dentin particles ○Okuno K <sup>1,2</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Tanaka M <sup>1</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Kamiya M <sup>2,3</sup> , Kawano S <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> (Dept Endod, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin)
<b>P1-123</b>	Pam <sub>2</sub> CSK <sub>n</sub> , a synthetic tri-acylated lipopeptide, induces maxillary alveolar bone loss in normal rats ○Suzuki K <sup>1,2</sup> , Arimoto T <sup>3</sup> , Nagaoka M <sup>1</sup> , Kuwata H <sup>3</sup> , Shinoda H <sup>4</sup> (Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Microbiol & Immunol, Showa Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Cent for Environ Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>PS-1</b>	Role of PLC-related catalytically inactive protein in LPS-induced anorexia ○Shirawachi S, Yamawaki Y, Kanematsu T (Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, Dept Cell Mol Pharmacol)
<b>PS-2</b>	(withdrawn)
<b>PS-3</b>	The binding of CCN2 with GDF5 modulates effect of GDF5 on chondrocytes ○Ida S <sup>1,2</sup> , Aoyama E <sup>2</sup> , Kubota S <sup>2,3</sup> , Takigawa M <sup>2</sup> (Okayama Univ Dent Sch, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>3</sup> Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

<b>PS-4</b>	Novel role of Periostin splicing variants in oral squamous cell carcinoma ○Umeda M, Tsunematsu T, Yamada A, Arakaki R, Kudo Y, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>PS-5</b>	The mechanism of acquiring drug resistance in tumor endothelial cells after anti-cancer therapy ○Takeda R <sup>1,2</sup> , Morimoto M <sup>2</sup> , Maishi N <sup>2</sup> , Hida K <sup>2</sup> (Hokkaido Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Vascular Biol IGM, Hokkaido Univ)
<b>PS-6</b>	Behavioral change and histological analysis after tooth extraction of Alzheimer's disease model mice ○Seki H, Dhar A, Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A, Goto T (Dept Oral Anat and Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>PS-7</b>	Osteoclasts appear before calcification begins during mouse mandibular bone development ○Aoyama N <sup>1</sup> , Nakamura M <sup>2</sup> , Sasano Y <sup>2</sup> (Tohoku Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>PS-8</b>	The effect of hypoxic stress during mouse tooth development ○Kibe K <sup>1</sup> , Nakatomi M <sup>2</sup> , Kataoka S <sup>2</sup> , Toyono T <sup>2</sup> , Seta Y <sup>2</sup> (6th year student, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Anat, Kyushu Dent Univ)
<b>PS-9</b>	Immunohistochemical localization of DMP-1, DSP, FAM20C during tooth development ○Ono A <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>2</sup> , Nakamura H <sup>3</sup> (Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
<b>PS-10</b>	Screening of a candidate oral bacteria to prevent dental caries and periodontal disease ○Ikemoto R, Tatamiya Y, Nagao J, Narita Y, Arita-Morioka K, Yasumatsu K, Tasaki S, Ikezaki S, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
<b>PS-11</b>	Quantification and composition of remaining bacteria in plastic bottles after drinking ○Sano H <sup>1</sup> , Hirabuki Y <sup>1</sup> , Wakui A <sup>1</sup> , Aida A <sup>1</sup> , Abiko Y <sup>2</sup> , Yamaki K <sup>2</sup> , Mayanagi G <sup>2</sup> , Washio J <sup>2</sup> , Takahashi N <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> (Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Sch Health Sci, <sup>2</sup> Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>PS-12</b>	The extent of contamination of smartphone by ATP method ○Tanaka U <sup>1</sup> , Ikezawa E <sup>1</sup> , Yoshida A <sup>1</sup> , Katsuragi H <sup>2</sup> (Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>PS-13</b>	Sublingual immunotherapy prevents food allergy in mice ○Akiyama N <sup>1</sup> , Momokita M <sup>1</sup> , Shishido K <sup>1,2</sup> , Kuroishi T <sup>1</sup> , Sugawara S <sup>1</sup> (Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

(September 18, 15 : 10-16 : 10)

<b>P2-1</b>	Actual factors related to the natural bite size of food ○Shiozawa K, Okumura S (Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>P2-2</b>	Expression and localization of the regulators of blood vessel formation in tooth germ development ○Sunohara M, Sato I (Dept Anat, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ)
<b>P2-3</b>	Morphology of palatine sulcus and distribution of greater and lesser palatine artery, nerves ○Miwa Y, Sunohara M, Sato I (Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P2-4</b>	Frameshift mutation of the canid fork-head box I3 (Foxl3) gene denies the Cope-Osborn metaconid rotation in the tribosphenic molar evolution ○Koyasu K, Ikeda Y (Dept Anat, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ)
<b>P2-5</b>	Cardiac remodeling caused by enforced bite-opening and its inhibition by co-administration with beta blocker ○Yagisawa Y <sup>1</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Umeki D <sup>1</sup> , Ishikawa M <sup>3</sup> , Kawamura N <sup>4</sup> , Ito A <sup>1</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Nakamura Y <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> (Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup> Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup> Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>P2-6</b>	(withdrawn)
<b>P2-7</b>	TLE3 regulates proliferation and differentiation of muscle stem cells ○Kokabu S <sup>1</sup> , Nakatomi C <sup>1</sup> , Matsubara T <sup>1</sup> , Jimi E <sup>1,2</sup> (Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> OBT Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-8</b>	Localization of CGRP in human middle ear related muscle ○Sato I, Miwa Y, Sunohara M (Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P2-9</b>	Cartilage abnormality of cranial base and temporomandibular joint in cartilage calcification insufficient rat ○Nagayama M <sup>1</sup> , Amano H <sup>2</sup> , Ehara M <sup>1</sup> , Nakao J <sup>1</sup> , Tanuma J <sup>1</sup> , Watanabe M <sup>3</sup> , Tanaka M <sup>4</sup> (Dept Oral Pathol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ, <sup>3</sup> Inst Anim Exp, St. Marianna Univ Grad Sch Med, <sup>4</sup> Junior Coll Div, Univ Aizu, Dept Food Nutr)
<b>P2-10</b>	Report of the stress caused by resorption of bone inhibitor administration protein expression of bone associated cells ○Sadaoka S <sup>1</sup> , Yagami K <sup>2</sup> (Matsumoto Dent Univ Oral Hygiene, <sup>2</sup> Matsumoto Dent Univ Grad Sch Dent Independence, Oral-health promotion)
<b>P2-11</b>	(withdrawn)
<b>P2-12</b>	A role of a histone methyltransferase G9a in osteoclast differentiation ○Komatsu K <sup>1</sup> , Ideno H <sup>1</sup> , Shimada A <sup>1</sup> , Nakashima K <sup>1</sup> , Yamashita T <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>3</sup> , Nifuji A <sup>1</sup> (Dept Pharmacol Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Mol Hard Tissue Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Oral Biochem Matsumoto Dent Univ)

<b>P2-13</b>	Mechanisms involved in inhibition of osteoclast formation by curdlan-dectin-1 interaction mediated by syk protein degradation ○Ariyoshi W, Okinaga T, Nishihara T (Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)
<b>P2-14</b>	Administration of W9 peptide to OPG-deficient mice improved alveolar bone loss ○Ozaki Y <sup>1</sup> , Koide M <sup>2</sup> , Ninomiya T <sup>2</sup> , Nakamura M <sup>3</sup> , Yoshinari N <sup>1</sup> , Takahashi N <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>3</sup> (1Dept Oper Dent, Endodont, Periodontol, Matsumoto Dent Univ, 2Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, 3Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ)
<b>P2-15</b>	Treatment of cathepsin K inhibitor in osteoprotegerin-deficient mice inhibits bone resorption and stimulates bone formation ○Nakamura M <sup>1,2</sup> , Nakamichi Y <sup>2</sup> , Mizoguchi T <sup>2</sup> , Kobayashi Y <sup>2</sup> , Takahashi N <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>1,2</sup> (Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, 2Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
<b>P2-16</b>	Actin regulating protein PPP1r18 regulates actin ring in osteoclasts ○Matsubara T <sup>1</sup> , Kokabu S <sup>1</sup> , Nakatomi C <sup>1</sup> , Jimi E <sup>1,2</sup> (1Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, 2OBT Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-17</b>	Pmpa1 is induced in active osteoclasts and involved in bone resorption ○Xu X <sup>1,2</sup> , Kamohara A <sup>1</sup> , Kukita T <sup>2</sup> , Kukita A <sup>1</sup> (1Dept Microbiol, Fac Med Saga Univ, 2Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ)
<b>P2-18</b>	SMS1 in osteoblast regulates osteoblast differentiation ○Yoshikawa Y, Domae E, Kamada A, Ikeo T (Div Biochem, Osaka Dent Univ)
<b>P2-19</b>	Effect of concentrated growth factors on bone metabolism ○Sumida R <sup>1</sup> , Maeda T <sup>2</sup> , Suzuki A <sup>2</sup> , Sakurai Y <sup>3</sup> , Yusa J <sup>3</sup> , Kato Y <sup>2</sup> (1Div Oral Maxillofac Surg, Ohu Univ Sch Dent, 2Div Oral Biochem, Ohu Univ Sch Dent, 3Div Oral Pathol, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P2-20</b>	Scanning electron microscopic study on morphology of capillaries invading epiphyseal cartilage plate ○Yamamoto T, Hasegawa T, Hongou H, Amizuka N (Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P2-21</b>	Ligand dependent RAR $\gamma$ signaling regulates chondrocyte maturation in growth plate ○Uchibe K, Ikegame M, Okamura H (Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P2-22</b>	The expression sites of VEGF and MMP-9 and their roles at the disappearance of the anterior half of Meckel's cartilage ○Inoue K (Dept Oral Functional Anat Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P2-23</b>	(withdrawn)
<b>P2-24</b>	Comparative analysis of natural apatite crystal and biological apatite crystal ○Mishima H <sup>1</sup> , Miake Y <sup>2</sup> , Matsumoto Y <sup>3</sup> (1Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, 2Dept Hist Dev, Tokyo Dent Coll, 3Fac Agric, Kagawa Univ)
<b>P2-25</b>	Immunohistochemical detection of enamel matrix protein-like proteins in tooth enameloid of polypterus, Polypterus senegalus, an actinopterygian bony fish ○Sasagawa I <sup>1</sup> , Oka S <sup>2</sup> , Mikami M <sup>3</sup> , Yokosuka H <sup>4</sup> , Ishiyama M <sup>4</sup> (1Adv Res Cent, Nippon Dent Univ at Niigata, 2Dept Biol, Nippon Dent Univ at Niigata, 3Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, 4Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P2-26</b>	Characterization of spontaneously immortalized cells derived from primary dental pulp of rhesus macaque ( <i>Macaca mulatta</i> ) ○Kobayashi T <sup>1,2</sup> , Matsui M <sup>1</sup> , Suzuki J <sup>3</sup> , Tsutsui T <sup>1</sup> (1Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, 2Div Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, 3Cent Human Evolution Modeling Res, Primate Res Inst, Kyoto Univ)
<b>P2-27</b>	Cryopreservation permits root elongation and eruption of transplanted teeth ○Nakamura M, Sasano Y (Div Craniofac Dev Regen, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-28</b>	Hypoxia inducible factor 1 alpha augments the synthesis of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated human dental pulp cells ○Fujii M, Kawashima N, Okiji T (Dept Pulp Biol Endodont, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P2-29</b>	Detection of bone marrow-derived fibrocytes during wound healing of human dental pulp ○Yoshihara N <sup>1</sup> , Ohkura N <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>2</sup> , Nakamura H <sup>3</sup> , Noiri Y <sup>1</sup> , Yoshihara K <sup>1</sup> (1Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, 2Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, 3Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
<b>P2-30</b>	The effects of zinc-oxide eugenol mixture on prostaglandin E receptors in inflamed pulps of rat mandibular incisors ○Fukada T <sup>1</sup> , Toen T <sup>1</sup> , Hashimoto S <sup>2</sup> (1Sect Radioisotopes Res, Res Cent for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, 2Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P2-31</b>	Reactions of the dentin-pulp complex to calcium hydroxide paste in rats ○Moriyama K <sup>1</sup> , Matsuda S <sup>1</sup> , Shoumura M <sup>1</sup> , Kawakami T <sup>2</sup> , Osuga N <sup>1</sup> (1Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ, 2Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch)
<b>P2-32</b>	Distribution of pentosidine in dentin collagen ○Shimizu M, Miura J (Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-33</b>	The analgesic effect of guaiacol to rat trigeminal ganglion neurons ○Shimada M <sup>1</sup> , Kimura M <sup>1</sup> , Sato M <sup>2</sup> , Higashikawa A <sup>1</sup> , Kojima Y <sup>1</sup> , Tazaki M <sup>1</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> (1Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, 2Dept Biol, Tokyo Dent Coll)
<b>P2-34</b>	Expression and function of AMP-activated protein kinase (AMPK) in odontogenesis ○Iida-Yonemochi Hi <sup>1</sup> , Otsu K <sup>2</sup> , Harada H <sup>2</sup> , Ohshima H <sup>1</sup> (1Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, 2Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>P2-35</b>	The variation of nucleotide sequence of amelogenin gene in several whales ○Ishiyama M <sup>1</sup> , Mikami M <sup>2</sup> , Imai A <sup>3</sup> (1Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata, 2Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, 3Dept Dent Hygien, Nippon Dent Univ Coll at Niigata)

<b>P2-36</b>	Examination of oral mucosal injury caused by the instruments for oral care ○Myose Y, Hikiji H (Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ)
<b>P2-37</b>	Differentiation potential of the mesenchymal stem cell in gingiva and periodontal ligament ○Takahashi T, Ushijima N, Iizuka T (Hokkaido Univ Fac Dent Med)
<b>P2-38</b>	Effect of S-PRG filler eluate on Matrix metalloproteinase production of human gingival fibroblasts ○Inoue H <sup>1</sup> , Goda S <sup>2</sup> , Nishikawa Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Osaka Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-39</b>	PDL recovery due to expression of HSP70 elicited by mechanical stress ○Muraoka R <sup>1</sup> , Nakano K <sup>2</sup> , Yamada K <sup>1</sup> , Kawakami T <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Pathol and Med, Okayama Univ Grad Sch Med Sci, <sup>3</sup> Hard Tissue Pathol, Matsumoto Dent Univ Grad Sch Oral Med)
<b>P2-40</b>	Platform switched implants stabilized periodontal tissues via collagen XII ○Tsutsumi T <sup>1</sup> , Kajiya H <sup>2</sup> , Goto K <sup>3</sup> , Okabe K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Removal Prosthodont, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Dent Hygie, Fukuoka Dent Coll)
<b>P2-41</b>	Cytological migration and differentiation of BMDCs in the periodontal ligament remodeling ○Kaneko K <sup>1</sup> , Tsujigiwa H <sup>2</sup> , Matsuda S <sup>3</sup> , Nakano K <sup>4</sup> , Muraoka R <sup>5</sup> , Nagatsuka H <sup>4</sup> , Kawakami T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Hard Tissue Res, Matsumoto Dent Univ Grad Sch Oral Med, <sup>2</sup> Dept Life Sci, Fac Sci, Okayama Univ of Sci, <sup>3</sup> Dept Pediatr Dent, Matsumoto Dent Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>5</sup> Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ Sch Dent)
<b>P2-42</b>	Usefulness of <i>Stackia exigua</i> as clinical indicators of peri-implantitis ○Uchibori S <sup>1</sup> , Tsuzukibashi O <sup>2</sup> , Kobayashi T <sup>1</sup> , Aida M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Crown Bridge Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-43</b>	Anti-tumor effects of interferon-inducible chemokines against mouse squamous cell carcinoma cells in mice ○Mori K <sup>1</sup> , Hiroi M <sup>2</sup> , Shimada J <sup>1</sup> , Ohmori Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Maxillac Surg, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Microbiol and Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P2-44</b>	Nicotine exposure induces the proliferation through the p44/42 MAPK signaling in the epithelial cell carcinoma ○Nishioka T <sup>1,2</sup> , Tada H <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Res Unit Interface Oral Health Sci, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-45</b>	Expression of MMP-9 mRNA is induced by acidic extracellular pH through by RhoA-PLD1 axis in mouse B16 melanoma cells ○Maeda T, Suzuki A, Kato Y (Div Oral Biochem, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P2-46</b>	Combined SN-38 and gefitinib treatment promotes CD44 degradation in Head and Neck squamous cell carcinoma cells ○Umamura N, Takayama E, Kawaki H, Kamiya M, Kondoh N (Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P2-47</b>	Analysis of Oxidative stress response in $\rho 0$ cells ○Takashi Y <sup>1</sup> , Tomita K <sup>2</sup> , Tsukahara T <sup>2</sup> , Furukawa M <sup>3</sup> , Nishitani Y <sup>1</sup> , Sato T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P2-48</b>	The effect of AT1 receptor blocker in oral squamous cell carcinoma ○Morioka M <sup>1,2</sup> , Kawakubo-Yasukochi T <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>1</sup> , Nakashima M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ)
<b>P2-49</b>	A pilot study on localization and enzymatic activity of transglutaminases in the oral epithelial disease with abnormal keratinization ○Shimada K, Ochiai T, Hasegawa H (Matsumoto Dent Univ, Dept Oral Pathol)
<b>P2-50</b>	TGF- $\beta 1$ suppresses BMP-2-induced mesenchymal-epithelial transition in human oral squamous cell carcinoma cell HSC-4 through attenuation of BMP-2 signal ○Kamo M, Kyakumoto S, Ishisaki A (Div Cell Biosig Sci, Dept Biochem, Iwate Med Univ)
<b>P2-51</b>	Localization of BP180 in oral squamous cell carcinoma ○Yasukochi A <sup>1</sup> , Morioka M <sup>1,2</sup> , Kawakubo-Yasukochi T <sup>2</sup> , Nakashima M <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Maxillofac Oncol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Immunol Mol Pharmacol, Fac Pharm Sci, Fukuoka Univ)
<b>P2-52</b>	TGF- $\beta$ induced CUX1 isoforms up-regulates fibrosis in systemic sclerosis lung fibroblasts ○Ikeda T <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Clin Immuno, IMS, Tokyo Univ, <sup>2</sup> Sch Med, Univ Coll London)
<b>P2-53</b>	Gustatory test performed in schoolchildren ○Saiki C <sup>1</sup> , Ide R <sup>1</sup> , Takahashi M <sup>1</sup> , Imai T <sup>1</sup> , Kawauchi K <sup>1,2</sup> , Ishii H <sup>2</sup> , Hasegawa M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Nippon Dent Univ, Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Ichikawa Dent Assoc)
<b>P2-54</b>	The function of insulin signaling in mouse peripheral taste system ○Takai S <sup>1</sup> , Ninomiya Y <sup>2</sup> , Shigemura N <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Sensory Physiol, R & D Cent for Taste & Odor Sensing, Kyushu Univ)
<b>P2-55</b>	The influence of the concentration of component in the binary mixed taste solutions in rats ○Yamamura T, Yasuo T, Suwabe T, Sako N (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P2-56</b>	Behavioral characteristics of pre-weaned rats and effect of environmental endocrine disrupter ○Fujimoto T, Nishikawa Y (Dept Physiol, Osaka Dent Univ)
<b>P2-57</b>	Differences in the regulation of surface temperature accompanied by hemodynamic changes in the intra- and extraoral tissues mediated by trigeminal afferents ○Ishii H, Sato T (Div Physiol, Dept Oral Biol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)

<b>P2-58</b>	Neural activity of rostral ventromedial medulla induced by noxious stimulation to cutaneous and deep craniofacial tissues ○Kurose M <sup>1</sup> , Hasegawa M <sup>1,2</sup> , Okamoto K <sup>1</sup> , Shimizu S <sup>1,3</sup> , Nakatani Y <sup>1,3</sup> , Fujii N <sup>2</sup> , Takagi R <sup>3</sup> , Yamada Y <sup>4</sup> , Yamamura K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>2</sup> Gen Dent Clinic Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp, <sup>3</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>4</sup> Dept Dent Hyg, Tokyo Dent Junior Coll)
<b>P2-59</b>	Spiking patterns of somatosensory neurons in the first relay nuclei in the rat medulla: their sensitivity to directions of moving tactile stimuli ○Toda T <sup>1</sup> , Shishido S <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Akamon Oriental Med Coll)
<b>P2-60</b>	Spatiotemporal profiles of excitatory propagation responding to masseter muscle spindles stimulation in rat cerebral cortex ○Fujita S, Kobayashi M (Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P2-61</b>	Analysis of a local renin-angiotensin system in the rat brainstem ○Suwabe T (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P2-62</b>	Functional connectivity of human jaw tapping ○Fukami H, Sahara Y (Dept Physiol, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>P2-63</b>	Possible central mechanism of emetine-induced nausea and/or emesis ○Sato T, Hisadome K, Hirai Y, Funahashi M (Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P2-64</b>	Inhibitory roles of Japanese Rice Wine (Sake) on masseter muscle nociception after repeated psychophysical stress conditionings in the rats ○Okamoto K <sup>1</sup> , Nakatani Y <sup>1,2</sup> , Kurose M <sup>1</sup> , Kakahara Y <sup>3</sup> , Kiguchi T <sup>2,3</sup> , Hasegawa M <sup>4</sup> , Fujii N <sup>4</sup> , Saeki M <sup>3</sup> , Takagi R <sup>2</sup> , Yamamura K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Oral & Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp)
<b>P2-65</b>	Fluoxetine prevents psychophysical stress-induced increases in Fos responses in Trigeminal Caudalis (Vc) region evoked by masseter muscle injury in rats ○Nakatani Y <sup>1,2</sup> , Kurose M <sup>1</sup> , Shimizu S <sup>1,2</sup> , Kakahara Y <sup>3</sup> , Kiguchi T <sup>2,3</sup> , Hasegawa M <sup>1,4</sup> , Saeki M <sup>3</sup> , Takagi R <sup>2</sup> , Yamamura K <sup>1</sup> , Okamoto K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Oral & Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp)
<b>P2-66</b>	Fast-spiking interneurons in the agranular insular cortex receive excitatory inputs from the piriform cortex ○Yamamoto K, Kobayashi M (Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P2-67</b>	Effects of human bitter taste receptor antagonists on gustatory responses in mice ○Yoshida R <sup>1,2</sup> , Shigemura N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)
<b>P2-68</b>	Capsaicin enhances responses of the chorda tympani nerve to sugars and salt ○Iwata S <sup>1</sup> , Yasumatsu K <sup>1</sup> , Ninomiya Y <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Div Sensory Physiol, R&D Cent for Taste and Odor Sensing, Kyushu Univ, <sup>2</sup> Monell Chemical Senses Center)
<b>P2-69</b>	The effect of intranasal administration of rotenone on olfactory and taste functions in C57BL/6 mice ○Yin DX, Sato H, Kawano T, Matsuura Y, Toyoda H, Kato T (Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-70</b>	Peripheral nerve injury induces the proliferation and activation of macrophage-like cells in the mouse trigeminal ganglion ○Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A, Dhar A, Goto T (Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P2-71</b>	Histological analysis of GABA <sub>B</sub> receptors in the rat submandibular gland ○Harada F <sup>1</sup> , Nozawa-Inoue K <sup>1</sup> , Maeda T <sup>1</sup> , Terunuma M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>P2-72</b>	Expression of small membrane A-kinase anchoring protein (smAKAP) in mouse parotid glands ○Nashida T <sup>1</sup> , Morita T <sup>1</sup> , Shimomura-Kuroki J <sup>2</sup> , Mizuhashi F <sup>3</sup> , Yoshimura K <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>4</sup> Dept Anat, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P2-73</b>	The morphological influence of osteoporosis and bisphosphonate for the mandibular glands of rat ○Kawashima W, Uemura M, Toda I, Takemura A (Dept Anat, Osaka Dent Univ)
<b>P2-74</b>	Recovery from atrophy of rat parotid glands by change from liquid diet feeding to pellet diet feeding ○Takahashi S, Takebuchi R, Taniwaki H, Domon T (Dept Oral Functional Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>P2-75</b>	Analysis of protein ingredient in saliva of oral dryness patients caused by calcium blocker ○Mizuhashi F <sup>1</sup> , Koide K <sup>1</sup> , Nashida T <sup>2</sup> , Toya S <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P2-76</b>	Enhancement of gene expressions by stimulation with pilocarpine in submandibular gland and brain ○Morita T <sup>1,2</sup> , Nezu A <sup>2</sup> , Nashida T <sup>1</sup> , Tanimura A <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>P2-77</b>	Changes in the expression pattern of micro RNA in response to tissue injury in parotid acinar cells ○Ogawa H, Sakurai H, Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-78</b>	The effect of unilateral salivary gland injury in the opposite salivary gland ○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)

<b>P2-79</b>	Effects of salivary histatin on Toll-like receptor 2 activation by influenza virus hemagglutinin ○Imamura Y <sup>1</sup> , Wang PL <sup>2</sup> , Sogawa N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ)
<b>P2-80</b>	Continuous intake of polydextrose and lactitol combination stimulates fermentation in the cecum and salivary IgA secretion in rats ○Yamamoto Y <sup>1</sup> , Saruta J <sup>2</sup> , To M <sup>2</sup> , Tsukinoki K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ, Sch Dent Hygiene, <sup>2</sup> Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent Dept Oral Sci)
<b>P2-81</b>	Regulation of Hippo signaling by EGF/ErbB activation in fetal mouse submandibular glands ○Koyama N, Adachi K, Kashimata M (Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P2-82</b>	Comparison of calcium mobilization between the two mouse strains that have different capacities of saliva secretion ○Sakurai H, Ogawa H, Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-83</b>	Studies of radiation protection of mice submandibular gland with lead sheet ○Sawano K <sup>1</sup> , Kikuchi K <sup>1</sup> , Nasu M <sup>2</sup> , Horie T <sup>2</sup> , Ikeda R <sup>1,3</sup> , Takada K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Histol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>3</sup> Nippon Dent Univ Coll at Tokyo)
<b>P2-84</b>	Distribution patterns of CXCL14 immunoreactive structures in the salivary glands ○Mizuno J, Tachibana K, Yamamoto T (Kanagawa Dent Univ, Grad Sch Dent)
<b>P2-85</b>	An experimental system combining <i>in vivo</i> drug administration with rat whole embryo culture as an assay system for teratogenicity in craniofacial morphogenesis ○Suzuki R <sup>1</sup> , Imai H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Biol, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P2-86</b>	Tongue myogenic cell differentiation regulated by Nfix and its related factors in embryonic mice ○Taya Y <sup>1</sup> , Sasaki Y <sup>2</sup> , Sato K <sup>1</sup> , Soeno Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent)
<b>P2-87</b>	Study of movement pattern in cells that migrated from Hertwig's epithelial root sheath ○Fujiwara N, Otsu K, Harada H (Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>P2-88</b>	Contribution of gas exchange lung - CAM in the chicken embryo during cold-hypometabolism ○Ide R <sup>1</sup> , Saiki C <sup>1</sup> , Takahashi M <sup>1</sup> , Hashizume N <sup>2</sup> , Imai T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Nippon Dent Univ Life Dent, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Nippon Dent Univ Life Dent)
<b>P2-89</b>	Exhaustive analysis of oral bacteria among healthy elderly and disability patients treated with catechin gel ○Tamura M <sup>1,2</sup> , Imai K <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Immunol Pathobiol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P2-90</b>	Acylpeptide recognition mechanism of acylpeptidyl oligopeptidase in periodontopathic bacteria ○Nemoto T, Ono T, Ohara-Nemoto Y (Dept Oral Mol Biol, Course Med Dent Sci, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>P2-91</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> enhanced platelet-activating factor receptor expression in human epithelial cells ○Kamio N <sup>1</sup> , Hayata M <sup>1,2</sup> , Watanabe N <sup>1,3</sup> , Tamura M <sup>1</sup> , Imai K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Dysphagia Rehabil, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P2-92</b>	Study of the relationship between <i>Candida</i> carriers and salivary antimicrobial components in healthy persons ○Fukui K <sup>1</sup> , Imai A <sup>2,3</sup> , Kuwashima H <sup>1</sup> , Nakamura K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P2-93</b>	Potential synergistic effects of a mixture of mineral trioxide aggregate (MTA) cement and <i>Bacillus subtilis</i> ○Oka S (Dept Biol The Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>P2-94</b>	Development of an easy-to-use clinical kit for estimating halitosis levels, and study of oral bacteria that cause halitosis ○Tsuizukibashi O <sup>1</sup> , Uchibori S <sup>2</sup> , Saito M <sup>1</sup> , Kobayashi R <sup>1</sup> , Takizawa T <sup>1</sup> , Kuwahara N <sup>1</sup> , Ochiai T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol and Immunol, Nihon Univ Sch at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Crown Bridge Prostodont, Nihon Univ Sch at Matsudo)
<b>P2-95</b>	Classification of oral malodour based on the microbiota in saliva samples by machine learning ○Nakano Y <sup>1</sup> , Taniguchi N <sup>2</sup> , Kuwata F <sup>1</sup> , Hanioka T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Prev & Public Health Dent, Fukuoka Dent Coll)
<b>P2-96</b>	Generation of a gene-disrupted <i>Streptococcus mutans</i> strain without gene cloning ○Murata T, Handa N (Dept Translational Res, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>P2-97</b>	Network analysis of the bacterial network in the gingival sulcus ○Cueno M <sup>1</sup> , Imai K <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Immunol Pathobiol Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent)
<b>P2-98</b>	(withdrawn)
<b>P2-99</b>	Structure-activity relationships of terpinene-4-ol analog in antibacterial and anti-biofilm activity ○Fujita M <sup>1</sup> , Osada K <sup>2</sup> , Miyakawa H <sup>1</sup> , Nakazawa F <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup> Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>P2-100</b>	The effect of H <sub>2</sub> S produced by <i>Porphyromonas gingivalis</i> on inflammation in mice ○Shioya K <sup>1</sup> , Hiraoka Y <sup>2</sup> , Taniguchi N <sup>3</sup> , Yoshida A <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Prev & Pub Health Dent, Fukuoka Dent Coll)
<b>P2-101</b>	<i>Streptococcus gordonii</i> promotes differentiation of monocytes into dendritic cells ○Tashiro Y, Takahashi Y, Konishi K (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)

<b>P2-102</b>	Comparison of the pathogenicity of <i>Candida albicans</i> cultured with denture adhesives ○Murakami T <sup>1</sup> , Shimoyama Y <sup>2</sup> , Nomura T <sup>1</sup> , Ishikawa T <sup>2</sup> , Kondo H <sup>1</sup> , Sasaki M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Prosthodont Oral Implantol, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>P2-103</b>	Structure and reaction mechanism of a unique hydrogen-sulfide producing enzyme Fn1055 from <i>Fusobacterium nucleatum</i> ○Kezuka Y <sup>1</sup> , Yoshida Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Struct Biol, Iwate Med Univ Sch Pharm, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Aichi Gakuin Univ Sch Dent)
<b>P2-104</b>	Gene regulation in <i>T. denticola</i> virulence factor deficient mutant ○Arai Y <sup>1</sup> , Kikuchi Y <sup>2</sup> , Shibayama K <sup>2</sup> , Kokubu Y <sup>2</sup> , Shintani S <sup>1</sup> , Ishihara K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P2-105</b>	Screening of natural plant extracts for inhibiting activity against growth and metabolism of oral biofilm bacteria ○Kitagori H <sup>1,2</sup> , Washio J <sup>1</sup> , Tagaino R <sup>1,3</sup> , Takahashi N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Central R&D Lab, KOBAYASHI Pharm Co, Ltd., <sup>3</sup> Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-106</b>	Growth inhibitory peptides for <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Saiki K, Konishi K (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P2-107</b>	Analysis of iron-sulfur cluster-binding protein regulator gene ( <i>icbR</i> ) in <i>Treponema denticola</i> ○Numata Y <sup>1</sup> , Shibayama K <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> , Kikuchi Y <sup>2</sup> , Kokubu E <sup>2</sup> , Ishihara K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Crown Bridge Prosthodont, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
<b>P2-108</b>	Involvement of OmpA-like proteins from <i>Porphyromonas gingivalis</i> in human serum resistance ○Inomata M, Into T, Horie T, Murakami Y (Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>P2-109</b>	Effectiveness of toothpaste containing Brazilian green propolis in improving an oral environment ○Amano S <sup>1</sup> , Matumoto M <sup>2</sup> , Takeshita F <sup>4</sup> , Ohmori Y <sup>1</sup> , Yasui T <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Sports Dent, Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Meikai Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Ohki Pharm CO., LTD.)
<b>P2-110</b>	Lipid metabolism disorder induces both dysbiosis of Gut Microbiota and alveolar bone loss ○Kobayashi R, Kurita-Ochiai T (Dept Microbiol and Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-111</b>	Cytokine mediated activation of human V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells ○Domae E <sup>1</sup> , Goda S <sup>2</sup> , Yoshikawa Y <sup>1</sup> , Kamada A <sup>1</sup> , Ikeo T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Osaka Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-112</b>	Investigation of immune regulatory mechanism in periodontal disease ○Nagao J, Narita Y, Arita (Morioka) K, Yasumatsu K, Tasaki S, Ikezaki S, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
<b>P2-113</b>	Molecular analysis of virulence mechanisms associated with neutrophil elastase in pneumococcal pneumonia ○Domon H <sup>1,2</sup> , Maekawa T <sup>1,2</sup> , Nagai K <sup>1</sup> , Yamaguchi M <sup>3</sup> , Kawabata S <sup>3</sup> , Terao Y <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-114</b>	Neutrophil extracellular traps inhibit Del-1 production by human endothelial cells ○Tada H <sup>1</sup> , Nishioka T <sup>2</sup> , Matsushita K <sup>2</sup> , Sugawara S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Dis Res, NCGG)
<b>P2-115</b>	Functional analysis of a thermosensitive channel TRPM5 ○Uchida K <sup>1,2</sup> , Kita T <sup>1</sup> , Ryu T <sup>1</sup> , Yamazaki J <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Div Cell Signal, NIPS)
<b>P2-116</b>	Regulation of cytokinesis by phospholipase C-related catalytically inactive protein, as a sequestrant of PI(4,5)P <sub>2</sub> in the cleavage furrow ○Asano S, Kanematsu T (Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
<b>P2-117</b>	Identification of the binding region of NF- $\kappa$ B/p65 p65 on Smad4 for enhance BMP-induced bone formation ○Urata M <sup>1,2</sup> , Matsubara T <sup>2</sup> , Nakatomi C <sup>2</sup> , Hirata-Tsuchiya S <sup>2</sup> , Kokabu S <sup>1</sup> , Zhang M <sup>4</sup> , Kitamura C <sup>2</sup> , Jimi E <sup>5</sup> ( <sup>1</sup> Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup> Div Endodont Restorative Dent, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Biol Endod, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, <sup>4</sup> Div Pathol, Kyushu Dent Univ, <sup>5</sup> OBT Lab, Kyushu Univ)
<b>P2-118</b>	Wnt facilitates osteogenic differentiation of stem cells in spheroid culture ○Toshimitu T <sup>1,2</sup> , Kojima H <sup>2</sup> , Kajiya H <sup>1</sup> , Ohno J <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Res Cent Regen Med, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Div Dent Disabled, Fukuoka Dent Coll)
<b>P2-119</b>	Independent trafficking of flavocytochrome b558 and MPO and to phagosomes during phagocytosis visualized by elemental quantification of EDS-STEM ○Moriguchi K, Honda M (Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
<b>P2-120</b>	Effects of dexmedetomidine on the intercellular space of human umbilical vein endothelial cells treated with histamine ○Toen T <sup>1</sup> , Fukada T <sup>1</sup> , Hashimoto S <sup>2</sup> , Sunada K <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Sect Radioisotopes Res, Res Cent for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>3</sup> Dept Dent Anesthesiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>P2-121</b>	TNF-alpha promotes secretion of extracellular vesicles by human macrophage-like cells ○Kagiya T (Div Func Mor, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>P2-122</b>	Influence of low-energy laser irradiation on ROS and scavenging enzyme in endothelial cells ○Moro Y, Harada T (Div Radiol Diag, Ohu Univ Sch Dent)
<b>P2-123</b>	Meikai University Research Institute of Odontology searches for anti-oral diseases agents with lower adverse effects ○Sakagami H <sup>1</sup> , Tomomura M <sup>1,2,3</sup> , Masuda Y <sup>1,4</sup> ( <sup>1</sup> Meikai Univ Res Inst Odont, <sup>2</sup> Integrated Educ Cent, Meikai Univ, <sup>3</sup> Div Biochem, Meikai Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Div Oper Dent Ther, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P2-124</b>	The screening of physiologically-functional ingredients that maintain bone health and its analysis of the functional mechanism ○Kakihara Y, Nakata J, Saeki M (Dept Dent Pharmacol, Niigata Univ)

<b>P2-125</b>	Bisphosphonates taken into osteoblast cells are accumulated in their lysosomes ○Tajima M (Div Pharmacol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent)
<b>P2-126</b>	Phenytoin enhance interleukin-1 $\alpha$ -induced mitogen-activated protein kinase activation in human gingival fibroblasts ○Matsumoto H <sup>1</sup> , Takeuchi R <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-127</b>	The mechanism of antiinflammatory effect of shinbuto and ninjinto ○Ara T, Sogawa N (Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ)
<b>P2-128</b>	Treatment of gingival overgrowth using 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid ○Takeuchi R <sup>1</sup> , Matsumoto H <sup>2</sup> , Hiratsuka H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>P2-129</b>	Effects of polyphenols on doxorubicin-induced cytotoxicity in normal human oral keratinocytes ○Sheng H <sup>1,2</sup> , Ogawa T <sup>2</sup> , Niwano Y <sup>3</sup> , Sasaki K <sup>2</sup> , Tachibana K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anat, Fukuoka Univ Sch Med, <sup>2</sup> Dept Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Lab Redox Regulation, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>P2-130</b>	Glucocorticoid responsive region of metallothionein-4 ○Imamura Y <sup>1</sup> , Sogawa C <sup>2</sup> , Ara T <sup>1</sup> , Sogawa N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>P2-131</b>	Rapid clearance of supplemented tetrahydrobiopterin is driven by organic anion transporters, OAT1 and OAT3 ○Ohashi A, Naito M, Takahashi T (Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent)